

はじめに

1997年に見いだされた survivin は細胞分裂における必須因子であり、また inhibitors of apoptosis(IAP)family としてのアポトーシス抑制機能の2重の役割を持つユニークなタンパク質である。主にその局在により上記2つの機能が分かれていることが示唆されており、細胞質の中でも特にミトコンドリアに局在する survivin は、他の IAP 蛋白や hepatitis B X-interacting protein(HBXIP) と complex をつくることで caspase 9 の活性化を抑制しアポトーシスを抑制すると考えられている。また主に核内の survivin は G2/M 期に発現増加がみられ、aurora B, boarelin, INCENP と chromosomal passenger complex をつくり、細胞分裂時の染色体の位置補正や分裂に関与している [1, 2]。成人の正常組織では発現が殆どみられず、胎児組織と様々な癌組織で高発現し、癌において survivin の発現は予後との相関がみられる事などより理想的な癌治療のターゲットとして survivin の研究が進んでいる [3]。

近年では胃エタノール傷害、心筋虚血、急性肝傷害、急性膵炎などの傷害再生の際にも survivin の高発現が認められ、更に胃上皮エタノール傷害モデルなど実験的に遺伝子導入して survivin の機能を高めると傷害からの細胞保護作用がある事が報告されている [4]。従って癌以外の領域でもアポトーシスの抑制と細胞分裂、或いは、傷害に対する抵抗性や再生性などの病態で survivin は重要な働きをしている可能性が考えられる。

肺においてもびまん性肺胞傷害 (Acute Respiratory Distress Syndrome:ARDS) や間質性肺炎の病態などにアポトーシスの抑制と細胞増殖・再生は、特に傷害に対する上皮の抵抗性や傷害後の再生という点で大変重要である [5]。

そこで、今回(急性)肺傷害における survivin の役割を検討する為、マウスブレオマイシン肺傷害モデル、ヒト肺傷害組織およびヒト培養肺上皮細胞傷害モデルを用い肺傷害における survivin の作用について検討した。

方 法

1)ブレオマイシン肺傷害マウスモデル：

ICR 雄(8week)を用い実態顕微鏡下で気管よりブ

レオマイシン投与する事によって0, 1, 3, 7, 14日後のマウス肺傷害モデル群をそれぞれ作製した。病理形態学的検索としてHE染色の他、survivin, SP-C, PCNA, Smac/DIABLOの免疫染色とTUNEL染色を行った。マウス肺傷害モデルの凍結肺を材料として survivin mRNA 発現量を Taqman プローブを用い real-time qPCR 法にて解析した。

2)ヒトの肺傷害病変：

びまん性肺胞傷害ARDS(Diffuse alveolar damage: DAD)と特発性慢性間質性肺炎(Usual interstitial pneumonia : UIP)症例の survivin 発現を免疫染色にて検討した。

3)培養肺上皮細胞傷害モデル：

培養肺上皮細胞(気管支上皮由来BEAS2B, 肺胞上皮由来A549)にブレオマイシンを添加する事による培養での肺上皮細胞傷害 in vitro モデルを用い、survivin や関連因子のブレオマイシン処理後の発現動態を解析し、更に遺伝子導入にて survivin の機能抑制や機能亢進させた際の survivin のブレオマイシン傷害に対する作用を検討した。

結 果

1)ブレオマイシン肺傷害マウスモデル：

免疫染色においてブレオマイシン投与していないコントロール群のマウス肺の細気管支上皮の細胞質にわずかに survivin の陽性所見がみられたが(図1-A)、ブレオマイシン肺傷害モデルでは、コントロールに比べ主に気道上皮、SP-C陽性の2型肺胞上皮に survivin の強い陽性所見がみられた(図1,3)。Survivin 陽性所見は2型肺胞上皮、気道上皮ともに、まず day3 で核に優位にみられるようになり、day7 では核および細胞質にも強い陽性像がみられた。Day14 は殆ど細胞質にのみ、その陽性像がみられ陽性所見自体は弱かった。

RT-qPCR 解析にて mRNA レベルでもコントロールに比べ day3 で発現が増加し day7 で最大となり、以後 Day14 では減っていく免疫染色の survivin 陽性所見と同様な発現動態が認められた(図2)。

核の survivin 陽性細胞は一部 PCNA も陽性であった(図3-A,B)。

IAP 抑制タンパクの Smac/DIABLO も傷害上皮細胞の細胞質に陽性像がみられ、survivin 陽性像の分

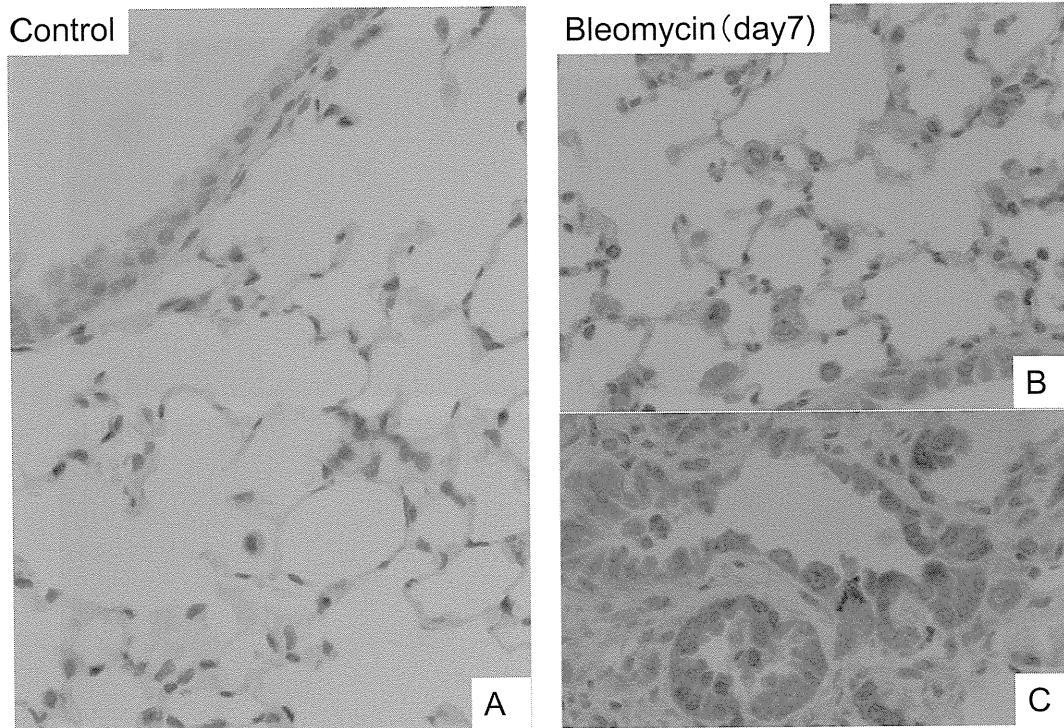


図1. *Survivin of bleomycin induced injured lung in mice.*
 (A) 正常コントロール肺. 気管支上皮の細胞質に弱いsurvivin陽性所見がみられる. (B, C) プレオマイシン肺傷害マウスモデルでは, コントロール群に比べ主にday3では気管支上皮, 肺胞上皮の核に survivin の強い陽性所見がみられた. Day7では核および細胞質にも強い陽性像がみられた.

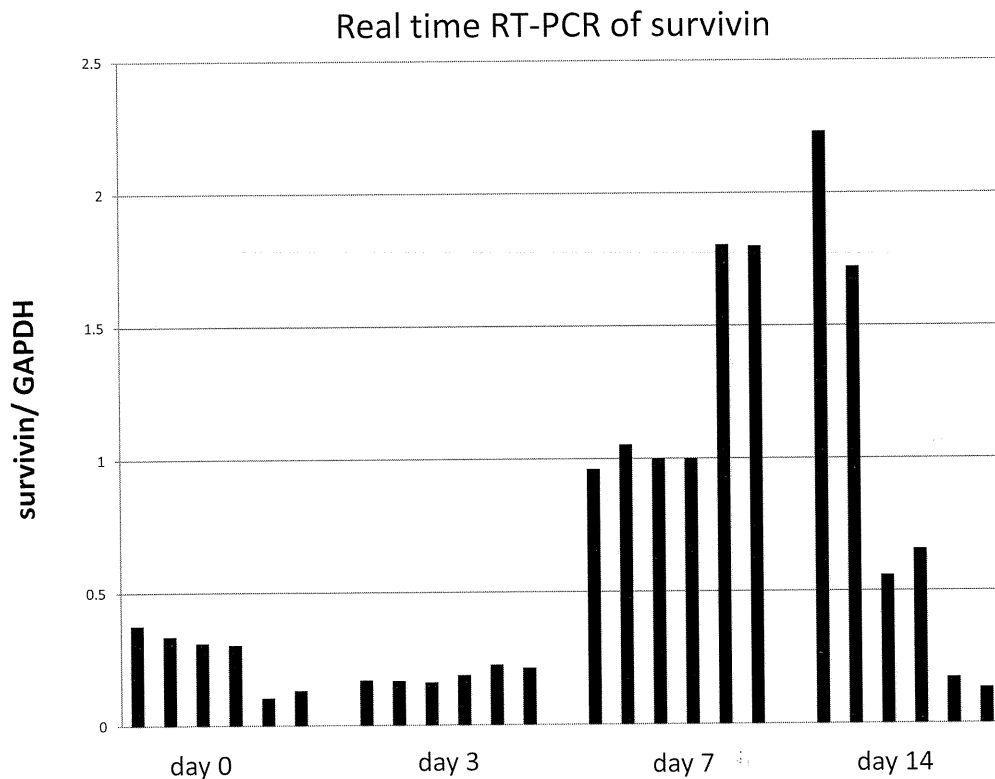


図2. *Quantification of survivin mRNA of bleomycin induced injured lung in mice.*
 プレオマイシン傷害マウス肺のRT-qPCRによる survivin と GAPDH の mRNA 発現比の推移. コントロールに比べ day3 で発現が増加し day7 で最大となり以後 Day14 では減っていった.

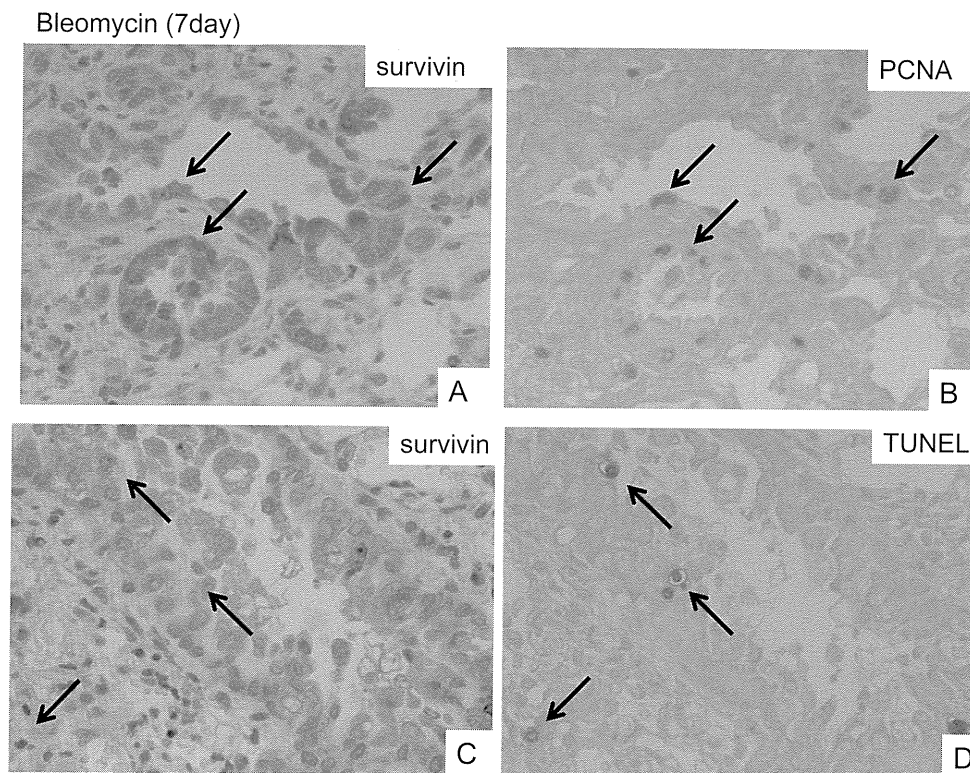


図3. *Survivin of bleomycin induced injured lung in mice.*
 (A, B) 核のsurvivin陽性細胞は一部PCNAも陽性であった。(C, D) TUNEL陽性細胞はsurvivin陰性であった。パラフィン連続薄切切片。7 dayモデル。

Effect of bleomycine on lung epithelial cells

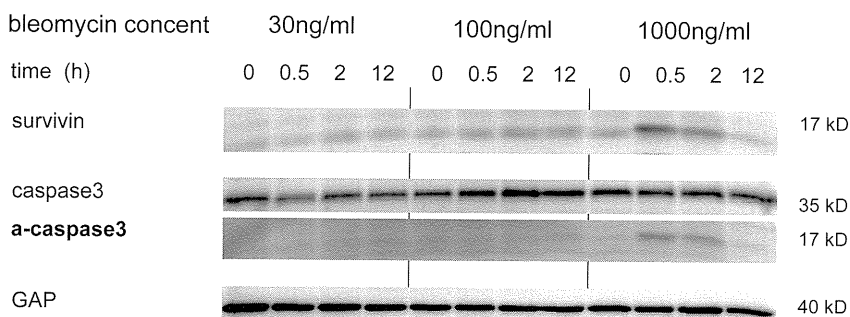


図4. *Expression of survivin by treatment of bleomycin on lung epithelial cells; BEAS2B*
 培養ヒト気管支上皮細胞BEAS2Bのブレオマイシン処理による survivin および関連因子発現のウェスタンブロット解析。低濃度ブレオマイシンで処理すると著明な caspase の活性化を伴わない処理後 12 時間にわたるゆっくりした survivin の発現増加がみられた。高濃度ブレオマイシンでは処理後 2 時間で著明な caspase 3, 7 や PARP の活性化を伴った survivin の強い発現増加がみられたが、12 時間後には減少していた。

布パターンとの類似が見られた。TUNEL 陽性細胞は survivin 陰性であった(図3-C,D)。

2) ヒトの肺傷害病変：

ヒトびまん性肺胞傷害DAD病変の反応上皮にも核や細胞質に survivin の強い陽性所見を認めた。UIPでは線維化巣を被覆する反応(化生)上皮に弱い陽性所見を認めた。

3) 培養肺上皮細胞傷害モデル：

培養ヒト気管支上皮細胞を低濃度ブレオマイシンで処理すると明らかな caspase 活性化を伴わない処理後 12 時間にわたるゆっくりした survivin の発現増加がウェスタンブロット解析でみられた。また高濃度ブレオマイシンでは処理後 2 時間で著明な caspase 3, 7 や PARP の活性化を伴った survivin の強い発現増加がみられたが、12 時間後には減少していた(図4)。

Effect of survivin suppression
bleomycin induced lung damage of lung epithelial cells: BEAS2B

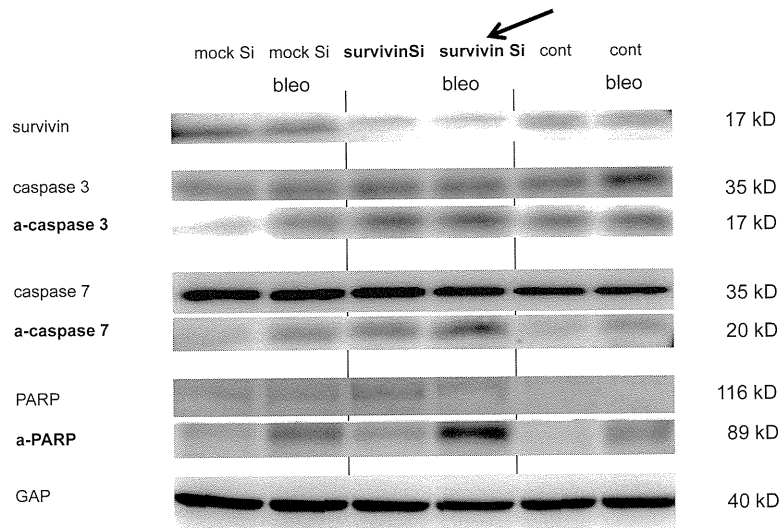


図5. *Effect of survivin suppression on bleomycin induced lung damage of lung epithelial cells; BEAS2B*
SiRNAにて培養ヒト気管支上皮細胞BEAS2Bに survivinの発現を抑制した上でプレオマイシン処理した survivinおよび関連因子発現のウエスタンブロット解析結果. SiRNAにて survivinの発現を抑制すると, mock siRNA 処理に比べ高濃度プレオマイシンによる caspase 3, 7や PARPの活性化が増強した.

Effect of survivin overexpression
bleomycin induced lung damage of lung epithelial cells: BEAS2B

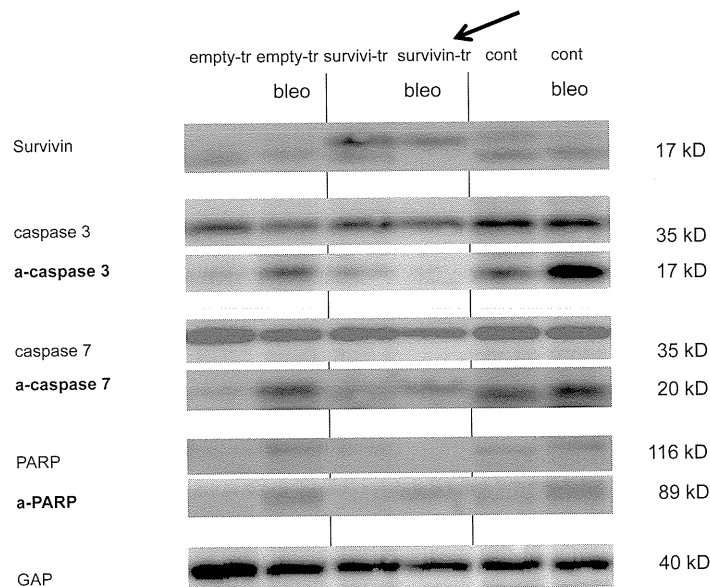


図6. *Effect of survivin overexpression on bleomycin induced lung damage of lung epithelial cells; BEAS2B*
遺伝子導入して培養ヒト肺上皮細胞BEAS2Bの survivinの発現を過剰にした上でのプレオマイシン処理による survivinおよび関連因子発現のウエスタンブロット解析結果. Survivinの発現を過剰にすると, 高濃度プレオマイシンによる caspase 3, 7や PARPの活性化が抑制された.

SiRNAにて培養ヒト肺上皮細胞の survivinの発現を抑制すると高濃度プレオマイシン処理による肺上皮細胞の caspase 3, 7や PARPの活性化が増強し(図5), PI 陽性死細胞数は増加した. 逆に培養ヒト肺

上皮細胞に遺伝子導入して survivinの過剰発現をおこすと高濃度プレオマイシン処理による肺上皮細胞の caspase 3, 7(図6)や PARPの活性化は抑制され細胞死は抑制された.

考 察

Survivinはアポトーシス抑制と細胞分裂制御の2つの機能をもち胎生期や悪性腫瘍にて高発現であるため細胞増殖・生存に重要な因子と考えられていて、特に癌領域では治療のターゲットとして survivin の研究が進んでいる [3]. 非癌領域の臓器傷害病態でもアポトーシスと再生は重要な要素である為 [5], 今回は肺傷害における本因子の作用について検討解析した初めての報告である.

肺を含めて成熟し分化した組織では survivin の発現は殆どないという報告があるが [6], 今回の我々の結果では adult マウスの傷害前コントロール肺においても survivin の発現は mRNA レベルで明らかであった. コントロール肺では survivin 発現細胞として上皮以外では T リンパ球, 好中球など炎症細胞や内皮細胞の可能性はあるが [2], 実際に今回のコントロール肺には炎症細胞の優位な集簇浸潤所見は認められず, 免疫染色で細気管支上皮の細胞質にのみ, わずかに survivin の陽性所見がみられた結果や, 一般に内皮細胞は上皮細胞よりその発現レベルはかなり小さい事から [7], コントロール肺では気道などの上皮細胞が survivin mRNA 発現の主な構成成分と考えられた. 特に細気管支上皮は外界からの様々な刺激に対峙し防御する役割がある為, 細気管支上皮の survivin は生理的な範囲でも抗アポトーシス作用などで機能している可能性が考えられた.

更に我々のブレオマイシン肺傷害マウスモデルでは, コントロール群に比べ主に気道上皮や SP-C 陽性の 2 型肺胞上皮に survivin の強い陽性所見がみられた. mRNA レベルでも survivin の同様な発現動態が認められた.

これは, 傷害前の肝臓や膵臓には survivin の発現が殆どない状況であるが, 部分切除, Ccl4 投与, Fas リガンド Jo2 投与による肝傷害マウスモデルでの肝細胞や 4% sodium taurocholate 投与による急性膵炎ラットモデルでの膵上皮細胞において強い survivin 発現がみられるという報告に一致しており, 肺の傷害された上皮においても survivin が機能を有する可能性が示唆された.

Survivin は核と細胞質に主に局在するが, 核の survivin は細胞分裂の制御に主に関連しており, ミトコンドリアやエクソゾーム内の細胞質内としての

survivin は抗アポトーシス機能に主に関連すると報告されている [1]. 我々のブレオマイシン肺傷害モデルでは survivin は特に day3 では核に優位にみられ, day7 では核と更に細胞質にも強い陽性像がみられたが, day14 では細胞質にのみ陽性像みられ, その陽性所見は弱い傾向であった. 更に survivin と PCNA がともに核に陽性の細胞が day7 までの上皮細胞にみられており, 早期病変でみられる核に発現する survivin は肺傷害からの再生増殖に関連するものと考えられた. また day14 までみられる細胞質 survivin 陽性細胞は細胞質 Smac/DIABLO 陽性細胞と同様の分布であり, TUNEL 染色は陰性であった. Fas リガンド Jo2 投与による肝傷害マウスモデルでの肝細胞や 4% sodium taurocholate 投与による急性膵炎ラットモデルでの膵上皮細胞では強い survivin 発現が細胞質にみられるという報告があり, day14 まで細胞質に発現する survivin は肺傷害に対する抗アポトーシス機能に関連するものと考えられた.

ヒト DAD の反応上皮にも核や細胞質に survivin の強い陽性所見を認め, ヒトの肺傷害の反応上皮でも同様の病態がある可能性が示唆された.

このように肺傷害マウスモデル, ヒト肺傷害病変において survivin 発現増加がみられ, 癌のみならず急性肺傷害の病態に survivin が関与している可能性が推測された. 一方培養ヒト肺上皮細胞を低濃度ブレオマイシンで処理すると survivin の発現増加がみられ, 高濃度では survivin の高発現に加えて caspase 3, 7, PARP の活性も伴い PI 陽性の死細胞数が増加した. 培養肺上皮細胞でもブレオマイシンによる細胞傷害, アポトーシスに survivin が関わる事が示唆された. そこで SiRNA にて培養ヒト肺上皮細胞の survivin の発現を抑制すると高濃度ブレオマイシンによる caspase 活性がより増強し細胞死が助長され, 逆に遺伝子導入して survivin の過剰発現をおこすと高濃度ブレオマイシンによる caspase 活性は低下し細胞死は抑制された. 培養肺上皮細胞でのブレオマイシンによる細胞障害病態において survivin が caspase 経路を介した抗アポトーシス機能を持つ事が示された.

以上, 今回の結果より癌以外の領域である急性肺傷害の病態でもアポトーシスの抑制と細胞分裂, 或いは, 傷害に対する抵抗性や再生性などの病態で survivin が重要な働きをする可能性が考えられた [4].

Survivinは癌組織で高発現する為、その機能を抑制する目的で理想的な癌治療のターゲットとして研究が進んでいるが、癌治療としての survivin の働きの抑制は、非癌領域での急性傷害などに対する傷害抵抗性や再生性の病態への働きをも抑制する可能性が考えられる。Survivinはアポトーシス抑制と細胞分裂制御の主に2つの重要な機能をもつユニークな因子である為、悪性腫瘍の病態のみならず急性傷害病態など正常細胞での機能も含めた作用の解明が、その有効な幅広い治療応用には必要と考えられた[3].

参考文献

- 1) Dallaglio, K., A. Marconi, and C. Pincelli, *Survivin: a dual player in healthy and diseased skin*. J Invest Dermatol, 2012. **132**(1): p. 18-27.
- 2) Li, F. and M.G. Brattain, *Role of the Survivin gene in pathophysiology*. Am J Pathol, 2006. **169**(1): p. 1-11.
- 3) Fukuda, S. and L.M. Pelus, *Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues*. Mol Cancer Ther, 2006. **5**(5): p. 1087-98.
- 4) Bongiovanni, L., E.J. Muller, and L. Della Salda, *Survivin in skin pathologies*. Exp Dermatol, 2011. **20**(6): p. 457-63.
- 5) Galani, V., et al., *The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): an up-to-date cell-specific review*. Pathol Res Pract, 2010. **206**(3): p. 145-50.
- 6) Ambrosini, G., C. Adida, and D.C. Altieri, *A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma*. Nat Med, 1997. **3**(8): p. 917-21.
- 7) Jones, M.K., O.R. Padilla, and E. Zhu, *Survivin is a key factor in the differential susceptibility of gastric endothelial and epithelial cells to alcohol-induced injury*. J Physiol Pharmacol, 2010. **61**(3): p. 253-64.

間質性肺疾患におけるインパルスオシレーション所見

長瀬 洋之 大田 健*

【目的】インパルスオシレーション法 (IOS) は、呼吸抵抗 (R) や、肺弾性を反映するリアクタンス (X) を安静呼吸で検知する方法で、閉塞性肺疾患において R が広く検討されている。間質性肺疾患では、牽引性気管支拡張が R に、線維化が X に影響を及ぼすと考えられるが、知見は少ない。画像、呼吸機能検査と R, X パラメータを対比し、病態とパラメータとの相関を検討した。

【方法】対象は、画像的に蜂巢肺を認める群 (UIP パターン: 4 例) と認めない群 (NSIP パターン群: 9 例), COP パターン 1 例からなる、間質性肺疾患 14 例とした。モストグラフ、呼吸機能検査を施行し、HRCT 所見と対比した。HRCT 所見は、Kazerooni EA. (AJR 1997) らの報告に準じて、GGO と蜂巢肺を 0-5 点でスコアリングした。牽引性気管支拡張は、0-3 点でスコアリングした。右 3 葉と左 2 葉で各々スコアリングし、合計スコアを算出した。

【結果】UIP パターンと NSIP パターンを比較すると、前者で蜂巢肺スコア、気管支拡張スコアが有意に高く、%DLCO が有意に低かった。

蜂巢肺スコアと気管支拡張スコアは、%VC, %DLCO およびリアクタンスを示す X5, ALX と有意な相関を示したが、呼吸抵抗を示す R5, R5-R20 との相関は認めなかった。また、%VC と X5/Fres/ALX は有意な相関を示した。気管支拡張スコアと蜂巢肺スコアは有意な正相関を示した。

【結論】%VC, 蜂巢肺/気管支拡張スコア, X5/Fres/ALX の 3 者はそれぞれの間で有意な相関を示した。X5 および X5 に依存する Fres, ALX は、肺弾性を示す指標であり、肺線維化による肺弾性低下を検出したものと考えられた。一方、気道抵抗の変化は検出しないことが示唆された。閉塞性疾患では R が注目されているが、間質性肺疾患では、X が病態の一指標となる可能性が示唆された。

はじめに

インパルスオシレーション法は、呼吸抵抗 (Rrs) や、肺弾性を反映するリアクタンス (Xrs) を安静呼吸で検知する方法である。空気の小さな圧力振動をマウスピースから加え、安静換気中に口腔内の気流と圧力を経時的に測定することで、同一呼吸周期内での複数の周波数に対する吸気と呼気における Rrs や Xrs を、リアルタイムに求めることができる¹⁾。呼吸抵抗を示す Rrs は、気管支喘息の気管支収縮や、COPD における気道虚脱で上昇する。リアクタンスを示す Xrs には、弾性と慣性の要素があり、弾性の成分が大きければマイナス側に絶対値が大きくなり、慣性の成分が大きければプラス側に絶対値が大きくなる。弾性は呼吸器系の固さを示すとされている。Z (インピーダンス) はトータルにみた抵抗で、R 成分と X 成分からなっており、 $Z^2=R^2+X^2$ の式が成立する。

閉塞性肺疾患においては、Rrs が広く検討されているが、間質性肺疾患におけるインパルスオシレーション法を用いた検討は少ない。今回の検討は、インパルスオシレーション法が、間質性肺疾患の新たな病態評価パラメータとして利用可能かどうかを検証することを目的とした。仮説として牽引性気管支拡張が Rrs に、線維化が Xrs に影響を及ぼすことを想定し、この点を明らかにするために、CT 画像所見と Rrs, Xrs パラメータを対比した。

方 法

対象は、画像的に蜂巢肺を認める群 (UIP パターン: 4 例) と認めない群 (NSIP パターン群: 9 例)、COP パターン 1 例からなる、間質性肺疾患 14 例とした。インパルスオシレーション法は MostGraph-01 を用い (チェスト社, 東京)、呼吸機能検査を同時に施行し、それぞれの指標と HRCT 所見と対比した。MostGraph-01 において、呼吸抵抗成分として、R5 (周波数 5Hz における呼吸抵抗)、R5-R20 (呼吸抵抗の周波数依存性)、リアクタンス成分として、X5 (周波数 5Hz におけるリアクタンス)、Fres (共振周波数)、ALX (Area of Low X) を検討した。リアクタンス成分の相互の関係を図 1 に示す。Fres は X が 0 となる周波数を示しており、ALX は曲線と X=0 とで囲ま

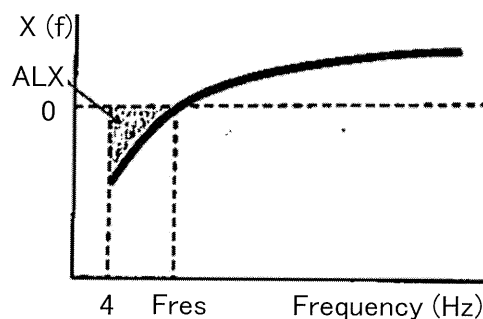


図 1. リアクタンス成分の相互関係
Fres: 共振周波数, ALX: Area of Low X

れる、X が負領域の面積を示す。リアクタンス曲線が肺弾性低下などにより下方に移動すれば、X5 は低下、Fres は上昇、ALX は増加する。

HRCT 所見は、Kazerooni らの報告に準じて²⁾、スリガラス陰影 (GGO: Ground Glass Opacity) と蜂巢肺を 0-5 点でスコアリングした。牽引性気管支拡張のスコアリングは、今回新たに 0-3 点で評価する方法を採用した。各肺葉において、HRCT 上認められる拡張気管支の本数をスコアとし、3 本以上認める場合は 3 点とした。各々の指標を、呼吸器専門医 1 名が右 3 葉と左 2 葉で各々スコアリングし、合計スコアを算出した。

結 果

患者背景および、HRCT スコアを表 1 に示す。まず、UIP パターンと NSIP パターンを比較すると、前者で蜂巢肺スコア、気管支拡張スコアが有意に高く、%DLCO が有意に低かった (図 2)。また、各群におけるインパルスオシレーション所見を図 3 に示す。呼吸抵抗成分である R5, R5-R20 は、UIP 群で高値傾向だが有意差に達しなかった。リアクタンス成分に関しては、UIP 群で X5 は低値、ALX は高値傾向だが有意差には達しなかった。

次に、いかなる HRCT 所見が各指標と相関するかを検討した。蜂巢肺スコアは (図 4)、%VC、%DLCO と有意な負の相関を示し、リアクタンスを示す X5 と有意な負の相関、Fres、ALX と有意な正相関を示したが、呼吸抵抗を示す R5, R5-R20 との相関は認めなかった。同様に、気管支拡張スコア (図 5) は、%VC、%DLCO、X5、ALX と有意な相関を示したが、呼吸抵抗指標との相関は認めなかった。一方、

表 1. 臨床背景

症例	臨床背景						臨床検査値			HRCTスコア		
	年齢	性	パターン	臨床診断	喫煙歴	治療	%FVC (%)	%DLCO (%)	KL-6 (U/ml)	GGO	蜂巣肺	BE
1	49	F	COP	薬剤性肺炎	Never	未	97.0	61.2	897	12	1	1
2	59	M	UIP	IPF	Never	未	53.4	42.1	825	4	11	6
3	52	M	UIP	IPF	Cu	未	74.4	57.7	2149	5	12	10
4	62	M	UIP	IPF	Ex	未	70.0	56.4	1468	10	15	10
5	66	F	UIP	全身性強皮症	Never	未	55.7	27.1	674	13	11	6
6	58	M	NSIP	NSIP	Ex	未	135.1	117.5	356	6	4	1
7	63	M	NSIP	NSIP	Ex	未	88.5	101.6	385	9	3	0
8	68	M	NSIP	NSIP	Ex	未	92.0	72.5	3748	9	5	3
9	45	M	NSIP	膠原病肺	Ex	未	68.7	56.5	2496	9	4	5
10	64	M	NSIP	NSIP	Ex	未	65.8	63.3	991	9	5	5
11	68	F	NSIP	NSIP	Never	未	98.7	98.0	638	10	2	0
12	66	F	NSIP	NSIP	Never	PSL 5 mg CPA 50 mg	92.8	57.3	1194	10	6	6
13	57	M	NSIP	NSIP	Never	未	42.4	72.2	675	13	7	4
14	64	F	NSIP	NSIP	Never	未	78.1	46.2	2036	13	5	8

喫煙歴: Never: 喫煙歴なし, Cu: 現喫煙者, Ex: 過去喫煙者
 治療: PSL プレドニゾロン, CPA: シクロフォスファミド

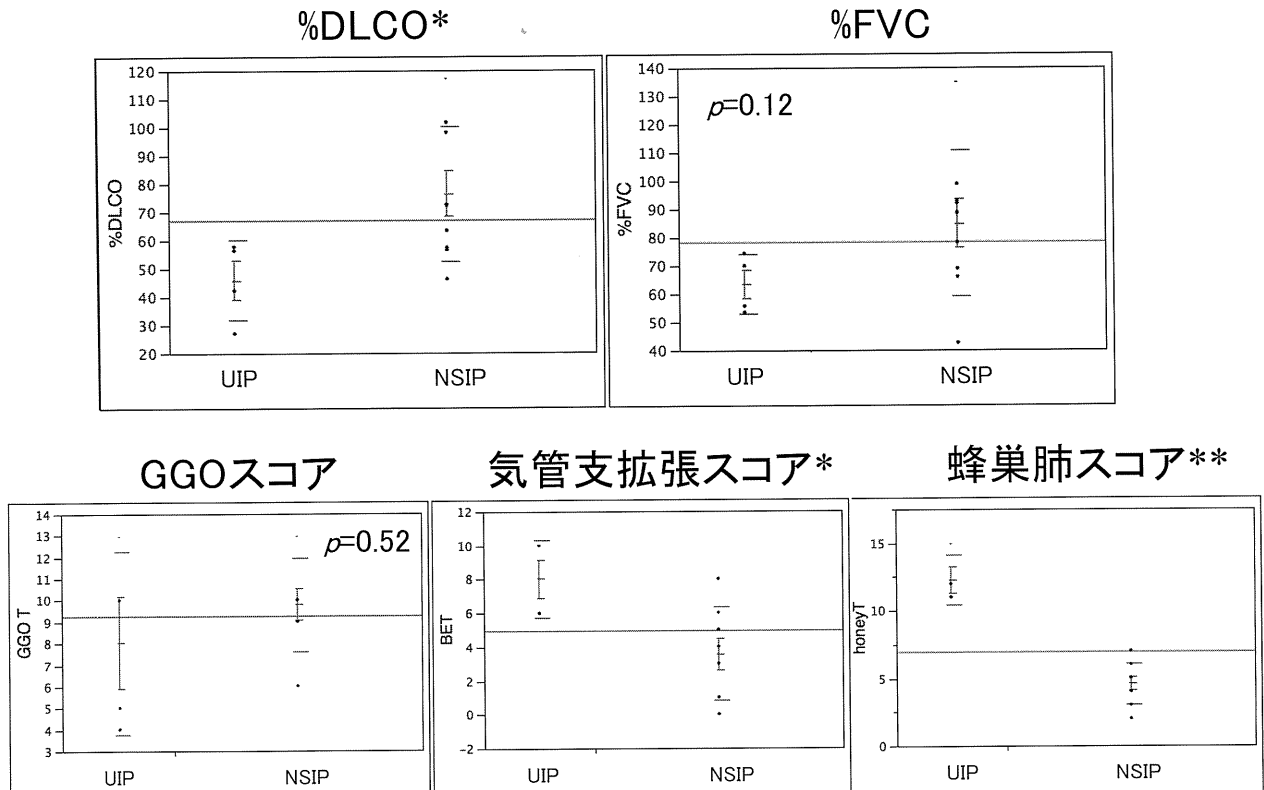


図 2. UIP パターンと NSIP パターンにおける、呼吸機能と HRCT スコアの比較
 呼吸機能検査における %DLCO, %FVC, HRCT 画像における GGO, 牽引性気管支拡張, 蜂巣肺スコアを UIP 群 (n=4), NSIP 群 (n=9) で比較した. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

GGO スコアはいずれの指標とも有意相関を認めなかった (図 6).

また、各指標間での相関を検討したところ、%VC とリアクタンス成分である X5, Fres, ALX は有

意な相関を示した。HRCT 所見においては、気管支拡張スコアと蜂巣肺スコアは有意な正相関を示した。

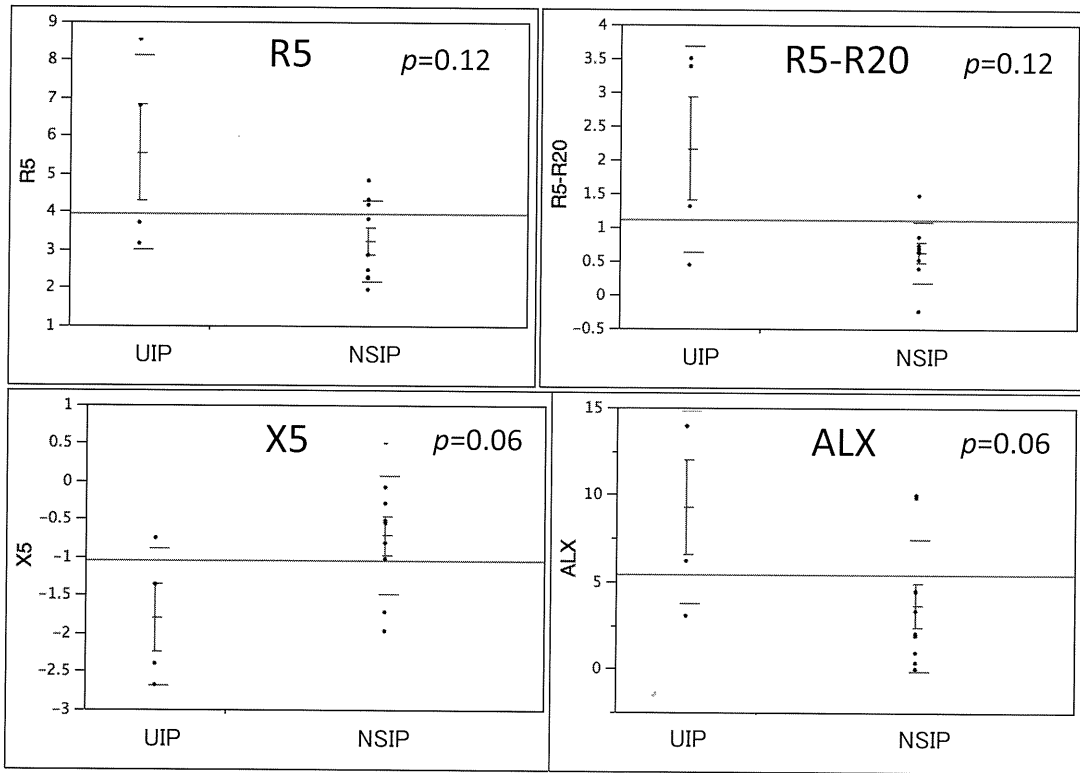


図3. UIPパターンとNSIPパターンにおける, MostGraph所見の比較
 R5: 周波数5Hzにおける呼吸抵抗, R5-R20: 呼吸抵抗の周波数依存性, X5: 周波数5Hzにおけるリアクタンス, ALX: Area of Low Xrs

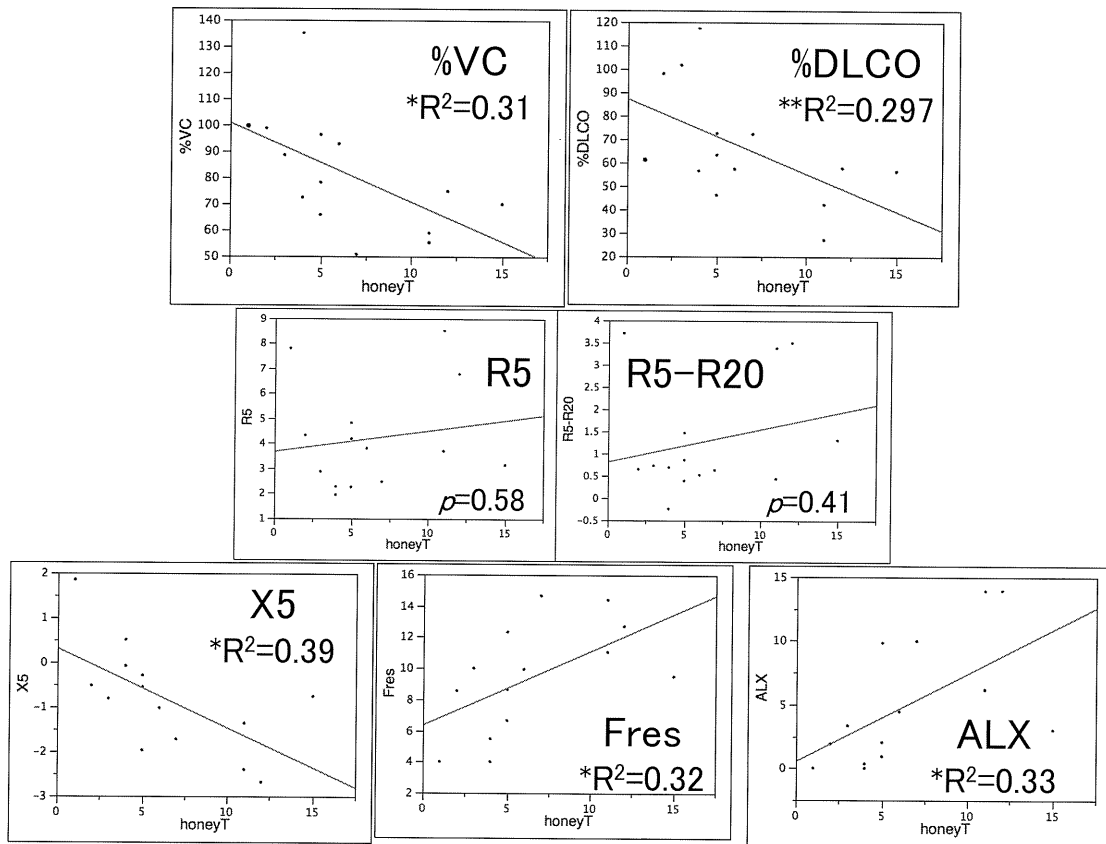


図4. 蜂蜜肺スコアと呼吸機能, インパルスオシレーション指標との相関
 * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

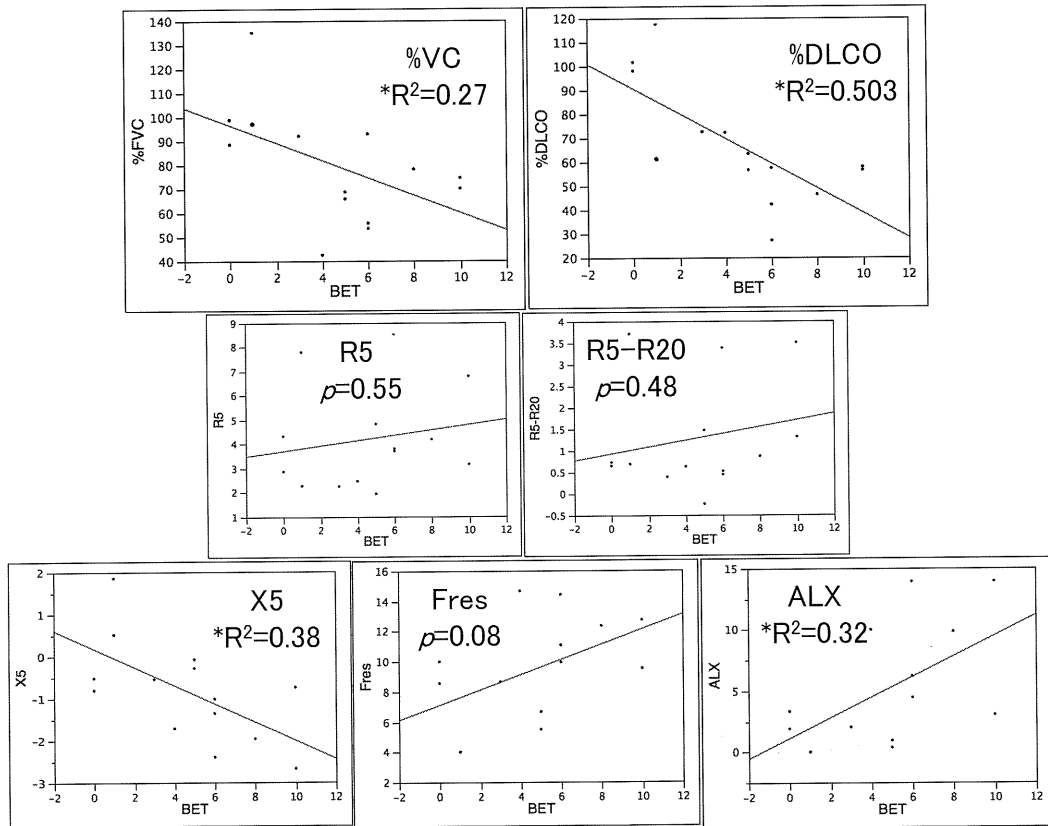


図5. 牽引性気管支拡張スコアと呼吸機能, インパルスオシレーション指標との相関
* $p<0.05$, ** $p<0.01$.

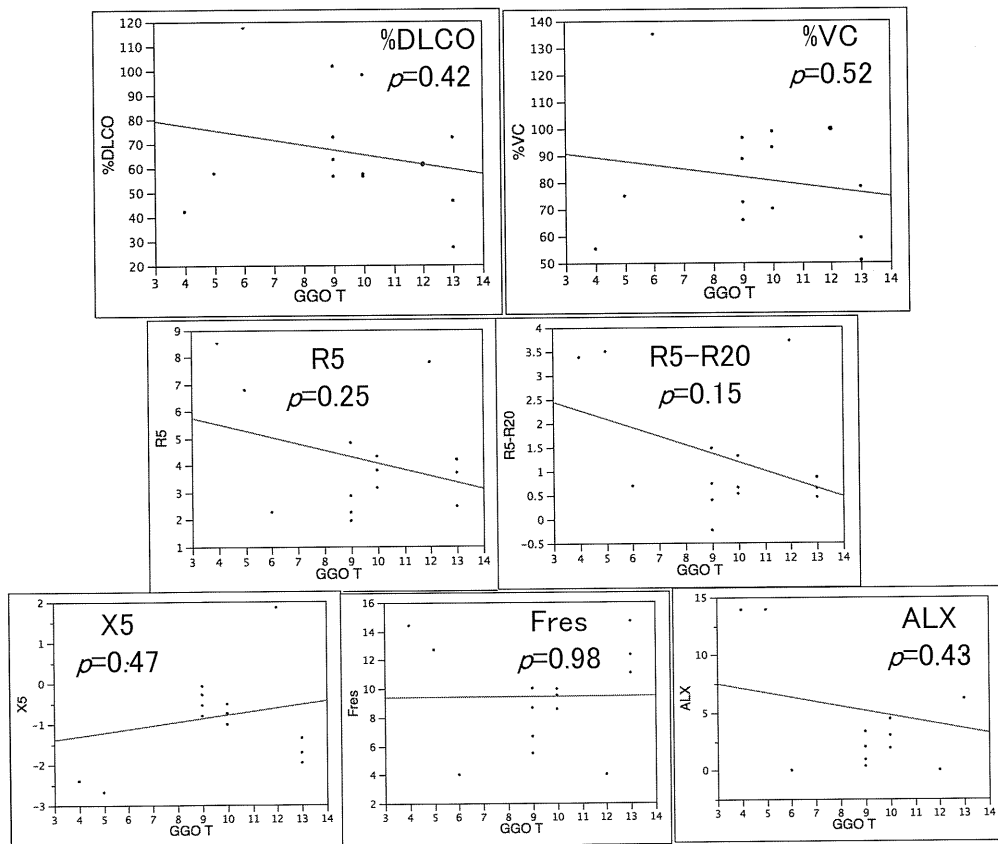


図6. スリガラス陰影 (GGO) スコアと呼吸機能, インパルスオシレーション指標との相関

考 察

間質性肺疾患において、牽引性気管支拡張が呼吸抵抗に、線維化が肺弾性を反映するリアクタンスと関連するという仮説を検証した。蜂巢肺スコアは、リアクタンス指標であるX5, Fres, ALXと有意相関を示し、肺線維化による肺弾性低下を検出したものと考えられた。一方、気管支拡張スコアは、呼吸抵抗指標とは有意な相関を示さず、気管支拡張による呼吸抵抗への影響は検出されなかった。さらに、蜂巢肺スコアと気管支拡張スコアは有意な正相関を示し、双方リアクタンス成分と有意相関を示す一方、呼吸抵抗成分とは有意相関を示さなかったことから、病態の進行に伴い、双方の挙動は一致していることが示唆された。

インパルスオシレーション法は、閉塞性肺疾患において主に呼吸抵抗測定の有用性が検討されてきた。気管支喘息とCOPDとは、双方呼吸抵抗が上昇するが、リアルタイムで呼吸抵抗を測定できる本法の特徴を生かし、吸気と呼気での気道抵抗の差異(呼吸周期依存性)や、周波数による気道抵抗の差異(周波数依存性)が、COPDでは気管支喘息よりも高いことが示されており、疾患鑑別への応用が期待されている。また、安静呼吸で測定できることから、特に小児への適用が期待されている。

一方で、間質性肺疾患におけるインパルスオシレーション法所見の解析は、これまで十分にはなされていない。間質性肺疾患では、線維化による肺弾性の変化がインパルスオシレーション法でリアクタンスの変化として検出された。興味深いことに、GGOスコアはリアクタンスと相関しない一方で、蜂巢肺スコアが有意相関を示し、肺構築の破壊がインパルスオシレーション法で検出されることが示唆された。仮説として、牽引性気管支拡張による気道抵抗の低下を想定したが、今回の検討では有意相関を認めなかった。間質性肺疾患では、HRCTでと

らえられる比較的太い気管支拡張に加えて、細気管支領域の閉塞機転の関与も想定される。今後は、病型分類を行った上での解析が必要であると考えられる。

本検討の限界として、牽引性気管支拡張スコアリングの方法論についての既報がなく、今後再現性、妥当性の検証が必要であり、複数名で読影を行う必要もある。

結 語

間質性肺疾患におけるインパルスオシレーション法の有用性を検討した。閉塞性疾患では呼吸抵抗成分が臨床応用において期待されているが、間質性肺疾患では、肺弾性を反映するリアクタンス成分が蜂巢肺スコアと相関しており、病態の一指標となる可能性が示唆された。安静呼吸で評価可能なインパルスオシレーション法が、間質性肺疾患の新たな病態評価パラメータとして利用可能な可能性が示唆された。今後は、呼吸周期依存性、周波数依存性の病型における差異、薬剤反応性や予後との関連、閉塞性と拘束性肺障害の要素を併せもつ気腫合併肺線維症における検討などを通じて、臨床応用への可能性をさらに追求していく必要がある。

文 献

- 1) 黒澤一 モストグラフの開発と応用呼吸 29, 40-47, 2010.
- 2) Kazerooni EA, Martinez FJ, Flint A, Jamadar DA, Gross BH, Spizarny DL, Cascade PN, Whyte RI, Lynch JP 3rd, Toews G. Thin-section CT obtained at 10-mm increments versus limited three-level thin-section CT for idiopathic pulmonary fibrosis: correlation with pathologic scoring. *Am J Roentgenol.* 1997;169:977-83.

B. サルコイドーシス

サルコイドーシス部門(山口哲生)

サルコイドーシス部門の活動報告

JR 東京総合病院呼吸器内科 山口哲生

1. 北海道における臨床調査個人票に基づくサルコイドーシスの疫学調査

(主研究者;今野 哲⁽¹⁾, 四十坊典晴⁽²⁾, 西村正治⁽¹⁾)
 (1)北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野
 (2)JR 札幌病院呼吸器内科

北海道は以前よりサルコイドーシスの発症率が高いことが知られ、人口の移動も比較的少ないことから信頼できる疫学調査が期待された。臨床調査個人票を用い、2000～2008年度に北海道で新規診断されたサルコイドーシス患者1796人(組織診断群 1085例, 61.7%)を対象に疫学調査をおこなった。発症率は、9年間の北海道の人口(2000年度は572万人, 2008年度は557万人, 年平均565万人)で検討すると3.53人/10万人であり、Morimotoらの全国調査によるものよりも多かった。内訳は、男性637人, 女性1159人であり(男女比0.55)、年齢分布は二峰性を示した。眼、皮膚病変は女性に多く、肺野病変は男性に多かった。この期間において、男女共に20歳代の割合が減少し、女性では60歳代、男性では50歳代の割合が増加していた。過去約10年間において、サルコイドーシス患者の年齢は高齢化していることが示された。

(この項の詳細については、別紙に掲載あり)

2. 厚生労働科学研究費補助金による「肺サルコイドーシスの治療」の刊行

(主研究者;今野 哲⁽¹⁾, 四十坊典晴⁽²⁾, 山口哲生⁽³⁾)
 (1)北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野
 (2)JR 札幌病院呼吸器内科
 (3)JR 東京総合病院呼吸器内科

サルコイドーシスという疾患がはじめてHutchinsonによって報告されてから100年以上が経過し、"sarcoicodosis treatment"に関しては6700以上の論文

がPubMed検索でヒットされる状況になったが、未だ本症の治療の標準化はなされていない。1950年代にサルコイドーシスに対するステロイドの有効性が報告されてから、治療薬の基本が副腎皮質ステロイドホルモン薬(以下ステロイド)であることは間違いないが、それでもなおサルコイドーシスのステロイドによる治療方法が標準化されない理由として以下の事項が考えられる。

1. 自然経過に個人差が大きい(あまりに多様である)

自然治癒する例から急速に悪化(線維化)する例までであるため、長期経過観察後に無治療あるいは治療開始となる例から至急に十分量のステロイド治療を要する例まで幅が広い。その判定によって対応が異なる。

2. 多くの患者が経口ステロイド治療を希望しない
自覚症状が少なく切迫感がない例が多く、また女性が多いことから、ステロイド薬の副作用のために忌避される場合が多い。

3. 治療の有効性の基準が難しい

明らかに使用しなければいけない例はあるが、慢性経過例では、治療した場合としない場合とどちらが患者にとってよかったかはわからないことがある。そもそも肺病変が残存することが患者のQOLや予後にどの程度影響するものかがわかっていないという現状がある。また、前向きに臨床試験を行う場合には、画像、肺機能、自覚症状のいずれをもって判定するか、何年後に判定するのかが判然としていない。

4. ステロイド治療に肺外病変の影響がある

肺病変は改善して安定していても、他の臓器の病変が出現、悪化する場合がある(サルコイドーシスの多彩性)。この場合に対

応方法は、まさに症例を多くみてきた臨床医の経験によるものでしかない。

現在、わが国の肺サルコイドーシス治療方法として、「サルコイドーシス治療に関する見解—2003」1)がある(図1)。また、諸外国では、ATS/ERS/WASOGの合同ステートメント2)、BTS(British Thoracic Society)ガイドライン3)、臨床医別の施行方法4)などがある。詳細は割愛するが、基本的な使用指針はほぼ同様であるといえる。しかし、個々の症例のステロイド忌避の程度や臨床経過の違い(多様性)によって、現実には個々の症例ごとに対応・治療方法を考えざるをえないであろう。

このような現状を踏まえ、さまざまな肺サルコイドーシスの症例集を作成して臨床医家にそれを参照していただくことが実際の役にたつと考えられ平成23年度はこれを作成することとした。概要を以下に記す。

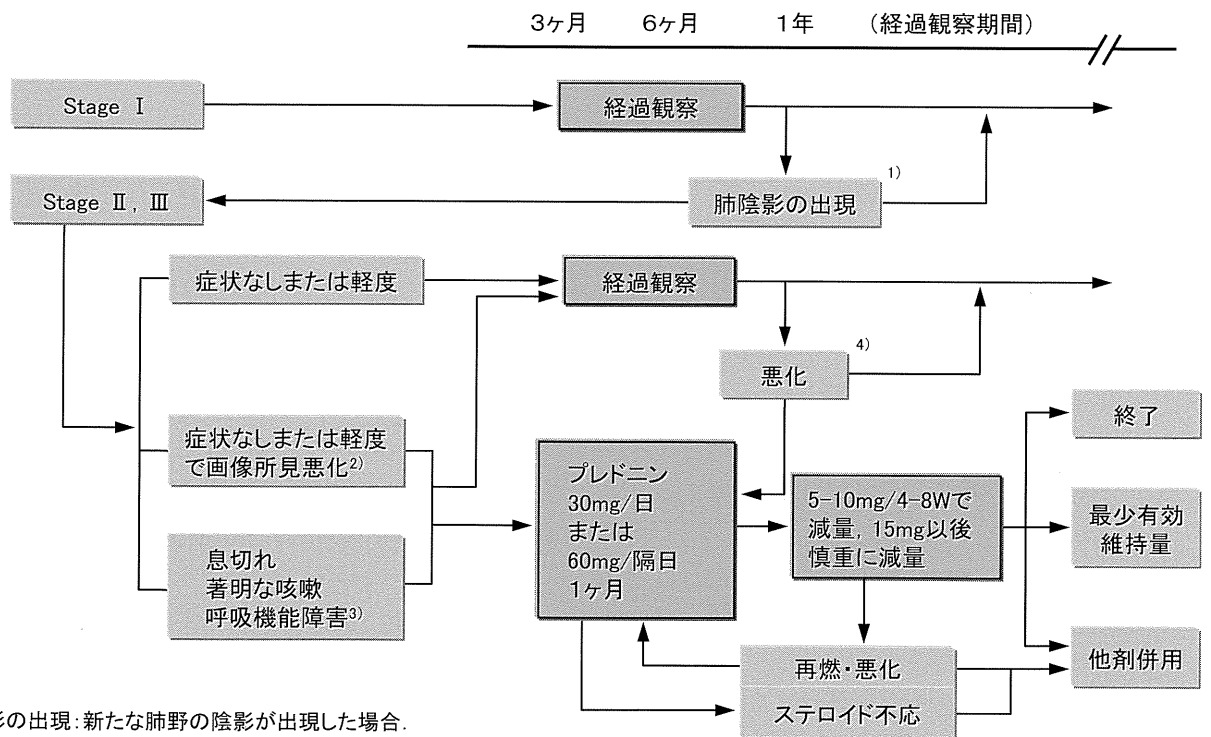
書名；「肺サルコイドーシスの治療～その多様性に応じた適切な治療法を考える～」
 監修；杉山幸比古
 編集；山口哲生，四十坊典晴
 執筆者；今野 哲，四十坊典晴，長井苑子，山口哲生
 発行；厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業「びまん性肺疾患に関する調査研究班」

総論編

- ・はじめに
- ・サルコイドーシスの多彩性，多様性
- ・標準的ステロイド治療
- ・メトトレキサートとその他の代替治療薬
- ・吸入ステロイド治療
- ・サルコイドーシスの検査所見

症例編

- ・無治療 改善例
- ・無治療 不変～悪化例
- ・ステロイド標準治療 改善例
- ・ステロイド標準治療 不安定～悪化例
- ・少量ステロイド治療例
- ・ステロイド代替薬治療例



- 1) 肺陰影の出現: 新たな肺野の陰影が出現した場合。
- 2) 画像所見の悪化: 胸部CTでの太い気管支・血管周囲の肥厚，無気肺の悪化であり，胸部X線での肺野の粒状影や綿花陰影の増悪ではステロイドは使用せずに経過を見る。
- 3) 呼吸機能障害: %VC 80%以下，一秒率 70%以下，PaO₂ 59 torr以下を参考にする。
- 4) 悪化: 臨床所見，自覚症状の増悪，肺野病変の増悪。

図1 サルコイドーシス利用に関する見解—2003。日サ会誌 2003;23:105-114. より

【参考文献】

- 1) サルコイドーシス治療に関する見解－2003.
日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会, 日本呼吸器学会, 日本心臓病学会, 日本眼科学会, 厚生省科学研究－特定疾患対策事業－びまん性肺疾患研究班 ; サルコイドーシス/肉芽腫性疾患, 23 : 105-114, 2003.
- 2) Hunninghake GW, Costabel U, Ando M, Baughman R, Cordier JF, du Bois R, Eklund A, Kitaichi M, Lynch J, Rizzato G, Rose C, Selroos O, Semenzato G, Sharma OP. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 1999 Sep;16(2):149-73.
- 3) The diagnosis, assessment and treatment of diffuse parenchymal lung disease in adults: British Thoracic Society recommendations. Thorax 1999 Apr; 54 Suppl. 1:S1-14
- 4) Judson MA. Clinical aspects of pulmonary sarcoidosis. J S C Med Assoc. 2000 Jan;96(1):9-17.

北海道における臨床調査個人票に基づく サルコイドーシスの疫学調査

今野 哲¹ 四十坊典晴^{2*} 山口 哲生^{3*} 西村 正治^{1**}

臨床調査個人票を用い、2000～2008年度に北海道で新規診断されたサルコイドーシス患者1796人(組織診断群1085例, 61.7%)を対象に疫学調査をおこなった。男性637人, 女性1159人であり(男女比0.55), 年齢分布は二峰性を示した。眼, 皮膚病変は女性に多く, 肺野病変は男性に多かった。この期間において, 男女共に20歳代の割合が減少し, 女性では60歳代, 男性では50歳代の割合が増加していた。過去約10年間において, サルコイドーシス患者の年齢は高齢化していることが示された。

Epidemiological survey of patients with sarcoidosis using clinical personal records in Hokkaido

Objective: The aim of this study was to investigate the recent change in the clinical characteristics of patients diagnosed with sarcoidosis in Hokkaido.

Methods: We retrospectively analyzed 1796 patients newly diagnosed with sarcoidosis between January 2000 and March 2009 based on the Japanese guidelines using a central database at the Ministry of Health, Labour and Welfare. We evaluated the change in clinical characteristics among several patients during this period.

Results: The male/female ratio was 0.55 and this remained unchanged during the study period. The prevalence of ocular and skin involvement was higher in females compared with males ($P < 0.001$), whereas the prevalence of lung parenchymal involvement was higher in males compared with females ($P < 0.001$). The age of onset increased during this period for both genders.

Conclusion: The age of onset of sarcoidosis in Hokkaido has recently increased and this phenomenon may affect the clinical course of the disease. Similar epidemiological surveys should be conducted in other Japanese areas. Further studies are required to clarify the change in the clinical course of sarcoidosis in Japan.

¹ 北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野

² JR札幌病院呼吸科内科

³ JR東京総合病院呼吸器内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

** びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

A. 研究目的

日本におけるサルコイドーシスの疫学調査は、これまで臨床調査個人票をもとにおこなわれてきており、近年の臨床像が過去と比べて異なっていると報告されている (Morimoto et al. Eur Respir J 2008). しかし、臨床像の推移、変化については十分明らかではなく、地域ごとの検討はおこなわれていない。本研究の目的は、北海道におけるサルコイドーシス患者の臨床像の経年変化とその特徴を把握することであり、将来的に本邦全体の疫学調査の足がかりとすることを目的とする。

B. 研究方法

2000年4月から2009年3月までの間に、臨床調査個人票を用いて、北海道地区において、新規診断されたサルコイドーシス患者1796人を対象に、各臨床像を調査し、各年度の臨床像の推移について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票の研究目的利用に関する要綱(平成16年10月29日)に基づき、北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野教授西村正治による申請、自治医科大学呼吸器内科教授杉山幸比古の承諾を経て厚生労働省健康局疾病対策課長からの使用許可(平成23年9月29日)を得た上での検討である。また、北海道

大学病院「自主臨床研究審査委員会」に「サルコイドーシスの臨床背景に関する検討」として審査を申請し、平成23年11月9日付けで承認されている。

C. 研究結果

対象の特徴を表1に示した。男女比は0.55(表1: 男性637例, 女性1159例)で、年齢中央値は52歳(男性38歳, 女性54歳)で、二峰性の分布を示した(図1)。罹患臓器では87.0%で胸部異常影を認め、そのうち臨床病期0期は13.0%, I期は45.3%, II期は34.5%, III期は7.2%であった。眼病変の罹患割合は61.7%で、皮膚病変は20.7%であった。いずれの罹患臓器割合も男女差を認め、肺病変の割合は男性で高く、眼病変と皮膚病変は女性で高かった。年度ごとの推移については、男女比の変化は明らかではなかったが、20-29歳の割合が減少し、50歳以上の年齢層の割合が増加している傾向があった(図1)。罹患臓器については、眼病変の罹患割合が増加している印象であった傾向を示した(表2)。

D. 考察

本検討により、2000-2008年度において、北海道のサルコイドーシス患者は高齢化していることが示された。サルコイドーシスの臨床像、特に肺病変の臨床経過は年齢によって異なることが知られており、高齢者ほど肺病変の改善率が低いとされている。よって、患者層の高齢化により、過去と比較しサル

表1 対象の特徴

	計	女性	男性	P 値
^a 数	1796	1159	637	<0.001
^b 年齢 (中央値, 範囲)	52,12-93	54,12-87	38,14-93	<0.001
^a Stage 0, n (%)	232(13.0)	176(15.2)	56(8.8)	<0.001
^a Stage I, n (%)	811(45.3)	560(48.4)	251(39.7)	<0.001
^a Stage II, n (%)	617(34.5)	346(29.9)	271/633(42.8)	<0.001
^a Stage III, n (%)	129(7.2)	74(6.4)	55(8.7)	0.118
^a 肺病変(Stage I-III), n (%)	1557(87.0)	980(84.8)	577(91.1)	<0.001
^a 眼病変, n (%)	1090 (61.7)	785 (68.6)	305 (49.1)	<0.001
^a 皮膚病変, n (%)	370(20.7)	275(23.8)	95(15.0)	<0.001
^a 組織診断, n (%)	1085(61.7)	676(59.9)	409(67.0)	0.004

コイドーシス患者全体の肺病変の臨床経過が変化している可能性があると考えられた。

E. 結論

2000-2008年度における、北海道のサルコイドーシス患者の臨床像を検討した。本検討は、今後各地域のサルコイドーシスの有病率、地区ごとの臨床像の違いを検討する上で、重要な基礎データとなると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1 Hattori T, Konno S, Takahashi A, Shigemura M, Matsuno K, Shimizu C, Shigehara K, Shijubo N, Hizawa N, Yamaguchi E, Nishimura M. : “Total serum IgE levels and atopic status in patients with sarcoidosis”, *Allergy Asthma Proc*, 2012 in press.

2 四十坊典晴 サルコイドーシスのステロイド治療. 日サ会誌31: 57-59, 2011

3 重原克則, 森 勇樹, 四十坊典晴, 市村志保, 伊藤峰幸, 佐々木真由美, 佐々木純, 小池祐史, 平賀

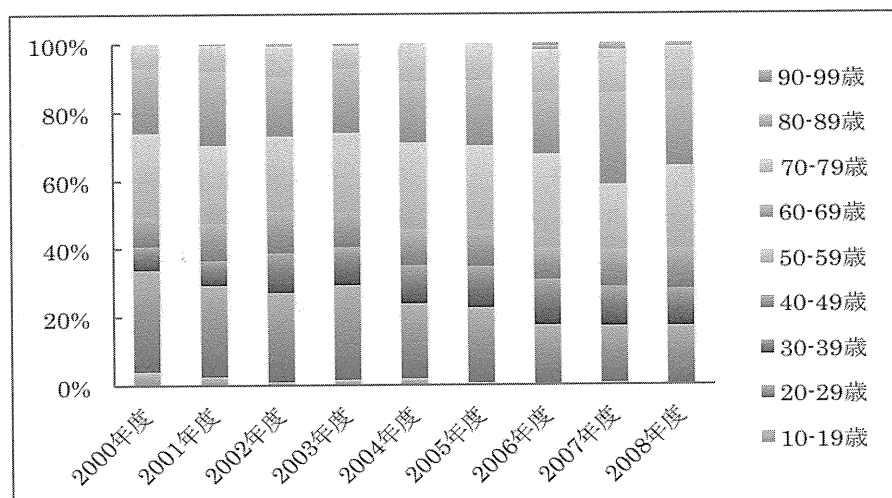


図1 2000-2008年度におけるサルコイドーシス患者の年齢分布

表2 サルコイドーシス患者の年度別特徴

	2000年度	2001年度	2002年度	2003年度	2004年度	2005年度	2006年度	2007年度	2008年度
数	214	285	273	202	145	141	161	157	218
男女比	75/139 (0.54)	100/185 (0.54)	118/155 (0.76)	60/142 (0.42)	51/94 (0.54)	50/91 (0.55)	58/103 (0.56)	50/107 (0.47)	75/143 (0.52)
Stage 0,n(%)	23(10.8)	30(10.6)	33(12.1)	30(14.9)	17(11.7)	24(17.1)	25(15.6)	18(11.5)	32(14.8)
Stage I,n(%)	105(49.5)	131(46.1)	118(43.2)	96(47.5)	63(43.4)	60(42.9)	69(43.1)	79(50.3)	90(41.7)
Stage II,n(%)	73(34.4)	107(37.7)	99(36.3)	60(29.7)	52(35.9)	39(27.9)	56(35.0)	50(31.8)	81(37.5)
Stage III,n(%)	11(5.2)	16(5.6)	23(8.4)	16(7.9)	13(9.0)	17(12.1)	10(6.3)	10(6.4)	13(6.0)
肺病変 (Stage I-III),n (%)	189(89.2)	254(89.4)	240(87.9)	172(85.1)	128(88.3)	116(82.9)	135(84.4)	139(88.5)	184(85.2)
眼病変,n(%)	109(51.9)	154(55.4)	138(52.5)	135(67.5)	107(73.8)	88(63.3)	110(68.3)	113(73.4)	136(63.0)
皮膚病変,n(%)	41(19.5)	50(17.7)	60(22.1)	43(21.3)	29(20.0)	37(26.2)	39(24.2)	25(15.9)	46(21.2)
組織診断,n(%)	132(64.1)	160(57.6)	145(54.1)	110(55.8)	94(68.1)	85(65.4)	102(65.8)	104(68.0)	153(71.5)

洋明. 表在性リンパ節腫脹を認め結核との鑑別を要したサルコイドーシスの1例. 日サ会誌31: 19-23, 2011

4 山口哲生 呼吸器疾患と全身の関わり サルコイドーシスとその全身病変 日本内科学会雑誌;100:2517-2523, 2011

5 山口哲生 呼吸器疾患の70年を振り返る 日本胸部臨床とともに(第8回) わが国のサルコイドーシス70年 日本胸部臨床70 ; 839-845 : 2011

2. 学会発表

1 Hattori T, Konno S, Shijubo N, Ohmichi M, Yamaguchi T, Nishimura M. Effect of smoking on development and clinical manifestations of sarcoidosis in a Japanese population. WASOG 10th meeting & BAL 12th conference 2011 June Maastricht

2 服部健史, 今野 哲, 四十坊典晴, 大道光秀, 西村正治 札幌市3病院におけるサルコイドーシス患者の喫煙率, 及び喫煙がサルコイドーシスの臨床所見に与える影響 第51回日本呼吸器学会学術講演会 2011年4月 東京

3 服部健史, 今野 哲, 四十坊典晴, 大道光秀, 西村正治 肺サルコイドーシスの自然経過に関する検討 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

4 四十坊典晴 国際眼科診断基準-呼吸器内科の立場から-眼病変を有する組織診断群375例の検討 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

5 土田哲人, 石村周太郎, 大沼義人, 長谷川徹, 遠

藤利昭, 中島一貴, 四十坊典晴, 安藤利昭 プレドニゾロンおよびメトトレキサート治療中にニューモシスチスは陰を合併した心サルコイドーシスの一例 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

6 平澤康孝, 山口哲生, 一色琢磨, 在間未佳, 竹島英之, 槇田広佑, 細木敬祐, 河野千代子, 山田嘉仁 サルコイドーシスにおける悪性腫瘍合併例の検討 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

7 永田まこと, 廣江道昭, 諸井雅男, 伊藤公輝, 窪田和雄, 山田嘉仁, 山口哲生 心臓サルコイドーシスの活動性病変評価における18F-FDG-PETの有用性と問題点 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

8 竹島英之, 槇田広佑, 山口哲生, 在間未佳, 平澤康孝, 一色琢磨, 細木敬祐, 河野千代子, 山田嘉仁 発病後5年以上経過を観察したサルコイドーシス症例の検討 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

9 山口哲生 サルコイドーシス治療におけるメトトレキサートの位置づけ 第31回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会 2011年10月 名古屋

10 山田嘉仁, 山口陽子, 一色琢磨, 若林義賢, 細木敬祐, 鈴木智史, 在間未佳, 河野千代子, 山口哲生, 廣江道昭 心臓サルコイドーシス治療におけるFDG-PETの臨床応用 第51回日本呼吸器学会学術講演会 2011年4月 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況