

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

骨髓異形成症候群における続発性肺胞蛋白症の予後解析に関する研究

研究分担者 石井晴之 杏林大学医学部第一内科学講師

研究要旨

骨髓異形成症候群(MDS)は病型により予後不良で、続発性肺胞蛋白症(SPAP)の基礎疾患として最も多くみられる。SPAP 自体が MDS の臨床経過に影響を及ぼす因子であるかを検討した。MDS に合併した SPAP28 例を対象に MDS の病型、WHO-IPSS (WPSS)、輸血依存性と臨床経過について評価した。MDS 自体での予後不良因子である病型や WPSS、そして輸血依存性に関わらず SPAP を合併した MDS は予後不良であった。MDS の診療上、SPAP 合併は予後に影響するものであり早期発見の必要性が明らかとなった。

A. 研究目的

これまでに我々は SPAP の臨床的特徴をまとめ、MDS が SPAP の基礎疾患で最も多く、予後不良であることを明らかにした。しかし MDS は病型により予後不良な疾患でもあり、SPAP が MDS 自体の予後に本当に影響を及ぼす因子なのかは不明であった。今回基礎疾患である MDS 自体の臨床像を改めて解析し、MDS-SPAP の予後評価を行った。

B. 研究方法

1999 年以降病理学的に肺胞蛋白症が診断され、かつ抗 GM-CSF 自己抗体陰性が確認された骨髓異形成症候群 28 例を既存試料により横断的研究を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は「ヘルシンキ宣言」および「臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日全部改正）」を遵守して実施され、杏林大学医学部倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

SPAP 診断時の平均年齢は 51 歳、男女比 17/11、SPAP 診断後の MST は 10 カ月で 2 年生存率は 49%であった（図 1）。基礎疾患である MDS 診断後の MST は 40 カ月で 5 年生存率は 64%（図 2）であり、SPAP 合併後の生存曲線は明らかに予後不良を示していた。MDS の WHO subtype は RA が 50%（図 3）と予後良好な因子ではあるが、WPSS で分類された very low+low 群と Int.+high+very high 群との間には有意差なく予後不良であった（図 4）。また輸血非依存者の MDS が大半を占めていた。

D. 考察

MDS 自体の予後は、WHO の病型分類、染色体異常、そして輸血依存性が予後予測因子とされている。今回、これらの予後因子に基づく WHO-IPSS(WPSS)別に SPAP を合併した MDS28 例の予後を解析した。WPSS は score により very low, low, intermediate, high, very high の 5 group に

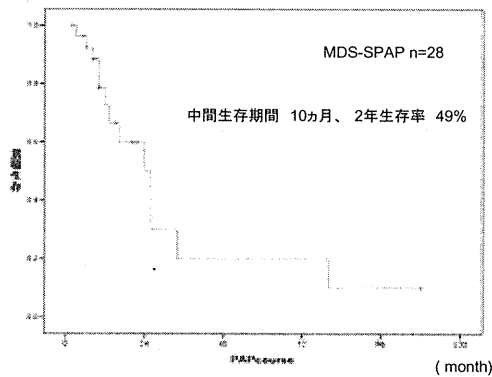


図 1：MDS に合併した SPAP 診断後の生存曲線

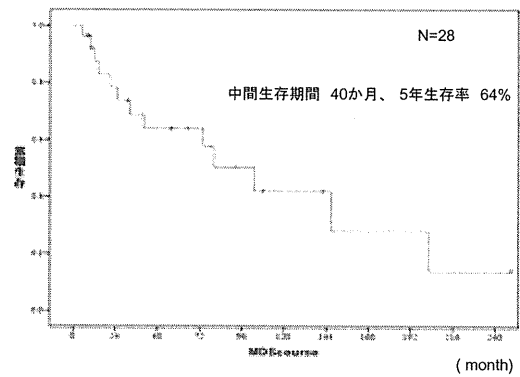


図 2：MDS 診断後の生存曲線

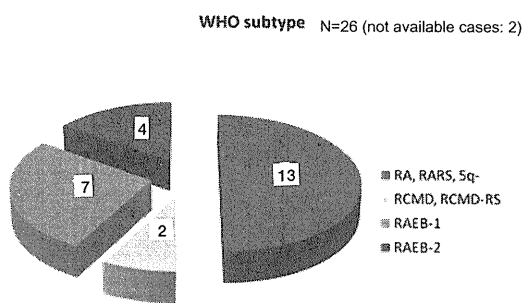


図 3：MDS の病型

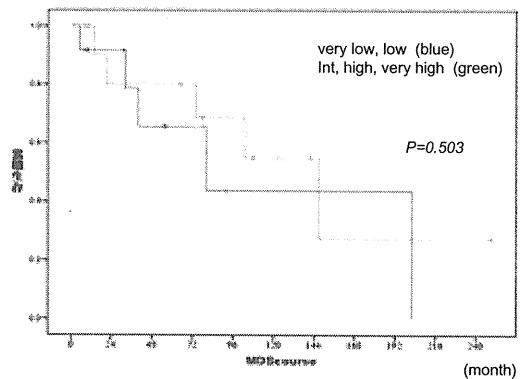


図 4：WPSS によるグループ別の生存曲線

分類する。この分類による very low group の中間生存期間は 141 カ月に対し very high group では 9 カ月と予後を反映するとされている。本研究においては very low + low group 12 例と Int. + high + very high 12 例で MDS 診断後の生存曲線に差がなかった。実際に MDS の病状悪化をみとめず SPAP による呼吸不全が進行した症例や MDS の病状に伴い SPAP の悪化した症例もみられている。SPAP の合併により全身状態の悪化や感染症合併のリスクが高まるため、予後不良の病状になっていると考えられる。また輸血依存性も

MDS の予後因子となっているが、今回輸血依存性を有する症例が 7 例のみであり SPAP 合併した MDS においては輸血依存性の有無に関わらず予後不良であった。

#### E. 結論

SPAP が合併した MDS は、病型や WPSS に係らず MDS 自体の予後が不良となる。基礎疾患である MDS の診療上、SPAP 合併は危険因子として早期診断し、MDS 自体の早期治療を検討することが重要である。

## F. 健康危険情報

本研究で用いる試料は、既存の診療上で記載および保管されているものなので被験者の健康被害を起すものはない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 石井晴之、川島正裕、益田公彦、赤川志のぶ. 発熱と急速に進展する空洞性病変を呈した 80 歳の男性. (誌上セミナー) 呼吸 30 (4); 2011: 399-404.

2. 小出 卓、皿谷 健、中本啓太郎、中島 明、石井晴之、藤原正親、柴田英克、岡 輝明、呉屋朝幸、後藤 元. 胸腔鏡下肺生検で類上皮細胞性肉芽腫を認めたメシル酸イマチニブの薬剤性肺障害の 1 例. 日本呼吸器学会雑誌 49 (6); 2011: 465-471.

5. Mikura S, Wada H, Higaki M, Yasutake T, Ishii H, Kamiya S, Goto H. Erythromycin prevents the pulmonary inflammation induced by exposure to cigarette smoke. *Transl Res.* 2011; 158 (1): 30-37

6. Hirao S, Wada H, Nakagaki K, Saraya T, Kurai D, Mikura S, Yasutake T, Higaki M, Yokoyama T, Ishii H, Nakata K, Akashi T, Kamiya S, Goto H. Inflammation provoked by *Mycoplasma pneumoniae* extract: implications for combination treatment with clarithromycin and dexamethasone. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011; 62 (2): 182-9.

7. 中本啓太郎、小出 卓、長友禎子、田村仁樹、桧垣 学、高田佐織、和田裕雄、石井晴之、岡崎充宏、高橋信一、後藤 元. Hypermucoviscosity phenotyp の *Klebsiella*

*pneumonia* による肝膿瘍・敗血症性肺塞栓症の重症例. 日本感染症学会雑誌 2011; 85 (4): 366-269

### 2. 学会発表

1. H. Ishii, K. Nakata. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis complicated with myelodysplastic syndrome in Japan. The 2<sup>nd</sup> Japanese Society of Hematology International Symposium 2011; Poster session: Nagasaki in Japan, April 23, 2011.

2. H. Ishii, K. Nakata, R. Tazawa, et al. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis complicated with myelodysplastic syndrome in Japan. American Thoracic Society 2011 International Conference; Poster session: Denver, May 16, 2011.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

難治化要因を検討する立場から見た自己免疫性あるいは特発性肺胞蛋白症  
症例の肺病理所見と二次性肺胞蛋白症症例の肺病理所見に関する研究

研究分担者 北市正則 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター臨床検査科 科長

研究要旨

肺胞蛋白症(PAP)の病理所見(病理診断と鑑別診断)の記載(2010-2011)を用いて第2回大阪呼吸器疾患シンポジウム(2007)で検討した48例のPAP症例のうち、特発性あるいは自己免疫性肺胞蛋白症(PAP)の外科的生検施行24例について検討した。線維化病変のうち usual interstitial pneumonia (UIP)パターンが予後増悪因子であるとの成績を得た。二次性 PAP12例の肺病理所見を検討し、基礎疾患と肺病変の多様性を明らかにした。

A. 研究目的

肺胞蛋白症(PAP)は Rosen ら(1958)によって病理組織学的所見に基礎をおいて提唱された疾患概念である。Kitamura, Nakata ら(1999)によって特発性 PAP に患者血清中に抗 GM-CSF 抗体が検出されることが報告された。抗 GM-CSF 抗体が血清中に検出される PAP 症例について自己免疫性 PAP の病名が使用され、日本での PAP 症例の調査結果が Inoue ら(2008)によって報告された。

PAP 症例の治療については全肺洗浄を基礎におきながら、GM-CSF の吸入が試験的治療として行われるようになった(Tazawa 2005)。このように PAP の診断と治療について大きな進展が見られたが、全肺洗浄と GM-CSF 吸入治療によっても死亡症例が散見されるようになった。このため 2007 年 8 月 30-31 日に第2回大阪呼吸器疾患シンポジウムとして「肺胞蛋白症の難治化要因に関する研究」をテーマとして研究会を開催した。この厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服事業「肺胞蛋白症(PAP)の難治化要因の解明と診断、治療、管理の標準化と指針の確立」

班のメンバーが多く含まれる研究会であった。

- (1): 著者の知る限りでは自己免疫性あるいは特発性 PAP 症例について肺病理所見を基礎においた難治化要因あるいは予後因子の研究はない。
- (2): 二次性肺胞蛋白症(secondary PAP)の肺病理所見についてまとまった症例数での記載はない。また、二次性 PAP では、著者の提案した PAP の病理組織学的所見(2011-2012)に基礎をおいた二次性 PAP の肺病理所見のまとまった記載はない。

今後、二次性肺胞蛋白症(PAP)の症例研究の基礎を固めるために肺胞蛋白症(PAP)の病理組織学的所見(2011-2012)に基礎をおいて二次性肺胞蛋白症(PAP)12例の肺病理所見を検討し、いくつかの知見を得たので報告する。

B. 研究方法

「肺胞蛋白症(PAP)の難治化要因に関する研究」で開催された第2回大阪呼吸器疾患シンポジウム(2007年8月30-31日)で検討された49例を対象とした。病理検体は外科的肺生検(SLB)22例、SLB+剖検(Autopsy)4例、経気管支肺生検

(TBB)+SLB 1例、TBB9例、気管支肺胞洗浄液(BALF)1例、TBB+BALF 1例、針生検(Needle Bx)+BAL1例、細胞診(Cytology)1例、肺葉切除術(lobectomy)1例、肺葉部分切除(partial resection)1例、Autopsy 7例であった。全ての肺組織の病理組織学的所見はヘマトキシリン・エオジン染色で検討した。可能な限り、PAS染色、SpA免疫染色、EvG弾性線維染色、グロコット染色、Ziehl-Neelsen染色を行い検討した。

#### (倫理面への配慮)

患者のプライバシーを考慮し、患者を特定できる情報を削除することに努めた。

### C. 研究結果

49例のうち48例を病理学的所見を基礎にして肺胞蛋白症(PAP)と診断できた。内訳は抗GM-CSF抗体陽性の自己免疫性PAPは22例、1999年以前の症例のため抗GM-CSF抗体の測定が測定されていない特発性PAPは13例、二次性PAPは13例であった。1例は他疾患と診断した。

1) 自己免疫性あるいは特発性PAP症例について肺病理所見を基礎においた難治化要因あるいは予後因子の検討について：

外科的肺生検が施行された自己免疫性PAP17例と特発性PAP7例(合計24例)を対象として外科的肺生検所見と予後との関係を検討した。外科的肺生検所見では肺胞蛋白症(PAP)所見に加えて認められた線維化病変パターンは(a)usual interstitial pneumonia (UIP) pattern 3例、(b)nonspecific interstitial pneumonia, cellular and fibrosing pattern (NSIP-2)6例、(c)nonspecific interstitial pneumonia, cellular pattern (NSIP-1)6例、間質性肺炎所見なし(IP(-))は8例(合計14例)の所見であった。(a)UIP patternを示した3例では外科的肺生検後の平均観察期間77ヶ月で死亡率は67%(2/3)であった。(b)NSIP-2 patternを示した6例では外科的肺生検後の平均観察期間73.1ヶ月で死亡率は33%(2/6)であった。(c)NSIP-1

あるいはIP(-)の14例では外科的肺生検後平均49.2ヶ月の観察期間で死亡率は7%(1/14)であった。(a)UIP pattern群と(c)NSIP-1あるいはIP(-)群との間で外科的肺生検後の死亡率に有意差( $p<0.05$ )が見られた。

2) 二次性PAPの肺病理所見について：

二次性PAP13例のうち5例では抗GM-CSF抗体が測定されたが、5例とも基準値以下の測定結果であった。13例のうち12例で肺の病理組織学的所見を観察した。基礎疾患がBechet病の1例はBALF所見を観察した。

(2-1) 基礎疾患がmyelodysplastic dysplasia (MDS)の4例では肺病理所見は外科的肺生検1例、剖検3例で検討できた。外科的肺生検例では慢性間質性肺炎所見(UIP pattern)が観察された。

剖検3例では3例で硝子膜形成を含むdiffuse alveolar damage (DAD)の肺病変も観察された。2例では肺出血、他の1例では真菌感染症も観察された。肺出血2例のうち1例では脾臓とリンパ節に壊死病変を主体とした非結核性抗酸菌症(NTM)が観察された。

(2-2) 基礎疾患が急性骨髄性白血病(AML)1例の外科的肺生検検体では器質化肺炎(OP)パターンと肺梗塞が観察された。慢性骨髄性白血病(CML)1例の外科的肺生検検体ではPAP病変が観察され、線維化間質性肺炎所見は観察されなかった。2年後の剖検肺ではNSIP-2の線維化間質性肺炎と肺出血が観察された。

基礎疾患が多発性骨髄腫(multiple myeloma)の1例では剖検肺でPAP病変と硝子膜形成のDAD病変が観察された。

(2-3) 基礎疾患が膠原病の一種SLEである症例では外科的肺生検検体でPAP病変を被包化する線維化病変が含まれていた。2年後の剖検肺ではPAP病変に加えて真菌感染症が見られた。基礎疾患が膠原病疑いの1例ではTBB検体にPAP病変と線維化病変が観察された。

(2-4) 基礎疾患が胸腺腫(Type A thymoma)の1例では外科的肺生検検体に PAP 病変が観察された。

(2-5) 基礎疾患がウエゲナー肉芽腫症(WG)の1例では外科的肺生検検体には左肺上葉で8年のWG治療後のWG再燃と評価した壊死性肉芽腫性結節性病変と周囲の器質化肺炎(OP)パターンが、左肺下葉には広範囲のPAP病変が観察された。この症例ではcyclophosphamideを含むWGに対しての治療薬がPAPの病因である可能性を推定した。

(2-6) 基礎疾患が特発性器質化肺炎(COP)の1例の外科的肺生検検体には小葉中心部で器質化肺炎(OP)パターンを、小葉辺縁部でPAP病変が観察された。

#### D. 考察

1) 自己免疫性あるいは特発性PAP症例で外科的肺生検所見が観察できる場合、PAP病変以外の線維化病変の有無とパターンを観察する必要があると考えた。この線維化病変のパターン認識には特発性間質性肺炎(IIPs)のATS/ERS国際分類(2002)の応用が有用であった。線維化病変ではUIP patternが予後増悪因子になると推定した。

2) 二次性PAPは基礎疾患が多彩である。肺病理所見は特に剖検例では解析困難例があると考えた。このような場合を含めて著者らが記載したPAPの病理所見(病理診断と鑑別診断)の記載(2010-2011)はPAPの病理診断過程に有用であると考えた。

#### E. 結論

1) 自己免疫性あるいは特発性PAPではPAP以外の所見である線維化病変所見が予後因子となる可能性を推定した。今後はPAP病変とUIP patternなどの線維化病変形成機序の関係が検討課題になると考えた。

2) 二次性PAPでは基礎疾患と肺病理所見は多

様である。PAPの病理所見(病理診断と鑑別診断)の記載(2010-2011)の適切な応用が必要と考えた。

#### F. 健康危惧情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tachibana K, Inoue Y, Nishiyama A, Sugimoto C, Matsumuro A, Hirose M, Kitaichi M, Akira M, Arai T, Hayashi S, Inoue Y. Polymyxin-B hemoperfusion for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: Serological and prognostic evaluation. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases* 2011; 28:113-122.
2. Kubo A, Koh Y, Kawaguchi T, Isa S, Okamoto I, Fukuoka J, Kusunoki Y, Kitaichi M, Takada M, Nakagawa K. Malignant pleural effusion form lung adenocarcinoma treated by getinif. *Internal Medicine* 50: 745-748, 2011.
3. Nakanishi M, Fukuoka J, Tanaka T, Demura Y, Umeda Y, Ameshima S, Nishikawa S, Kitaichi M, Itoh H, Ishizaki T. Small airway disease associated with Sjogren's syndrome: Clinico-pathological correlation. *Respiratory Medicine* 2011; 105: 1931-1938.
4. Sugimoto C, Arai T, Nishiyama A, Inoue Y, Kagawa T, Akira M, Matsumoto A, Hirose M, Kitaichi M, Hayashi S, Inoue Y. Multidisciplinary assessment of effects, safety and procedure of whole lung lavage for 8 patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Nihon Koryuiki Gakkai Zasshi* 2011; 49; 569-576.

5. Kurahara Y, Kawaguchi T, Tachibana K, Atagi S, Hayashi S, Kitaichi M. Small cell lung cancer in never smokers: A case series with information on family history of cancer and environmental tobacco smoke. Clin Lung Cancer 2011; May 17 (Epub)
  6. Kurahara Y, Tachibana K, Katsura H, Inoue Y, Suzuki K, Kitaichi M, Hayashi S. A case of cryptococcal empyema successfully treated by debridement by medical thoracotomy with local anesthesia. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi 2011; 49: 142-147.
  7. Kondoh Y, Taniguchi H, Katsuta T, Kataoka K, Kimura T, Nishiyama Om Sakamoto K, Johkoh T, Nishimura M, Ono K, Kitaichi M. Risk factors of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. Sarcoidosis Vas Diffuse Lung Dis 2010; 27; 103-110.
  8. Kondoh Y, Taniguchi H, Kataoka K, Kato K, Suzuki R, Ogura T, Johkoh T, Yokoi T, Wells AU, Kitaichi M; Tokai Diffuse Lung Disease Study Group. Prognostic factors in rapidly progressive interstitial pneumonia. Respirology 2010; 15(2): 257-264.
  9. Hayashi S, Oji Y, Kanai Y, Teramoto T, Kitaichi M, Kawaguchi T, Okada M, Sugiyama H, Matsumura A. Low Wilms' tumor gene expression in tumor tissues predicts poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. Cancer Invest 2011; 30(2):165-171.
  10. Ou SH, Kawaguchi T, Soo RA, Kitaichi M. Rare subtypes of adenocarcinoma of the lung. Expert Rev Anticancer Ther 2011; 11(10); 1535-1542.
  11. 北市正則、高木理博、清水重喜。肺胞蛋白症の病理所見(病理診断と鑑別診断)。厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服事業『肺胞蛋白症の難治化要因の解明と診断、治療、管理の標準化と指針の確立』に関する研究、平成 22 年度 総括・分担研究報告書、主任研究者：井上義一、平成 23 年 3 月、P.32-44.
  12. 北市正則。「呼吸器疾患における細胞診断と組織診断の連携を求めて」。話題提供 2. Trace ability のある呼吸器細胞診について。報告。平成 22 年度大阪府内衛生検査所管理指導医師および細胞診担当者との懇談会ならびに平成 21 年度分「細胞診業務実態」集計結果の概要について。大阪府医師会報平成 23 年 7 月号(Vol.371) p.101-105,2011.
- ## 2. 学会発表
1. 北市正則。呼吸器病理学と高コントラスト X 線画像への期待。物質科学研究所放射光共同利用実験 S2 型：実験課題名(2011S2-004), X 線暗視野法による癌など早期診断システム開発(主任研究者：安藤正海先生)。国立病院機構 ネットワーク研究班主催 X 線暗視野法研究会(座長、市原 周先生)。会場：大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構(KEK), つくば市、2011.6.22.
  2. 北市正則。2. Usual interstitial pneumonia (UIP) の病理診断について。Workshop. 主題：間質性肺炎 Pros and Cons. 座長：菅 守隆先生、宮崎英士先生。第 67 回日本呼吸器学会日本結核病学会九州支部秋季学術講演会(会長、福岡大学 渡辺憲太郎教授)、2011 年 11 月 19 日、福岡市・エルガーラホール、(プログラム・講演抄録、p.66.)

## H. 知的財産の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 謝辞

1991年12月21日開催の第3回京滋呼吸器疾患研究会、「肺胞蛋白症をめぐって」と2007年8月開催の第2回大阪呼吸器疾患シンポジウム、「肺胞蛋白症の難治化要因に関する研究」で症例呈示と病理診断等の協力を頂いた研究者に感謝します。また、国立病院機構 近畿中央胸部疾患センターで気管支鏡検査、外科的肺生検、抗GM-CSF抗体測定、病理標本作製を含めて肺胞蛋白症(PAP)症例の診療をされた方々に感謝致します。



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

肺胞蛋白症の画像所見に関する研究

研究分担者 審良正則 近畿中央胸部疾患センター放射線科部長

研究要旨

肺胞蛋白症の HRCT 画像における肺線維化所見について検討した。44 例の肺胞蛋白症の初回の HRCT 画像で 4 例（9%）に肺の線維化所見（牽引性気管支拡張像）が得られ、経過 HRCT では 10 例（23%）に肺線維化所見が認められた。CT 上の経過で網状影を伴うすりガラス影 crazy-paving pattern から牽引性気管支拡張像と嚢胞像が生じるのが観察された。

A. 研究目的

肺胞蛋白症の画像所見を明らかにすること。

B. 研究方法

The 2nd Osaka Respiratory Symposium の肺胞蛋白症症例（44 例）（2007）の検討と文献レビューを行なった。

（倫理面への配慮）

画像の患者名はブラインドとし、臨床試験審査会の承認を得て実施。

C. 研究結果

44 例の肺胞蛋白症の HRCT 画像で 4 例（9%）に肺の線維化所見（牽引性気管支拡張像）が得られ、経過 CT では 10 例（23%）に肺線維化所見が認められた。HRCT 画像上での肺の線維化所見の報告はあるが、その経過 CT での線維化の進行に関する報告は今回の検討が初めてである。

D. 考察

肺胞蛋白症における肺線維化の機序について

は現在のところ分かっていない。CT 上の経過で網状影を伴うすりガラス影 crazy-paving pattern から牽引性気管支拡張像と嚢胞像が生じるため、ただ単なる合併の様にはみえない。小児の肺胞蛋白症では surfactant protein B or C や granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) に対するレセプターの  $\beta c$  鎖をエンコーディングする genes にミューテーションがみられる。Surfactant protein C をエンコーディングする genes のミューテーションはまた小児の間質性肺炎に関係していることが知られている。

E. 結論

HRCT は肺胞蛋白症の診断だけでなく、経過における肺線維化の評価にも有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Akira M, Inoue Y, Kitaichi M, et al.

Thin-Section Computed Tomography Features

of Pulmonary Alveolar Proteinosis with  
Fibrosis. ERJ (in submit).

## 2. 学会発表

1. Okuma T, Akira M, Inoue Y, Kitaichi M, Arai T, Shimizu S (2011) Thin-Section Computed Tomography Features of Pulmonary Alveolar Proteinosis with Fibrosis. Radiological Society of North America 97th annual meeting. 2011 Nov 28-Dec 2 Chicago, USA.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫性肺胞蛋白症に対する全肺洗浄術の治療成績

研究分担者 新井 徹 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター  
呼吸不全・難治性肺疾患研究部 呼吸生理研究室長

研究要旨

自己免疫性肺胞蛋白症(autoimmune pulmonary alveolar proteinosis; APAP)においては、全肺洗浄 (whole lung lavage; WLL) が標準療法と考えられる。我々は、2003年4月から2010年3月の間にWLLを行った8例のAPAPのWLLの経過、効果、その後の予後について検討した。平均の洗浄回数は19.1回、1回洗浄量は951ml、総洗浄量は18、150ml、洗浄時間は127分であった。WLL後2ヶ月の評価で、血清マーカー、動脈血ガス所見 (PaO<sub>2</sub>、AaDO<sub>2</sub>)、肺機能 (%VC、%DLco) は有意に改善した。しかし、HRCTによるすりガラス状陰影の広がりについては、有意な改善を認めなかった。7例でAaDO<sub>2</sub>は10 Torr以上の改善を認め、この7例の無再燃生存期間は17.5ヶ月であった。WLL中の安全性の評価の為に、両肺換気、degassing後の片肺換気でのPaO<sub>2</sub>を測定したが、両者に有意な相関を認めず、degassingは安全性評価には必要と考えられた。

A. 研究目的

肺胞蛋白症 (pulmonary alveolar proteinosis; PAP) は肺胞腔内にリン脂質や蛋白が貯留する疾患であり<sup>1)</sup>、特発性PAPは抗granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)自己抗体により肺胞マクロファージの機能不全を生じ、肺胞腔内にサーファクタント蛋白などが貯留することが原因と考えられ、自己免疫性肺胞蛋白症 (autoimmune pulmonary alveolar proteinosis; APAP) と呼ばれている<sup>2)</sup>。Ramirezら<sup>3)</sup>が特発性PAP、すなわちAPAPに対する治療として全肺洗浄 (whole lung lavage; WLL) を報告して以来、標準療法と考えられている。多数のAPAPを対象としたWLLの治療成績については、海外<sup>4)5)</sup>においても、本邦<sup>6)</sup>においても限られた報告しかなく、また、その

具体的な方法についても統一されているとは言えない。したがって、我々は、APAP症例に対するWLLの治療経験をまとめるとともに、本邦におけるAPAPに対するWLLのガイドライン作成に向けた問題点を明らかにしたい。

B. 研究方法

2003年4月から2010年3月の間に当院において全肺洗浄を施行したAPAP症例8例を対象に以下の点に関してレトロスペクティブに検討を行う。

まず、全肺洗浄の方法を簡潔に示す。体位は背臥位とし、分離換気にて全身麻酔を行った。両肺換気 (FiO<sub>2</sub> 100%)、degassing後の片肺換気 (FiO<sub>2</sub> 100%) における動脈血液ガスで評価の後、洗浄を開始した。洗浄液は生理食塩水を基本と

し、適宜、N-アセチルシステイン、重炭酸を添加した調整液を用いた。回収液が透明になるまで洗浄を繰り返した。

WLL 前、2 ヶ月後の動脈血ガス分析 (PaO<sub>2</sub>、AaDO<sub>2</sub>)、肺機能 (%VC、%DLco)、血清マーカー (KL-6、SP-D、SP-A、CEA)、高分解能 CT (HRCT) 所見を比較した。HRCT 所見に関しては、Akira らの方法<sup>7)</sup>に基づいて、上肺野、中肺野、下肺野のすりガラス状陰影 (GGO) の程度を 2 名の放射線科医が独立して 6 段階に分類し (グレード 0 : 0%、1 : 5%未満、2 : 5-24%、3 : 25-49%、4 : 50-74%、5 : 75%以上)、各肺野、全肺野の平均を Visual Score とした。

WLL による治療効果は 2 つの方法で評価した。短期効果については、AaDO<sub>2</sub> が 10Torr 以上の低下を有効と定義した。また、WLL 有効例に関しては、WLL 後の無再燃生存期間を評価した。なお、再燃とは井上の重症度 1 以上の悪化と総合的に評価される状態と定義した。なお、本検討は、杉本らの報告<sup>8)</sup>に基づいて行った。

### C. 結果

対象 8 例の基礎データを示す。性別は男性 6 例、女性 2 例、年齢は中央値 52.5 歳 (range 38-70 歳)、喫煙歴は現喫煙者 3 例、既喫煙者 4 例、非喫煙者 1 例、全例で呼吸困難を認め、重症度は 3 以上であった。WLL 直前に 7 例で BAL が行われ、6 例では米のとぎ汁様を示したが、1 例は透明であった。WLL 直前の HRCT では 1 例が網状の間質性陰影の増強を認めた。

各症例 2 回、8 例 16 回の WLL の詳細を示す。洗浄回数は 19.1 回、1 回洗浄量は 951ml、総洗浄量 18150ml、洗浄時間は 127 分であった。1 例の 1 回は ECMO 併用下で行われた。合併症としては、14 回で 37°C 以上の発熱を認めた。

extracorporeal membrane oxygenator (ECMO; 体外膜型酸素化装置) 併用例で心タンポナーデを発症した。FiO<sub>2</sub> 100% における両肺換気および

degassing 後の PaO<sub>2</sub> の相関を検討した。有意な相関を認めず、両肺換気での PaO<sub>2</sub> から degassing 後の PaO<sub>2</sub> を予測することは困難と考えられた。ECMO を行わない場合、degassing 後の SpO<sub>2</sub> が洗浄中の最低の SpO<sub>2</sub> であった (data not shown)。

血清マーカー、動脈血ガス、肺機能は WLL 後に有意な改善を認めた。HRCT 所見は、6 例ではすべての肺野で改善を認めたが、2 例では改善を認めないため、有意差を認めなかった。

### D. 考察

動脈血ガス所見から WLL は 8 例中 7 例が有効であった。この 7 例の無再燃生存期間は 17.5 ヶ月 (range 5.8-38.5 ヶ月) であった。これまでの海外の検討では、Seymour ら<sup>4)</sup> は 15 ヶ月と報告し、Beccaria ら<sup>5)</sup> は 70% 以上の症例が 7 年以上再燃を認めないと報告している。当院の報告は Beccaria らには及ばないものの、Seymour らの報告と同等であった。

WLL については、その適応、方法の標準化 (体位、洗浄液、degassing の必要性、反対側肺の洗浄のタイミング)、ECMO の適応などが問題と考えられる。

WLL の適応に関しては、Michaud ら<sup>9)</sup> は重度の呼吸困難や PaO<sub>2</sub> 65Torr 以下で AaDO<sub>2</sub> 40Torr 以上または 10 から 12% を超えるシャント比と報告している。また、本研究班の PAP の治療指針案では重症度 3 以上が WLL の適応としている<sup>10)</sup>。今回の対象 8 例もすべて重症度 3 以上であり、PaO<sub>2</sub> も 1 例を除き 65Torr 以下で、Michaud らの基準を満たしていた。

我々の方法と本邦の一和多ら<sup>6)</sup>の方法で最も異なる点は degassing を行うかどうかである。一和多らは degassing を行うことで分離換気用の挿管チューブの位置がずれる可能性を指摘している。我々は 8 例、16 回の WLL において degassing を行ったが、degassing に伴って挿管チューブの

位置のトラブルを生ずることはなかった。また、degassingにより、1) WLL中の最低のPaO<sub>2</sub>を評価することが出来る、2) WLL開始初期の洗浄液注入がスムーズになる、という利点がある。Claypoolら<sup>14)</sup>は、両肺換気(FiO<sub>2</sub> 100%)でのPaO<sub>2</sub> 100以下でECMOの適応としている。また、一和多らは、安全性を考えると同条件でのPaO<sub>2</sub> 200 Torr以下を適応とするべきであると主張している。しかし、Fig. 1の結果から、両肺換気によるPaO<sub>2</sub>から片肺換気でのPaO<sub>2</sub>を予測することは困難で、両肺換気でのPaO<sub>2</sub> 200Torr以上でも10例は片肺換気でのPaO<sub>2</sub> 100 Torr未満であり、最低値は61.1 Torrであった。したがって、degassing後の片肺換気でのPaO<sub>2</sub>を評価することはWLLの安全性の確保、ECMOの必要性の評価には重要と考えられる。

#### E. 結論

APAPに対するWLLは安全で有効な治療法と考えられた。Degassingは安全性の確認、ECMOの適応のために行うことが好ましいと思われるが、WLLの方法のガイドライン作成においては、多施設での総合的な評価、議論が必要と考えられた。

#### 参考文献

1. Rosen SH, Castleman B, Liebow AA. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1958; 258: 1123-1142.
2. Inoue Y, Trapnell BC, Tazawa R, et al. Characteristics of a large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in Japan. *Am J Respi Crit Care Med* 2008; 177: 752-762.
3. Ramirez RJ. Bronchopulmonary lavage: new technique and observations. *Dis Chest* 1966; 50: 581-588.
4. Seymour JF, Presneill JJ. Pulmonary alveolar

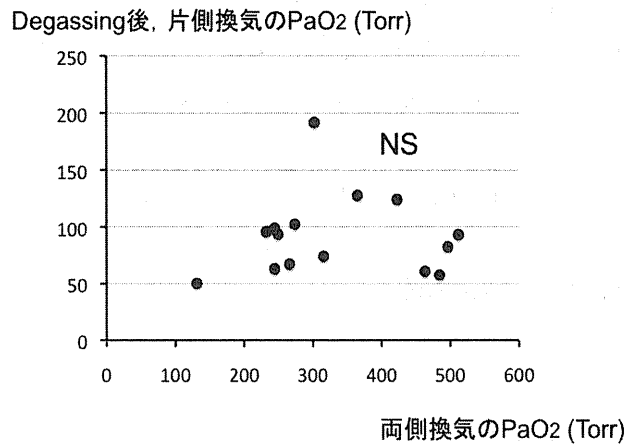


Fig. 1 Degassing 前後の PaO<sub>2</sub> の比較

proteinosis: progress in the first 44 years. *Am J Respi Crit Care Med* 2002; 166: 215-235.

5. Beccaria M, Luisetti M, Rodi G, et al. Long-term durable benefit after whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respi J* 2004; 23: 526-531.
6. 一和多俊男、時田心悟、相馬亮介、他.. 胞蛋白症に対する片側全肺洗浄の経験と洗浄手順を選択するためのアルゴリズムについて. *日呼吸会誌* 2009; 47: 185-190.
7. Akira M, Inoue G, Yamamoto S, et al. Non-specific interstitial pneumonia: findings on sequential CT scans of nine patients. *Thorax* 2000; 55: 854-859.
8. 杉本親寿、新井 徹、西山明秀、他. 全肺洗浄を施行した自己免疫性肺胞蛋白症8例の手技、効果、安全性の多面的評価. *日呼吸会誌* 2011; 46: 569-576.
9. Michaud G, Reddy C, Ernst A. Whole-lung lavage for pulmonary alveolar proteinosis. *CHEST* 2009; 136: 1678-1681.
10. 井上義一. 肺胞蛋白症総論. 『肺胞蛋白症の難治化要因の解明と診断、治療、管理の標準化と指針の確立』に関する研究. 平成 21

年度研究報告書:15-20

11. Claypool WD, Rogers RM, Matuschak GM.  
Update on the clinical diagnosis, management,  
and pathogenesis of pulmonary alveolar  
proteinosis. Chest 1984; 85: 550-558.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 杉本親寿、新井 徹、西山明秀、他. 全肺洗淨を施行した自己免疫性肺胞蛋白症 8 例の手技、効果、安全性の多面的評価. 日呼吸会誌 2011 ; 46: 569-576

### 2. 学会発表

1. 全肺洗淨を行った自己免疫性肺胞蛋白症の一例. 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター 内科<sup>1</sup>、臨床研究センター<sup>2</sup>、病理<sup>3</sup> 蓑毛祥次郎<sup>1</sup>、新井徹<sup>1,2</sup>、杉本親寿<sup>1</sup>、中尾桂子<sup>1</sup>、廣岡亜矢<sup>1</sup>、竹内奈緒子<sup>1</sup>、香川智子<sup>1</sup>、玉舎学<sup>1</sup>、北市正則<sup>3</sup>、林清二<sup>1</sup>、井上義一<sup>2</sup>

(第 90 回日本呼吸器内視鏡学会近畿支部会,  
平成 23 年 12 月 10 日)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

# 研究報告書

---

---

# 次世代シーケンサーを用いた GM-CSF 自己抗体産生機序の解明

新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター

研究分担者 中田 光、田澤立之

研究協力者 根井貴仁、金子千夏、元井奈都紀、浦野慎也

## はじめに

1999年に特発性肺胞蛋白症の血液及び肺に存在する GM-CSF 自己抗体が病因であると唱えた。その後、患者由来の同抗体をサルに静脈注射すると発症することが確認され、仮説が実証された。残された課題は、GM-CSF 自己抗体が過剰に産生される機序の解明である。末梢血を用いた予備的検討から、患者も健常者も低親和性の IgM 型自己抗体を産生する B 細胞が同頻度にあるが、高親和性 IgG 型自己抗体を産生する B 細胞は患者にのみ増加していることを見いだした。患者のリンパ臓器において 体細胞突然変異による高親和性クローン出現と class switch が亢進していると予想している。このことを 次世代型シーケンサーを用いた抗体可変部の大量クローン一挙解析により証明し、同領域のレパトアと難治化との関連を明らかにする。

## A. 研究の背景と目的

### ①背景

肺胞蛋白症は、肺胞や終末気管支にサーファクタントの老廃物が貯留し、呼吸不全が進行する希少疾患である。長年原因が不明であったが、申請者は、肺胞蛋白症の患者の肺や血清中に抗 GM-CSF 自己抗体が高濃度に存在することを発見し(J. Exp. Med.1999)、血清診断法を開発した(Am. J. Respir. Med. Crit. Care Med.,2000, 特許 4372904 号)。GM-CSF やその受容体欠損マウスが肺胞蛋白症を発症することや、同症の自己抗体の質的量的研究(申請者ら、BLOOD,2004)から、自己抗体が肺の GM-CSF 活性を中和し、肺胞マクロファージの分化を障害することが病因であり自己免疫性肺

胞蛋白症と呼ぶことを提唱してきた(申請者ら、New Engl.J.Med. 2003)。最近、米国のグループがカニクイザルに患者自己抗体を投与し、発症させることに成功し、自己抗体説を裏付けた。残された最大の課題は、『何故、患者で抗 GM-CSF 自己抗体の過剰産生が起こるのか?』であるが、これまでに以下のことが明らかとなっている。

- ① 223 例の疫学研究から、家系内発症がなく、他の自己免疫疾患との合併や他の自己抗体の出現がほとんどない(申請者ら、Am. J. Respir. Med. Crit. Care Med.,2008)。
- ② 患者の抗 GM-CSF 自己抗体は、GM-CSF 分子上の様々なエピトープと強く結合することから、抗原は、GM-CSF そのものである(申請者ら、BLOOD,2004)。
- ③ 抗 GM-CSF 自己抗体には、量的には少ないが、IgG 型以外に IgM 型抗体も存在しており、GM-CSF に対する結合力や中和能や特異性は IgG 型に比べて著しく低く、クラススイッチを経る前のプロトタイプ抗体が血中に出てきていると思われる(申請者ら、投稿中)。

### ②目的

患者の抗 GM-CSF 自己抗体は GM-CSF 上の複数のエピトープを認識しているポリクローナル抗体であり、非常に avidity が強いことがわかっている(申請者ら、BLOOD, 2004)。血中リンパ球を EB virus で刺激して、ELISPOT assay を用いて抗体産生細胞を検出したところ、IgM 型 GM-CSF 自己抗体を産生しうる B 細胞クローンが健常者と患者間で同頻度に存在しているが、IgG 型同抗



体を産生しうるB細胞クローンは患者で特に増加していることを見いだした。また、後述するように抗体可変領域の遺伝子配列の予備的検討から、GM-CSF自己抗体を産生するB細胞の抗体遺伝子重鎖の体細胞変異は、健常者に比べて亢進していることが示唆された。以上のことから、次の様な仮説を立てた。**低親和性のIgM型GM-CSF自己抗体を表面受容体にもつnaïve B細胞は、患者でも健常者でも同頻度に存在するが、患者ではこの細胞が濾胞中心に入り、繰り返し抗原刺激を受けることにより、体細胞突然変異が高頻度に関起り、クラススイッチを経て、親和性の高いIgG抗体を産生するB細胞が増加する。**上記仮説を証明するために、本研究では次世代型シーケンサーの活用によりGM-CSF自己抗体を受容体にもつB細胞の抗体H鎖、L鎖可変領域のDNA配列解析から、利用レポータのプロファイリングと体突然変異の頻度を患者と健常者の間で比較し、親和性の高いIgG抗体が産生される機構を解明する。

## B. 研究方法と結果

### 【方法】

多数の患者が新潟大学病院及び分担施設の近畿中央胸部疾患センターに通院しており、連絡も密で検体提供の面で研究協力が得られやすい。患者5人、健常者5人より、末梢血20mlを採取し、以下のステップを経て膜結合型GM-CSF自己抗体陽性B細胞のH鎖-IgG、-IgM及びL鎖のcDNA-PCR ampliconを得る。

1. 単核球  $1 \times 10^7$  cells を biotin-GM-CSF と反応させる。
2. streptavidin-MACS beads(磁気ビーズ)と反応させる。
3. MACS midi column により、GM-CSF に結合した細胞をソートする。
4. FACS で細胞表面マーカーを確認。通常 98% が単球であり、2% が CD19 陽性のB細胞である。

次世代シーケンサー用PCR ampliconの生成  
ソートした細胞からRNA抽出→cDNA合成→tag付きprimerを用いたPCR ampliconの作製

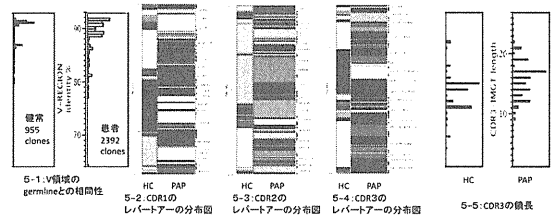
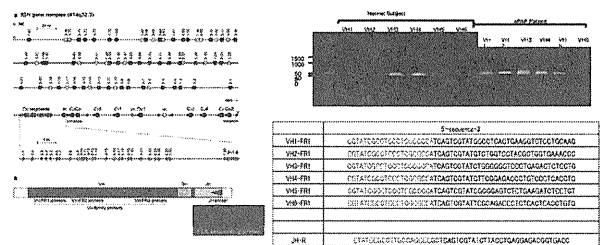


図5: 患者と健常者の抗体重鎖の次世代シーケンサー解析結果 (IMGTソフト使用)

5. RNA 抽出。吸光度で純度、濃度を測定。
6. 直ちに、cDNA 生成。定量
7. 図5に示した個人識別コードを含む primer を用いて PCR を行う。
8. PCR amplicon をアガロースゲル電気泳動し、バンド切り出し、forward、reverse primer によりシーケンスを行い、抗体可変部の遺伝子が取れているかを確認。
9. 患者、健常者の PCR amplicon の濃度を測り、等モルずつ混合する。次世代シーケンスは次の手順で実施する。
  - ① single-stranded template DNA library の作製
  - ② ①の library の emulsion-based クローン増幅
  - ③ 得られたクローンのシーケンス
  - ④ 複数の bioinformatics tools によるシーケンスデータの解析
  - ⑤ さらに④の元データを抗体解析ソフト (international ImMunoGeneTics information system) により解析する。

### 【結果】

末梢血単核球より memory B 細胞を純化し、単球とともに EB virus 感染させ、IgM 型及び IgG

型抗 GM-CSF 自己抗体産生 memoryB 細胞を ELISA 法、ELISPOT 法により検出した。それによると、IgM 型クローンは、健常者と患者で同程度の頻度で存在するが、IgG 型クローンは、圧倒的に多く患者に存在した (図 3)。

以上から、患者では、抗原刺激が繰り返され、class switch が亢進していると考えられる。患者末梢血 T 細胞のサブクラスを健常と比較したところ、Treg の減少が見られた (図 4 A, B)。患者では、Treg による自己抗体産生抑制が解除されている可能性がある。

1. 次世代型シーケンサーを用いた抗 GM-CSF 自己抗体産生 B 細胞 H 鎖の可変部の変異解析を予備的に行った。健常者 1 名、患者 1 名から末梢血単核球を得て、biotin 化 GM-CSF を用いて、膜型抗 GM-CSF 自己抗体陽性の B 細胞を含む細胞の cDNA を生成し、個人識別のためのバーコード配列を含むプライマーを用いて抗体 H 鎖可変部の PCR amplicon(350~400bp)を得た。次世代シーケンスシステム (GS FLX and GS Junior Systems, Rosche) により、合計 6 万クローンの遺伝子配列を得て、得られた塩基配列の生データを THE INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM® に入力し、抗体重鎖可変部各領域のレパートアー分類を行った。V 領域の germ line からの相同性が低いクローン (memory B cell を想定) を解析したところ、図 5 のように、患者では germ line sequence との相同性が低いクローンが健常者に比べて頻度が増え(5-1)、可変部の CDR1,2,3 領域のレパートアーの variety が増し(5-2,3,4)、かつ CDR3 領域に insertion 配列が入る(5-5)ことにより、鎖長が長くなることが確認された。

### C. 健康危険情報

特記すべきことはありません。

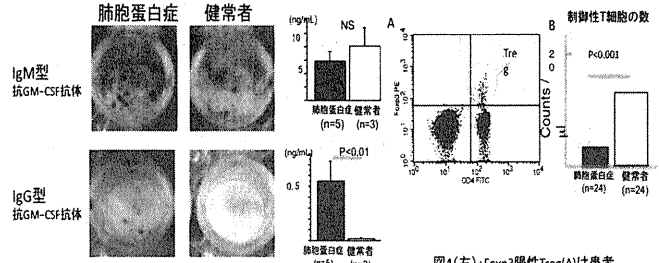


図3(上):EBV transformしたmemory B cell(1x10<sup>6</sup>/well)から産生されるIgM型(上段)とIgG型抗GM-CSF抗体,ELISPOT法(左),ELISA法(右) IgM型抗体産生クローンは患者と健常者に差がないが、IgG型抗体産生クローンは患者に圧倒的に多い。

図4(左):Foxp3陽性Treg(A)は患者末梢血で有意に減少している(B)。患者末梢血T細胞は、GM-CSFに反応して増殖する(C)。

## D. 研究発表

### 論文

- McCormack FX, Inoue Y, Moss J, Singer LG, Strange C, Nakata K, Barker AF, Chapman JT, Brantly ML, Stocks JM, Brown KK, Lynch JP 3rd, Goldberg HJ, Young LR, Kinder BW, Downey GP, Sullivan EJ, Colby TV, McKay RT, Cohen MM, Korbee L, Taveira-DaSilva AM, Lee HS, Krischer JP, Trapnell BC; National Institutes of Health Rare Lung Diseases Consortium; MILES Trial Group. Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioliomyomatosis. *N Engl J Med.* 364:1596-1606, 2011
- Ishii H, Tazawa R, Kaneko C, Saraya T, Inoue Y, Hamano E, Kogure Y, Tomii K, Terada M, Takada T, Hojo M, Nishida A, Ichiwata T, Trapnell BC, Goto H, Nakata K. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis: pre-mortem cases in Japan. *European Respir. J.* 37:465-468,2011
- Miyabayashi T, Kagamu H, Koshio J, Ichikawa K, Baba J, Watanabe S, Tanaka H, Tanaka J, Yoshizawa H, Nakata K, Narita I. Vaccination

with CD133+ melanoma induces specific Th17 and Th1 cell-mediated antitumor reactivity against parental tumor. *Cancer Immunol Immunother*, 60(11): 1597-1608, 2011

4. Masuko H, Hizawa N, Chonan T, Nakata K, Hebisawa A. Indium-Tin Oxide Does Not Induce GM-CSF Autoantibodies. *Am J Respir Crit Care Med*. 184:741,2011
5. Ohashi K, Sato A, Takada T, Inoue Y, Nakata K, Tazawa R. Reduced GM-CSF autoantibody in improved lung of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Eur. Respir.J.* in press
6. Takeshi Saraya, Koh Nakata, Kazuhide Nakagaki, Natsuki Motoi, Kuniko Iihara, Yasunori Fujioka, Teruaki Oka, Daisuke Kurai, Hiroo Wada, Haruyuki Ishii, Haruhiko Taguchi, Shigeru Kamiya, Hajime Goto Identification of a mechanism for lung inflammation caused by *Mycoplasma pneumoniae* using a novel mouse model *Results in Immunology* 1 (2011) 76-87
7. Urano S, Tazawa R, Nei T, Motoi N, Watanabe M, Igarashi T, Tomita M, Nakata K. A cell free assay system estimating the neutralizing capacity of GM-CSF antibody using recombinant soluble GM-CSF receptor. *J Vis Exp*. 2011 Jun 27;(52). pii: 2742. doi: 10.3791/2742.
8. Kazumasa Ohashi a, Atsuyasu Sato b, Toshinori Takada c, Toru Arai d, Takahito Nei a,e, Yasunori Kasahara f, Natsuki Motoi a, Masayuki Hojo g, Shinya Urano a, Haruyuki Ishii h, Masanori Yokoba i, Ryosuke Eda j,k,

Hideaki Nakayama c, Yasuyuki Nasuhara l, Yoshiko Tsuchihashi, Chinatsu Kaneko a, Hiroko Kanazawa a, Masahito Ebina n, Etsuro Yamaguchi, Jacqueline Kirchner, Yoshikazu Inoue, Koh Nakata, Ryushi Tazawa  
Direct evidence that GM-CSF inhalation improves lung clearance in pulmonary alveolar proteinosis *Respiratory Medicine* in press

#### 著書

1. 垣下榮三, (34人略) 中田光, (72人略) 吉矢和久. T. 肺胞タンパク症, 疾病と治療 I, 南江堂, 2010, 96
2. 2. Trapnell BC, Nakata K, Kavuru M, Pulmonary Alveolar Proteinosis, Murray & Nadel's Textbook of Respiratory Medicine, 2010, 63, 1516-36
3. 3. 安保徹, (18人略) 中田光, (5人略) 渡辺雅人. 病態のしくみがわかる免疫学. 8. 肺疾患 P.176-18. 株式会社 医学書院. 2010年10月
4. 4. 藤田次郎, 久保恵嗣, (69人略) 中田光, (3人略) 岸本卓巳. 間質性肺疾患 診療マニュアル. IV 間質性肺疾患の病態と治療マニュアル E. 肉芽腫形成性疾患・その他の間質性肺疾患 6, 肺胞蛋白症 (PAP) P.309-311. 株式会社 南江堂. 2010年10月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

# 自己抗体価は何故病勢に相関しないのか？

新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター

研究分担者 中田 光、田澤立之

研究協力者 根井貴仁、金子千夏、元井奈都紀、浦野慎也

## はじめに

自己免疫性肺胞蛋白症の GM-CSF 自己抗体説の隘路は、井上疫学論文で示されたように、病勢と抗体価が相関しないことである。一方、血清 KL-6 や CEA は、AaDO<sub>2</sub> と中等度の相関性を示す。この原因は、自己抗体の性状（抗体価、親和性、特異性）が患者毎にことなるため、抗体価のみでは病勢が決まらることにあると考えられる。そこで、3年以上経過を観察した患者で寛解に入った患者 15 名、非寛解の 25 名を対象として、自己抗体の性状を横断的及び縦断的に検討した。横断的に PaO<sub>2</sub> あるいは、AaDO<sub>2</sub> と抗体の properties の相関を調べると、それらと相関があったのは、軽鎖比のみであった。つまり、重症者ほど、λ 鎖の割合が高くなった。一方、重鎖の抗体価は、どのアイソタイプも重症度と相関がなかった。avidity と IgG-GMAB 抗体量に相関があり、抗体産生の亢進と親和性成熟の間に相関が示唆された。縦断的に重症度と抗体価の間の相関をみると、IgG-, IgA 型自己抗体価は、寛解した患者で有意に低下した。しかし、IgM 型は不変だった。抗体の avidity は経過中変化がなかった。しかし、ウシ GM に対する反応性を指標とした特異性は経過中、低下することがわかった。

## A. 研究の背景と目的

### ①背景

自己免疫性肺胞蛋白症の病因に関する研究は、1999 年の GM-CSF 自己抗体の発見から、223 例の井上疫学研究を経て、Trapnell らによる自己抗体輸注によるカ

ニクイザルモデルの成功により確立された。しかし、井上疫学研究は、本抗体価が病勢とは全く相関しないことを示していた。一方、同時にはかられた血清マーカーの KL-6,CEA,SP-A などの値は、AaDO<sub>2</sub> 及び重症度と中等度の相関を示す。このことは、濃度ばかりでなく、GM-CSF 自己抗体の他の性質（親和性やエピトープなど）が病勢の決定には関与しているものと思われた。

### ②目的

GM-CSF 自己抗体をカニクイザルに輸注することにより肺胞蛋白症を発症することから、GM-CSF 自己抗体は一義的に病因である。しかし、濃度は、病勢を反映しないことから、抗体の他の性質、親和性、エピトープ（特異性）が複合的に病勢に絡んでいるという仮説を立てた。このことを証明するために、3年以上経過を経過を追跡した 38 例の自己免疫性肺胞蛋白症について観察開始時と終了時の自己抗体のアイソタイプ別抗体価、avidity, bovine GM-CSF に対する結合を human GM-CSF と比較した specificity を①横断的 ②縦断的に調べた。

## B. 研究方法と結果

### 【方法】

対象は、3年以上経過した自己免疫性肺胞蛋白症患者38例である。経過観察後に重症度が1で、HRCT上GGOが全肺野の5%未満であるものを寛解に入ったと定義すると、15例が寛解症例（R群）、23例が非寛解症例（N群）であった。性別に有意差なく、両群でどちらも正規性が保持できているデータは年齢のみでした。しかし