

表2 24ヵ月以上生存・観察可能だった15例の治療内容

Treatment in two years survival cases with SPAP (n=15)

Category of underlying disease	Underlying disease	concomittant disease	Whole Lung Lavage	Segmental BAL	Others	None	Status of PAP
Hematological disorders	non Hodgkin lymphoma		●				improvement
	MDS					●	improvement
	MDS/RAEB	alveolar hemorrhage				●	improvement
	Behcet's disease	MDS		●			stable
	MDS			●			progression
	MDS/RAEB					CBT	stable
	MDS					●	stable
	Behcet's disease	MDS, MF				●	stable
	MDS					●	stable
	MDS		●			BMT	improvement
	MDS/RCMD					PBSCT	stable
MDS					●	stable	
MDS/RA					●	improvement	
Infectious disease	NTM/MAC					●	stable
Autoimmune diseases	microscopic polyangitis					●	improvement

の生存期間は明らかな相関はみられなかったが、罹病期間が長い症例で長期生存例が3例みとめた事は基礎疾患の緩徐な経過はSPAP自体の病状にも関与していた可能性は考えられた。またこの結果は肺機能でも同様の傾向が示唆されており、%VCや%DLcoの低下していない症例ほど診断後の長期経過がみられる傾向を示していた。

今回長期生存・観察可能であった15例は、SPAPの自然軽快傾向を有した症例、基礎疾患の治療でコントロールした症例、あるいは一時的に肺洗浄を施行した症例など臨床経過も多彩であった(表2)。そのため基礎疾患の病状を横断的評価ではなく検討すべき課題である。基礎疾患の大半を占めるMDSに関して2年間の病状を経時的評価をすすめていく予定である。

## 結論

続発性肺胞蛋白症の予後不良因子は不明である。今回の研究にて24ヵ月以上の生存・観察可能であった15例における臨床所見をあきらか

にしたが、予後不良例と異なる特徴的所見は得られなかった。しかし、基礎疾患の罹病期間や治療を含めた病状が重要となる可能性が示唆され、基礎疾患の病状をより詳細(診断時のみでなく経時的変化)に検討する課題を見つけたことは大きい。

## 謝辞

本研究の症例調査にあたりわが国の以下に記載する施設の先生方には多大なる御協力をいただき深く感謝致します。(国立国際医療センター戸山病院、西宮市民病院、日本医科大学、都立駒込病院、東北大学、東京大学医科学研究所、三宿病院、神戸市立医療センター中央市民病院、京都大学、山口大学、兵庫医科大学、新潟大学、藤田保健衛生大学、九州大学、社会保険中央総合病院、東海大学、虎ノ門病院、福島県立医科大学、水戸医療センター、豊見城病院、松戸市民病院、名古屋医療センター、近畿中央胸部疾患センター、杏林大学)また本研究の費用の一

部は厚生労働省難治性疾患克服研究事業 難治性稀少肺疾患「肺胞蛋白症・先天性間質性肺疾患・オスラー病の調査研究」(H24-難治-一般-035)の援助を受けた。

#### 参考文献

1. Ishii H, Tazawa R, Kaneko C, et al. Clinical Features of Secondary Pulmonary Alveolar Proteinosis: Pre-mortem Cases in Japan. *Eur Respir J*. 37:465-468, 2011
2. Cordonnier C, Fleury-Feith J, Escudier E, et al.: Secondary alveolar proteinosis is a reversible cause of respiratory failure in leukemic patients. *Am J Respir Crit Care*
3. Pollack SM, Gutierrez G, Ascensao J. Pulmonary alveolar proteinosis with myeloproliferative syndrome with myelodysplasia: bronchoalveolar lavage reduces white blood cell count. *Am J Hematol* 2006;81(8):634-638
4. Fukuno K, Tomonari A, Tsukada N, et al. Successful cord blood transplantation for myelodysplastic syndrome resulting in resolution of pulmonary alveolar proteinosis. *Bone Marrow Transplantation* 2006;38:581-582
5. Ishii H, Trapnell BC, Tazawa R, et al. Comparative study of high-resolution CT findings between autoimmune and secondary pulmonary alveolar proteinosis. *Chest* 2009;136:1348-1355

# 遺伝性間質性肺疾患に関する研究：Hemansky-Pudolak 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

- 1) 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター臨床検査科
  - 2) 同 近畿中央胸部疾患センター内科
  - 3) 同 近畿中央胸部疾患センター放射線科・
  - 4) 同 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター
- 北市正則<sup>1,4</sup>、新井 徹<sup>2,4</sup>、金津正樹<sup>2</sup>、杉本親寿<sup>4</sup>、  
香川智子<sup>2</sup>、審良正則<sup>3</sup>、井上義一<sup>4</sup>、清水重喜<sup>1</sup>

## はじめに

Hemansky-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)は孤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。

## 対象と方法

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。

## 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。

## 考案

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。

## 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。

## 謝辞

上記期間に研究対象とした近畿中央胸部疾患センターにおける剖検例とびまん性肺疾患の外科的肺生検症例を診療された各位に感謝します。

## 参考文献

1. Hermansky F, Pudlak P. Albinism associated with hemorrhagic diathesis and unusual pigmented reticular cells in the bone marrow. Report of two cases with histochemical studies. *Blood* 14: 162-169, 1959.
2. 西村浩一、北市正則、泉孝英、長井苑子、荏原順一、松井祐佐公、門政男、木野稔也、大島駿作、金地研二、大熊稔、山川良治。びまん性間質性肺炎を伴った Hermansky-Pudlak 症候群の1例。日本内科学会雑誌 73(10): 1497-1505, 1984.
3. Gahl WA, Brantly M, Kaiser-Kupper MI, Owata F, Hazelwood S, Shottelersuk V, Duffy LF, Kuehl EM, Troendle J, Bernardini I. Genetic defects and clinical characteristics of patients with a form of oculocutaneous albinism (Hermansky-Pudlak syndrome). *New Engl J Med* 338: 1258-1264, 1998.
4. Iyer SN, Gurujeyalakshmi G, Giri SN. Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacology and Experimental Therapeutics* 291: 367-373, 1999.
5. Gurujeyalakshmi G, Hollinger MA, Giri SN. Pirfenidone inhibits PDGF isoforms in bleomycin hamster model of lung fibrosis at the translational level. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 276: L311-L318, 1999.
6. Nakatani Y, Nakamura N, Sano J et al. Interstitial pneumonia in Hermansky-Pudlak syndrome: significance of florid foamy swelling/degeneration

- (giant lamellar body degeneration) of type-2 pneumocytes. *Virchow Arch* 437: 303-313, 2000.
7. Brantly M, Avila NA, Shotelersuk V, Lucero C, Huizing M, Gahl WA. Pulmonary function and high-resolution CT findings in patients with an inherited form of pulmonary fibrosis, Hermansky-Pudlak syndrome, due to mutations in HPS-1. *Chest* 117: 129-136, 2000.
  8. Avila NA, Brantly M, Premkumar A, Huizing M, Dwyer A, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome: Radiography and CT of the chest compared with pulmonary function tests and genetic studies. *AJR* 179: 887-892, 2002.
  9. American Thoracic Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 277-304, 2002
  10. Ito S, Suzuki T, Inagaki K, Suzuki N, Takamori K, Yamada T, Nakazawa M, Hatano M, Takiwaki H, Kakuta Y, Spritz RA, Tomita Y. High frequency of Hermansky-Pudlak syndrome type 1 (HPS1) among Japanese albinism patients and functional analysis of HPS1 mutant protein. *J Invest Dermatol* 125: 715-720, 2005.
  11. 中谷行雄、山中正二、唐小燕、廣島健三、中村宣生、松原修。Hermansky-Pudlak 症候群の肺病理と病態。病理と臨床 24(9): 913-920, 2006.
  12. Pierson DM, Ionescu D, Qing G, Yonan AM, Parkinson K, Colby TV, Leslie K. Pulmonary fibrosis in Hermansky-Pudlak syndrome. A case report and review. *Respiration* 73: 382-395, 2006.
  13. Wei M. Hermansky-Pudlak syndrome: a disease of protein trafficking and organelle function. *Pigment Cell Res* 19:19-42, 2006.
  14. Rouhani FN, Brantly ML, Markello TC, Helip-Wooley A, O'Brien K, Hess R, Huizing M, Gahl WA, Guchuico BR. Alveolar macrophage dysregulation in Hermansky-Pudlak syndrome type 1. *Am J Respir Crit Care Med* 180: 1114-1121, 2009.
  15. Mahavadi P, Korfel M, Henneke I, Liebsisch G, Schmitz G, Guchuico BR, Markart P, Bellusci S, Seeger W, Ruppert C, Guenther A. Epithelial stress and apoptosis underline Hermansky-Pudlak syndrome-associated interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 182:207-219, 2010.
  16. 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.
  17. Takemura T, Akashi T, Kamiya H, Ikushima S, Ando T, Oritsu M, Sawahata M, Ogura T. Pathological differentiation of chronic hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis/usual interstitial pneumonia. *Histopathology* 61: 1026-1035, 2012.

# 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

- 1) 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター 内科
- 2) 同 臨床研究センター
- 3) 同 放射線科
- 4) 同 病理

新井 徹<sup>1,2</sup>、杉本親寿<sup>2</sup>、審良正則<sup>2,3</sup>、松室昭子<sup>2</sup>、  
 広瀬雅樹<sup>2</sup>、北市正則<sup>2,4</sup>、林 清二<sup>1</sup>、井上義一<sup>2</sup>

## はじめに

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、GM-CSF吸入療法前の各種肺機能指標、血清CYFRAが治療効果の予測因子になりうるか否かに関して検討を行った。

## 対象と方法

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、

表1 Patient demographics (I)

	effective	Ineffective
No of Pts	11	9
Age (yrs)	47.5 ± 3.5*	58.3 ± 3.4*
Gender (M/F)	5/6	3/6
Smoking (NS/ES/CS)	6/4/1	4/5/0
Dust exposure (Y/N)	4/7	3/6
MRC (0/1/2/3/4/5)	0/5/5/1/0/0	0/4/3/2/0/0
DSS (I/II/III/IV)	0/1/4/5/1/1	0/2/3/4/0

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。

## 結果

### (1) 患者背景因子

対象20例の有効例、無効例別の基礎データを示す(表1)。有効例において、年齢が有意に若年であった(表1)。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(表2)。

表2 Patient demographics (II)

	effective	ineffective
PaO <sub>2</sub>	60.6 ± 2.8	62.3 ± 1.9
AaDO <sub>2</sub>	44.2 ± 3.3	40.2 ± 2.7
VC, %predicted	87.9 ± 4.7	79.7 ± 5.4
DLco, %predicted	46.1 ± 4.2	51.2 ± 6.8
KL-6	9260 ± 2977	4790 ± 1693
SP-D	254 ± 48	193 ± 29
CEA	11.2 ± 7.9	6.6 ± 1.8

表3 GM-CSF 吸入療法の有効性予測因子の検討 (単変量 logistic 回帰分析)

parameter	Odds ratio	95% CI	P value
Gender (Male)	1.667	0.273-11.382	0.5808
Age (< 53 yrs)	1.500	0.255-9.345	0.6528
MRC (≤ 2)	1.042	0.173-6.373	0.9640
DSS (≤ 3)	0.667	0.107-3.928	0.6528
AaDO <sub>2</sub> (<44 Torr)	0.286	0.039-1.721	0.1740
%VC (<89%)	0.286	0.039-1.721	0.1740
%DLco (< 47.7%)	3.500	0.581-25.377	0.1740
CYFRA (≥ 6.4 ng/mL)	9.333	1.372-94.189	0.0213

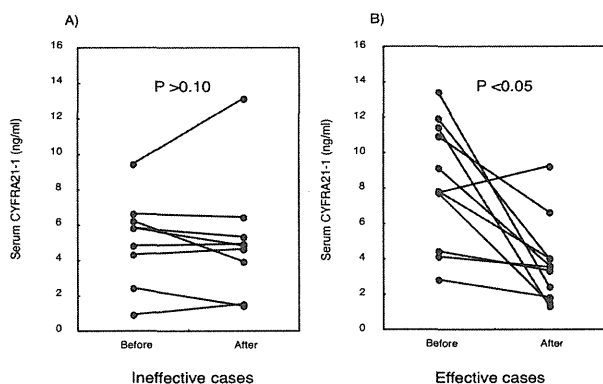


図1 有効例 (B) においては、GM-CSF 吸入療法後に血清 CYFRA は有意に低下したが、無効例 (A) においては、吸入療法前後の血清 CYFRA は有意差を認めなかった。

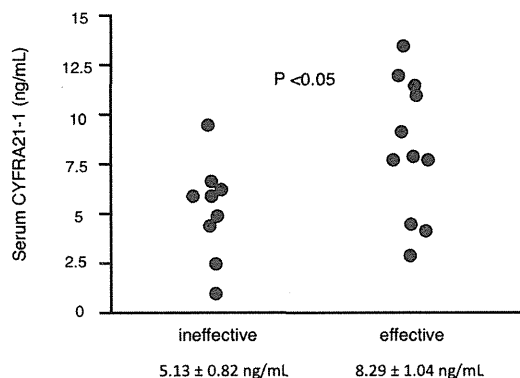


図2 GM-CSF 吸入療法前の血清 CYFRA GM-CSF 吸入療法前の血清 CYFRA は無効例に比較して有効例で有意に高値を示した。

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 (図1)。

(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 (図1)。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 (図2)。

(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 (表3)。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。

## 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>3)</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。

## 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。

## 謝辞

対象症例の診療、GM-CSF吸入療法にご協力をいただきました近畿中央胸部疾患センターの各位、各症例の診断にご協力をいただきました新潟大学 中田 光先生に深謝致します。

## 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



# GM-CSF シグナルの免疫調節

東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター  
内田寛治、日下部良臣、鈴木洋子、山田芳嗣

## はじめに

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。

## 対象と方法

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、FICT-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。

## 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。

### 考案

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。

### 結論

好中球表面上の CD11b 発現量の GM-CSF 刺激による上昇率を測定する CD11b stimulation index は、肺胞蛋白症の診断だけでなく、それぞれの個体の GM-CSF に対する反応性を反映し、採血後 1 時間以内の測定では、再現性の高い結果が得られる。

### 謝辞

本研究の費用の一部は、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業【難治性稀少疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、オスラー病）に関する調査研究班】（H24-難治等（難治一般-035））から一部援助を受けた。

### 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.

# 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

- 1) 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
- 2) 独立行政法人近畿中央胸部疾患センター
- 3) 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
- 4) 大阪大学免疫学フロンティア研究センター実験免疫学

木田 博<sup>1</sup>、井上 義一<sup>2</sup>

濱野芳匡<sup>1</sup>、水口賢司<sup>3</sup>、Lokesh P. Tripathi<sup>3</sup>、広瀬雅樹<sup>2</sup>、

多田康子<sup>4</sup>、西川博嘉<sup>4</sup>、熊ノ郷淳<sup>1</sup>

## はじめに

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>1,2)</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>3)</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るか 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。

## 対象と方法

**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°C 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°C、60 分間反応させた後、1:500 希釈した血清と 4°C、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°C、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>4,5)</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 パーセンタイル値;  $Q3_{\text{array}}$ , アレイ内全抗原蛋白の蛍光強度のうち低い方から 75 パーセンタイル値

引き続き quartile normalization を行い、血清自己抗体価を求めた。Quartile normalization は、アレイ毎に RoIQD 値の大きさ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。

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

$Q1_{\text{Ag}}$ , それぞれの自己抗体の全抗体価 (本研究では 48 個) の 25 パーセンタイル値;  $Q3_{\text{Ag}}$ , それぞれの自己抗体の全抗体価 (本研究では 48 個) の 75 パーセンタイル値

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。

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

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; 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。

**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。

#### 結果

各疾患別に、疾患特異的自己抗体としてのスコア値の分布を示した (図 1)。疾患に特徴的な分布はなく、類似した分布を示した。いずれの疾患でもスコア 20 点台にピークがあり、高スコア側に長く裾野を引く形となった。

次に疾患特異的自己抗体と判断するための、スコア値の閾値について検討した。Gnjatic らの

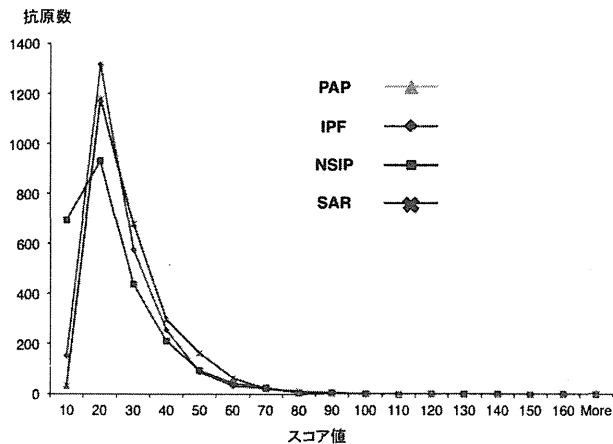


図 1

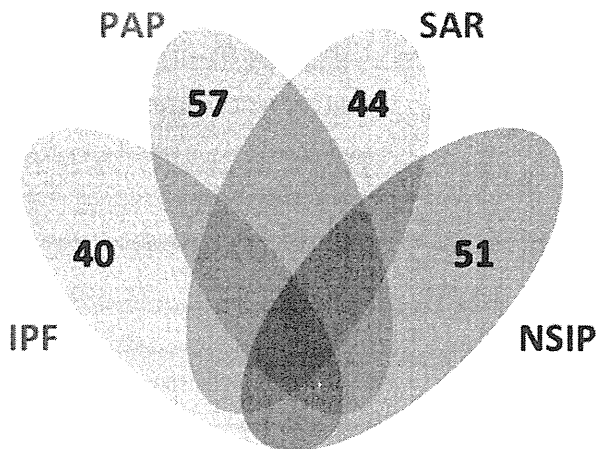


図 2

表 1

Gene	Symbol	Frequency in PAP, %	Frequency in control, %	Intensity in PAP	Intensity in control	Overall score
NM_000758.2	CSF2	100	0	28.46	0	305.33
NM_000758.2	CSF2	100	0	16.18	0	252.93
.....	.....	70	15.79	7.26	18.34	117.2
.....	.....	50	10.53	13.34	11.23	107.35
.....	.....	90	39.47	4.51	44.29	104.38
.....	.....	30	0	34.28	0	97.45
.....	.....	30	10.53	57.92	21.38	94.7
.....	.....	30	7.89	35.82	8.87	90.02
.....	.....	30	7.89	31.43	9.03	85.65
.....	.....	40	7.89	13.51	9.73	85.54
.....	.....	50	10.53	9.92	26.23	81.2
.....	.....	50	5.26	5.08	6.84	79.13
.....	.....	20	10.53	88.5	14.29	74.83
.....	.....	40	13.16	12.12	17.2	74.68
.....	.....	50	5.26	4.24	6.98	73.98

報告ではスコア >5 を高スコアとして採用しているが、炎症性疾患を対象とした我々の検討には不適であると考えられた (図 1)。閾値を漸増する検討を行ったところ、スコア  $\geq 57.1$  を閾値として設定すると各疾患間の重なりがなくなることが判明し、結果として APAP57 個、IPF40 個、NSIP51 個、SAR44 個の疾患特異的自己抗

体を決定することができた (図 2)。

57 個の APAP 特異的自己抗体の内、スコア値トップ 2 はアレイ内に 2 カ所プロットされている GM-CSF (CSF2) を抗原とする自己抗体であったが、その他にも APAP の病態への関与が示唆される蛋白に対する自己抗体が検出された (表 1)。

表 2

Pathway	q-value
Striated Muscle Contraction	1.36E-04
Negative regulators of RIG-I/MDA5 signaling	2.29E-04
Innate Immune System	2.29E-04
RIG-I/MDA5 mediated induction of IFN-alpha/beta pathways	2.29E-04
Immune System	3.05E-04
Muscle contraction	6.01E-04
Oxygen-dependent Proline Hydroxylation of Hypoxia-inducible Factor Alpha	0.001632107
Signaling by BMP	0.00267122
Smooth Muscle Contraction	0.002906561
Regulation of Hypoxia-inducible Factor (HIF) by Oxygen	0.003147099
Cellular responses to stress	0.003147099
Cellular response to hypoxia	0.003147099
Nicotinate and nicotinamide metabolism	0.003400594

また 57 個の APAP 特異的自己抗体間の生物学的経路に基づく関係を明らかにするために、TargetMine を用いた KEGG pathway 解析を行ったところ、合計 49 個の有意な生物学的経路が検出された。内 q 値 < 0.005 の経路のみを示した (表 2)。検出された生物学的経路にはウイルス感染や自然免疫に関与する経路、筋肉の収縮に関与する経路があった。

## 考案

今回我々は蛋白アレイを用いて、自己抗体の網羅的検索を行い、APAP 57 個、IPF 40 個、NSIP 51 個、SAR 44 個の疾患特異的自己抗体を決定した。従来の概念からすると、生体においては自己抗原に対して免疫寛容が成立しているはずであり、これらの数は予想外に多い。しかし今後技術革新を背景として、様々な疾患において新たな、また予想外の自己抗体が発見されてくる可能性は充分あると考えられる。

自己抗体を個々の抗体側から解釈した場合、

疾患マーカーとしての有用性、機能阻害抗体として病態修飾や病因に関与する可能性が考えられる。一方、抗原側から解釈した場合は、疾患における過剰産生、局在変化、遺伝子変異等に伴う 3 次構造変化を起こした蛋白群に対する生体反応であると考えられる。生体側の要素としてこれらの疾患において免疫寛容レベルの低下があるのかどうか、今後の検討が必要と考えられる。

疾患特異的自己抗体としての各抗体のスコアリングを既報告の方法に従って行った<sup>4,5)</sup>。このスコアは、疾患特異的自己抗体の値が対象疾患においてカットオフ値を上回る頻度と抗体価の強さ双方を考慮したものである。また対象疾患内の一部症例に非常に高い抗体価を示すような場合にも、疾患特異的自己抗体として有用との考えから、高いスコアが得られるようになっている。

では、スコア値何点以上を疾患特異的自己抗体と判断すればよいのか？この閾値設定に関して定石法はない。低く取ると非特異的自己抗体

も含まれてくる一方、高く取ると貴重な疾患特異的自己抗体を失う可能性がある。我々はコントロール疾患も含めた全疾患間の重なりがなくなるような閾値設定が妥当であると考え、閾値を漸増して検討した結果、本研究における閾値を決定した。

APAP 疾患特異的自己抗体として、最もインパクトが高かったのはやはり抗 GM-CSF 抗体であった。抗 GM-CSF 抗体は APAP の原因として確立されており<sup>2)</sup>、この結果は当然と言える。しかし本研究により APAP では抗 GM-CSF 抗体以外にも多彩な疾患特異的自己抗体が産生されていることが判明した。これらの自己抗体が APAP の病態にどのような影響を与えるか、個別に検討する必要がある。

本研究における APAP 特異的自己抗体 57 個を対象としたバイオインフォマティクス的手法による生物学的経路解析で、ウイルス感染や自然免疫に関与する経路、筋肉の収縮に関与する経路が検出された。これらの経路と APAP 病態との関連は現時点では不明であり、今後の検討を要するが、肺胞蛋白症の患者は易感染性で、感染が予後を規定する重要な因子である点においてウイルス感染、自然免疫に関与する蛋白を抗原とする自己抗体が検出されたことは注目値する。また CT 上の肺線維化所見が予後を規定する因子であることが報告されている点において<sup>7)</sup>、筋肉の収縮に関与する蛋白を抗原とする自己抗体と CT 上の肺線維化所見、さらに予後との関連を検索する必要があると考えられる。

## 結論

APAP においては抗 GM-CSF 抗体以外にも多数自己抗体が産生されていることが解った。中でも自然免疫や筋収縮に関与する蛋白に対する自己抗体が APAP 特異的自己抗体として検出されている点が興味深い。次年度においては、APAP 特異的自己抗体の個々について解析を進

め、病態関与について明らかにする必要がある。

## 参考文献

1. 中田光 (厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業肺胞蛋白症の難治化要因の解明、診断、治療、管理の標準化と指針の確立研究班) 自己免疫性肺胞蛋白症の病態と概念. 肺胞蛋白症の診断、治療、管理の指針 (平成 24 年) 37-38.
2. Sakagami T, et al. Human GM-CSF autoantibodies and reproduction of pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2009; 361:2679-81.
3. Inoue Y, 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.
4. Gnjatic S, et al. Seromic profiling of ovarian and pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:5088-5093.
5. Gnjatic S, et al. Seromic analysis of antibody responses in non-small cell lung cancer patients and healthy donors using conformational protein array. *J Immunol Methods* 2009; 341:50-58.
6. Chen YA, et al. TargetMine, an integrated data warehouse for candidate gene prioritization and target discovery. *PLoS ONE* 2011; 6:e17844.
7. 審良雅則、他(厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業肺胞蛋白症の難治化要因の解明、診断、治療、管理の標準化と指針の確立研究班). 肺胞蛋白症の CT 上の肺線維化所見に関する研究 平成 23 年度総括・分担研究報告書 94-98.

# オスラー病に合併した肺動静脈瘻におけるコイル塞栓術の検討

1) 千葉大学医学部呼吸器内科

2) 千葉大学医学部放射線科

笠原靖紀<sup>1</sup>、杉浦寿彦<sup>1</sup>、東出高至<sup>2</sup>、須田理香<sup>1</sup>、坂尾誠一郎<sup>1</sup>、田邊信宏<sup>1</sup>、巽浩一郎<sup>1</sup>

## はじめに

2010年のHHTの国際ガイドラインでは、PAVMの治療は経カテーテル的塞栓術とされており、外科的切除術は塞栓で止血困難な致死的な喀血の際にのみ考慮するとされている。Interventional radiologyの進歩と共に、日本でも手術にかわり、経カテーテル的塞栓術が主になってきた。しかしこの疾患は症例数が少ない疾患であり1施設で多数の症例を経験することは少なく、経カテーテル的塞栓術の適応や手技については施設によって大きく異なっていると思われる。

私達はコイル塞栓術が有効であった高齢多発肺動静脈瘻の一例を経験したので、自験例を元に文献的な考察も含めて検討した。

## 対象と方法

81歳女性。姉も同病である。再発性の鼻出血の既往があり、肺に多発性のPAVMを認めた。

16年前に、他院で胸部異常陰影精査の結果、多発肺動静脈瘻を指摘された。14年前、呼吸困難を認め、近医で在宅酸素療法を導入されたが、経済的理由から中断した。この頃より時折鼻出血を認めていた。6年前、体重減少と呼吸困難の増悪を認め、酸素飽和度も78%（室内気）と低下していた。他院で多発肺動静脈瘻に対する血管塞栓術を勧められたが、本人の希望で経過観察となり、在宅酸素療法（鼻カニュラ4L/分）が再開された。1年前に左後頭葉脳梗塞で他院入院となり、入院後も2回の脳梗塞を起こし、頭部MRIで複数の梗塞巣が確認された。脳梗塞を繰り返し、座位になるだけで酸素飽和度60%

台まで低下する著しい低酸素血症を認め、肺動静脈瘻のコイル塞栓術目的に当院に転院となった。

## 結果

右肺 上葉2個、中葉2個、下葉7個、計11個、左肺 舌区1個、下葉4個、計5個合わせて16ヶ所の多発肺動静脈瘻による著明な低酸素血症を呈していた。SpO<sub>2</sub>は安静臥位時にリザーバー付きカニュラ4.5L吸入下にて88%、軽労作時にはリザーバーマスク10L吸入下でも55%と著明に低下していた。当科にて経カテーテル的コイル塞栓術を施行した。

流入動脈径は0.5~4.2mmであった。コイル塞栓術を流入動脈径の太い4ヶ所に施行した。複数の金属コイルを用いて、造影検査で完全に血流が遮断されるまで複数のコイルを留置した。

治療効果は良好で、ADLの劇的な改善が得られた。SpO<sub>2</sub>は安静座位時にリザーバー付きカニュラ4.5L吸入下にて70%から90%へ、軽労作時にはリザーバーマスク10L吸入下でも55%と著明に低下していたが、81%まで改善した。血流シンチグラフィによるシャント率測定では32%から21%に改善、100%酸素吸入によるシャント率計測では27.3%から22.4%に改善した。

## 考案

### 経カテーテル的塞栓術の適応について

1992年のRosenblattらのPAVMと脳血管障害との関連についての報告以降、流入動脈径が3mm以上のPAVMに対して塞栓術の適応とするという報告が多かった。しかし2009年の



HHT ガイドラインでは、より細い流入動脈径の PAVM でも積極的に治療を考慮すべきであると勧めている。経カテーテル的塞栓術の進歩とともに適応が広がってきたものと考えられる。

本邦でも PAVM 症例の合併症がおきる頻度や予後を集計して無治療の場合と治療をおこなった場合を比較してみることが重要と思える。今後、流入動脈径が 2mm 以上というように適応を拡大すべきか検討すべき点と考えられる。

### 経カテーテル的塞栓術の手技について

日本では金属コイルによる塞栓術が一般的であるが、どのようなコイルを何本くらい使用するかは術者によって異なる。コイルは高価な器具であり、合理的な使用が望まれる。また欧米で使われている Amplatzer vascular obstruction device や脳外科領域で用いられている液体塞栓物質(ONYX)、新しい素材のコイルなどのデバイスの導入や使用についても検討が必要だと思われる。

### 経カテーテル的塞栓術後の長期予後について

PAVM のカテーテルによるコイル塞栓術によって、予後の改善や奇異性塞栓症による脳梗塞などの合併症を防ぐことが、どれくらい可能となったかを調査する必要があると思われる。

また再疎通のため再発する頻度がどの程度あるか、カテーテル治療の問題点として完全閉塞が得られない症例があり、そのような症例の予後についても検討が必要である。

### 結論

日本での経カテーテル的塞栓術の現況を明らかにして、今後の指針を作成していくことが有用だと思われる。

### 参考文献

1. M E Faughnan, et al. International

guidelines for the diagnosis and management of hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med Genet* 2011;48:273-87.

2. M Rosenblatt, JS Pollak, PB Fayad, TE Egglin, RI White Jr. Pulmonary arteriovenous malformations what size should be treated to prevent embolic stroke? *Radiology* 1993; 186 937.
3. 山道 堯, 杉浦 寿彦, 笠原 靖紀, 東出 高至, 重城 喬行, 塚原 真範, 坂尾 誠一郎, 黒須 克志, 田邊 信宏, 滝口 裕一, 巽 浩一郎. 320 列 CT を用いて経過観察しえた経カテーテル的塞栓術を施行した肺動静脈瘻の 1 例. *日本呼吸器学会雑誌* 49(1):62-65, (2011.01)
4. 笠原 靖紀, 田辺 信宏, 巽 浩一郎. 肺循環の異常 肺血管異常 肺動静脈瘻 Rendu-Osler-Weber 症候群. *日本臨床 別冊呼吸器症候群 II* Page374-378(2009.02)
5. 笠原 靖紀. 肺動静脈瘻に対する塞栓術の進歩. *呼吸* 27(8):783-787(2008.08)

# 遺伝性肺胞蛋白症の末梢血単球および肺胞マクロファージのキャラクター

- 1) 長崎大学病院感染症内科／熱研内科
- 2) 熊本大学生命科学研究部細胞病理学分野
- 3) 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター

高木理博<sup>1</sup> 田中健之<sup>1</sup> 森本浩之輔<sup>1</sup> 菰原義弘<sup>2</sup> 中田 光<sup>3</sup> 有吉紅也<sup>1</sup>

## はじめに

抗 GM-CSF 抗体陰性で 36 歳で発症した肺胞蛋白症患者に対して頻回の全肺洗浄や GM-CSF 吸入療法を試行したが、効果が継続せず肺の線維化と呼吸不全が進行した。二次性の肺胞蛋白症 (SPAP) を来すことが知られている基礎疾患も発見されず、未分類肺胞蛋白症としていた。患者は肺の線維化を伴う呼吸不全が進行し、2008 年、生体肺移植を受けた。

その後患者末梢血単球を用いた *in vitro* の実験および遺伝子の検索で、第 22 番目染色体の  $\beta$  鎖遺伝子 Exon6 に 1 塩基欠損のホモ接合を認め、GM-CSF レセプター  $\beta$  鎖欠損による遺伝性肺胞蛋白症と診断した<sup>①</sup>。(H21、H22 年度研究報告書で報告。)

世界的にも希少な症例であり、今後起こりうる問題の予測、再発した肺胞蛋白症の治療方法の一助とするため、GM-CSF の末梢血単球の分化における意義、肺胞マクロファージの活性化について、患者末梢血および移植時摘出肺を用いて検討を加えた。

## 対象と方法

2000 年 36 歳時に発症し、GM-CSF レセプター  $\beta$  鎖欠損による遺伝性肺胞蛋白症と診断した 47 歳女性が対象。末梢中の CD14 陽性細胞を分離し、CD11b および 11c、CD13、CD15、CD16、CD32、CD33、CD64 の発現を、flow cytometer を用いて健常者と比較した。また、肺移植時摘出標本を用いて、肺胞マクロファージの CD163、CD206 を免疫染色し、健常人や自己免疫性肺胞

蛋白症と比較した。健常人は肺癌切除標本、自己免疫性肺胞蛋白症 (APAP) の外科的肺生検検体は、神奈川県立病院機構 循環器呼吸器病センターの小倉高志先生から提供をうけた。

## 結果

末梢血単球表面の CD11b および 11c、CD13、CD15、CD16、CD32、CD33、CD64 は健常人とほぼ同様であり、CD16 の発現はやや弱い傾向にあった (Figure 1)。GM-CSF  $\beta$  鎖欠損の、末梢血単球の分化への影響は小さいと考えられた。

移植時摘出肺と、健常肺、それに自己免疫性肺胞蛋白症の患者の外科的肺生検検体を用いて、CD206 を染色したところ、自己免疫性肺胞蛋白症にくらべて線維化部分においてやや強い発現が見られた (健常肺は陽性) (Figure 2)。これは遺伝性肺胞蛋白症では自己免疫性肺胞蛋白症と異なり、M2 マクロファージの関与により線維化がより強まる可能性が示唆された<sup>②③</sup>。一方 CD163 は健常人と比較して発現が弱かったが、自己免疫性蛋白症の患者とは同等であった (data not shown)。

## 考案

GM-CSF  $\beta$  鎖欠損の、末梢血単球の分化への影響は小さいと考えられた。CD16 は M-CSF で発現増強、GM-CSF では発現を抑制する<sup>④</sup>との報告もあり、予想とは逆の結果であった。本患者では移植後肺アスペルギルス症を起こすなどしており背景に潜在性の感染の存在も否定できないこと、免疫抑制剤の直接的影響などもあ

Figure 1

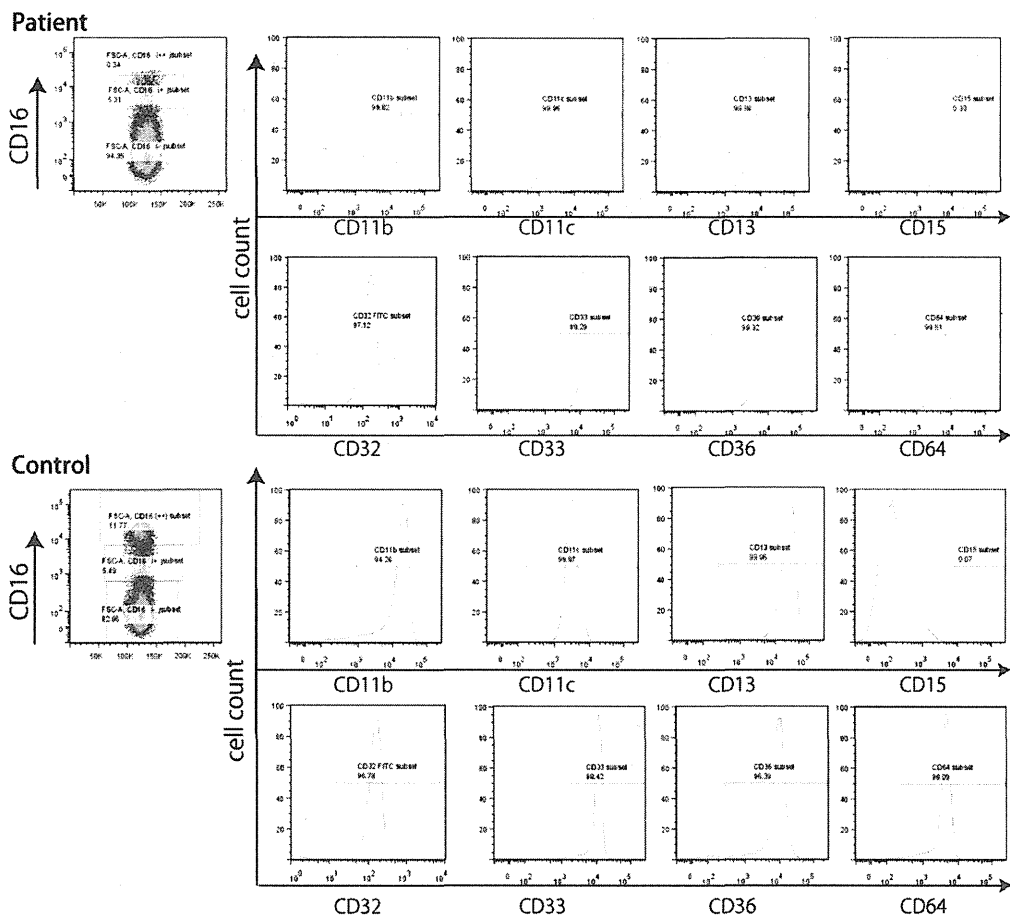
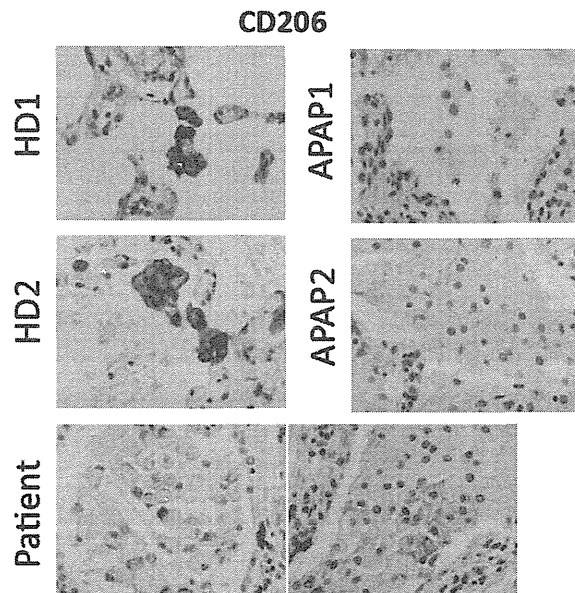


Figure 2



わせてこのような結果になった可能性もある。また、先天的な GM-CSF レセプターの欠損のため、何らかの代償機序が存在する可能性もあり、さらなる検討が必要である。

発症から数年は自己免疫性肺胞蛋白症 (APAP) と同様の経過であったが、移植前にかけて全肺洗浄の有効性が低下し、肺の線維化とそれに伴う呼吸不全が進行した。移植時摘出肺のマクロファージは M2 マクロファージのマーカである CD206 の染色性が APAP に比べて強く、線維化の程度の差異に関与している可能性がある<sup>(2,3)</sup>。

## 結論

GM-CSF レセプター  $\beta$  鎖欠損による肺胞蛋白症では、末梢血単球の表面マーカーは健常者と差異はなかった。また、肺胞マクロファージは M2 マクロファージが多いと推定され、本患者における肺の線維化と関連していると考えられた。

## 謝辞

APAP の外科的肺生検検体を提供していただいた神奈川県立病院機構 循環器呼吸器病センターの小倉高志先生に深謝いたします。

## 参考文献

1. Tanaka T, Motoi N, Tsuchihashi Y, Tazawa R, Kaneko C, Nei T, et al. Adult-onset hereditary pulmonary alveolar proteinosis caused by a single-base deletion in CSF2RB. *Journal of medical genetics*. 2011;48(3):205-9.
2. Gibbons MA, MacKinnon AC, Ramachandran P, Dhaliwal K, Duffin R, Pythian-Adams AT, et al. Ly6Chi Monocytes Direct Alternatively Activated Profibrotic Macrophage Regulation of

Lung Fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011;184(5):569-81.

3. Pechkovsky DV, Prasse A, Kollert F, Engel KMY, Dentler J, Luttmann W, et al. Alternatively activated alveolar macrophages in pulmonary fibrosis-mediator production and intracellular signal transduction. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. 2010;137(1):89-101.
4. Kruger M, Coorevits L, De Wit TP, Casteels-Van Daele M, Van De Winkel JG, Ceuppens JL. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor antagonizes the transforming growth factor-beta-induced expression of Fc gamma RIII (CD16) on human monocytes. *Immunology*. 1996;87(1):162-7. Epub 1996/01/01.