

図5. ELISPOT assayの結果—マウス

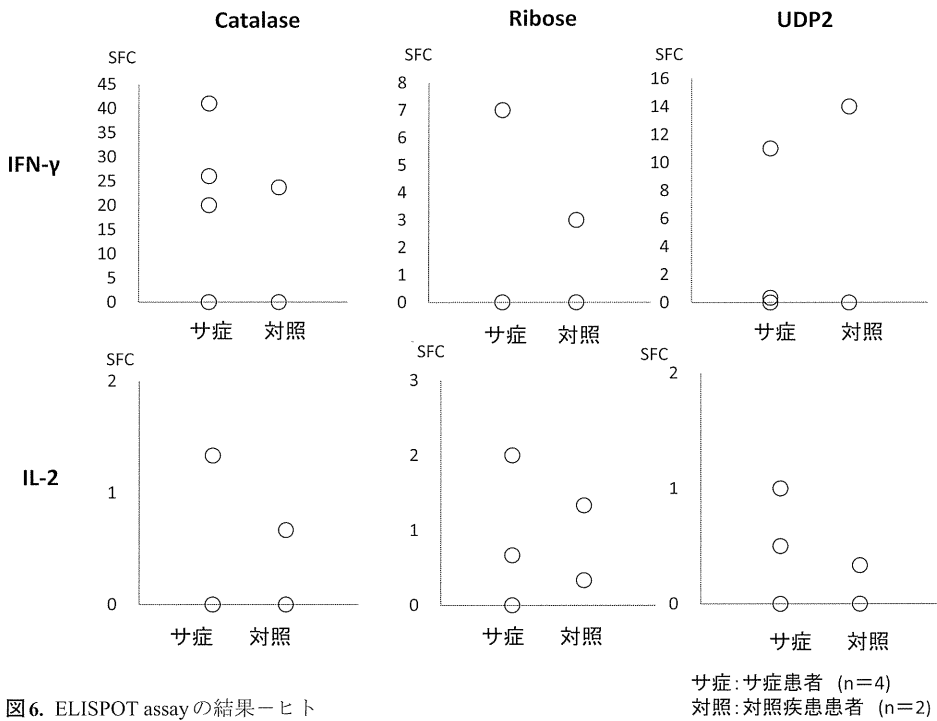


図6. ELISPOT assayの結果—ヒト

者では3/4例でCatalaseに対しIFN- γ のシグナルが確認されたが、対照疾患(過敏性肺炎)患者でも1/2例で同程度の反応が見られた。IL-2の反応は見られなかった。

【考 察】

アクネ菌は健常人皮膚にも常在する菌であるため本来重篤な病原性は持たず、ヒトはアクネ菌由来の複数の蛋白抗原に感作されていると考えられる。そのため、western blot法での解析において健常人血漿

でもサルコイドーシス患者と同様に高頻度の陽性バンドが認められたのは当然のことである。しかしながら、サルコイドーシス患者では同感作抗原に対しても健常人では働くはずの免疫寛容が起こらないために、アクネ菌に対する過剰な細胞性免疫反応が引き起こされると推察される。そこで患者・健常人ともに高頻度に検出されたバンドについて解析し、感作抗原を同定することにした。

本研究で同定されたサルコイドーシス患者および健常人の大半において感作抗原となっているアクネ菌由来の蛋白は、Catalaseを始め、いずれもLPXTG motifは存在しないが分泌シグナルを有する蛋白であった。

Western blotでの定量解析でサルコイドーシス患者において有意に高値であったIgAクラスの50 kDaのバンドはTOF-MS解析によりアクネ菌のCatalaseであると同定された。菌のCatalaseは殺菌のため産生される過酸化水素を水と酸素に分解する⁸⁾。他に同定されたArginine deiminase, Ornithine carbamoyl transferaseはアクネ菌の増殖サイクル中の酵素であるとの報告がある⁹⁾。

今回同定した蛋白は、現段階ではまだ責任抗原蛋白の候補である。現在作製し得ている3種類のリコンビナント蛋白ならび作製途中である4種類もベクターや宿主を変更するなどして完成させ、ELISA法やwestern blot法などでその反応性や特異性を解析する必要がある。今後さらに患者末梢血単核球・BAL細胞を用いて細胞性免疫における反応性を検討していく予定であり、最終的には本症の責任抗原の同定を目指す。

【研究発表】

論文発表

- ・ Eishi Y. BioMed Res Int. 2013. 2013:935289.
- ・ Eishi Y. Res Invest. 2013. Jun;51(2):56-68.
- ・ Minegishi K, et al. Genome Announc. 2013. Jan;1(1).

学会発表

- ・ 松風綾香他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 掛川智也他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会

- ・ 千葉明子他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 伊藤智里他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 中村輝子他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 峰岸佳菜他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 萬巴里子他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 鈴木好美他. 第33回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会
- ・ 江石 義信. 第53回 日本呼吸器学会学術講演会
- ・ 江石 義信. 第17回 日本適応医学会学術集会

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

【参考文献】

- 1) GW Hunninghake, U Costabel, M Ando, et al. ATS/ ERS/WASOG statement on sarcoidosis. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Diseases. 1999. 16:149.
- 2) M Negi, T Takemura, J Guzman, et al. Localization of *Propionibacterium acnes* in granulomas supports a possible etiologic link between sarcoidosis and the bacterium. Modern Pathology. 2012. 25(9):1284.
- 3) KA Oswald-Richter, DC Beachboard, X Zhan, et al. Multiple mycobacterial antigens are targets of the adaptive immune response in pulmonary sarcoidosis. Respiratory Research. 2010. Nov23;11:161.
- 4) J Carlisle, W Evans, R Hajizadeh, et al. Multiple mycobacterium antigens induce interferon- γ production from sarcoidosis peripheral blood mononuclear cells. Clinical and Experimental Immunology. 2007. 150:460.
- 5) KA Oswald-Richter, DC Beachboard, EH Seeley, et al. Dual Analysis for Mycobacteria and Propionibacteria in Sarcoidosis BAL. Journal of Clinical Immunology. 2012. Oct;32(5):1129.

- 6) H Furusawa, Y Suzuki, Y Miyazaki, et al. Th1 and Th17 immune responses to viable *Propionibacterium acnes* in patients with sarcoidosis. *Respiratory Investigation*. 2012. Sep;50(3):104.
- 7) Y Ebe, S Ikushima, T Yamaguchi et al. Proliferative response of peripheral blood mononuclear cells and levels of antibody to recombinant protein from *Propionibacterium acnes* DNA expression library in Japanese patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2000. Oct;17(3):256.
- 8) PS Srinivasa Rao, Y Yamada, KY Leung. A major catalase (KatB) that is required for resistance to H₂O₂ and phagocyte-mediated killing in *Edwardsiella tarda*. *Microbiology*. 2003. 149:2635.
- 9) E Brzuszkiewicz, J Weiner, A Wollherr, et al. Comparative Genomics and Transcriptomics of *Propionibacterium acnes*. *Plos One*. 2011. 6(6):e21581.

C. びまん性汎細気管支炎・
閉塞性細気管支炎

BO・DPB 部門(長谷川好規)

びまん性汎細気管支炎・閉塞性細気管支炎 部門報告

第2回閉塞性細気管支炎全国調査研究

長谷川 好規, 橋本 直純, 今泉 和良

びまん性汎細気管支炎と閉塞性細気管支炎は、ともに細気管支領域を主病変として呼吸不全をきたす慢性のびまん性肺疾患である。本研究班では、疾患の実態と病態を解明し、治療と予防につながる科学的根拠を探索する事を目的とした。3年間の活動では、初年度に閉塞性細気管支炎の全国調査を実施した。その結果、病理学的に確定診断された症例が93例、臨床診断例384例の報告を得た。その翌年より、全国調査研究に基づき、病理学的に確定診断された症例を中心に個別症例検討会を実施した。個別症例検討会において、診断の困難さ、施設における病態認識の違いが明らかとなった。今後、症例集積による症例解析集の作成と診断の手引きへの展開が必要であると考えられる。

Study group of diffuse panbronchiolitis and Bronchiolitis Obliterans

The second nation-wide case search for constrictive bronchiolitis obliterans

Yoshinori Hasegawa¹, Naozumi Hashimoto¹, Kazuyoshi Imaizumi²¹Department of Respiratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan²Department of Respiratory Medicine and Allergy, Fujita Health University, Japan

There have been few reports for the nation-wide survey of Bronchiolitis Obliterans (BO) cases, and neither the guidance booklet for the diagnosis of BO. This study group conducted the first nation-wide survey for constrictive type of BO in 2003. The report in 2004 showed that only 23 cases were collected in detail review, which were pathologically diagnosed by surgical lung biopsy. The report indicated that this rare condition causes diagnostic difficulty by simulating other airway obstructive diseases. As 7 years passed from the first survey, we conducted the second-nation wide survey for constrictive type of BO in 2011. Cases were surveyed from April 2011 through May 2011 at 1815 hospitals, and 93 cases were diagnosed pathologically. Sixty-nine institutes were reported for accepting to collect further information. Therefore, we started to collect detail information as a secondary case reviewing. Case reviewing was held three times, and twelve cases were reviewed by chest radiologists, chest pathologists, and chest clinicians. Nine cases out of 12 were finally diagnosed as BO, two cases, which were diagnosed of BO by the pathologist in each institution, were assessed outside the scope of BO. We will continue the case reviewing and summarize the definitive cases of BO as a guidance booklet for the diagnosis of BO.

研究の背景

閉塞性細気管支炎は、特発性もしくは様々な原因により、細気管支領域における包囲性狭窄や細気管支内腔の閉塞をきたす疾患である。最終的に細気管支の不可逆的閉塞をきたし呼吸不全となり、著しく日常生活を損なう疾患である。稀な疾患と考えられていたが、骨髄移植や心肺移植などの移植医療に伴う閉塞性細気管支炎の合併が報告され、新たに注目を集めている疾患である。病因は不明であり、診断は困難である。確立された治療法はなく、予後不良の疾患である。以上の背景から、これまで世界的に見ても閉塞性細気管支炎症例を集積した研究は限られており、診断の手引きも存在しない。我が国においては、いち早く厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業：びまん性肺疾患調査研究班)において、2003年～2004年に我が国初のアンケート全国調査を実施した。また、厚生科学研究費補助金により原因探索のため動物モデルや細胞を用いた研究を推進してきた。しかし、病理組織においても診断が困難であること、疾患概念が呼吸器内科専門医においても普及していないことから、アンケート調査では、病態・診断基準を示すに足りる情報解析が出来なかった。このような背景において、閉塞性細気管支炎の診断の手引きとなる情報収集を目的として全国から症例を集積することが必要であり、さらに、診断の手引きとなる症例集積の必要性が望まれている。

研究の目的

本研究は閉塞性細気管支炎の全国調査研究を実施することにより、我が国における本疾患の病態ならびにその実態を明らかにし、今後の閉塞性細気管支炎の病態・治療研究構築のための基礎データとすることを目的とした。最初に、症例スクリーニングを目的とした一次アンケートを実施し、その後、一次アンケートに基づき病理学的に確定診断されたと判断された症例を集積し、それぞれ複数の胸部レントゲン診断医、胸部を専門とする病理医、呼吸器内科医が一堂に会して個別症例検討会を実施することにより、診断確定例の症例集積を行った。

対象と方法

1. 一次アンケート(スクリーニング)
 - 1) 研究の種類
後ろ向き症例集積疫学研究
 - 2) 調査方法
アンケート調査による症例スクリーニング
 - 3) 調査のアウトライン
 - (1) 準備：疫学研究に関する倫理指針(文部科学省・厚生労働省平成14年6月17日)に従って、倫理審査委員会の承認を得た(名古屋大学倫理委員会承認2010年11月15日 承認番号1095).
 - (2) 1次アンケートの作成と発送：全国医療機関への手紙による1次アンケートを実施し、症例のスクリーニング調査を行い、調査協力を依頼する。ここでは閉塞性細気管支炎症例を広くスクリーニングすることを目的とし、担当医が閉塞性細気管支炎を疑う症例を広く集積し調査協力を依頼する。症例は2004年以後に該当する症例とし、前回調査時の2003年以後の症例を対象とする。
2. 2次症例調査と個別症例検討会
一次アンケートで回収したデータをもとに2次症例調査に協力が得られると回答された施設から症例を集積し、各症例の診断の妥当性、病理所見、画像所見について、専門家による合議検討会を開催する。

結 果

- 1) 全国1815病院にアンケートを送付した。
- 2) 595部門から回答があり、症例なしが445部門、症例有りが150部門であった。
- 3) 病理学的に確定診断された症例が93例、臨床診断例が384例であった。
- 4) 150部門の中で詳細な2次症例調査研究に協力可能と回答が69部門から得られた。
- 5) 協力可能と回答した69部門における症例の内訳は、病理による確定診断60例、臨床診断例186例であった。
- 6) 2次症例調査研究に協力可能で病理による確定診断60例について個別症例検討会を開始した。これまでに3回開催され、12症例について詳細な検

表1 第1回全国調査(2003年)と第2回全国調査(2011年)の比較

	第1回全国調査(2003年)	第2回全国調査(2011年)
送付先	1118 施設	1815 施設
症例発生期間	2003年以前	2004年～2011年
回答機関数	505	595
BO 症例あり	133 部門 (287 症例)	150 部門 (477 症例)
病理診断例	105 例	93 例
臨床診断例	182 例	384 例
協力可能施設		69/150 部門
協力施設における病理診断例	23 例	60 例
協力施設における臨床診断例	21 例	186 例

討を実施した。症例の内訳は以下の通りである。

- ①シェーグレン症候群に発症したBO
 - ②特発性BOの症例に2回肺移植を行った症例
 - ③関節リウマチにおけるD-ペニシラミン内服によるBO
 - ④骨髄移植後のBOとPAPの合併例
 - ⑤アマメシバ摂取による家族発症BO
 - ⑥関節リウマチ治療中に発症したBO
 - ⑦リンパ腫治療中に発症したBO
 - ⑧骨髄移植後に発症したBO疑い例
 - ⑨扁平苔癬に伴う細気管支炎
 - ⑩脳死肺移植を施行した骨髄移植後BO
 - ⑪慢性関節リウマチの経過中に息切れが増強した例
 - ⑫病理解剖にて確認しえた閉塞性細気管支炎
- 7) 病理学的に確定をしていた11症例の中で8例、未確定であった1例の合計9例のBO症例を確定診断した。2例については、BOの診断は適正ではないと判断した。

考察・結論

本研究班では、2004年に我が国初の閉塞性細気管支炎実態調査を全国調査として実施した。しかし、診断が困難であること、疾患概念が呼吸器内科専門医においてさえも普及していないことから、前回調査では、病態・診断基準を示すに足りる情報解析が出来なかった。今回の調査では、前回と比較すると

症例数にして287症例から477症例と大幅に増加し、かつ7年間という短期間の症例であることを考えると閉塞性細気管支炎に関する病態認識が向上したと考えられる(表1)。第1回個別症例検討会が平成24年6月16日日本医科大学にて開催され、第2回個別症例検討会が平成24年12月22日名古屋大学にて、第3回個別症例検討会が平成25年11月16日日本医科大学にて開催された。それぞれ、複数の胸部放射線診断医、病理医、呼吸器内科医が報告された情報に基づいてClinical-radiologic-pathologic (C-R-P) diagnosisを実施した。個別症例検討会において議論となったことは、各施設の病理にてBOと診断された症例とCRP診断が一致しないこと、また、施設の病理にてBOと診断できなかった症例が、CPR診断で確定診断されたことから、本疾患の診断の難しさが改めて課題となった。

今後は、臨床情報やCT画像および肺血流シンチなど画像集積、病理スライドのヴァーチャルスライド化による収集を行い、症例解析集の作成と診断の手引きへの展開が必要であると考えます。

研究発表

1. 今泉和良, 橋本 泉, 長谷川好規. 閉塞性細気管支炎. 総合臨床. 60:2470-2477, 2011
2. 阪本考司, 長谷川好規. Bronchiolitis Obliterans(閉塞性細気管支炎)呼吸と循環. 60:379-384, 2012
3. 阪本考司, 橋本直純, 長谷川好規. 閉塞性細気管

第2回全国調査 一次アンケート調査票

貴施設名・診療科名：

御担当者：

御住所：(〒)

TEL：

FAX：

E-mail：

記入年月日： 201 年 月 日

貴施設／貴診療科で経験された閉塞性細気管支炎の患者数についてお答えください
(概略で結構です)。

- 1 病理的に確定診断された閉塞性細気管支炎症例がございますか？
現在通院中または入院中 人
過去に通院または入院していた 人
- 2 臨床的に閉塞性細気管支炎(疑い含む)と診断されたが病理診断はついていない
症例がございますか？
現在通院中または入院中 人
過去に通院または入院していた 人
- 3 上記で閉塞性細気管支炎の症例の経験ありと答えられた施設の先生にお尋ねし
ます。
各症例についての血液、病理、画像データなどの詳細な調査にご協力いただけ
ますでしょうか？(患者あるいは親族の方の同意が必要です。ご協力いただけ
る場合には研究協力者として貴施設の倫理委員会に承諾をいただく必要があり
ますが、準備書類や同意書等は当方にて準備いたします。)
協力できる 協力できない
条件つきなら協力できる(具体的に下にお書きください)

支炎 1) アマメシバ, GVHD などの臨床. 日本胸
部臨床 71 増刊号 204-208, 2012

4. Sakamoto K, Hashimoto N, Kondoh Y, Imaizumi K, Aoyama D, Kohno T, Kusunose M, Kimura M, Kawabe T, Taniguchi H, Hasegawa Y. Differential modulation of surfactant protein D under acute and persistent hypoxia in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 303: L43-L53, 2012
5. Sakamoto K, Taniguchi H, Kondoh Y, Wakai K, Kimura T, Kataoka K, Hashimoto N, Nishiyama O, Hasegawa Y. Acute exacerbation of IPF following diagnostic bronchoalveolar lavage procedures. *Respir Med.* 106: 436-442, 2012
6. Hashimoto I, Imaizumi K, Hashimoto N, Furukawa H, Noda Y, Kawabe T, Honda T, Ogawa T, Matsuo M, Imai N, Ito S, Sato M, Kondo M, Shimokata K, Hasegawa Y. An aqueous fraction of *Sauropus*

androgynus might be responsible for bronchiolitis obliterans. *Respirology* 18 : 340-347, 2013

7. Kimura M, Taniguchi H, Kondoh Y, Kimura T, Kataoka K, Nishiyama O, Aso H, Sakamoto K, Hasegawa Y. Pulmonary hypertension as a prognostic indicator at the initial evaluation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiration* 85: 456-63, 2013
8. Tsukuura H, Nishimura K, Taniguchi H, Kondoh Y, Kimura T, Kataoka K, Watanabe N, Hasegawa Y. Opioid use in end-of-life care in patients with interstitial pneumonia associated with respiratory worsening. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 27: 214-9, 2013

知的財産権の出願・登録状況

特になし。

個別症例検討会(CPR診断)メンバー

画像評価

公立学校共済組合近畿中央病院 放射線科
上甲 剛
埼玉医大国際医療センター画像診断科 酒井文和

病理評価

日本医科大学病理学講座 解析人体病理学
寺崎泰弘
日本医科大学病理学講座 解析人体病理学
福田 悠
岡山医療センター 臨床検査科 山鳥一郎

臨床評価

自治医科大学医学部 内科学講座
呼吸器内科学部門 杉山幸比古

東邦大学医学部医学科内科学講座(大森)

呼吸器内科 本間 栄
名古屋大学大学院医学系研究科 呼吸器内科
長谷川好規

東邦大学医療センター大森病院

呼吸器センター内科 杉野 圭史
名古屋大学大学院医学系研究科 呼吸器内科
橋本 直純

謝 辞

症例を呈示していただいた全国の関係者にこの場をお借りして深く深謝いたします。

びまん性汎細気管支炎疾患感受性候補領域に存在する 新しい肺サーファクタントプロテイン surfactant associated 2 遺伝子 *SFTA2* のヒト気道上皮細胞における発現の検討

慶長 直人^{1*} 土方美奈子¹ 松下 育美¹ 伊藤 秀幸²
本間 栄^{3**} 田口 善夫^{4*} 吾妻安良太^{5**} 工藤 翔二⁶

びまん性汎細気管支炎 (DPB; diffuse panbronchiolitis) は、東アジア系集団にみられる HLA class I 関連疾患である。第6番染色体 HLA 領域、*HLA-B* 遺伝子座と *HLA-A* 遺伝子座の間にある DPB 疾患感受性候補領域の中には、我々がクローニングした2つの新規遺伝子 *PBMUCL1* (*MUC22*), *PBMUCL2* に *DPCR1*, *MUC21* を加えた4つのムチン・ムチン様遺伝子が局在し、クラスターを形成している。これらのムチン遺伝子クラスター領域の *HLA-A* 側に、肺組織に特異的なサーファクタント蛋白である surfactant associated 2 遺伝子 *SFTA2* が最近新たに見いだされた。初代培養ヒト気道上皮 (HBE) 細胞で *SFTA2* 遺伝子発現を real-time RT/PCR で検討したところその遺伝子発現が検出されたが、気相液相培養による再分化状態で発現増加はみられなかった。初代培養 HBE 細胞に各種炎症刺激を加えたとき、インターフェロン γ 添加で約2倍の発現誘導がみられ、 α デフェンシンと IL-13 の添加により発現低下が認められた。*SFTA2* 領域の遺伝的多型とその頻度を DPB 患者と日本人健常コントロールで検討したが、DPB と有意に関連する多型はみられなかった。これは、*HLA-B*5401* を有するハプロタイプが組み換えにより2つの主要な疾患感受性 HLA ハプロタイプである *HLA-B*5401-A*1101* と *HLA-B*5401-A*2402* に分かれたという仮説に基づくと、*SFTA2* 遺伝子座はその組み替え点より *HLA-A* 側に位置することから疾患と関連していない点を説明することは可能である。しかし、*SFTA2* の遺伝的多型にはアジア人特異的なものも多くみられ、特にプロモーター領域の600塩基の中には10個の遺伝的多型が集中して存在しており、疾患との関連やその意義については、さらに今後の検討が必要と考えられる。

¹ 公益財団法人結核予防会 結核研究所 生体防御部

² 独立行政法人国立国際医療研究センター病院
呼吸器外科

³ 東邦大学 呼吸器内科

⁴ 天理よろづ相談所病院 呼吸器内科

⁵ 日本医科大学 内科学(呼吸器・感染・腫瘍部門)

⁶ 複十字病院

* 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

びまん性汎細気管支炎 (DPB; diffuse panbronchiolitis) は東アジア系集団にみられる HLA class I 関連疾患である (OMIM; Online Mendelian Inheritance in Man %604809). 日本人では HLA-B54 との関連が非常に強いことが複数の報告で確認されているのに対し、韓国人では HLA-B54 との関連はなく、HLA-A11 との関連が強いとされた。このことから、HLA そのものが DPB に関連しているのではなく、*HLA-B* 遺伝子座と *HLA-A* 遺伝子座の間に DPB の疾患感受性遺伝子が存在するという仮説に基づき、これまで、我々は、マイクロサテライトマーカーなどの遺伝マーカーを用い、候補領域をおよそ *S* 遺伝子から *TFIIH* 遺伝子までの 200kb と推定してきた。我々はさらに候補領域内で新規遺伝子のクローニングを試み、2つのムチン遺伝子 (*PBMUCL1*, *PBMUCL2*) をクローニングして報告した。既に報告されている *DPCR1* 遺伝子と *MUC21* 遺伝子をあわせると、候補領域内には4つのムチン・ムチン様遺伝子がクラスターを形成している。このうち *DPCR1* 遺伝子の発現は胃の粘膜が主であるが、残りの3つの遺伝子は肺で発現が認められる。

2012年に、このムチン・ムチン様遺伝子クラスターの *HLA-A* 側に隣接した DPB 疾患感受性候補領域内に、新規に肺の分泌蛋白あるいは肺サーファクタント蛋白と推測される surfactant associated 2 遺伝子 *SFTA2* が見いだされた (Mittal RA, *et al.* PLoS ONE 2012, Rausch F, *et al.* PLoS ONE 2012) (図1)。

推定される遺伝子産物は N 末端の 19 アミノ酸のシグナル配列が切断されると、59 アミノ酸長の小さな分泌蛋白 (6.5kDa, 糖鎖等翻訳後修飾で 11kDa) であり、他のサーファクタント蛋白を含む既知の蛋白とのホモロジーはないが、このオルソログは哺乳類に広く存在する。Mittal らは、この蛋白はヒト肺

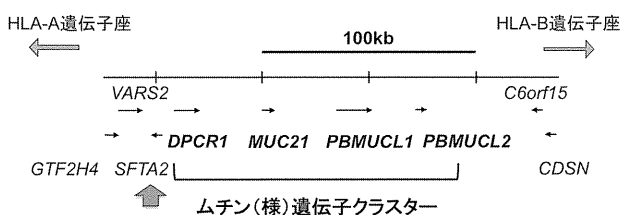


図1 HLA 領域のムチン・ムチン様遺伝子クラスターと *SFTA2*

組織の抗 *SFTA2* 抗体による免疫組織染色で細気管支の非線毛上皮と II 型肺胞上皮に見られると報告したが、Rausch らの検討では細気管支の上皮細胞表層に染色が認められたが、肺胞上皮細胞の I 型・II 型とも染色が見られなかった。

ヒト、マウスの肺での発現は上記の論文で確認されたが、*SFTA2* が気道炎症や免疫防御に何らかの役割を担っているのかは不明である。今年度、我々は、手術検体由来の初代培養ヒト気道上皮 (HBE) 細胞における *SFTA2* 遺伝子発現を real-time RT/PCR で解析し、*SFTA2* 遺伝子多型を PCR-ダイレクトシーケンスにより検討した。

B. 研究方法

(1) ヒト各種組織由来の cDNA パネル [Human MTC cDNA Panel (CLONTECH)] を用い、*SFTA2* cDNA の PCR 増幅を行った。手術検体から単離培養した HBE 細胞 2 検体を培養し、さらに気相液相培養を行い、14 日、28 日に細胞を回収した。3 検体の HBE は、通常の液相培養に IFN β , IFN α , poly(I:C), IFN γ , TNF α , LPS, α -defensin, β -defensin1, β -defensin2, IL13 で刺激を行い、24 時間後、48 時間後に細胞を回収した。ヒト肺腺癌由来の気道上皮細胞株 Calu-3 を用い、同じ 10 種類の刺激後の細胞を回収した。全 RNA を抽出し、*SFTA2* mRNA 発現量を SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa Bio) を用いた real-time RT/PCR にて検討した。発現量の補正には *ACTB* 遺伝子を用いた。

(2) 日本人 DPB 患者 108 例、日本人健常コントロール 98 例のゲノム DNA を用いて、3つのエクソンから成る *SFTA2* 遺伝子領域 (全長約 800 塩基) とプロモーター領域約 600 塩基を PCR で増幅し、ダイレクトシーケンスを行った。

(倫理面への配慮) 「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠した遺伝子解析に関する倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

(1) ヒト各種組織由来の cDNA パネルの検討で、*SFTA2* mRNA は肺に発現していた (図2)。初代培養 HBE 細胞にも *SFTA2* 遺伝子発現がみられたが、気相液相培養による再分化状態での発現のさらなる誘導はみら

れなかった。Mittalらの報告で*SFTA2* 遺伝子発現量が多いとされたCalu-3細胞はHBE細胞と比べて発現レベルが高かったが、刺激により変化はみられなかった。一方、HBE細胞に各種生理活性物質を添加した実験では、インターフェロン γ 刺激後24時間で約2倍の発現誘導がみられ、 α デフェンシン (24h) とIL-13 (24h, 48h)添加では遺伝子発現低下がみられた(図3)。

(2)日本人DPB患者108例、日本人健常コントロール98例のゲノムDNAを用いて、*SFTA2*遺伝子領域(全長約800塩基)とプロモーター領域約600塩基のシーケンス解析を行ったところ、11カ所の単塩基多型(SNP)、1カ所の挿入欠失多型、その他アレル頻度が5%未満の稀な変異を6カ所で見いだした。特にプロモーター領域の600塩基の中には10個の遺伝的多型が集中して存在していたが、Mittalらが*SFTA2*の発現との関わりの可能性のあることを指摘しているTTF-1 (thyroid transcription factor 1)の結合モチーフの塩基配列を直接に変化させる変異は存在しなかった。プロモーター領域のAストレッチの数の違い(12, 13, 14, 15個)のうち、A14のアレル頻度は

$P=0.042$ でDPB患者群に多かったが、アレル数($n=4$)での補正を行うと有意差ではなく、また、他にも有意な関連を示す多型はなかった。Haploview (4.2)で、11カ所のSNPと2塩基(CA)の挿入欠失多型(rs3217063)の合わせて12カ所の多型による連鎖不平衡ブロック(Confidence interval)(図4)と、各ブロックの推定ハプロタイプとその頻度(図5)を検討したが、permutation法により、ハプロタイプの有意な関連はみられなかった。

D. 考 案

*SFTA2*は、DPB疾患感受性候補領域に存在する肺の新規分泌ペプチドとして最初に報告されたが(Mittal RA, *et al.* PLoS ONE 2012)、既知の蛋白との相同性が全くなく、構造予測等から新規肺サーファクタント蛋白と提唱された(Rausch F, *et al.* PLoS ONE 2012)。ヒト肺組織の組織免疫染色では、細気管支領域で染色が認められた。しかし、*SFTA2*の機能についてはコンピューターによる予測に基づく推測の域で、今後の検討による機能の解明が必要である。

我々は、この新規遺伝子がDPB疾患感受性候補領域に存在するため、ヒト初代培養気道上皮細胞における*SFTA2* mRNAの発現をreal-time RT/PCRで、また、その遺伝的多型をDPB患者と健常コントロールで検討した。癌細胞由来のCalu-3細胞株では、*SFTA2* mRNAの発現量は非常に多いが、刺激による発現誘導ないし低下は見られなかった。これは、各種刺激により誘導される既知の他の遺伝子の発現にも変化がほとんどないため(data not shown)、Calu-3

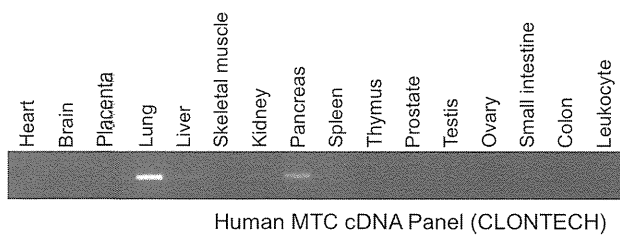


図2 *SFTA2* mRNAの各種ヒト組織での発現

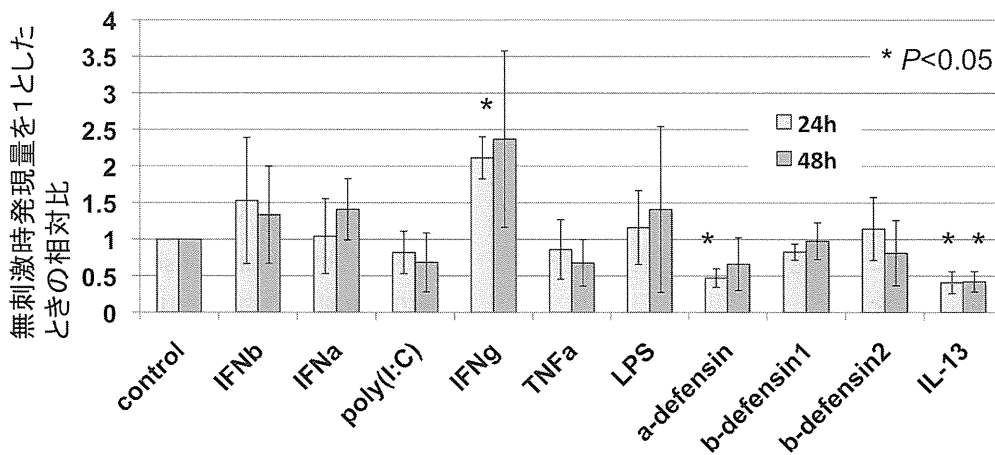


図3 初代培養ヒト気道上皮細胞(n=3)に対する各種炎症刺激時の*SFTA2* mRNAの発現

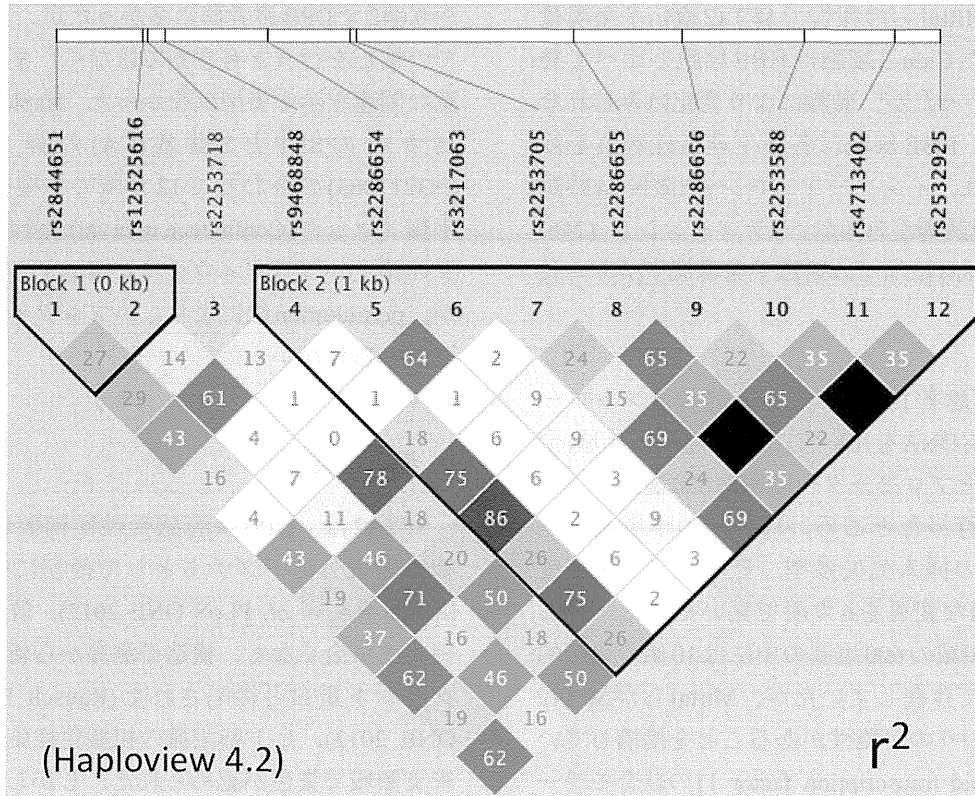


図4 日本人健康者98名でのSFTA2遺伝的多型のLD block

Haplotype frequency			Haplotype frequency		
Block 1	DPB	Control	Block 2	DPB	Control
GA	0.338	0.367	CGinsGTACAT	0.472	0.449
AC	0.343	0.319	GGinsACGGGC	0.171	0.224
GC	0.319	0.314	GGinsGCGCGT	0.171	0.163
			GAdelGTGCAT	0.116	0.071
			GGinsGCGGGC	0.046	0.056

図5 SFTA2の2つのLD blockで推定されるハプロタイプとDPB患者、健康コントロールでの頻度

細胞株における各種炎症刺激への応答が低いことによると考えられる。一方、HBE細胞では、気相液相培養による発現増強がなかったが、通常培養状態の細胞に対するいくつかの刺激により、発現量の変化が認められた。今回の検討だけでは、気道炎症状態におけるSFTA2の発現についてはまだ不明の点が多いが、生理活性物質により発現が誘導される場合があることが明らかになった。

SFTA2の遺伝的多型とDPBとの関連はみられなかった。これは、HLA-B*5401を保有し、組み換えにより生じたと推測される2つの主要な疾患感受性HLAハプロタイプであるHLA-B*5401-A*1101と

HLA-B*5401-A*2402が、分岐した後のHLA-A側にSFTA2が位置することによるためではないかと考えられる。しかし、HapMapデータベースによると、SFTA2の遺伝的多型にはアジア人特異的なものが多くみられ、我々の検討でも、日本人に多いHLA-B*5201と強い連鎖不平衡状態にあるSNPも見いだされている (data not shown)。特にプロモーター領域の600塩基の中には10個の遺伝的多型が集中して存在しており、疾患との関連やその意義について今後の検討が必要と考えられる。

E. 結 論

DPB疾患感受性候補領域に存在する肺の新規サーファクタント蛋白とされる *SFTA2* 遺伝子の初代培養ヒト気道上皮細胞における発現を検討したところ、

一部炎症刺激により発現量が変化したが、*SFTA2* 遺伝的多型はDPBとは関連がなかった。気道炎症における *SFTA2* の役割については、さらに検討が必要である。

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者誌名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版地	出版年	ページ
澤幡美千瑠	M.肺 M.peregrinum症	倉島篤行, 小川賢二	肺MAC症診療 Up to Date	東京	2013	230-231
黒沼幸治, 高橋弘毅	初診時の対応	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	172-176
稲瀬直彦	過敏性肺炎	山口徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療指針2013年版	東京	2013	308-309
稲瀬直彦	過敏性肺炎	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一	呼吸器疾患最新の治療2013-2015	東京	2013	342-344
稲瀬直彦	呼吸器疾患	全国柔道整復学校協会	一般臨床医学改訂第3版	東京	2013	99-128
稲瀬直彦	過敏性肺炎	永井良三, 大田健	今日の治療と看護 改訂第3版	東京	2013	395-396
高山聡, 稲瀬直彦	肺M. shimoidei症	小川賢二	肺MAC症診療 Up to Date	東京	2013	235-238
宮崎泰成, 稲瀬直彦	ステロイド/免疫抑制薬	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	79-89
宮崎泰成, 稲瀬直彦	シクロスポリン	杉山幸比古	特発性肺線維症(IPF)改訂版	東京	2013	235-245
宮崎泰成, 稲瀬直彦	過敏性肺炎	田中良哉	病態と治療戦略がみえる免疫・アレルギー疾患イラストレイテッド	東京	2013	312-316
玉岡明洋, 稲瀬直彦	縦隔気腫	北村諭, 巽浩一郎, 石井芳樹	別冊・医学のあゆみ 呼吸器疾患—State of arts Ver.6	東京	2013	372-374
稲瀬直彦	過敏性肺炎	浦部晶夫, 大田健, 川合眞一, 島田和幸, 菅野健太郎	今日の処方 改訂第5版	東京	2013	238-240
稲瀬直彦	過敏性肺[臓]炎	玉置淳	全部みえる 呼吸器疾患	東京	2013	208-210
稲瀬直彦	薬剤性肺炎	玉置淳	全部みえる 呼吸器疾患	東京	2013	211-213
稲瀬直彦	放射線肺炎	玉置淳	全部みえる 呼吸器疾患	東京	2013	214-215
稲瀬直彦	膠原病随伴性間質性肺炎	玉置淳	全部みえる 呼吸器疾患	東京	2013	216-217
本間 栄(分担)	膿胸	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢編	2013今日の治療指針	東京	2013	321
本間 栄(分担)	特発性肺線維症	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一編	呼吸器疾患最新の治療2013-2015	東京	2013	315-318
本間 栄(分担)	チアノーゼ	永井良三, 大田 健編	今日の治療と看護	東京	2013	79-82
本間 栄(分担)	重症新型インフルエンザ診断と治療の手引き	高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究班 河内正治 監修	鳥インフルエンザウイルスはヒトに感染する	東京	2013	
本間 栄(分担)	胸部リンパ系疾患(1)リンパ脈管筋腫症(lymphangiomyomatosis:LAM)(2)乳糜胸(cylothorax).	矢崎義雄 総編集	内科学第10版	東京	2013	864-865
坂本 晋, 本間 栄(分担)	間質性肺炎・肺線維症	井端英憲, 坂野昌志編	処方Q & A 100 呼吸器疾患	東京	2013	140-166
本間 栄, 村松陽子(分担)	IX.IPFの治療の現況. 5.N-アセチルシステイン吸入.	杉山幸比古 編	特発性肺線維症(IPF)改訂版	東京	2013	226-234
村松陽子, 本間 栄(分担)	第III章1.安定期2)各論: N-アセチルシステイン.	杉山幸比古 編	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	56-65

著者誌名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版地	出版年	ページ
杉野 圭史, 本間 栄(分担)	Stevens-Johnson症候群発症後に高度の閉塞性換気障害を認めた27歳女性	永井厚志編	New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ 呼吸器疾患 第2版	東京	2012	245-251
村松 陽子, 本間 栄(分担)	薬物治療(治療と薬理メカニズム): N-アセチルシステイン.	滝澤 始 編	間質性肺炎を究める	東京	2012	150-155
本間 栄(分担)	閉塞性細気管支炎	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	2011 今日の治療指針	東京	2011	294-295
本間 栄(分担・編集・監修)	(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編	特発性間質性肺炎 診断と治療の手引き 改訂第2版	東京	2011	
本間 栄(分担)	ANCA 関連血管炎の診療ガイドライン	厚生労働省 難治性疾患克服研究事業編		東京	2011	
坂本 晋, 本間 栄(分担)	急性好酸球性肺炎	石原照夫 編	呼吸器疾患ビジュアルブック	東京	2011	181-183
坂本 晋, 本間 栄(分担)	慢性好酸球性肺炎	石原照夫 編	呼吸器疾患ビジュアルブック	東京	2011	184-186
坂本 晋, 本間 栄(分担)	アレルギー性気管支肺アスペルギルス症	石原照夫 編	呼吸器疾患ビジュアルブック	東京	2011	187-190
酒井文和	A. 正常写真の理解と読影	櫛橋民生	胸部単純写真の読影	東京	2013	2-28
酒井文和	G. 気道病変 H. 微粒子, 液体, 有毒ガス I. 毒物, 薬物, 放射線	櫛橋民生	胸部単純写真の読影	東京	2013	236-274
酒井文和	胸部X線検査, 胸部CT, MRI, 核医学検査		病気がみえる4巻呼吸器	東京	2013	64-83
酒井文和	薬剤性肺障害	NPO 法人日本胸部放射線医学研究機構, 胸部放射線研究会編, 高橋雅士, 上甲剛, 高橋康二, 栗原泰之, 田中伸幸	medical science international 胸部画像診断スタンダード	東京	2013	169-171
酒井文和	5. 画像診断	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	31-45
西岡安彦	肺線維化におけるfibrocyteの役割	永井厚志, 巽浩一郎, 桑野和善, 高橋和久	Annual Review 2013 呼吸器	東京	2013	28-33
西岡安彦	副腎皮質ステロイド薬	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一	呼吸器疾患最新の治療 2013-2015	東京	2013	97-101
西岡安彦	症状と病態生理	北村聖	臨床病態学1巻(第2版)	東京	2013	231-3
西岡安彦	Fibrocyteと呼吸器疾患	北村諭, 巽浩一郎, 石井芳樹	別冊・医学のあゆみ 呼吸器疾患 -state of arts Ver.6	東京	2013	23-25
西岡安彦	特発性器質性肺炎	矢崎義雄	内科学 第10版	東京	2013	806-8
西岡安彦, 青野純典	安定期と増悪期の対応	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	177-84
渡辺憲太郎	ANCA 関連血管炎	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一	呼吸器疾患最新の治療	東京	2013	350-352
渡辺憲太郎	閉塞性肺疾患 1. 気管支炎	北村聖	臨床病態学	東京	2013	290-292
渡辺憲太郎	サルコイドーシス	北村諭, 巽浩一郎, 石井芳樹	別冊・医学のあゆみ 呼吸器疾患 -state of arts Ver.6	東京	2013	277-279
渡辺憲太郎	IPFと鑑別が必要な疾患 8. 上葉肺線維症	杉山幸比古	特発性肺線維症(IPF)改訂版	東京	2013	348-355
渡辺憲太郎	第三章 3. 特殊病態の治療 5) 併発難治性感染症(アスペルギルスなど)	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	139-144
渡辺憲太郎	職業性・物理化学因子性呼吸器疾患 じん肺	小川 聡	内科学書 改訂第8版	東京	2013	411-417

著者誌名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版地	出版年	ページ
Watanabe K	Physiological manifestation in pulmonary sarcoidosis	Eishi Y	Sarcoidosis	Croatia	2013	165-181
谷野功典, 棟方充	COPDの併存症	北村聖	カレントセラピー	東京	2013	480-484
谷野功典, 棟方充	IPFと呼吸機能検査	杉山幸比古	特発性肺線維症 (IPF) 改訂版	大阪	2013	175-183
谷野功典, 棟方充	合併気胸の治療	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	129-138
谷野功典, 棟方充	気腫合併肺線維症とその治療	呼吸器内科編集委員会	呼吸器内科	東京	2013	534-542
瀬戸口靖弘	抗炎症 免疫抑制薬	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一	呼吸器疾患最新の治療 2013-2015	東京	2013	90-96
瀬戸口靖弘	閉塞性細気管支炎	山口徹, 北原光夫, 福井次矢	今月の治療指針2013	東京	2013	297
瀬戸口靖弘	乳び胸	北村諭, 巽浩一郎, 石井芳樹	別冊・医学のあゆみ 呼吸器疾患 -state of arts Ver.6	東京	2013	341-343
瀬戸口靖弘	6分間歩行試験	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	19-24
江石 義信	アレルギー性内因性感染症としてのサルコイドーシスの病因論.	滝澤 始	呼吸器内科	東京	2013	261-270
江石 義信	アレルギー性内因性感染症としてのサルコイドーシス.	江石 義信	お茶の水医学雑誌	東京	2013	259-276
江石 義信	【間質性肺炎と周辺疾患-感染症から薬剤性まで-】サルコイドーシスの候補病原体としての Propionibacterium acnes.	松本慶蔵	化学療法の領域	大阪	2013	649-658
江石 義信	サルコイドーシスの病因について.		皮膚病診療	東京	2013	15-22
武村 民子, 江石 義信	サルコイドーシス 心・肺の病理学的特徴.		循環器内科	東京	2013	107-114
高瀬 博, 江石 義信	【ぶどう膜炎の研究最前線2013】サルコイドーシス	望月 學	あたらしい眼科	東京	2013	313-319
花田豪郎, 岸一馬	呼吸器系の救急治療1慢性呼吸不全の急性増悪	貫和敏博, 杉山幸比古, 門田淳一	呼吸器疾患最新の治療 2013-2015	東京	2013	169-172
花田豪郎, 岸一馬	7.治療各論:薬物療法27.心臓合併症のある症例における化学療法の注意点を教えてください	弦間昭彦	肺癌診療Q&A	東京	2013	351-356
宇留賀公紀, 岸一馬	7.治療各論:薬物療法28.肝機能障害のある症例における化学療法の注意点を教えてください	弦間昭彦	肺癌診療Q&A	東京	2014	357-360
峯岸 裕司, 弦間昭彦	特殊病態の治療 合併肺癌の化学療法	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	116-121
峯岸 裕司, 弦間昭彦	合併肺癌の化学療法	杉山幸比古	特発性肺線維症(IPF)	東京	2013	276-284
近藤康博, 片岡健介, 谷口博之	特発性肺線維症における多面的評価	永井厚志, 巽浩一郎, 桑野和善, 高橋和久	Annual Review 呼吸器	東京	2013	131-139
谷口博之, 渡辺尚宏	診断の進歩 IPFの急性増悪と胸部CT HRCT所見と予後	永井厚志, 巽浩一郎, 桑野和善, 高橋和久	Annual Review 呼吸器	東京	2013	177-183
大西広志, 横山彰仁	一般検査所見の評価	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	25-30
横山彰仁	薬剤性肺炎, じん肺	矢崎義雄	内科学 第10版	東京	2013	810-812

著者誌名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版地	出版年	ページ
圓城寺若奈, 守屋順子, 井上義一, 中村しをり	第七章-IIPsの看護 2.その2	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	195-200
井上義一	第八章-他のIIPsの治療と管理 2.特発性器質化肺炎(COP)	杉山幸比古	特発性間質性肺炎の治療と管理	東京	2013	208-11
井上義一	X. IPFと鑑別が必要な疾患 1.特発性間質性肺炎の新しい分類	杉山幸比古	特発性肺線維症(IPF) 改訂版	大阪	2013	285-93

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
坂東政司	気腫合併肺線維症(CPFE)	呼吸と循環	61	132-138	2013
Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, Sakatani T, Oguni S, Tamura T, Hoshino H, Sugiyama Y, Endo S, Murakami Y, Aburatani H, Fukayama M, Niki T	Lung cancer with loss of BRG1/BRM, shows epithelial mesenchymal transition phenotype and distinct histologic and genetic features	Cancer sci	104	266-273	2013
Mato N, Bando M, Kusano A, Hirano T, Nakayama M, Uto T, Nakaya T, Yamasawa H, Sugiyama Y	Clinical significance of interleukin 33(IL-33) in patients with eosinophilic pneumonia	Allergology International	62	45-52	2013
黒崎史朗, 坂東政司, 武村民子, 間藤尚子, 中屋孝清, 杉山幸比古	特発性間質性肺炎との鑑別を要し、胸腔鏡下肺生検にて診断しえたサルコイドーシスの1例	日呼吸誌	21	24-28	2013
間藤尚子, 杉山幸比古	特集 呼吸器疾患の診断と治療(II)好酸球性肺炎	医学と薬学	69	235-241	2013
杉山幸比古	1.特発性肺線維症の新ガイドラインとわが国の取り組み	日胸	72	226-231	2013
黒崎史朗, 坂東政司, 武村民子, 間藤尚子, 山沢英明, 江石義信, 杉山幸比古	関節リウマチにサルコイドーシスを合併した1例	日呼吸誌	2	128-133	2013
Watadani T, Sakai F, Johkoh T, Noma S, Akira M, Fujimoto K, Bankier AA, Lee KS, Müller NL, Song JW, Park JS, Lynch DA, Hansell DM, Jardin MR, Franquet T, Sugiyama Y	Interobserver variability in the CT assessment of honeycombing in the lung	Radiology	266	936-944	2013
中山雅之, 坂東政司, 関根利江, 菊池貴明, 伊東紘一, 杉山幸比古	修正MRCスケールとCATとが乖離したCOPD症例の検討	厚労科研費呼吸不全に関する調査研究班平成24年度報告書		183-186	2013
中山雅之, 坂東政司, 関根利江, 間藤尚子, 山沢英明, 杉山幸比古	特発性肺線維症における身体活動量測定の臨床的有用性について	厚労科研費びまん性肺疾患に関する調査研究平成24年度研究報告書		213-217	2013
坂東政司, 山内浩義, 杉山幸比古	臨床調査票を用いた特発性肺線維症に対するビルフェニドン長期使用例に関する臨床的検討	厚労科研費びまん性肺疾患に関する調査研究平成24年度研究報告書		51-59	2013
坂東政司	急性呼吸窮迫症候群 基礎疾患ごとの検証を(第53回日本呼吸器学会)	Medical Tribune	46	12	2013
中曾根悦子, 山沢英明, 瀧上理子, 中山雅之, 間藤尚子, 中屋孝清, 坂東政司, 杉山幸比古	気管支肺胞洗浄液のRT-PCR検査により診断しペラミビルが有効であった重症インフルエンザA(H1N1)肺炎の1例	気管支学	35	205-209	2013
杉山幸比古	特発性肺線維症の最新の薬物療法	呼吸	32	673-681	2013
坂東政司	COPD併存症に対する新しい治療法-スタチン療法-	呼吸器内科	23	618-624	2013
杉山幸比古	びまん性肺疾患の画像-多彩なプロフィール-	日呼吸誌	2	488-490	2013
坂東政司	1.診断・疫学関連3)びまん性肺疾患に関するプロスペクティブ調査研究(Web登録)の現状	日胸	72	S13-S18	2013
杉山幸比古	1.診断・疫学関連1)IPF新ガイドラインの意義	日胸	72	S4-S7	2013
杉山幸比古	肺線維症治療薬開発の向かうべき方向	日胸	72	1054-1059	2013