

高分解能CTによる Usual Interstitial Pneumonia と Nonspecific Interstitial Pneumonia の鑑別： 外科的生検診断例114例での検討

上甲 剛*

外科的生検で診断された usual interstitial pneumonia (UIP) と nonspecific interstitial pneumonia (NSIP) において、病理診断、予後との関連から両者のCT所見の異同を検討した。あわせて、診断を2011 ATS-ERS-JRS-ALAT IPF guide lineに準じ、a. UIP, b. possible UIP, c. possible NSIP, D. NSIP and E. Unclassified. 分類した。CT所見は病理診断と予後と比較検討された。pathological NSIPの内、29例(81%)が radiological NSIP(81%)、6例(19%)が radiological UIPであった。病理診断との対比では、61例の radiological UIPのうち、6例のみが pathological NSIP (9.8%)であったが、一方52例の radiological NSIPのうち19例が pathological UIP (36.5%)であった。possible NSIPとNSIPの生存期間はよりも優位に長かった($p=0.028$, 0.016)。しかしながらUIPとpossible UIPとの間には生存期間に差がなかった($p=0.65$)。多変量解析よりCT所見では、牽引性気管支拡張を伴う浸潤影、蜂巢肺、小葉内網状影、非対称分布が予後の予測因子となっていた (Odds ratios: 1.11, 1.27, 1.11 and 4.44, respectively)。病理診断UIPは様々なCT patternを示すが、病理診断NSIPはCT patternの多彩さは乏しい。UIPとNSIPの画像での鑑別は予後と相関する。

A. 研究目的

以前我々は、IPF/UIPのCT像は多彩でほぼNSIPに酷似するものまで存在することを示したが、その一方病理診断がUIPであれば、予後はどのような画像を示しても同一で、不良であることも明らかにした(Sumikawa H, et al. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 177(4): 433-439).

一方NSIPのCT像の検討は古くからなされているが、CT像のスペクトラムはいまだ明らかにはなっていない。さらにその画像pattern毎の予後の違いは未だ不明確である。またさらに、UIPとNSIPとの間のCTでの鑑別の意義も今少し明確にする必要がある。

そこで、本研究の目的は病理診断、予後との関連からNSIPとUIPのCT所見の異同を検討することである。

B. 研究方法

1989年12月より2006年11月までに参加4施設で認められた、外科的生検後2名の病理医の合意が得られさらに、臨床、画像、病理総合診断がなされた75例のUIPと39例のNSIPを対象とした。79例は男性で、35例は女性であった。平均年齢は61歳であっ

た(分布 25-86歳)。40例は喫煙者、28例は過去喫煙者であり、残り46例は非喫煙者であった。

様々なCT装置で全例高分解能CTが撮像された。CT撮影から生検までの期間は、35日(分布:1-411日)であった。評価は肺野条件(window level from -600 to -700 HU; window width from 1200 to 1500 HU)で行った。2名の胸部放射線診断専門医からなる2グループが、様々なCT所見の存在、広がり、分布を評価した。4名の放射線科医の経験年数は、おのおの22,20,17,9年であった。あわせて、診断を2011 ATS-ERS-JRS-ALAT IPF guide lineに準じ、a. UIP, b. possible UIP, c. possible NSIP, D. NSIP and E. Unclassified. に分類した(図1, 2)。不一致症例は合議により決定した。CT所見は病理診断と予後と比較検討された。

存在と広がりを検討したCT所見は、spared area, ground-glass attenuation with and without traction bronchiectasis, air-space consolidation, honeycombing, intralobular reticular opacities, emphysema, cysts, traction bronchiectasis, subpleural spared lesion, upper lobe subpleural irregular lines spared area, ground-glass attenuation with and without traction bronchiectasis, air-space consolidation, honeycombing, intralobular reticular opacities, emphysema, cysts, traction bronchiectasis, subpleural spared lesion, upper lobe subpleural irregular

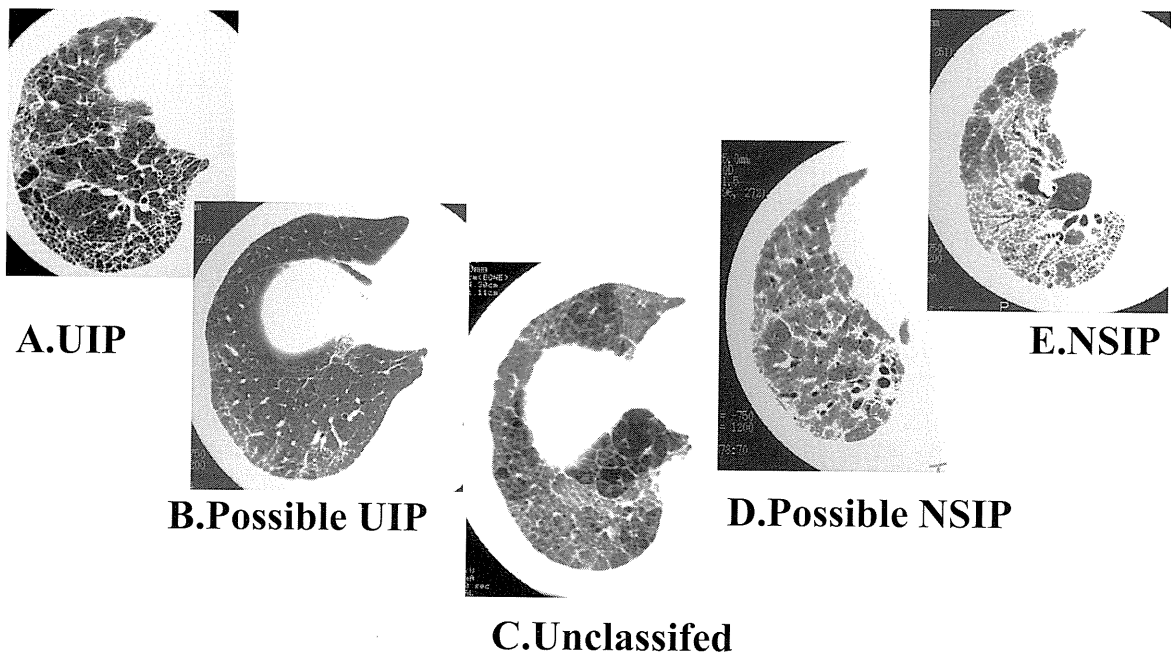


図1 2011 IPF guide lineに準じたCT分類: pathological UIP

lines であった。肺野は左右、上中下の6領域に分けて検討し、気管分岐部、右下肺静脈流入部を境界とした。各所見の広がりには6領域毎に10%刻みで記載し、各所見の広がりスコアは6領域の平均を用いた。

牽引性気管支拡張は下記の様にスコア化された。：0, none; 1, bronchial dilatation involving bronchi distal to the fifth generation; 2, bronchial dilatation involving fourth generation bronchi; 3, bronchial dilatation involving bronchi proximal to the third generation bronchi. 牽引性気管支拡張の広がりはその及ぶ区域数を用いた。また線維化の程度を下記の様に分類した；0, none; 1, ground-glass attenuation without reticulation; 2, ground-glass and fine reticular opacity; 3, reticular opacity and microcysts less than 3 mm; 4, coarse reticular opacity and large cysts more than 3 mm.

統計解析は市販の software (SPSS 18.0, 2009, SPSS Inc., Chicago, USA) を用いて行なった。各読影グループ間の再現性は Spearman の順位相関係数と Kappa 検定を用いた。CT 所見と病理診断との関係は単変量解析と多変量解析により検討した。CT 所見に広がり差の差異は Mann-Whitney U 検定で、病変分布と CT 診断は、Fischer's exact test で検討した。CT 診断と予後との関係の検討には Kaplan-Myer の生存曲線を用いた。

(倫理面の配慮)

個人情報完全に匿名化された、画像情報、文字

情報のみを検討に使用した。また生体材料は一切検討に使用しなかった。

C. 研究結果

読影者間の一致率は $\kappa = 0.313$ で、 $r = 0.13 - 0.79$, $p < 0.001$ to 0.19) ($p < 0.001$) で評価に値するものであった。

25例はUIP, 36例はUIP, 39例はpossible NSIP, 13例はNSIP, 残り1例はunclassifiedと分類された。pathological NSIPの内、29例(81%)がradiological NSIP(81%), 6例(19%)がradiological UIPであった。

病理診断との対比では、61例のradiological UIPのうち、6例のみがpathological NSIP(9.8%)であったが、一方52例のradiological NSIPのうち19例がpathological UIP(36.5%)であった。

CT診断でのUIP, possible UIP, possible NSIP, NSIPの平均生存期間は各2527, 2328, 2870, 3182日だった。possible NSIPとNSIPの生存期間はよりも優位に長かった($p=0.028, 0.016$)。しかしながらUIPとpossible UIPとの間には生存期間に差がなかった($p=0.65$)。

多変量解析よりCT所見では、牽引性気管支拡張を伴う浸潤影、蜂巣肺、小葉内網状影、非対称分布が予後の予測因子となっていた (Odds ratios: 1.11, 1.27, 1.11 and 4.44, respectively)。

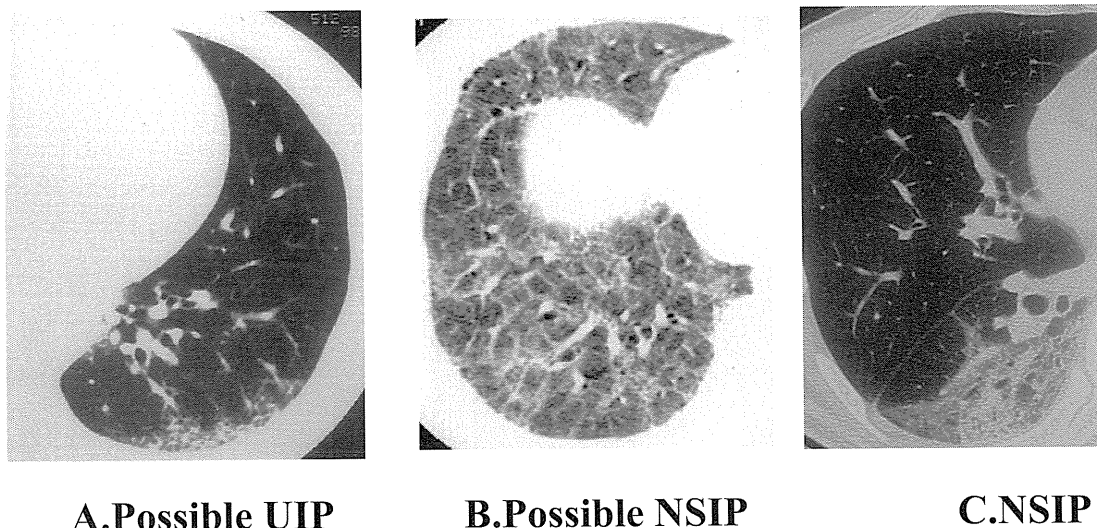


図2 2011 IPF guide line に準じた CT 分類：Pathological NSIP

D. 考察

以前我々は、IPF/UIPのCT像は多彩でほぼNSIPに酷似するものまで存在することを示したが、その一方病理診断がUIPであれば、予後はどのような画像を示しても同一で、不良であることも明らかにした(Sumikawa H, et al. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 177(4): 433-439)。今回の検討では、対照的にNSIPのCT patternはUIPに比べて多彩では無いことが判明した。このことは、CT像でIPF/UIPの典型例をみれば、IPF/UIPと診断すればよく、一方CT像でNSIP patternを見てもNSIPと診断するのみでなく、UIPである可能性も考慮すべきであることを示している。

一方CT所見でUIPとNSIPにpattern分けした時、病理診断に関わらず前者が、後者よりも予後がよくなることは、CT所見の病理診断よりの優越性を示唆するが、その真偽に関しては今後一層の検討が必

要と考えられる。

E. 結論

病理診断UIPは様々なCT patternを示すが、病理診断NSIPはCT patternの多彩さは乏しい。UIPとNSIPの画像での鑑別は予後と相関する。

F. 研究発表

第72回日本医学放射線学会(平成24年4月12日—14日、横浜市)に発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

症例対象研究であり、知財は発生せず、従って出願の予定はない。

肺胞上皮マーカーと胸部HRCT上の気腫化と 間質性変化と肺機能の研究

横山 彰仁^{1*} 穴吹 和貴¹ 山根 高¹ 塩田 直樹¹
濱田 典彦² 大西 広志¹ 窪田 哲也¹

【背景】CPFEは近年注目されている病態であるが、その初期像については不明な点が多い。

【目的】肺気腫・COPDの側から合併する間質性肺炎を検討することを目的とし、放射線科専門医による画像診断と、肺胞上皮マーカーのそれぞれの一致率や有用性を検討した。また、肺気腫・COPDにおいて、肺胞上皮細胞の減少を反映して、血清マーカーが減少しているか検討した。

【方法】当院通院中の肺気腫・COPD患者46名に対して、肺機能検査、血清KL-6、SP-A、SP-Dを測定した。胸部HRCT上の気腫化(Goddard score)と間質性変化(interstitial lung disease(ILD) score)を放射線科専門医が評価し、各種パラメーターとの関係を検討した。

【結果】対象の肺気腫・COPD患者において、12/46(26%)と高率に画像的間質性肺疾患を認め、血清マーカーではKL-6、SP-A、SP-Dそれぞれ10例(22%)、24例(52%)、7例(15%)で基準値を超えていたが、画像による判定とマーカーによる判定には大きな差異があり、一致率は低値であった。重喫煙者において画像的に認めることがあるスリガラス影の存在や気腫性変化の強い症例において間質性陰影の画像的評価が非常に困難であることが影響していると考えられる。また、肺気腫においては、上皮マーカーの産生細胞が著しく減少していると考えられるが、血清中の肺胞上皮マーカーと胸部HRCT上の気腫の程度には、明らかな間質性陰影を伴った症例を除いても相関を認めなかった。

【今後の展望】症例の画像、肺機能、血清マーカーの変化などを経過観察し、特に①画像的に間質性肺炎がない症例で、血清マーカーが高値の例、②画像が陽性で血清マーカーも陽性の例と陰性の例で経過に差があるのか、などを検討していく。

¹ 高知大学医学部血液・呼吸器内科

² 高知大学医学部放射線科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

A. 研究目的

CPFEは近年注目されている病態であるが、その初期像については不明な点が多い。本研究では、肺気腫・COPDの側から合併する間質性肺炎を考えた。間質性肺炎が合併しているかどうかの診断は通常画像的に行われるが、KL-6, surfactant protein-A(SP-A), SP-Dなども診断補助マーカーとして有用である¹。そこで、肺気腫・COPDへの間質性肺炎合併例を放射線科専門医による画像診断と、肺胞上皮マーカーによって同定し、それぞれの一致率や有用性を検討した。また、肺気腫においては肺胞細胞数が減少していることが報告されており^{2,3}、肺気腫・COPDでは、肺胞上皮細胞の減少を反映して、血清マーカーが減少している可能性があり、合わせて検討を行った。

B. 研究方法

本研究では、2009年2月から2011年12月までに高知大学医学部呼吸器内科に通院した肺気腫・COPD患者で、胸部HRCT、肺機能検査が施行されている46名を対象に、血清マーカーKL-6, SP-A, SP-Dを測定した。また、同施設放射線科専門医が各患者の胸部HRCTに対してGoddard scoreとILD scoreを評価し、血清マーカーなど各種パラメーターとの関係を検討した。Goddard scoreは左右それぞれ上・中・下肺野の計6部位について、肺気腫病変の程度を5段階(0-4)に分類し、その合計で評価した(0点：肺気腫病変なし1点：肺気腫病変が全肺野の25%未満2点：全肺野の25%以上50%未満3点：全肺野の50%以上75%未満4点：全肺野の75%以上)⁴。ILD scoreは0：normal 1：equivocal ILD 2：highly suspicious ILD 3：classic ILDとして評価した⁵。

(倫理面への配慮)

高知大学医学部倫理委員会にて承認済みである。

C. 研究結果

表1に示すように、対象の肺気腫・COPD患者において、ILD score 2(highly suspicious)以上で陽性をとると、12/46(26%)と高率に画像的間質性肺疾患を認めた。血清マーカーではKL-6, SP-A, SP-Dそれぞ

表1 肺気腫・COPDにおける間質性肺炎の頻度

モダリティ	間質性肺炎合併例
画像*	12/46 (26%)
KL-6	10/46 (22%)
SP-A	24/46 (52%)
SP-D	7/46 (15%)

* ILD score ≥ 2

表2 画像的間質性陰影に対する血清マーカーの有用性

	感度	特異度	陽性尤度比
KL-6	0.33	0.78	1.5
SP-A	0.42	0.44	0.75
SP-D	0.17	0.85	1.1

れ10例(22%), 24例(52%), 7例(15%)で基準値を超えていた。

画像的に判断した間質性病変検出における血清マーカーの感度、特異度はKL-6 33.3%, 77.8% SP-A 41.7%, 44.1% SP-D 16.7%, 85.3%であった(表2)。各血清マーカーとILD scoreとの間には有意な相関を認めなかった(図1)。

肺気腫・COPD患者において、KL-6, SP-A, SP-Dと年齢、喫煙歴、肺機能に有意な相関を認めなかったが、各々有意に正相関していた(図2)。血清マーカーと胸部HRCT上の気腫の程度には有意な相関はなく、明らかな間質性陰影を伴った症例を除いた、ILD score < 2 の34例のみで検討してみても相関は認めなかった。

D. 考察

対象の肺気腫・COPD患者において、画像的な間質性肺炎は26%と高率に認められ、SP-Aは非特異的であるため除外したとしても、KL-6やSP-Dで判定すると15-22%で間質性肺炎の合併が疑われた。また、画像による判定とマーカーによる判定には大きな差異があり、一致率は低値であった。

重喫煙者において画像的にスリガラス影を見るが、こうした例では通常血清マーカーは上昇しておらず、また気腫性変化の強い症例においては間質性陰影の画像的評価が非常に困難であることが影響し

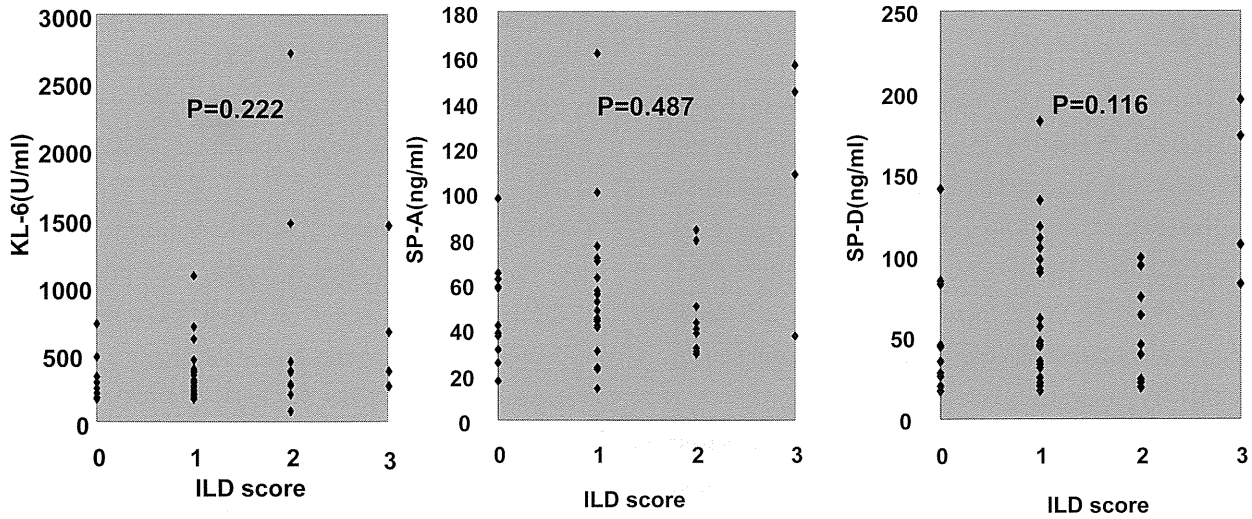


図1 血清マーカーとILD scoreの相関
Kruskal Wallis

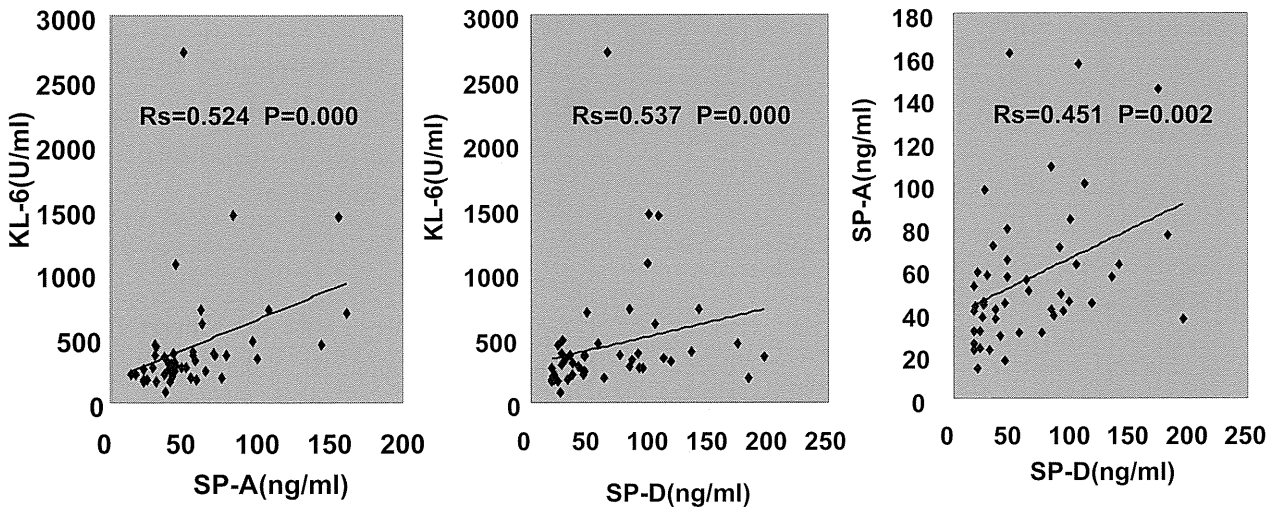


図2 血清マーカーの相関
Spearman's rank correlation coefficient

ているのではないかと考えられる。

今後、これらの症例の画像、肺機能、血清マーカーの変化などを経過観察し、特に①画像的に間質性肺炎がない症例で、血清マーカーが高値の例、②画像が陽性で血清マーカーも陽性の例と陰性の例で経過に差があるのか、などを検討していく必要がある。

また、気腫においては血清マーカーの産生細胞が減少していると示唆されるが、結果として間質性肺炎合併例を疑われる症例を除いたとしても、気腫の程度と血清マーカーの値に有意な相関を認めなかった。肺切除後に血中KL-6は低下するが、約1ヶ月で前値に近づくという過去の報告からは、代償的な機

序が存在するものと考えられる。この点、今後病理学的な検討が必要であろう。

E. 結論

肺気腫・COPD患者においては間質性肺炎の合併が高く、さらなる病態の解析が必要である。また血清マーカーと気腫の程度は相関を認めず、代償機序の存在が示唆された。

参考文献

- 1) Ohnishi H, et al: Comparative study of KL-6, Surfactant Protein-A, Surfactant Protein-D, and Monocyte Chemoattractant Protein-1 as serum markers for Interstitial Lung Diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:378-81.
 - 2) Yokohori N, et al: Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 2004;125:626-32.
 - 3) Calabrese F, et al: Marked alveolar apoptosis/proliferation imbalance in end-stage emphysema. *Respir Res* 2005;6:14.
 - 4) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン 第2版
 - 5) Washko GR, et al: Lung volumes and emphysema in smokers with Interstitial Lung Abnormalities. *Acad Radiol* 2010;17:48-53.
 4. Doi M, Hattori N, Yokoyama A, Onari Y, Kanehara M, Masuda K, Tonda T, Ohtaki M, Kohno N. Effect of mustard gas exposure on incidence of lung cancer: a longitudinal study. *Am J Epidemiol* 2011; 173: 659-666.
 5. Mukaida K, Hattori N, Kondo K, Morita N, Murakami I, Haruta Y, Yokoyama A, Kohno N. A pilot study of the multiherb Kampo medicine bakumondoto for cough in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Phytomedicine* 2011; 18: 625-629.
 6. Miyamoto S, Hattori N, Senoo T, Onari Y, Iwamoto H, Kanehara M, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Yokoyama A, Kohno N. Intra-airway administration of small interfering RNA targeting Plasminogen Activator Inhibitor-1 attenuates allergic asthma in mice. *Am J Physiol Lung Cell Moll Physiol* 2011; 301: 908-916.
 7. Shiota N, Yokoyama A, Haruta Y, Hattori N, Kohno N. Association of airway inflammation with asthma control level evaluated by the asthma control test. *J Asthma* 2011; 48: 907-913.
2. 学会発表
国際学会(2件)
1. Sakai M, Kubota T, Isaka M, Yamane T, Shiota N, Ohnishi H, Iwamoto H, Yokoyama A. Lung injury model using human MUC1 transgenic mice. *ATS 2011 Denver International Conference*, 2011.5.14, HYATT REGENCY, Denver.
 2. Yamane T, Yokoyama A, Kitahara Y, Hattori N, Yamane K, Hara H, Kohno N. Lung function is inversely related to the incidence of prediabetes. *European Respiratory Society Annual Congress*, 2011.9.26, Amsterdam RAI Amsterdam.
- ## F. 健康危険情報
- 観察研究であり, 特になし
- ## G. 研究発表
1. 論文発表
 1. Nakashima T, Yokoyama A, Ohnishi H, Yamasaki M, Shiode M, Haruta Y, Hattori N, Hozawa S, Yamakido H, Kohno N. Chronic Hepatitis C virus infection is associated with more severe asthma. *Allergol Int* 2011; 60: 299-304.
 2. Ishikawa N, Hattori N, Tanaka S, Horimasu Y, Haruta Y, Yokoyama A, Kohno N, Kinnula VL. Levels of Surfactant Proteins A and D and KL-6 are elevated in the induced sputum of Chronic Obstructive Pulmonary Disease patients: A sequential sputum analysis. *Respiration* 2011; 82:10-18.
 3. Kawase S, Hattori N, Ishikawa N, Horimasu Y, Fujitaka K, Furonaka O, Isobe T, Miyoshi S, Hamada H, Yamane T, Yokoyama A, Kohno N. Change in serum KL-6 level from baseline is useful for predicting life-threatening EGFR-TKIs induced interstitial lung disease. *Respir Res* 2011; 12: 97.
- ## 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

間質性肺炎における診断標準化に関する研究

研究協力者 福岡順也 富山大学附属病院 外科病理講座教授

びまん性肺疾患における病理診断には不一致が多い傾向が見られたが、その中にはいくつかの異なるグループが有ることを見出した。大きく4つに分けられたグループ間には診断の傾向に差異がみられた。4グループの中で、クラスターAとしたグループの診断が予後との相関を示し、一致率も高かった。クラスターAによりUIPとNSIPに共通して診断された症例を教育症例とし、ウェブ公開を行った。

A. 研究目的

慢性間質性肺炎の診断標準化にむけて推奨される診断の決定と教育マテリアルのウェブ公開を行う

B. 研究方法

公立陶生病院にて2009年度に施行された間質性肺炎を疑う症例に対する外科的肺生検連続症例より、線維化性間質性肺炎の所見を有する連続症例20症例を使用。各症例に対し、生検にて得た全てのHE染色切片、1切片以上のEvG染色切片を用意。

4名のATS/ERS コアメンバーおよびレビューボード、8名の北米及びヨーロッパの呼吸器病理医、10名の日本人呼吸器病理医、7名の一般病理専門医、計29名の国内外パネリストを選出。組織診断を行っ

た。診断に基づきクラスター解析を行い、診断者をグループ分けした。グループ間で過半数を有する診断をコンセンサスとし、UIPパターンとNSIPパターンが患者予後を反映するか否かを検討した。

予後には呼吸機能の%VCの低下もしくは改善(10%以上)と%DLcoの低下もしくは改善(15%以上)を使用した。10%の低下が有るものをイベント有りとして、無増悪生存解析を行い、生存曲線をプロットした。

クラスターごとの一致率を検討し、 κ 値を算出した。

C. 研究結果

29名の診断に基づき、JMPを使用して階層クラスター解析をおこない、Ward法にて距離を定義し、29名をグループに分けた。その結果、図1の如く4

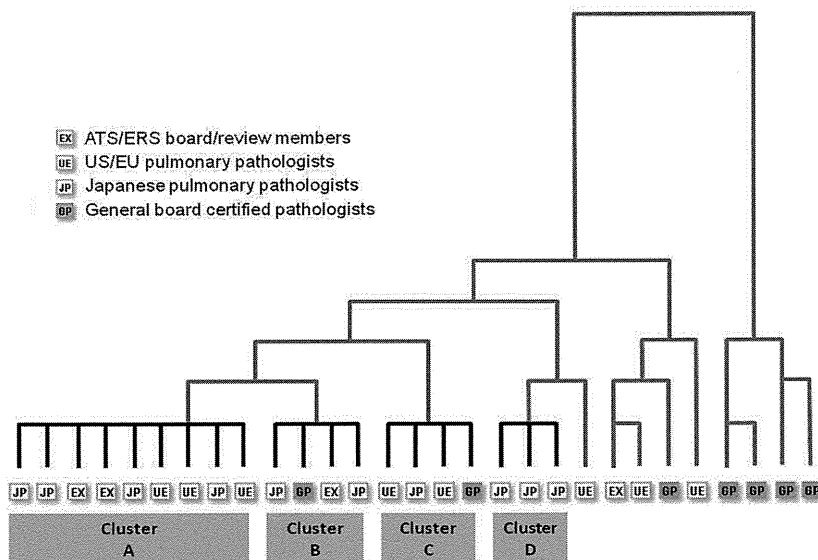


図1 29名のパネリストの診断に基づくクラスター解析結果
4つのクラスターに分別された全パネルにおける全症例のツリー。クラスターAが最大のクラスターで、地域に差は無い。クラスターDは日本の病理医のみより構成される。一般病理(GP)は多くがクラスター外に位置した。

表1 クラスターごとの診断と呼吸機能との相関

	NSIP		UIP		P value (Fisher)	Agreement (Kappa)
	Improved	Declined	Improved	Declined		
Cluster A	3.44±1.2	0.22±0.4	2.33±0.7	6.89±0.8	0.045	0.52
	(2.67±0.5)	(0.89±0.3)	(0.22±0.4)	(6.78±0.9)	(0.024)	
Cluster B	2.75±1.8	0.75±1.2	2±1.5	6.25±2.8	0.15	0.25
	(2.25±1.2)	(1.25±0.8)	(1.00±0.9)	(6.5±2.2)	(0.15)	
Cluster C	1.25±1.0	0±0.5	2.25±0.6	6.5±2.1	0.3	0.16
	(0.75±1.2)	(1.25±0.8)	(0.00±0.9)	(6.50±2.0)	(0.22)	
Cluster D	5.67±2.4	4.67±2.8	0.67±0.8	2.33±2.7	0.5	0.00
	(3.33±1.4)	(0.33±0.9)	(5.00±2.6)	(2.33±2.5)	(0.30)	

括弧内は特発性症例のみでのデータ。

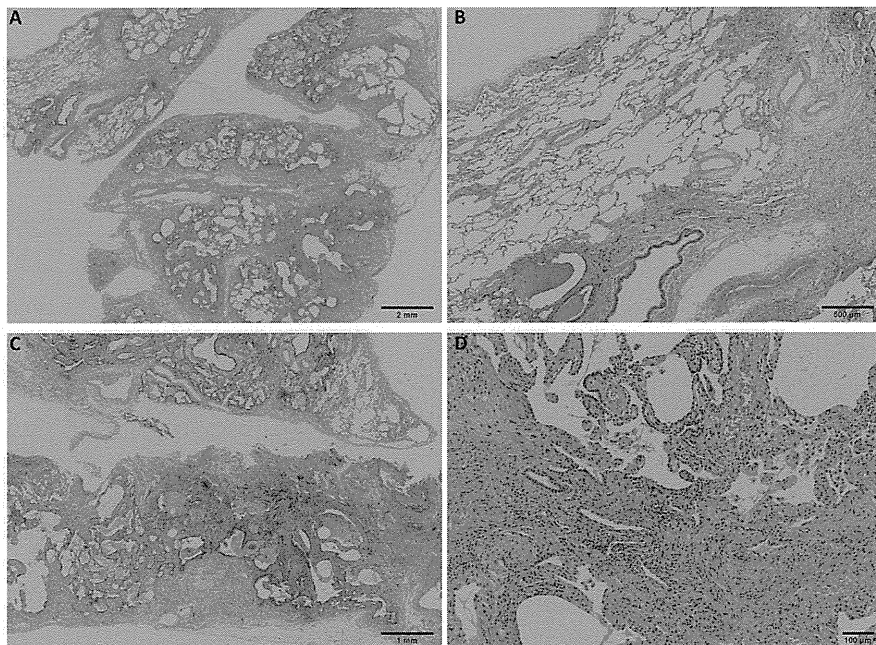


図4 クラスター Aにより UIP と診断された症例

行った。その結果、クラスター A の診断が現時点では最も予後を規定する事が判明した。クラスター A 間では、0.52 の κ 値を得ており、実際臨床への応用は可能であろうと判断した。クラスター A で全員が UIP とした症例、および全員が NSIP とした症例について、教育症例としてバーチャルスライドをウェブ公開している。(http://202.251.151.22 ID;

guest01 password: 1234)

共通して UIP とされた症例を図4に、NSIP とされた症例を図5に提示する。

E. 結論

慢性間質性肺炎の病理診断はいくつかのグループ

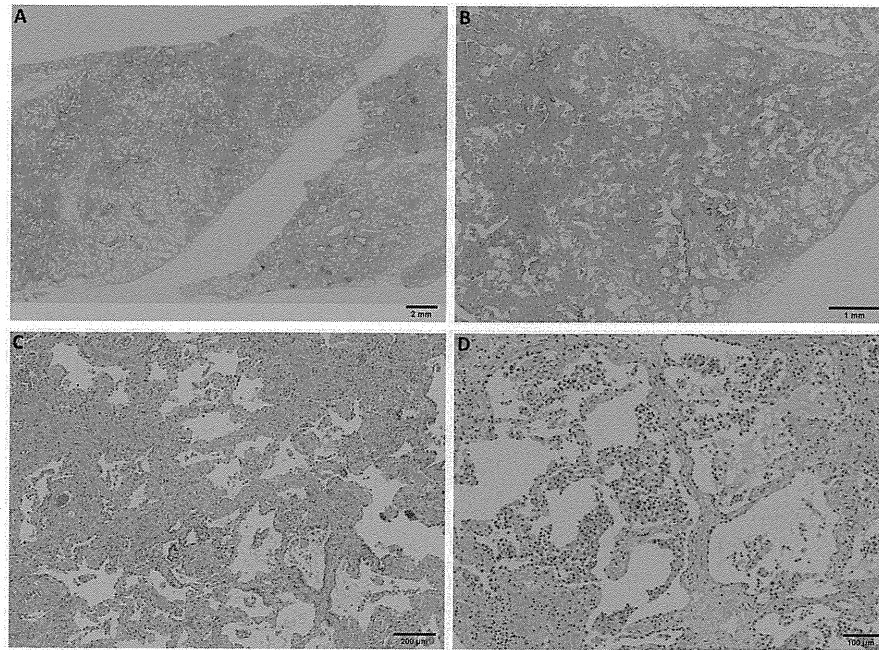


図5 クラスタ A により NSIP と診断された症例

に分かれたが、予後を最も規定するグループの特定が可能であった。教育症例をウェブにて公開した。

G. 研究発表

論文発表

1. Mukhopadhyay S, Farver CF, Vaszar LT, Dempsey OJ, Popper HH, Mani H, Capelozzi VL, Fukuoka J, Kerr KM, Zeren EH, Iyer VK, Tanaka T, Narde I, Nomikos A, Gumurdulu D, Arava S, Zander DS, Tazelaar HD. Causes of pulmonary granulomas: a retrospective study of 500 cases from seven countries. *J Clin Pathol*. 2012 Jan;65(1):51-7. Epub 2011 Oct 19.
2. 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 Sjögren's syndrome: clinico-pathological correlations. *Respir Med*, Dec;105(12):1931-1938.
3. Sumikawa H, Johkoh T, Fujimoto K, Ichikado K, Colby TV, Fukuoka J, Taniguchi H, Kondoh Y, Kataoka K, Yanagawa M, Koyama M, Honda O, Tomiyama N : Usual interstitial pneumonia and nonspecific interstitial pneumonia: Correlation between CT findings at the site of biopsy with pathological diagnoses. *Eur J Radiol*, Dec;12, 2011.

4. Shoko Matsui ,Hirofumi Taki , Koichiro Shinoda ,Kensuke Suzuki , Ryuji Hayashi, Kazuyuki Tobe,Yoshiharu Tokimitsu , Masayuki Ishida ,Hiroaki Fushiki Hikaru Seto , Junya Fukuoka , Shin Ishizawa: Respiratory involvement in IgG4-related Mikulicz' s disease. *Mod Rheumatol*, Aug;3, 2011.

5. S. Ono, T. Tanaka, M. Ishida, A. Kinoshita, J Fukuoka, M. Takaki, N. Sakamoto, Y. Ishimatsu, S. Kohno, T. Hayashi, M. Senba, M. Yasunami, Y. Kubo, L. M. Yoshida, H. Kubo, K. Ariyoshi, K. Yoshiura, K. Morimoto.: Surfactant protein C G100S mutation causes familial pulmonary fibrosis in Japanese kindred. *European Respiratory Journal*, Oct;38(4):861-869, 2011.

学会発表

1. M Saito, T Tanaka, M Tominaga, Y Kashima, S Nunomura, K Kataoka, Y Kondoh, H Taniguchi, J Fukuoka : Bronchoalveolar Lavage Findings Corresponding to Histopathology. *ATS 2011 International Conference*, 2011, 5, 13- 18, Denver, Colorado, USA.
2. Matsui S, Ichikawa T, Suzuki K, Yamada T, Miwa T, Hayashi R, Tobe K, Fukuoka J, Ishizawa S, Japan IgG4 Research Group. : Respiratory involvement of IgG4-related disease. *ATS 2011 International*

- Conference, 2011, 5, 13- 18, Denver, Colorado, USA.
3. J Fukuoka : Application of digital pathology to create pathology assisting software to standardize the diagnosis of interstitial pneumonia, 1st Congress of International Academy of Digital Pathology. 2011, 8, 3-5, Quebec, Canada.
 4. Tanaka T, Otani K, Taniguchi H, Kondoh Y, Kataoka K, Fukuoka J : MPO-ANCA related Interstitial Pneumonia : A Novel Entity? . 2011 PPS Biennial Meeting, 2011, 8, 18-20, New York City, USA.
 5. Fukuoka J , Saito M, Tanaka T, Origasa H, Tominaga M, Kashima Y, Nunomura S, Otani K, Kataoka K, Kondoh Y, Taniguchi H : Bronchoalveolar lavage findings corresponding to histopathology in ILD. 2011 PPS Biennial Meeting, 2011, 8, 18-20, New York City, USA.
 6. Fukuoka J, Egashira R, Tanaka T, Saito M, Origasa H, Kataoka K, Kondoh Y, Taniguchi H : Pathological UIP and NSIP to Predict Disease Progression. Suggested Direction to Standardize Pathological Diagnosis. 2011 PPS Biennial Meeting, 2011, 8, 18-20, New York City.
 7. S Matsui, K Shinoda, H Taki, T Yamada, K Tobe, Isuida M, J Fukuoka, S Ishizawa, Y Masaki, H Umehara. Allergic findings in IgG4-related disease. The 8th Asia Pacific Congress of Allergy, Asthma and Clinical Immunology, 2010, 11, 6-9 Singapore.
 8. S. Mukhopadhyay, C. Farver, L. Vaszar, O. Dempsey, H. Popper, H. Mani, V. Capelozzi, J Fukuoka, K. Kerr, E. H. Zeren, V. Iyer, T. Tanaka, I. Narde, A. Nomikos, D. Gumurdulu, S. Arava, D. Zander, H. Tazelaar. Causes of Granulomatous Inflammation in Lung Biopsies and Resections from Diverse Geographic Settings: An International, Multi-Institution. Retrospective Study of 500 Cases.
 9. Sumikawa H, Johkoh T, T Colby, Fujimoto K, Arakawa H, Tomiyama N, Taniguchi H, Kondo Y, Kataoka K, Ogura T, Baba T, Fukuoka J, Ichikado K, Kawata Y, Gyobu T, Yanagawa M, Koyama M, Honda O : Difference of High-Resolution CT Findings between Usual Interstitial Pneumonia and Nonspecific Interstitial Pneumonia: Correlation with Pathological Diagnosis and Prognosis in 114 Patients. RSNA 97th Scientific Assembly and Annual Meeting, 2011, 11, 27- 12, 2, Chicago, Illinois, USA.
 10. Sumikawa H, Fukuoka J, Tanaka T, Fujimoto J, Kondo Y, Taniguchi H, Ichikado K, Tomiyama N, Sakai F, Kusumoto M, Arakawa H : Diffuse alveolar damage : CT-pathologic correlation, disease spectrum, and diagnostic tips. RSNA 97th Scientific Assembly and Annual Meeting, 2011, 11, 27- 12, 2, Chicago, Illinois, USA.

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願
 病理学的診断を支援する方法およびシステム
 福岡順也 2011/8/3 特願2011-169661

Multiplex PCR を用いた特発性肺線維症(IPF)急性増悪における 呼吸器感染ウイルス関与の検討

知花 和行 塩原 太一 武政 聡浩 石井 芳樹*

【背景】 IPF 急性増悪の原因を確定することは困難なことが多い。いわゆる風邪症候群などの上気道ウイルス感染が種々の呼吸器疾患増悪のトリガーとなっていると考えられ、IPF の急性増悪時にも上気道感染の先行する例がみられるが実態は明らかでない。

【目的】 IPF 急性増悪時の呼吸器感染ウイルスの検出頻度を調査し、喘息発作、COPD 急性増悪などとの頻度を比較検討した。

【方法】 IPF 急性増悪、喘息発作、COPD 急性増悪、肺炎によって救急外来受診もしくは入院となった 98 例に対し鼻咽頭粘液をスワブで採取。Extragen II で DNA/RNA を抽出、Seeplex RV15 OneStep ACE Detection (Seegene) で一般的な呼吸器感染ウイルスを検索した。

【結果】 全検討症例 98 例中、ウイルスが検出できたのは 24 例 (24.5%) であった。IPF 急性増悪群 12 例中 1 例 (8.3%) で RSA ウイルスを検出した。喘息発作群において 38 例中 9 例 (23.7%) であり、COPD 群では 16 例中 6 例 (37.5%) であった。また肺炎群は 31 例中 8 例 (25.8%) であった。

【考察】 IPF 急性増悪における一般的な呼吸器感染ウイルス検出頻度は他群と比較し高くはなかった。今後、その他のウイルスの関与など更なる検討が必要である。

【目 的】

特発性肺線維症 (Idiopathic Pulmonary Fibrosis ; IPF) は慢性かつ進行性の肺の線維化をきたす予後不良な疾患である^{1,2)}。わが国の IPF 患者の平均生存期間は初診時を起点として 61 ヶ月と報告されている³⁾。欧米の報告では診断確定後の平均生存期間は 28 ~ 52 ヶ月である⁴⁻⁸⁾。IPF の予後規定因子として肺癌の合併および急性増悪があげられる。IPF では原発性肺癌が高率に合併し、10 年のうちに肺癌を合併する確立は 54.7% であったと報告されており⁹⁾、予後規定因子の 1 つとなっている。一方、急性増悪はさらに重要な予後規定因子であり、急性増悪をきたした症例は予後不良である¹⁰⁾。初回急性増悪例での死亡率は 80%、改善例でも平均 6 ヶ月で死亡している。また、厚生労働省調査での Web 登録の結果では、生存期間中央値は 1.67 ヶ月と報告されている¹¹⁾。

急性増悪の頻度は年間 5-15% 程度発生し^{12,13)}、IPF の進行に伴い、急性増悪の頻度も増すと考えられている¹⁴⁾。急性増悪の定義は「1 カ月以内の経過で、呼吸困難の増強、HRCT 所見で蜂巣肺所見に加え、新たに生じたすりガラス陰影・浸潤影、PaO₂ の低下 (同一条件下で 10mmHg 以上) のすべてがみられる場合」であり、明らかな肺感染症、気胸、悪性腫瘍、肺塞栓や心不全を除外する¹⁵⁾。となっている。

IPF 急性増悪の原因としてステロイドの減量や、手術、BAL などの検査手技、ゲフィチニチブ、エルロチニブ等の肺癌分子標的薬、インターフェロンの使用など原因が推定できる場合もあるが、原因を確定することは困難である。明らかな肺感染症は除外されるが、一般に上気道ウイルス感染は種々の呼吸器疾患増悪のトリガーとなっていると考えられており、IPF 急性増悪時においても上気道感染が先行したと考えられる症例が散見される。しかし、その実態は明らかになっていない。高橋らは、特発性間質性肺炎 (IIP) の急性増悪例において 4 倍以上のウイルス抗体価の上昇もしくは喀痰ウイルス封入体を検討し、ウイルス感染の関与は IIP 急性増悪の 39% に認められたと報告している¹⁶⁾。しかしながら、IIP の急性増悪時にはステロイドパルス療法が施行されることが多く、ペア血清で 4 倍以上上昇しないこともありうると考えられる。また様々なウイルス抗体価

表1 検出可能なウイルス

<i>Respiratory Syncytial virus subtype A</i>
<i>Respiratory Syncytial virus subtype B</i>
<i>Parainfluenza virus 1</i>
<i>Parainfluenza virus 2</i>
<i>Parainfluenza virus 3</i>
<i>Metapneumovirus</i>
<i>Influenza A virus</i>
<i>Influenza B virus</i>
<i>Adenovirus</i>
<i>Bocavirus</i>
<i>Rhinovirus</i>
<i>Coronavirus 229E/NL63</i>
<i>Coronavirus OC43</i>
<i>Parainfluenza virus 4</i>
<i>Enterovirus</i>

をペア検索した場合、検査費用も多額になる。

Multiplex PCR は 1 本の PCR チューブに複数のプライマー対を同時に使用することで、複数の遺伝子領域を同時に増幅する方法である。試薬や機材の節約が可能であり、同時検出による迅速性、サンプルの有効利用できることが利点とされている。近年、Multiplex PCR による呼吸器感染症診断キットが製品化され、市販されている。

これまで、喘息や COPD、IPF の急性増悪および肺炎において網羅的にウイルスの関与を調査し、比較検討した報告はない。今回、我々は IPF 急性増悪時の呼吸器感染ウイルスの検出頻度を Multiplex PCR を用いて調査し、喘息発作、COPD 急性増悪、肺炎の各群との頻度を比較検討した。

【方 法】

2010 年 5 月から 2011 年 12 月までに年 IPF、喘息および COPD の急性増悪、あるいは肺炎によって獨協医科大学救急外来を受診、もしくは呼吸器・アレルギー内科入院となった 98 例に対して、鼻咽頭粘液をスワブで採取した。Extragen II で DNA/RNA を抽出し、Seeplex RV15 OneStep ACE Detection (Seegene) で一般的な呼吸器感染ウイルスを検索した。チップ電気泳動装置として MultiNA202 (島津製作所) を用い、増幅したバンドの濃度が 0.2 ng/ μ L であったものを陽性と判断した。本キットで検出可能なウイルスを表 1 に示す。

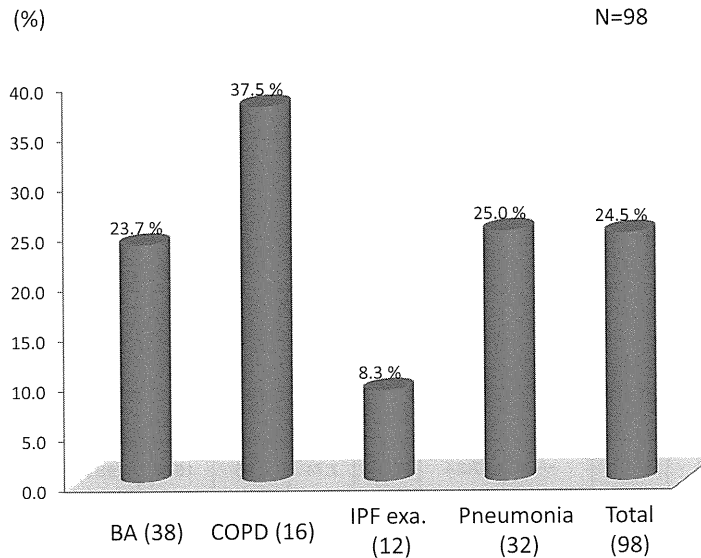


図1 各種呼吸器疾患の急性増悪時にウイルスが検出された頻度

表2 各疾患群で検出されたウイルスの種類と頻度

	Total	Detected	Enterovirus	Metapneumo	PI3	Rhino	RSA	RSB	ND
BA	38	9	0	0	2	7	0	0	29
COPD	16	6	0	1	1	1	1	2	10
IPF	11	1	0	0	0	0	1	0	11
Pneumonia	32	8	2	2	2	1	0	1	24
Total	98	24	2	3	5	9	2	3	74

【結 果】

全検討症例98例中、ウイルスが検出できたのは24例(24.7%)であった。喘息発作、COPD急性増悪、IPF急性増悪、肺炎の各疾患群におけるウイルス検出頻度を図1に示す。喘息発作群において38例中9例(23.7%)であり、COPD群では16例中6例(37.5%)であった。IPF群では、12例中1例(8.3%)のみしか検出されなかった。また肺炎群は32例中8例(25.8%)であった。

各疾患群で検出できたウイルスの内訳を示す(表2)。喘息群ではRhinovirus 7例、Parainfluenza 2例、COPD群ではRSB virusが2例、RSA virus, Rhinovirus, Parainfluenza 3, Metapneumovirusが各1例ずつ認められた。IPF群ではRSA virusが1例のみで検出された。肺炎群においてはEnterovirus, Metapneumovirus,

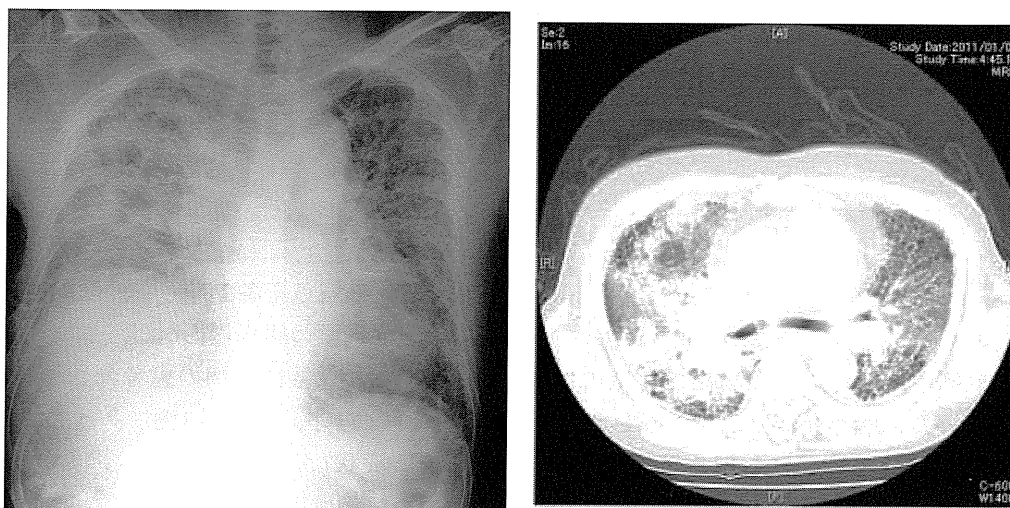
Parainfluenza 3を各2例ずつ認め、Rhinovirus, RSB virusを1例ずつ認められた。

IPF急性増悪12症例の患者背景を示す(表3)。平均年齢は74才、男性が9例であった。先行する上気道感染症状(鼻汁、鼻炎および咽頭痛)を明らかに認めた症例は4例のみであった。これらの症例については入院の10-14日前に症状が出現しており、その後徐々に悪化していた。しかし、これら4例からはウイルスは検出できなかった。平均白血球数は11500/ul、CRPは7.3mg/dLであった。プロカルシトニン(PCT)は0.07 pg/mlであり、KL-6は1253U/mlであった。4例が人工呼吸管理となり、5例が死亡している。IPF急性増悪12例中1例のみRSA virusを検出した。本症例の胸部X線写真および、胸部CTを提示する(図2)。症例は76才、女性。IPFの診断で当科外来にて通院加療中であった。2011年1月7

表3 IPF急性増悪12症例の患者背景

	Age	gender	URI symptoms	Multiplex PCR	WBC	CRP	PCT	KL-6	PaO ₂ /FiO ₂	Prognosis	Intubation
Case 1	76	M	+	ND	11200	6.42	0.05	1200	57.4	S	Y
Case 2	73	M	+	ND	6300	4.69		606	211.2	D	N
Case 3	71	M	+	ND	14900	6.97	0.11	1640	227.6	D	N
Case 4	76	M	+	ND	11900	7.83	0.06	1250	134.2	S	N
Case 5	66	M	-	ND	12900	2.92		1320	51.4	D	Y
Case 6	82	M	-	ND	5700	11.18		489	187.9	S	N
Case 7	76	M	-	ND	10200	0.18		820	209.3	S	N
Case 8	76	F	-	RSA	23900	1.74	0.05	1670	93.6	S	Y
Case 9	79	M	-	ND	11500	9.87	0.12	1372	170	D	N
Case 10	74	M	-	ND	6700	0.76	0.04	3140	302.4	D	N
Case 11	71	F	-	ND	8600	12.76	0.07	842	153.8	S	N
Case 12	71	F	-	ND	16200	23.09		682	263	S	Y
	74	9/3	4/8	1/11	11525	7.37	0.07	1253	172	5/7	4/8

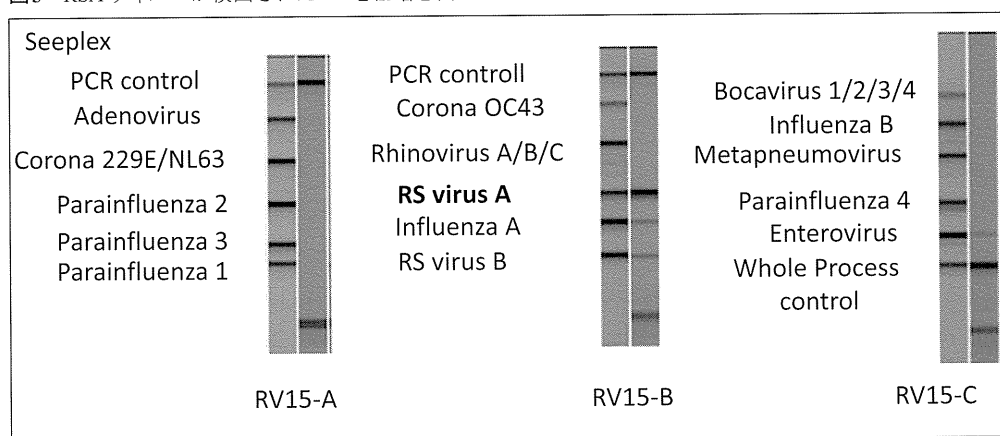
図2 ウィルスが検出されたIPF急性増悪症例の胸部画像



日 呼吸困難が出現。改善傾向ないため当院救急外来受診。到着時チアノーゼを認め、血液ガスで著明な低酸素血症認め、呼吸不全のため人工呼吸管理のため入院となった。WBC 23900/mlと高値であったが、CRPは1.74mg/dL、PCTも0.07 pg/mlと正常上限を上回るものの高値を示しておらず、ウイルス感染を示唆した。外来でKL-6 1230U/ml、SP-Dは115 ng/mlであったが、入院後の検査でそれぞれ、

U/ml, 363 ng/mlとともに上昇していた。尿中肺炎球菌抗原陰性、尿中レジオネラ抗原陰性は陰性であり、喀痰培養検査においても有意な病原微生物は検出されていない。Multiplex PCR法ではRSA virusを検出できた(図3)。本症例は改善が得られ、人工呼吸器は離脱できたが、自立生活は困難であり、他院に転院となった。

図3 RSA ウィルスが検出されたIPF急性増悪例



【考 察】

Multiplex PCR法を用いて呼吸器疾患の急性増悪におけるウイルスの関与を検討した。全98例のうち24例(23.5%)で急性増悪時の鼻咽頭検体からウイルスが検出された。喘息の急性増悪では、38例中9例(23.7%)であり、Rhinovirus 7例、Parainfluenza 3が2例であり、いわゆるかぜ症候群が喘息発作のトリガーとなっていることが裏付けられた。COPDの急性増悪では、16例中6例(23.7%)にウイルスが検出されたが、その種類は、RhinoやPara-3のほかRSウイルスA,BやMetapneumoなど多彩であり、喘息とは異なり、上気道のみならず、下気道にも定着し病原性を有するウイルスが検出される傾向が見られた。IPFでは、11例中1例(8.3%)のみRSAが検出された。肺炎症例では、検査データや臨床症状から全例細菌による市中肺炎と考えられたが、鼻咽頭検体において32例中8例(25%)にウイルスを検出しており、鼻咽頭におけるウイルス感染が肺炎に先行あるいは併発するものと考えられた。今回、各群の症例数が少ないため正確な比較はできないが、IPF以外の疾患では、2-3割にウイルス感染が関与することが確認された。IPFでは、急性増悪におけるウイルスの関与が他疾患に比較して少ない可能性も考えられた。さらに症例を蓄積して検討する必要がある。

今回、各種呼吸器疾患の急性増悪のトリガーとしてのウイルス感染の関与を検討するという観点から鼻咽頭スワブ検体で検討を行ったが、肺病変自体の悪化に対するウイルスの関与を検討する場合は、喀痰やBAL検体を用いた検討が必要になると考えられる。

最近、WoottonらはBALFを用いてIPF急性増悪43例のにおけるウイルス感染を検討し、Multiplex PCRでは4例(9.3%)で一般的な呼吸器ウイルス感染をみとめたと報告している(19)。我々は、鼻咽頭粘液での検討であるため単純な比較はできないが、ウイルス検出頻度は8.3%とほぼ同等であった。また、同報告において、Pan-viral microarrayを用いてTorque teno virus (TTV)が急性増悪群で有意に高かったと報告しているが、その臨床的意義は議論の余地があると思われる。

現在のIPF急性増悪の定義では「1カ月以内の経過で、呼吸困難の増強、HRCT所見で蜂巢肺所見に加え、新たに生じたすりガラス陰影・浸潤影、PaO₂の低下(同一条件下で10mmHg以上)のすべてがみられる場合」であり感染が明らかな場合は除外される。しかしながら感染症の診断方法の進歩に伴い、ウイルス感染(サイトメガロウイルスや前述のTTV等の日和見感染)または細菌感染が明らかとなり、それらがトリガーとなって急性増悪を誘発する症例も今後蓄積されると思われる。IPFの急性増悪の病理像は、diffuse alveolar damage(DAD)であり、ARDSと同じである。ウイルス性肺炎や細菌性肺炎はARDSの発症の基礎疾患として重要な要因となっている。このような観点からは、IPFにおいても肺炎が契機に急性増悪が惹起される場合は多いと思われる。肺感染症が明確に存在しても、それが契機となって急性増悪が発症したと考えられる場合は、急性増悪と診断しても良いとも思われ、急性増悪の定義を再検討する必要があると考えられる。

【参考文献】

- 1) American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:646-64.
- 2) Katzenstein AL, Myers JL: Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1301-15.
- 3) 千葉弘文, 夏井坂元基, 白鳥正典 他: 北海道における臨床調査個人票に基づく特発性間質性肺炎の疫学調査(北海道 study). 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業びまん性肺疾患に関する調査研究班平成21年度研究報告書 2010; 59-67.
- 4) Fernández Pérez ER, Daniels CE, Schroeder DR, et al: Incidence, prevalence, and clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis: a population-based study. *Chest* 2010; 137:129-37.
- 5) Bjoraker JA, Ryu JH, Edwin MK, et al: Prognostic significance of histopathologic subsets in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:199-203.
- 6) King TE Jr, Tooze JA, Schwarz MI, et al: Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis: scoring system and survival model. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1171-81.
- 7) Mapel DW, Hunt WC, Utton R, et al: Idiopathic pulmonary fibrosis: survival in population based and hospital based cohorts. *Thorax* 1998; 53:469-76.
- 8) Schwartz DA, Helmers RA, Galvin JR: Determinants of survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:450-4.
- 9) Ozawa Y, Suda T, Naito T, et al: Cumulative incidence of and predictive factors for lung cancer in IPF. *Respirology* 2009; 14:723-8.
- 10) Kondoh A, Sasaki S, Harasawa M, Fukuchi Y. et al. Acute exacerbation in idiopathic interstitial pneumonia. *Interstitial Pneumonia of Unknown Etiology*. University of Tokyo Press, 1989; 34-42.
- 11) 田口善夫, 海老名雅仁, 管守隆 他: WEB登録によるIPF急性増悪症例のレトロスペクティブ調査の解析結果報告. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業びまん性肺疾患に関する調査研究班平成18年度研究報告書 2007; 39-45.
- 12) Azuma A, Nukiwa T, Tsuboi E, et al: Double-blind, placebo-controlled trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1040-7.
- 13) Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, et al: Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2010; 35:821-9.
- 14) Kurosu K, Takiguchi Y, Okada O, et al: Identification of annexin I as a novel autoantigen in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2008; 181:756-67.
- 15) 日本呼吸器学会びまん性肺疾患診断・治療ガイドライン作成委員会: 特発性肺線維症(IPF)の急性増悪. 特発性間質性肺炎 診断と治療の手引き(改訂第2版) 2011; 67-73.
- 16) 高橋亨, 棟方充, 大塚義紀 他: 特発性間質性肺炎の急性増悪におけるウイルス感染の役割. 日本胸部疾患学会雑誌 1995; 33:723-727.
- 17) Hamano-Hasegawa K, Morozumi M, Nakayama E, et al: Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother* 2008; 14:424-32.
- 18) Kim SR, Ki CS, Lee NY: Rapid detection and identification of 12 respiratory viruses using a dual priming oligonucleotide system-based multiplex PCR assay. *J Virol Methods* 2009; 156:111-6.
- 19) Wootton SC, Kim DS, Kondoh Y, et al: Viral infection in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:1698-702.

慢性過敏性肺炎の臨床像ならびに分子像の解析

石川 暢久 服部 登 河野 修興*

【背景・目的】慢性過敏性肺炎は長期間の抗原暴露により線維化をきたし、病理組織所見より UIP 類似パターン, f-NSIP 類似パターン, c-NSIP 類似パターン, COP 類似パターンに分類されることが知られている。また、一部の慢性過敏性肺炎は治療抵抗性かつ予後不良であることが知られているが、その病態メカニズムは十分に解明されていない。本研究の目的は外科的肺生検が施行された慢性過敏性肺炎症例における臨床像ならびに分子像を解析することである。

【方法】広島大学病院で外科的肺生検を施行し、慢性過敏性肺炎と診断した 29 症例について、予後を含めた臨床病理学的因子について検討した。病理学的に線維化を伴う 10 症例の外科的肺生検組織から抽出した mRNA を Illumina Human WG-6 v3 BeadChips を用いて網羅的発現解析を施行した。慢性過敏性肺炎で発現上昇している遺伝子群の機能的分類を NIH DAVID and EASE online を用いて行った。

【結果】29 症例中 24 症例は線維化を伴う慢性過敏性肺炎 (UIP 類似: 20 症例, f-NSIP 類似: 4 症例) に、5 症例は線維化を伴わない慢性過敏性肺炎 (OP パターン: 4 症例, c-NSIP: 1 症例) に分類された。線維化を伴う慢性過敏性肺炎の平均生存期間は 4.2 年で、線維化を伴わない慢性過敏性肺炎と比較して予後は不良であった。正常肺との比較では線維化を伴う慢性過敏性肺炎で 162 遺伝子が発現上昇していたのに対して、290 遺伝子が発現低下していた。発現上昇している遺伝子群の機能的分類では、Biological process では adhesion, skeletal system, protein maturation に関与する遺伝子群が特徴的であり、膜、分泌蛋白をコードする遺伝子群が多数含まれていた。

【結論】慢性過敏性肺炎の臨床像ならびに分子像の解析より、その線維化のメカニズムを明らかにした。網羅的発現解析情報から、新規のバイオマーカーならびに治療標的の候補分子を多数同定した。