

(MDS-SPAP)の予後解析—SPAP は MDS の予後に影響を及ぼすのか— 第 52 回日本呼吸器学会総会・学術講演会 一般演題  
2012/04/21、神戸

2. Ishii H, Nakata K, Tazawa R, Inoue Y. Prognosis of secondary pulmonary alveolar proteinosis complicated with myelodysplastic syndrome. — Has the complication of pulmonary alveolar proteinosis had major impact on the prognosis of patients with myelodysplastic syndrome? — American Thoracic Society 2012 International Conference; Poster session; San Francisco, May 24, 2012.
3. 石井晴之、中田光、後藤元. 自己免疫性肺胞蛋白症と続発性肺胞蛋白症との胸部高分解能 CT 所見における比較臨床研究. 第 104 回 ACCP 日本部会賞受賞講演. 東京 2012/10/6
4. Ishii H, Nakata K, Tazawa R, Inoue Y. Characteristics of negative GM-CSF autoantibody pulmonary alveolar proteinosis in Japan. 17<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology; Oral presentation; Hong Kong, Dec 16, 2012.

#### 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

遺伝性間質性肺疾患に関する研究：Hermansky-Pudlak 症候群2例と特発性肺線維症(IPF/UIP) 4 例の肺病変の検討。外科的肺生検所見と剖検肺所見の比較

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 臨床検査部長

研究要旨

Hermansky-Pudlak syndrome(HPS)は oculocutaneous albinism と血小板の storage pool disease に起因する出血傾向などを来す遺伝性疾患である。一方、特発性肺線維症(IPF)は弧発的に起こる原因不明の肺疾患であり、遺伝性疾患ではない。HPS, IPF とも肺の線維化病変は Usual interstitial pneumonia (UIP)パターンであると記載された (ATS/ERS, 2002)。HPS2 例、IPF4 例について外科的肺生検と剖検の肺病理所見について検討した。2つの病態では外科的肺生検での蜂巢肺形成所見と剖検肺での両側肺底部に優勢な蜂巢肺形成の所見で有意な違いの傾向を認め ( $p=0.067$ )、両疾患での肺線維化病変の形成機序の違いが示唆された。

A. 研究目的

Hermansky-Pudlak syndrome(HPS) は oculocutaneous albinism と血小板の storage pool disease に起因する出血傾向などを来す遺伝性疾患である。一方、特発性肺線維症(IPF)は弧発的に起こる原因不明の肺疾患であり、遺伝性疾患ではない。HPS, IPF とも肺の線維化病変は Usual interstitial pneumonia (UIP)パターンであると記載された (ATS/ERS, 2002)。特発性肺線維症(IPF/UIP)の治療の一つであるピルフェニドンは HPS に伴う慢性間質性肺炎でも有効性が報告された。今後の治療の方向性を念頭において HPS2 例、IPF4 例について外科的肺生検と剖検の肺病理所見について検討した。

B. 研究方法

2004年4月から2010年12月までの近畿中央胸部疾患センターにおける剖検109例とびま

ん性肺疾患の確定診断のために外科的肺生検(胸腔鏡下肺生検(VATS))が施行された166例を対象とした。剖検109例には外科的肺生検も施行された症例を17例認めた。これら17例のうちHPS2例、IPF4例について外科的肺生検と剖検の肺病理所見について検討した。外科的肺生検検体は伸展固定のない検体と伸展固定のある検体についてHE染色とEvG弾性線維染色を行った。剖検肺では伸展固定後にスライスし肺組織検体を作製し、HE染色とEvG弾性線維染色を行った。必要に応じて免疫染色を行った。

組織学的所見のうち蜂巢肺形成(honeycomb change, HC)は線維化病変で囲まれた呼吸細気管支レベルの含気腔開大と定義した。

(倫理面への配慮)

本研究は既に施行された外科的肺生検と剖検の検体を対象とした。各個症例に対して新たな身体的および経済的負担はないと考えた。

### C. 研究結果

HPS2 例、IPF4 例について外科的肺生検と剖検の肺病理所見について検討した。蜂巢肺形成 (honeycomb change, HC) は線維化病変で囲まれた呼吸細気管支レベルの含気腔開大と定義した。HPS2 例では外科的肺生検で HC(-), fibroblast focus (FF)(+), alveolar lining cells with foamy cytoplasm (+) であり、剖検肺で両側肺底部に優勢な HC 形成(-)であった。IPF4 例では外科的肺生検で HC(+), fibroblast focus (FF)(+), alveolar lining cells with foamy cytoplasm (-) であり、剖検肺で両側肺底部に優勢な HC 形成(+ )であった。

### D. 考察

2 つの病態では外科的肺生検での蜂巢肺形成所見と剖検肺での両側肺底部に優勢な蜂巢肺形成の所見で有意な違いのする傾向を認めたと考えた ( $p=0.067$ )。

筆者らは 1984 年に本邦での HPS17 例の文献報告を収集するとともに、本邦での最初の HPS に伴うびまん性肺疾患に対しての外科的肺生検所見を報告した (西村ほか 1984)。その後、HPS の本邦報告例は 2002 年までに 74 例が収集され、53 例 (73%) に間質性肺炎・肺線維症が認められた (中谷ら, 2006)。

2002 年の特発性間質性肺炎 (IIPs) の ATS/ERS 国際分類では Usual interstitial pneumonia (UIP) パターンを示す病態として idiopathic pulmonary fibrosis, collagen vascular disease, drug toxicity, chronic hypersensitivity pneumonitis, asbestosis, familial idiopathic pulmonary fibrosis, Hermansky-Pudlak syndrome が列挙された。その後、Usual interstitial pneumonia (UIP) パターンを示す肺病変に対して、特発性肺線維症 (IPF/UIP) と比較の中で、膠原病に伴う UIP pattern、慢性過敏性肺臓炎に伴う UIP pattern

が病態ごとに、その詳細が明らかにされてきた (北市ほか 2012, Takemura ほか 2012)。遺伝性間質性肺疾患の一種である HPS に伴う肺線維化病変でも薬物治療の可能性を含めた観点からの検討が必要と考えた。

### E. 結論

Hermansky-Pudlak 症候群に伴う慢性間質性肺炎と特発性肺線維症 (IPF/UIP) の 2 つの病態では外科的肺生検での蜂巢肺形成所見と剖検肺での両側肺底部に優勢な蜂巢肺形成の所見で有意な違いのする傾向を認め ( $p=0.067$ )、両疾患での肺線維化病変の形成機序の違いが示唆された。

### F. 健康危険情報

本研究は既に施行された外科的肺生検と剖検の病理検体を対象とした。各症例への健康危険の事象はないと考えた。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Kurahara Y, Tachinana K, Kitaichi M, Hayashi S. Pulmonary diffuse alveolar septal amyloidosis. Intern Med 51: 1447-1448, 2012. (PDF: G-94,603)
2. Tamiya A, Okamoto I, Miyazaki M, Shimizu S, Kitaichi M, Nakagawa K. Severe acute interstitial lung disease after crizotinib therapy in a patient with EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 31(1):e15-17, 2013.
3. Kurahara Y Tachibana K, Tezuka K, Shimizu S, Kitaichi M, Hayashi S, Suzuki K. Kikuchi-Fujimoto disease mimicking tuberculosis lymphadenitis. Intern Med 2012; 51(14): 1927-1930.

4. Tachibana K, Arai T, Kagawa T, Minomo S, Akira M, Kitaichi M, Inoue Y. A case of combined sarcoidosis and usual interstitial pneumonia. *Intern Med* 2012; 51(14): 1893-1897.
5. Tshujino K, Takeda Y, Arai T, Shintani Y, Inagaki R, Saiga H, Iwasaki T, Tetsumoto S, Jin Y, Ihara S, Minami T, Suzuki M, Nagatomo I, Inoue K, Kida H, Kijima T, Ito M, Kitaichi M, Inoue Y, Tachinana I, Takeda K, Okumura M, Helmer ME, Kumanogoh A. Tetraspanin CD151 protects against pulmonary fibrosis by maintaining epithelial integrity. *Am J Respir Crit care Med* 2012; 186(2): 170-180.
6. 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* 2012; 30(2): 165-171.
7. 蓑毛祥次郎、橘 和延、辻泰佑、露口一成、北市正則、林 清二、鈴木克洋。肺結核の化学療法中に増大した胸郭内 diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) の 1 例。 *Kekkaku* 87(10): 663-667, 2012.
8. Kitaichi M, Shimizu S, Tamaya M, Takaki M, Inoue Y. Chapter 3: Pathology of hypersensitivity pneumonitis. In: Sharma Om P (editor), *Clinical Focus Series: Hypersensitivity Pneumonitis*, Jaypee Brothers Medical Publishers(P) LTD, New Delhi, 2013, p.22-32.
9. 北市正則、井上義一、新井 徹、玉舎 学、高木理博、清水重喜。特集：肺病変先行の膠原病をめぐって。膠原病における間質性肺炎の病理像の特徴：特に UIP, NSIP を中心にして。 *日本胸部臨床* 71(8): 779-793, 2012.
10. 北市正則。特発性間質性肺炎(IIPs)の病理組織学的所見、びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第4版、金芳堂、京都市、2012: 100-112.
11. 北市正則。膠原病に伴う肺病変の病理組織学的所見。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第4版、金芳堂、京都市、2012:171-178.
12. 北市正則。職業性肺疾患の病理所見。病理組織学的所見。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第4版、金芳堂、京都市、2012:226-232.
13. 北市正則、清水重喜。肺感染症と肉芽腫性肺疾患の病理所見。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第4版、金芳堂、京都市、2012:360-366.
14. 北市正則。肺気腫と気腔開大性肺疾患の病理所見。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第4版、金芳堂、京都市、2012:380-388.
15. 大野聖子、北市正則。肺門リンパ節腫大により中枢部の肺動脈狭窄を起し、肺動脈圧上昇をきたしたサルコイドーシスの一例。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺

疾患の臨床、第 4 版、金芳堂、京都市、2012:410-414.

16. 大野聖子、北市正則。縦隔の肉芽腫性炎症・線維化により、中枢部の肺動脈狭窄と肺動脈圧上昇をおこしたサルコイドーシスの一例。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第 4 版、金芳堂、京都市、2012:415-420.

17. 和田 広、中野恭幸、北市正則。発熱、両側多発肺野陰影と好酸球増多を示した肝原発の血管肉腫の一例。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第 4 版、金芳堂、京都市、2012:441-446.

18. 玉舎 学、井上義一、北市正則。若年女性の慢性過敏性肺炎の一例。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第 4 版、金芳堂、京都市、2012:457-460.

19. 杉本親寿、北市正則、井上義一。種々の肺病変を認めた喫煙関連びまん性肺疾患の一例。びまん性肺疾患研究会編：びまん性肺疾患の臨床、第 4 版、金芳堂、京都市、2012:516-520.

## 2. 学会発表

1. 北市正則、井上義一、審良正則、新井 徹、坂谷光則先生、大阪呼吸器疾患シンポジウム共同研究グループ。呼吸細気管支炎を伴う間質性肺疾患 (RB-ILD) と剥離性間質性肺炎 (DIP) に関する臨床画像病理学的 (CRP) 検討。ミニシンポジウム (M23)。第 52 回日本呼吸器学会学術講演会。2012 年 4 月 20-21 日、神戸市 (日本呼吸器学会誌 Vol.1, 増刊号、p.119)

2. 北市正則：ワークショップ 9. 間質性肺炎の病態と診断。(WS-9-2) 膠原病に伴う間質性肺炎・間質性肺疾患。第 101 回日本病理学会総会、2012 年 4 月 26-28 日、東京、(日本病理学会会誌、第 101 巻、第 1 号、p.209, 2012) (WS-9-2).

3. 北市正則、清水重喜、玉舎 学、新井 徹、香川智子、審良正則、松村晃秀、井上義一、林 清二、源 誠二郎、高木理博。特発性肺線維症 (IPF/UIP) の外科的肺生検所見のスペクトラム：連続 104 剖検例での検討。第 101 回日本病理学会総会、平成 24 年 4 月 26-28 日、東京、(日本病理学会会誌、第 101 巻、第 1 号、p.393, 2012)(P2-PM-56)

## 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  
特記事項なし

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

オスラー病の遺伝子解析

研究分担者 森崎裕子 国立循環器病研究センター研究所 分子生物学部室長

研究要旨

我々は、2005年より臨床的に診断された遺伝性出血性毛細血管拡張症（HHT）の遺伝子解析を施行しているが、今年度は2012年11月までにさらに22家系26例を追加解析し、合わせて81家系108例について解析を終了した。その結果、*ENG*変異(HHT1) 46家系（57%）65例、*ACVRL1*変異(HHT2) 21家系（26%）26例、*SMAD4*遺伝子変異2家系（2.5%）4例、その他1家系(1.2%)1例 計70家系（86%）108例において、原因遺伝子変異を同定した。このうち、*SMAD4*は若年性ポリポーシス症候群を伴うHHT（JP-HHT）の原因遺伝子であるが、今回変異を同定した2家系4例のうち、1例は *de novo* 変異であったが臨床的にJPSの所見は認められず、一方、他の1家系3例においては、全員に大腸ポリポーシスを認めたが、臨床的にHHTの所見を認めたのは2例のみで、1例に大動脈病変を認めるなど、*SMAD4* 遺伝子変異による臨床像の多様性が示唆された。

A. 研究目的

遺伝性出血性末梢血管拡張症（HHT）は、先天性動静脈奇形による皮膚・粘膜および内臓の多発性末梢血管拡張とそこからの出血を特徴とする常染色体優性遺伝性疾患であり、責任遺伝子として、これまでに、*ENG*(Endoglin)、*ACVRL1*(*ALK1*)、*SMAD4* が知られており、それぞれHHT1、HHT2、JP-HHTとして分類されている。病型ごとの分布は地域により異なり、北欧や北米ではHHT1が多いが、地中海地域ではHHT2が比較的多いとされている。本邦においては、HHTに対する大規模遺伝子研究はこれまでなされておらず、病型ごとの分布は明らかにされてこなかったため、まず、本邦における原因遺伝子別の病型分布と明らかにすることを第一の目的とした。さらに、原因遺伝子による臨床症状の違い（Genotype-Phenotype

Correlation）については、いくつかの先行研究があるが、それについても再検討を行い、また、原因遺伝子の同定されない症例について、新たな原因遺伝子の探索を行った。

B. 研究方法

解析対象：2006.4月～2012.11月の間に、臨床所見よりHHT（確定・疑い）と診断され、関連機関あるいは本班研究分担研究者より国立循環器病研究センターに遺伝子解析を依頼された患者108名（うち発端者81名、患者家族27名）。解析方法：末梢血リンパ球より抽出したゲノムDNAを用いた遺伝子解析を行った。

まず、*ENG*、*ACVRL1* 遺伝子の全 exon について、exon -intron 境界を含むゲノム領域についてPCR法にて増幅し、直接シーケンス法にて変異解析を行った。これにて変異の同定でき

なかった症例については、同遺伝子の MLPA 解析および SMAD4 遺伝子の追加解析を行った。なお、家族例については、発端者で同定された変異についてのみ解析を行った。

#### (倫理面への配慮)

本研究における患者検体を用いた遺伝子解析については、既に国立循環器病センター倫理委員会の承認を得ており、施設および国などの指針を遵守し、書面によりインフォームドコンセントを受けて研究を実施するなど、倫理面への配慮を十分に行う。また、解析はすべて連結可能匿名化の上で行われる。

### C. 研究結果

#### 1) 遺伝子解析

HHT 発端者 81 例について変異解析をおこない、46 例(57%)で *ENG* 変異、21 例(26%)で *ACVRL1* 変異、2 例(2.5%)で *SMAD4* 変異、1 例(1.2%)で *BMPR2* 変異を同定した。全体の変異同定率は 86%(70/81)であった。解析全体としては、計 70 家系(86%) 108 例において、原因遺伝子変異を同定した。同定された変異についてみると、本邦では、*ENG* 変異が 66% (46/70) を占めており、北欧や北米と同じ傾向を認めた。

#### 2) HHT1 vs HHT2

同定された発端者の遺伝子変異について HHT1 (*ENG* 変異 46 例)と HHT2(*ACVRL1* 変異 21 例)を遺伝子変異のタイプで比較すると、HHT1 では、ミスセンス変異は 22% (10/46) と少なく、ナンセンス変異やフレームシフト変異が多かったのに対し、HHT2 では、ミスセンス変異が 67% (14/21)をしめ、その多く(11/14)はキナーゼ活性領域に存在した。

臨床症状について検討したところ、HHT1 変異例では、肺 AVM 及び脳 AVM が HHT2 に比して有意に多く、肝 AVM が有意に少なかった。また、肺高血圧症の合併は HHT2 のみで認められ、原因遺伝子による臨床症状の違いが明らかになった。

#### 3) その他

*SMAD4* 変異を同定した 2 家系 4 例のうち、1 例は de novo 変異であったが臨床的に JPS の所見は認められず、一方、他の 1 家系 3 例においては、全員に大腸ポリポシスを認めたが、臨床的に HHT の所見を認めたのは 2 例のみで、1 例に大動脈病変を認めるなど、*SMAD4* 遺伝子変異による臨床像の多様性が示唆された。

### D. 考察

本邦における HHT 原因遺伝子の分布は、北欧や北米と同様に、*ENG* 変異によるものが約 3 分の 2 を占めていた。HHT1 と HHT2 の比較では、まず、遺伝子変異の型別分類では、HHT1 は早期停止型の変異が多いことから、発症機序としてはハプロ不全がもっとも考えやすい。一方、HHT2 ではキナーゼ領域のミスセンス変異が 67% を占め、その他も GS ドメインやリガンド結合領域の変異であることから、ドミナントネガティブ機序で働く可能性も否定できない。*ACVRL1* 変異において早期停止型変異によりハプロ不全をきたすと考えられる症例において家族発症例が少ないことも、浸透率が低いことによる可能性もあり、さらなる家系解析が必要であると考えられた。

### E. 結論

本邦における HHT 原因遺伝子の分布は、北欧や北米と同様に、*ENG* 変異によるものが約 3 分の 2 を占めていた。

また、HHT1 と HHT2 の比較では、遺伝子変異の変異型および臨床的合併症において、有意な違いを認めた。

### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表.

1. Takahashi Y, Fujii K, Yoshida A, Morisaki H, Kohno Y, and Morisaki T, Artery tortuosity syndrome exhibiting early-onset emphysema with novel compound heterozygous SLC2A10 mutations. Am J Med Genet A. 12(10): 35776, 2013.

2. 森崎裕子、森崎隆幸, 特発性/遺伝性肺動脈性高血圧症の遺伝子解析. Cardiac Practice. 24(1): 31-36, 2013.

## 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



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

家族性間質性肺炎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

家族性間質性肺炎の HRCT 画像について検討した。3 例の家族性間質性肺炎の HRCT 画像は線維性間質性肺炎を示唆する網状影とすりガラス影、牽引性気管支拡張像であった。2 例は上肺優位の病変分布を示し、残り 1 例はびまん性の病変分布を示した。2 例で嚢胞形成を認めたが、典型的な蜂巢肺ではなく明瞭な壁を有さない気腫状の嚢胞であった。1 例は非特異性間質性肺炎と類似していた。家族性間質性肺炎の一部には非家族性の特発性間質性肺炎とは異なった画像所見を示すものがあると考えられた。

A. 研究目的

家族性間質性肺炎の画像所見、特に HRCT 所見を明らかにすること。

B. 研究方法

家族性間質性肺炎 3 例の自験例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

検討した 3 症例はすべて女性で、年齢は 27 歳、30 歳、64 歳であった。3 例の家族性間質性肺炎の HRCT 所見は線維性間質性肺炎を示唆する網状影とすりガラス影、牽引性気管支拡張像であった。2 例は上肺優位の病変分布を示し、残り 1 例はびまん性の病変分布を示した（図 1）。下肺野優位の分布を示すものは認められなかった。いずれの症例も胸膜下および気管支血管束周囲優位に分布していた。嚢胞形成は 2 例で認められたが、典型的な蜂巢肺形成は認められなかった。嚢胞は明瞭な壁を有さない気腫状の嚢

胞であった（図 2）が、いずれの症例も喫煙歴はなかった。1 例は分布は異なるが非特異性間質性肺炎と類似した HRCT 所見を示した。3 例とも典型的な IPF/UIP と異なり比較的広範なすりガラス影が認められた。

D. 考察

Chibbar らは、家族性間質性肺炎の病理所見は UIP で非家族性の特発性肺線維症と同じであったが、画像所見は上肺野優位で粒状影を呈し慢性過敏性肺炎に似ていたと報告している（Chibbar R, et al. Can Respir J 2010）。Lee らは、家族性肺線維症は非家族性の特発性肺線維症と画像所見も病理所見も同じであったと報告している（Lee H-L, et al. Chest 2005）。Setoguchi らは、家族性の間質性肺炎の 36% が上肺野優位で、59% が下肺野優位、5% がびまん性であったと報告している。また、病理所見が得られた 64% が UIP で、36% が NSIP であったと報告している（Setoguchi Y, et al. Respirology 2006）。我々の症例でも IPF/UIP とは分布が異なり、IPF/UIP に典型的な蜂巢肺とは異なった嚢胞形成が認められた。家族性間

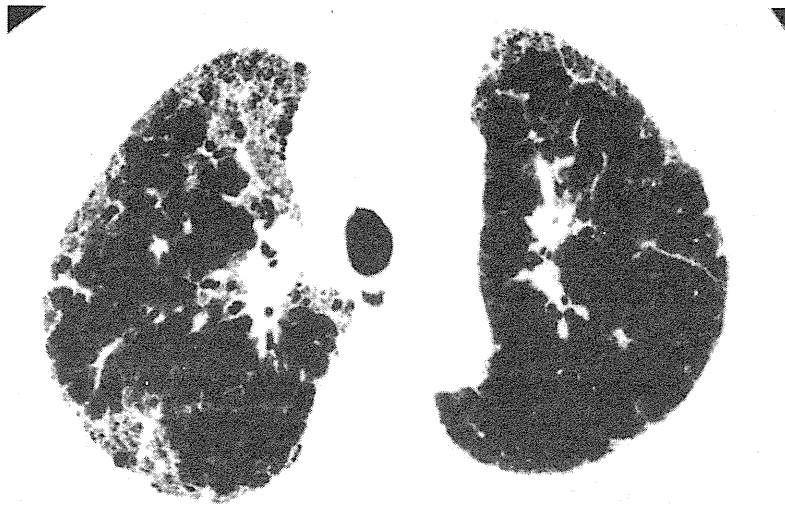


図1 64歳女性

両上肺野胸膜下に牽引性気管支拡張像を伴う網状影が認められる。

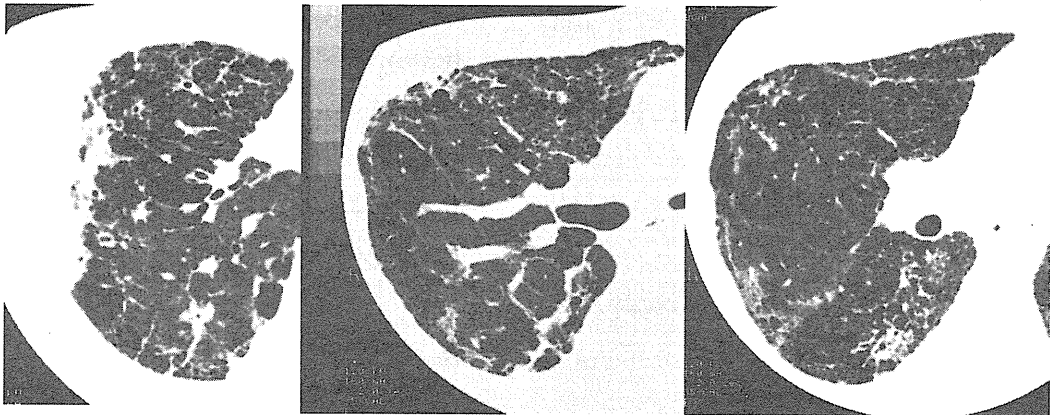


図2 27歳女性

両上肺野優位に網状影が認められる。網状影内に低吸収域、嚢胞が認められる。嚢胞の壁ははっきりせず気腫性嚢胞に似ている。

質性肺炎の一部には非家族性の特発性間質性肺炎とは異なった画像所見を示すものがあると考えられるが、さらなる画像所見の検討が必要である。

#### E. 結論

家族性間質性肺炎はその病理像を反映して多彩な画像所見が認められる。家族性間質性肺炎の一部には非家族性の特発性間質性肺炎とは異

なった画像所見を示すものがあると考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

## 2. 学会発表

1. Akira M, Okuma T, Tokura S, Inoue Y, Suganuma N (2012) Acute or subacute chemical-induced lung injuries: thin-section CT findings. Radiological Society of North America 98th annual meeting. 2012 Nov 26-Dec 1 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

GM-CSF吸入療法の有効性予測因子としての血清CYFRAおよび肺機能

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

【目的と対象】当院にて2002年から2010年にGM-CSF吸入療法を行った20例を対象に、その有効性を規定する因子としての肺機能指標と血清CYFRAの意義を明らかにする。

【方法】年齢、性別、肺機能指標（AaDO<sub>2</sub>、%VC、%DLco）、血清CYFRAとGM-CSF吸入療法の有効性との関係をlogistic回帰にて単因子解析を行う。また、これらの変数を用いてステップワイズ法による多変量のlogistic回帰を行う。

【結果】単因子解析では、血清CYFRAのみが有意な因子であった。多変量解析でも血清CYFRAのみが有意な因子であった。

【結論】血清CYFRAはGM-CSF吸入療法の有効性予測に有用であるが、肺機能指標による有効性予測は困難と考えられた。

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>。2010年、TazawaらはAPAPに対してGM-CSF吸入療法が有効であることを報告した<sup>3)</sup>。Tazawaらの報告では、有効例で血清KL-6が有意に高値であることが示された。また、我々は血清CYFRAのAPAPの血清マーカーとしての意義を検討し、肺機能障害や労作時呼吸困難と有意な相関を示すことを報告し

た<sup>4)</sup>。

今回我々は、血清CYFRAおよび肺機能指標により、GM-CSF吸入療法の有効性の予測が可能か検討を行った。

B. 研究方法

当院で診断し、2002年から2010年の間にGM-CSF吸入療法で治療を行った20例を対象とした。GM-CSFの吸入プロトコールは4種類あり、パイロットスタディI：1例<sup>3)</sup>、II：2例<sup>3)</sup>、トライアル：12例<sup>3)</sup>、e-Flowを用いたトライアル：5例であった。吸入療法前後の安静臥位におけるAaDO<sub>2</sub>が10Torr以上の減少を、病状の改善と定義した。

性別、その他の年齢、呼吸困難度(MRC)、井上の重症度、AaDO<sub>2</sub>、%VC、%DLco、血清CYFRAの7因子についてはmedianで2群に

わけ、GM-CSF 吸入の有効性を規定するか否かを単変量にて logistic 回帰分析を行った。さらに、ステップワイズ法を用いた多変量 logistic 回帰分析で検討を行った。

### C. 結果

#### (1) 患者背景因子

対象 20 例のうち、有効例において、年齢が有意に若年であった。肺機能障害や CYFRA を除く血清マーカー、呼吸困難度などのその他の因子に関しては、有意差を認めなかった。血清 CYFRA に関しては、吸入療法有効例において有意に高値を示した。

#### (2) GM-CSF 吸入療法と血清 CYFRA

血清 CYFRA は吸入療法無効例では吸入前後で有意差を認めなかった。一方、有効例に関しては、吸入後に有意に低下を示した。吸入前の血清 CYFRA は有効例で有意に高値を示した。

#### (3) GM-CSF 吸入療法の予測因子の検討

単変量解析では、血清 CYFRA 高値のみが有意な因子であった。ステップワイズ法による多変量 logistic 回帰では血清 CYFRA 高値

(6.4ng/mL 以上)のみが、オッズ比 9.333(95% CI: 1.372-94.189) で有意な ( $p=0.0213$ ) 吸入療法の有効を予測する因子であった。

### D. 考察

Tazawa らは GM-CSF 吸入療法の有効性の予測因子を検討し、無効例で喀痰を認める例が多い以外には有効例、無効例で背景因子に有意差を認めなかった。検査データに関しては、有効例で有意に血清 KL-6 は高値を示した<sup>9)</sup>。

本検討においては、有効例で年齢が若年で、血清 CYFRA 高値を示した。血清 KL-6 は有意差を認めなかった。また、肺機能指標に関しては、有意差を認めなかった。単変量の Logistic

回帰による有効性規定因子の検討では、血清 CYFRA 高値のみが有意な有効予測因子であり、ステップワイズ法による多変量解析でも血清 CYFRA のみが残った。症例数が少ないため、十分な検討とは言えないかもしれないが、血清 CYFRA が GM-CSF 吸入療法の有効性規定因子として有用な可能性が示唆された。

我々の APAP 症例の組織学的検討では、CYFRA は II 型肺胞上皮細胞の過形成部分で陽性を示すことを報告した<sup>4)</sup>。したがって、血清 CYFRA 高値例においては、II 型肺胞上皮細胞の過形成が著明な症例である可能性がある。また、II 型肺胞上皮細胞からは GM-CSF が産生され<sup>5)</sup>、肺胞マクロファージの分化にかかわると考えられる。したがって、血清 CYFRA が高値の症例で、GM-CSF 吸入を行い、抗体が中和されて局所濃度が低下すれば、過形成を生じた II 型肺胞上皮細胞から産生される GM-CSF によって肺胞マクロファージの分化が進行し、APAP の病状の改善が見られるのではないかと考えられる。

### E. 結論

GM-CSF 吸入療法の有効性の予測に血清 CYFRA が有用な可能性が示唆された。肺機能からは有効性の予測は現時点では困難と考えられた。今後、症例を蓄積し、再度検討することが必要かもしれない。

### 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 Respir Crit Care Med 2008; 177: 752-762.

3. Tazawa R, Trapnell BC, Inoue Y, et al. Inhaled granulocyte/macrophage –colony stimulating factor as therapy for pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 1345-1354.
4. Arai T, Inoue Y, Sugimoto C, et al. Serum CYFRA reflects disease severity of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir Society annual meeting* 2010.
5. Carraway MS, Ghio AJ, Carter JD, et al. Detection of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161: 1294-9
3. Kirchner J, Inoue Y, Nakata K, Tazawa R. Direct evidence that GM-CSF inhalation improves lung clearance in pulmonary alveolar proteinosis. *Respir Med* 2012; 106 (2): 284-93
3. Arai T, Inoue Y, Tachibana, K Tsuyuguchi K, Nishiyama A, Sugimoto C, Sasaki Y, Kagawa T, Matsuda Y, Hayashi S. Cytomegalovirus infection during immunosuppressive therapy for diffuse parenchymal lung disease. *Respirology* 2013;18:117-124.
4. Tsujino K, Takeda Y, Arai T, Shintani Y, Inagaki R, Saiga H, Iwasaki T, Tetsumoto S, Jin Y, Ihara S, Minami T, Suzuki M, Nagatomo I, Inoue K, Kida H, Kijima T, Ito M, Kitaichi M, Inoue Y, Tachibana I, Takeda K, Okumura M, Hemler ME, Kumanogoh A. Tetraspanin CD151 Protects against Pulmonary Fibrosis by Maintaining Epithelial Integrity. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186 (2): 170-180

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ohashi K, Sato A, Takada T, Arai T, Kasahara Y, Hojo M, Nei T, Nakayama H, Motoi N, Urano S, Eda R, Yokoba M, Tsuchihashi Y, Nasuhara Y, Ishii H, Ebina M, Yamaguchi E, Inoue Y, Nakata K, Tazawa R. Reduced GM-CSF autoantibody in improved lung of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir J* 2012; 39 (3): 777-80
2. Ohashi K, Sato A, Takada T, Arai T, Nei T, Kasahara Y, Motoi N, Hojo M, Urano S, Ishii H, Yokoba M, Eda R, Nakayama H, Nasuhara Y, Tsuchihashi Y, Kaneko C, Kanazawa H, Ebina M, Yamaguchi E,

##### 2. 学会発表

1. Arai T, Inoue Y, Sugimoto C, Sasaki Y, Tachibana K, Sakamoto N, Okuma T, Akira M, Kitaichi Mesanori, Predictors of effects and adverse effects of pirfenidone on idiopathic pulmonary fibrosis. (European Respiratory Society 2012. 9.4 in Vienna)
2. 新井徹, 井上義一, 佐々木由美子, 杉本親寿, 橘和延, 審良正則, 大隈智尚, 北市正則, 林清二. 特発性肺線維症に対するピルフェ

ニドンの治療効果および副作用規定因子の検討。（日本呼吸器学会総会，2012年4月20日，神戸）

3. 新井徹，井上義一，橘和延，杉本親寿，井上康，西山明秀，審良正則，大隈智尚，北市正則，林清二．特発性間質性肺炎急性増悪例におけるHRCTパターンは病態の相違を反映するか．（日本呼吸器学会総会，2012年4月21日，神戸）
4. 新井徹，井上義一，審良正則，北市正則，林清二．ステロイドと免疫抑制剤が有効であった特発性肺線維症の一例．（第85回間質性肺疾患研究会，2012年6月15日，東京）
5. 新井徹，井上義一，審良正則，北市正則，林清二（剖検にて胸膜班を認めた特発性肺線維症の一例．（第85回間質性肺疾患研究会，2012年6月15日，東京）
6. 新井徹，井上義一，大塚淳司，審良正則，北市正則．TBLBで肺胞蛋白症類似の好酸性物質を認め，2度目の急性増悪にて死亡した特発性肺線維症の一例．（第85回間質性肺疾患研究会，2012年6月15日，東京）

#### 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

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

GM-CSFシグナルの免疫調節に関する研究

研究分担者 内田寛治 東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター講師

研究要旨

肺胞蛋白症では、サイトカインである GM-CSF シグナルの、中和抗体による欠損がその病因に関わっていることがほぼ証明されている。GM-CSF シグナルは成熟貪食細胞にも働いてその抗菌活性を賦活する、強力な免疫賦活作用を持っている。特に好中球表面上の接着因子 CD11b の発現量を増加させる作用があり、この反応性を見ることが、肺胞蛋白症の診断に有用であることが知られている。今回この方法の再現性を検討し、安定した結果を得る条件を検討した。また高度炎症動物モデルでの免疫学的状態評価にも有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

肺胞蛋白症は進行性の呼吸不全を来す瀰漫性稀少肺疾患である。肺胞蛋白症では、サイトカインである GM-CSF シグナルの、中和抗体による欠損がその病因に関わっていることがほぼ証明されている<sup>1</sup>。GM-CSF シグナルは成熟貪食細胞にも働いてその抗菌活性を賦活する、強力な免疫賦活作用を持っている<sup>2</sup>。この性質を利用して、GM-CSF 刺激による好中球の接着因子 CD11b 発現量の増加量を評価する方法を我々は考案し、発表した<sup>3</sup>。この方法は、自己免疫性肺胞蛋白症の診断に、および二次性肺胞蛋白症、および GM-CSF 受容体異常に伴う肺胞蛋白症、原因不明の肺胞蛋白症との鑑別に重要であることは以前より報告されている<sup>4</sup>が、白血球細胞を使用したバイオアッセイであり、測定に際して安定的な結果を得るプロトコルやそのメカニズムについての詳細な検討はこれまでされていない。今回健常者全血を用いた性能評価を行い、本測定法の測定上の正確性を維持出来る条件を詳細に検討した。

B. 研究方法

健常者ボランティアから、ヘパリンまたは EDTA によって抗凝固された全血を用いた。また、マウスを用いた研究では、C57 BL/6 マウスを用いた。採血した血液 200  $\mu$ l 中に、GM-CSF や他の炎症性、抗炎症性サイトカインを様々な濃度加え、37°C 30 分培養し、その後ヒト血液では FITC-CD11b 抗体および PE-CD16 抗体染色を混和して、氷上 15 分培養した。BD FACS lysing solution® を用いて赤血球の溶血と白血球の固定を行い、BD Accuri C6 フローサイトメーターを用いて、好中球画分の CD11b 発現量を測定した。マウス全血は 100  $\mu$  L を用い、GM-CSF で刺激後、FITC-CD11b 抗体、および好中球マーカーである PE-Ly6G 抗体によって染色し、好中球画分上の CD11b 量を定量した。

回盲部結紮穿孔によるマウス敗血症モデルを作成し、死亡率が高い群と低い群での CD11bSI の値を比較検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は東京大学医学部研究倫理委員会の審



査を経て認定を受けた(2006-(2))。採血量は一回につき 5-10ml であり、供血者の体験は採血に伴う穿刺痛にとどまる。また、動物モデルは、東京大学医学部の動物実験倫理審査の承認を得た(12-H-134)

### C. 研究結果

CD11b 発現量は、TNF $\alpha$ 、GM-CSF で刺激した場合に、他の炎症性、抗炎症性サイトカイン (G-CSF, IL-6, IL-8, IL-10, IFN-beta, IFN-gamma, C5a) より速やかに上昇した。10ng/ml の GM-CSF で CD11b 発現量はプラトーに達した。0 および 10ng/ml の GM-CSF で刺激した時の CD11b の発現量の % 上昇量を CD11b stimulation index (CD11bSI) と定義した。CD11b は全血で保存すると、常温では 1 時間を超えると上昇を始め、それに伴い CD11bSI は低下した。また CD11bSI は EDTA 存在下では非存在下よりも有意に低くなり、この上昇がカルシウムイオンが部分的に依存していることが示唆された。また、細胞の内外の蛋白を染色する手法をもちいたところ、CD11b 蛋白は、GM-CSF 刺激に伴って新規に合成されるものではなく、あらかじめ細胞内に保管されている蛋白が刺激によって細胞表面にシフトするものと考えられた。

採血後 1 時間以内に測定した場合、CD11bSI は再現性が高く、個々の免疫状態を反映する可能性があると考えられた。

マウス敗血症モデルにおいて、死亡率が高い群の、回盲部結紮穿孔 12 時間後の CD11bSI がほぼゼロになっており、死亡率との因果関係が示唆された。

### D. 考察

CD11bSI は全血内の好中球を用いた簡便なアッセイであり、好中球を分離して測定する際に問題となる分離過程での好中球への刺激を最

小化できる反面、他の血液構成成分の影響や、測定条件による結果のばらつきが危惧される。本研究で、採血後 1 時間以内に測定すれば、ある程度の再現性をもった結果が得られるものと推測される。またマウス敗血症モデルにおいては、死亡率が高い群で CD11bSI がゼロという結果が見られ、高い炎症反応に随伴する免疫不応状態を反映している可能性が示唆され、臨床現場での免疫機能評価のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

### E. 結論

ヒト血液とマウス血液を用いた研究で、GM-CSF 刺激による好中球表面上の CD11b の発現量増加率の測定上の安定性を確認し、高度炎症状態での変化を確認した。免疫学的状態を示すバイオマーカーとなる可能性がある。

### 参考文献

1. Sakagami T, Uchida K, Suzuki T, Carey BC, Wood RE, Wert SE, Whitsett JA, Trapnell BC, Luisetti M. Human GM-CSF autoantibodies and reproduction of pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med.* 2009 Dec 31;361(27):2679-81.
2. Coxon A, Tang T, Mayadas TN. Cytokine-activated endothelial cells delay neutrophil apoptosis in vitro and in vivo. A role for granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med.* 1999; 190(7): 923-34
3. Uchida K, Beck DC, Yamamoto T, Berclaz PY, Abe S, Staudt MK, Carey BC, Filippi MD, Wert SE, Denson LA, Puchalski JT, Hauck DM, Trapnell BC. GM-CSF autoantibodies and neutrophil dysfunction in pulmonary alveolar

proteinosis. N Engl J Med.  
2007;356(6):567-79.

4. Suzuki T, Sakagami T, Rubin BK, Noguee LM, Wood RE, Zimmerman SL, Smolarek T, Dishop MK, Wert SE, Whitsett JA, Grabowski G, Carey BC, Stevens C, van der Loo JC, Trapnell BC. Familial pulmonary alveolar proteinosis caused by mutations in CSF2RA. J Exp Med. 2008;205(12):2703-10.

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Muroya M, Chang K, Uchida K, Bougaki M, Yamada Y. Analysis of cytotoxicity induced by proinflammatory cytokines in the human alveolar epithelial cell line A549. Biosci Trends. 2012;6(2):70-80.

2. Uchida K, Yasunaga H, Miyata H, Sumitani M, Horiguchi H, Matsuda S, Yamada Y. Impact of remifentanyl use on early postoperative outcomes following brain tumor resection or rectal cancer surgery. J Anesth. 2012;26(5):711-20

3. 内田寛治. 手術患者リスク評価と周術期管理に関連した周術期アウトカム. 麻酔 61(5): 514-525, 2012.

##### 2. 学会発表

1. Kusakabe Y, Uchida K, Trapnell BC, Yamada Y. Validation And Mechanism Of Flow-Based Whole Blood Assay To Evaluate Phagocyte Immune Function.

Am J Respir Crit Care Med

185;2012:A4263. American Thoracic

Society International Conference May 22, 2012. San Francisco, CA, USA

2. 日下部良臣 内田寛治 B.C. Trapnell 山田芳嗣. GM-CSF 刺激による好中球 CD11b の上昇率で術後患者や重症感染症患者の免疫能を評価する. 日本麻酔科学会第 59 回学術集会. 2012.6.7.神戸市

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む) 該当なし

##### 1. 特許取得

##### 2. 実用新案登録

##### 3. その他

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

蛋白アレイ法を用いた自己免疫性肺胞蛋白症の自己抗体解析に関する研究

研究分担者 木田 博 大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー内科学講座 助教

研究要旨

自己免疫性肺胞蛋白症（APAP）患者の血清中自己抗体を網羅的に解析した。抗 GM-CSF 抗体を含む、57 個の APAP 特異的自己抗体を検出した。57 個の自己抗原を対象とした生物学的経路解析より自然免疫や筋収縮に関与する蛋白に対する自己抗体産生が有意に亢進していることが示唆された。

A. 研究目的

従来特発性肺胞蛋白症と呼ばれた疾患は、抗 GM-CSF 自己抗体産生による自己免疫疾患であることが明らかにされ、現在では自己免疫性肺胞蛋白症（APAP）と呼ばれる<sup>1)</sup>。しかし自己免疫疾患である APAP 患者において、抗 GM-CSF 抗体のみが産生されると考えるのは不自然である。またなぜ APAP 患者の血清抗 GM-CSF 抗体価と重症度が相関しないのか等の問題は未解決である<sup>2)</sup>。我々は APAP 患者では抗 GM-CSF 抗体以外にも自己抗体が産生されていて APAP 病態に影響しているのではないかと考え、APAP 患者血清自己抗体の網羅的検索をコントロール疾患として特発性肺線維症（IPF）、非特異的間質性肺炎（NSIP）、サルコイドーシス（SAR）、及び健常人と比較検討を行った。

B. 研究方法

**患者背景** 血清は独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センターに通院中の患者より文書による同意を得て採取した。APAP10 例（男 4、女 6、年齢 30-68 歳、平均年齢 49.3 歳、血清抗 GM-CSF 抗体価 1.76-177.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、平均血清抗 GM-CSF 抗体価 76.48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）、IPF10

例（男 9、女 1、年齢 47-71 歳、平均年齢 62.9 歳、血清 KL-6 376-2630  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、平均血清 KL-6 1310.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）、NSIP8 例（男 4、女 4、年齢 42-73 歳、平均年齢 58.3 歳、血清 KL-6 384-4770  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、平均血清 KL-6 2049  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）、サルコイドーシス 10 例（男 1、女 9、年齢 40-74 歳、平均年齢 58.9 歳、血清アンギオテンシン変換酵素 13.4-33.9 U/L、平均血清アンギオテンシン変換酵素 20.4 U/L）、健常人 10 例（男 8、女 2、年齢 40-59 歳、平均年齢 49.9 歳）。採血後、2,500 rpm、10 分間遠心、上清を回収し、実験に使用するまで -80℃にて保存した。

**蛋白アレイ法** ProtoArray® Human Protein Microarray v5.0 (Invitrogen) を購入し、取り扱い説明書に従って使用した。同アレイには昆虫細胞 (Sf9) にて作成した約 8,000 種のグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 融合全長蛋白が duplicate にスポットされている。アレイを quadriPERM 培養皿 (Greiner Bio One) に入れ、ブロッキング緩衝液と 4℃、60 分間反応させた後、1:500 希釈した血清と 4℃、90 分間、水平振盪機上 (50 rpm) で反応させた。洗浄後、Alexa Fluor 647 goat anti-human IgG

(Invitrogen)を1:2,000希釈し、4℃、90分間反応させた。洗浄後、遠心して乾燥させたアレイ上の各スポットの蛍光強度 median 値 (relative fluorescence units, rfu) を GenePix Pro Software (Molecular Devices)を搭載したマイクロアレイスキャナー (Axon 4200AL) で読み取った。

**計算と統計** アレイより得たデータは Gnjatic らが報告している方法に従って補正、標準化を行った<sup>3,4)</sup>。偽陽性を防ぐため、各抗原蛋白について duplicate スポットの平均値ではなく、低い値をその抗原蛋白の蛍光強度として採用した。抗原蛋白の蛍光強度を、下記の式に従って ratio of interquartile differences (RoIQD)値に変換した。

$$\text{RoIQD} = (X_{\text{array}} - Q1_{\text{array}}) / (Q3_{\text{array}} - Q1_{\text{array}})$$

$X$ , 各抗原蛋白の蛍光強度;  $Q1_{\text{array}}$ , アレイ内全抗原蛋白の蛍光強度のうち低い方から 25 パーセントイル値;  $Q3_{\text{array}}$ , アレイ内全抗原蛋白の蛍光強度のうち低い方から 75 パーセントイル値

引き続き quartile normalization を行い、血清自己自己抗体価を求めた。Quartile normalization は、アレイ毎に RoIQD 値の順に抗原蛋白を並べ、同じ順位の RoIQD 値、本研究においては 48 個の RoIQD 値の平均値で置き換える操作である。一連の操作によってアレイ間のデータのばらつきを抑えることが可能となり、血清自己抗体価のアレイ間での比較が可能となった。次に各血清自己抗体のカットオフ値を、以下の式に従って求めた。

$$\text{カットオフ値} = Q3_{Ag} + 2.5 \times (Q3_{Ag} - Q1_{Ag})$$

$Q1_{Ag}$ , それぞれの自己抗体の全抗体価(本研究では 48 個)の 25 パーセントイル値;  $Q3_{Ag}$ , それぞ

れの自己抗体の全抗体価(本研究では 48 個)の 75 パーセントイル値

血清自己抗体価がカットオフ値よりも大きい場合のみ、カットオフ値に対する自己抗体価比 (s/c) を計算した。最後に自己抗体の APAP 特異的自己抗体としてのスコア値を以下の式に従って決定した。疾患群としては APAP10 例、コントロール群としてはその他の疾患群と健常人計 38 例を使用した。

$$\text{スコア} = (\text{Freq}_{\text{aPAP}} \times \sqrt[3]{\text{Intensity}_{\text{aPAP}}}) - (\text{Freq}_{\text{control}} \times \sqrt[3]{\text{Intensity}_{\text{control}}})$$

$\text{Freq}$ , 自己抗体価がカットオフ値より高い症例のパーセンテージ;  $\text{Intensity}$ , s/c の平均値

IPF、NSIP、SAR についても同様に、他 3 疾患と健常人をコントロール群として、疾患特異的自己抗体としてのスコア値を計算した。以上蛋白アレイ実験は大阪大学免疫学フロンティア研究センター実験免疫学にて行った。

#### バイオインフォマティクス解析

バイオインフォマティクス解析は、独立行政法人医薬基盤研究所バイオインフォマティクスプロジェクト、水口賢司博士、Lokesh P. Tripathi 博士らにより開発された統合データウェアハウス”TargetMine”を用いて行った<sup>6)</sup>。

#### (倫理面への配慮)

当研究は厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針に則り、大阪大学医学部附属病院及び国立病院機構近畿中央胸部疾患センターの臨床研究倫理審査委員会の承認を経て施行した。血清は文書による患者さんの同意を得て採取した。

#### C. 研究結果

各疾患別に、疾患特異的自己抗体としてのス