

ホルモテロールは 10^{-10} M から、ブデソニドは 10^{-9} M から抑制作用が認められた。

2) ヒト気管上皮細胞で複製されるライノウイルス RNA を感染 24 時間後および 72 時間後と比較した。感染 24 時間後でライノウイルス RNA は検出され、さらに、感染 24 時間から 72 時間にかけてライノウイルス RNA 複製量が増加した。ホルモテロール (10 nM) およびブデソニド (10 nM) はライノウイルス RNA 複製量を減少させた (図 5)。ホルモテロールの抑制効果は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 ($1 \mu\text{M}$) で阻害された。ブデソニドはホルモテロールに比較して強いライノウイルス RNA 複製抑制効果が観察された (図 5)。

3) Major type ライノウイルスは気道細胞の表面に発現する細胞接着分子 ICAM-1 に吸着し⁷⁾、酸性エンドゾームに取り込まれて細胞内に移動する⁸⁾。ヒト気管上皮細胞における細胞接着分子の mRNA 発現は、感染 3 日前からホルモテロール (10 nM) およびブデソニド (10 nM) で処理することにより減少した (図 6A)。ホルモテロールの ICAM-1 mRNA 発現抑制作用は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 ($1 \mu\text{M}$) で回復した。ホルモテロール+ブデソニドは抑制増強効果を認めた

(図 6A)。

細胞接着分子 ICAM-1 の蛋白は可溶性成分 (sICAM-1) として培養液に放出され、上皮細胞で合成される ICAM-1 発現の指標としてきた⁹⁾。ヒト気管上皮細胞から放出される培養液 sICAM-1 濃度は、mRNA 発現と同様に、感染 3 日前からホルモテロール (10 nM) およびブデソニド (10 nM) で処理することにより減少した (図 6B)。ホルモテロールの sICAM-1 培養液減少作用は ICI 118551 の添加で回復した。ホルモテロール+ブデソニドは抑制増強効果を認めた (図 6B)。

4) ライノウイルス RNA は酸性の環境下でエンドゾームから細胞質に放出される⁸⁾。酸性エンドゾーム数は蛍光顕微鏡下で観察される。細胞をホルモテロール (10 nM) で処理すると酸性エンドゾーム数は減少した (図 7C)。ブデソニド (10 nM) は酸性エンドゾーム数を変化させなかった (図 7D)。

ヒト気管上皮細胞の酸性エンドゾームから放出される蛍光強度は酸性エンドゾーム数に関係する。ライノウイルス感染前に 3 日間ホルモテロール (10 nM) で処理をすると、酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度は減少する。さらに、

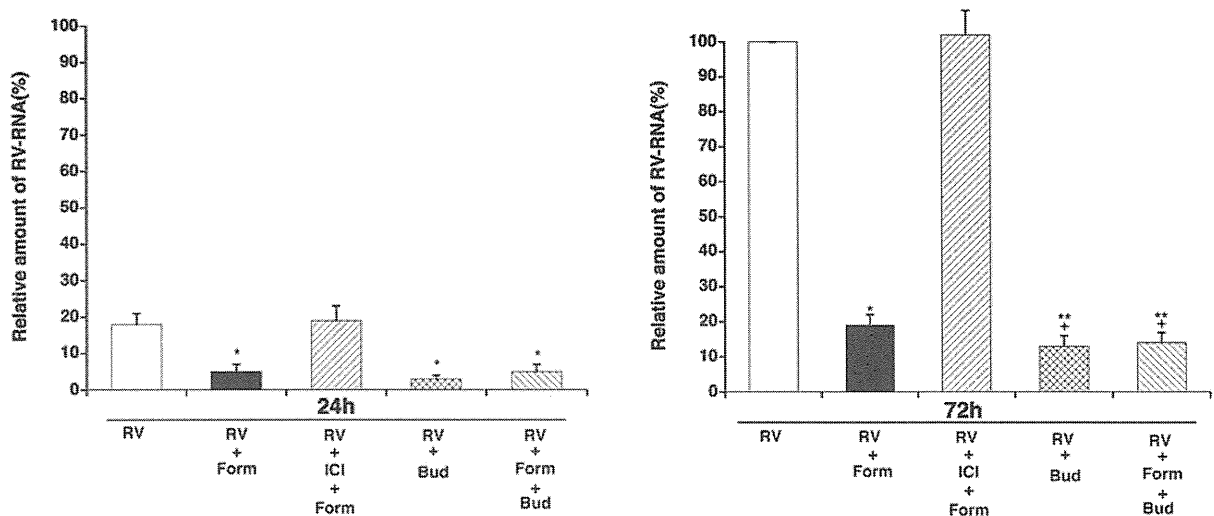


図 5. ライノウイルス RNA 細胞内複製に対するホルモテロールおよびブデソニドの効果

ライノウイルス RNA 細胞内複製は感染 24 時間で認められ、72 時間後に増加した。ホルモテロール (Form) の抑制効果は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 で阻害された。ブデソニド (Bud) はホルモテロールに比較して強いライノウイルス RNA 複製抑制効果が観察された。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; ライノウイルスのみ (RV) と比較した有意差。+ $P < 0.05$; ホルモテロールに対する有意差。

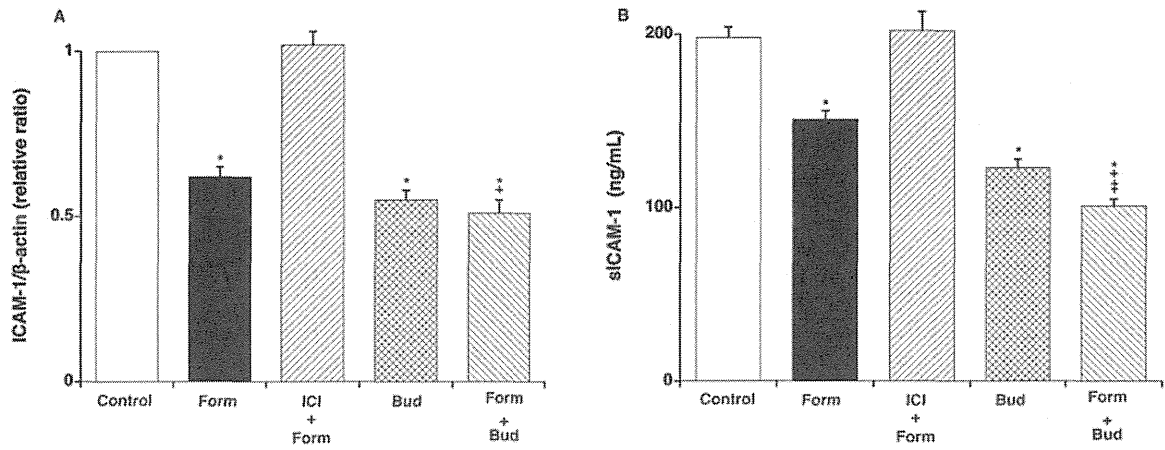


図 6. ヒト気管上皮細胞における細胞接着分子発現に対するホルモテロールおよびブデソニドの抑制作用

ヒト気管上皮細胞における ICAM-1 mRNA 発現 (A) および培養液 sICAM-1 濃度 (B) はホルモテロール (Form) およびブデソニド (Bud) の処理で減少した。ホルモテロールの ICAM-1 の減少作用は ICI 118551 で阻害された。ホルモテロール+ブデソニドは抑制増強効果を認めた。* P<0.05; 培養液のみ (Control) と比較した有意差。+P<0.05 および †P<0.05; ホルモテロールおよびブデソニドと比較した有意差。

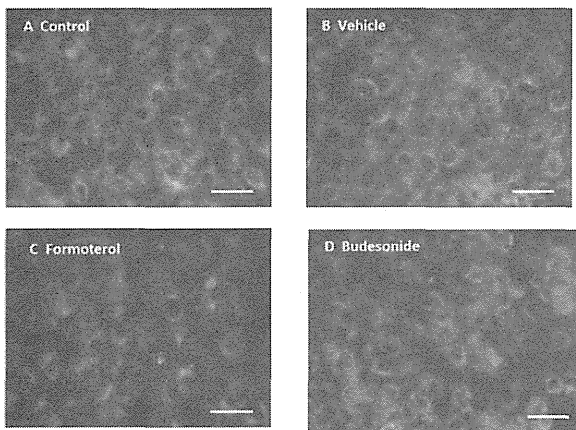


図 7. 酸性エンドゾームに対するホルモテロールの抑制作用

A-C: 薬剤処理前 (A: 左上) および溶媒処理 (B: 右上) に比較して, 酸性エンドゾームはホルモテロール (Formoterol) の処理で減少した (C: 左下)。ブデソニド (Budesonide) は酸性エンドゾーム数を変化させなかった (D: 右下)。

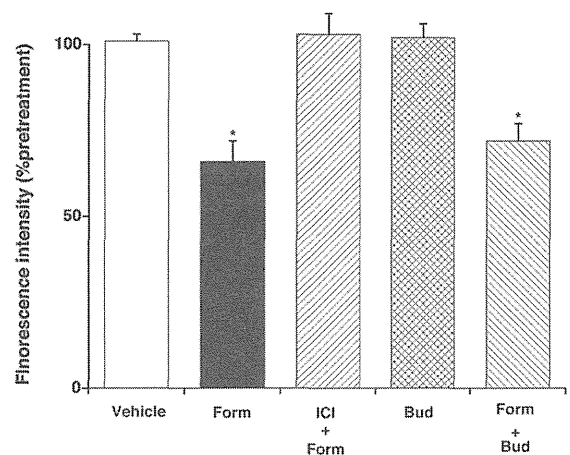


図 8. 酸性エンドゾームから放出される蛍光強度に与えるホルモテロールの抑制作用

酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度はホルモテロール (Form) の処理で減少し, β_2 受容体阻害薬である ICI 118551 で回復した。ブデソニド (Bud) は蛍光強度を変化させなかった。* P<0.05; 培養液のみ (Control) と比較した有意差。

ホルモテロール (10 nM) による蛍光強度の減少作用は β_2 受容体阻害薬である ICI 118551 (1 μ M) で回復した (図 8)。また, ブデソニド (10 nM) は蛍光強度を変化させなかった。

5) ライノウイルス感染により, ヒト気管上皮細胞から放出される IL-1 β , IL-6 および IL-8 の培養液濃度は感染後, 時間を追って増加した (図 9)。

また, ホルモテロール (10 nM) およびブデソニド (10 nM) で処理すると, 感染前の放出量もライノウイルス感染後に増加した放出量も減少した (図 9)。ホルモテロール+ブデソニドで処理した場合, IL-1 β , IL-6 および IL-8 の放出量減少はホルモテロールあるいはブデソニド単独に比べて減少作用は増強した (図 9, 図 10)。

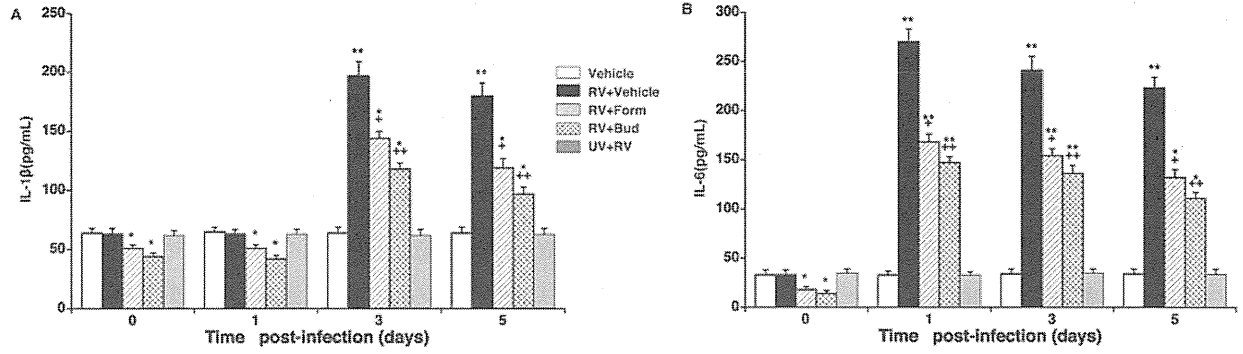


図 9. ライノウイルス感染前後の炎症性物質放出に対するホルモテロールおよびブデソニドの抑制作用

ウイルス感染後、培養液炎症性物質 (IL-1β, IL-6 および IL-8) は増加した。それぞれの物質の放出量は、感染前後において、ホルモテロール (RV + Form) およびブデソニド (RV + Bud) の3日前からの処理で減少した。* P<0.05, ** P<0.01; ウイルス感染前と比較した有意差。+P<0.05, ++P<0.01; ライノウイルス感染のみ (RV + Vehicle) と比較した有意差。

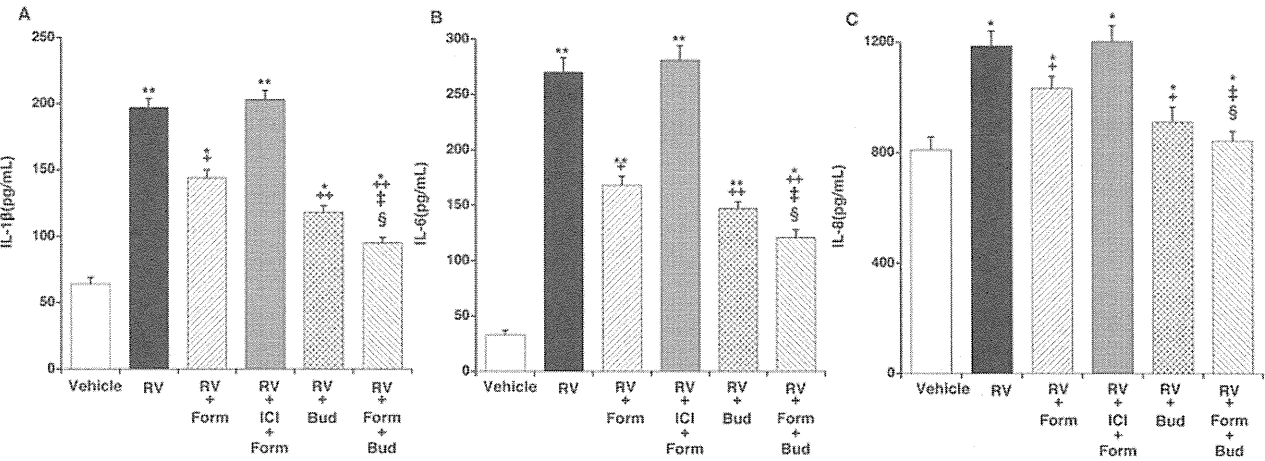
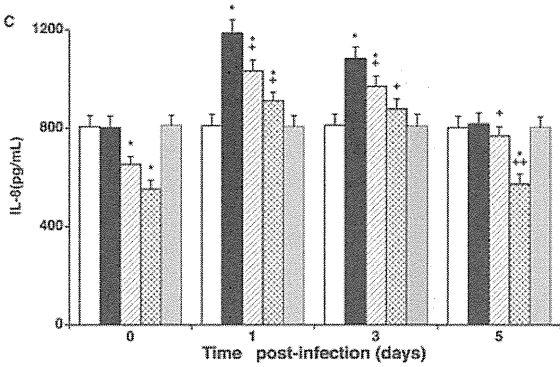


図 10. ライノウイルス感染後の炎症性物質放出に対するホルモテロールおよびブデソニドの抑制作用

ライノウイルス感染後に増加した培養液炎症性物質 (IL-1β, IL-6 および IL-8) はホルモテロール (RV + Form) およびブデソニド (RV + Bud) で減少し、ホルモテロール+ブデソニド (RV + Form + Bud) でさらに減少した。* P<0.05, ** P<0.01; ウイルス感染前 (Vehicle) と比較した有意差。+P<0.05, ++P<0.01; ウイルス感染のみ (RV) と比較した有意差。‡P<0.05 および §P<0.05; ホルモテロールおよびブデソニドと比較した有意差。

6) 炎症性サイトカイン (IL-1β, IL-6) あるいはモノカイン (IL-8), および細胞接着分子の発現は転写因子 NF-κB の活性化で促される^{10,11)}。ウイルス感染前の気管上皮細胞において、転写因子のうち、p65 はホルモテロール (10 nM) および

ブデソニド (10 nM) で活性化抑制が認められた。ホルモテロール+ブデソニドでさらに抑制が増強された。P50 はこれらの薬剤で活性化は変化しなかった。

7) 本年度は、ブデソニド/ホルモテロールに先行

して臨床の場で COPD の管理薬として使用されてきたフルチカゾン/サルメテロールも用いて、ヒト気管上皮細胞におけるライノウイルス感染抑制作用と抗炎症作用を検討した。長時間作用性 β 2 刺激薬サルメテロール (10 nM) および吸入ステロイド薬フルチカゾン (10 nM) は、いずれもライノウイルス放出量を減少させた (図 12 左)。

サルメテロール+フルチカゾンはライノウイルス放出量を減少させたが、単独使用に比較した減少増強効果は認めなかった。

同様に、サルメテロール (10 nM) およびフルチカゾン (10 nM) は、いずれも炎症性サイトカイン IL-6 の培養液放出量を減少させた (図 12 右)。サルメテロール+フルチカゾンもライノウイルス

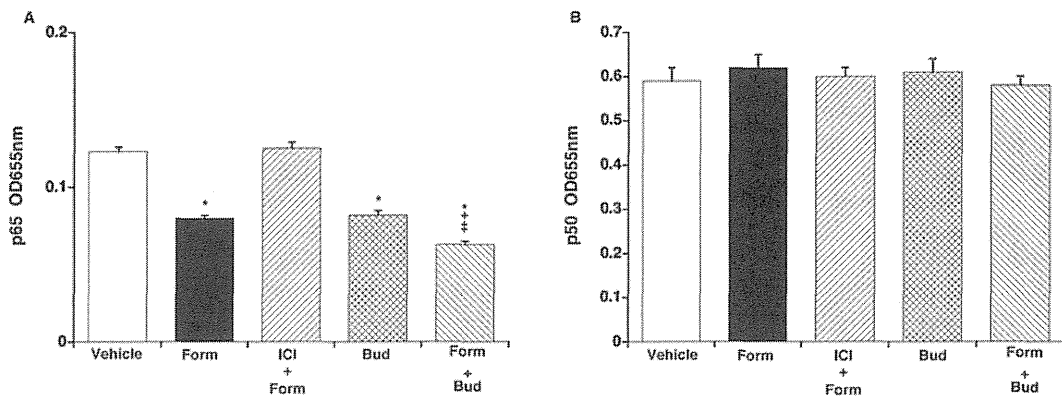


図 11. ライノウイルス感染前の気管上皮細胞における転写因子活性化に対するホルメテロールおよびブデソニドの抑制作用

A: 転写因子のうち、p65 はホルメテロール (Form) およびブデソニド (Bud) で活性化が抑制された。ホルメテロール+ブデソニド (Form + Bud) でさらに抑制が増強された。* P < 0.05; 溶媒を加えた培養液 (vehicle) に対する有意差。† P < 0.05 および ‡ P < 0.05; ホルメテロールおよびブデソニドと比較した有意差。

B: p50 の活性化は変化しなかった。

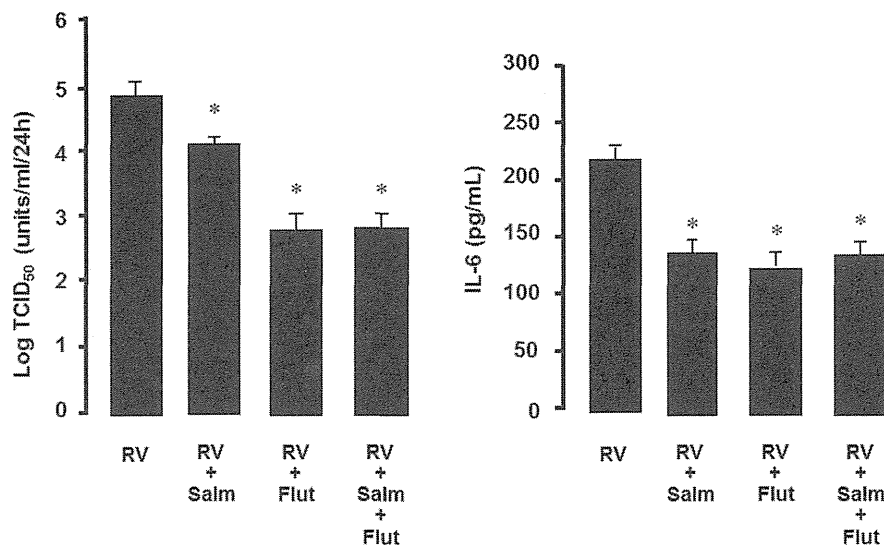


図 12. サルメテロールおよびフルチカゾンのライノウイルスおよび IL-6 に対する効果

サルメテロール (Salm, 10 nM), フルチカゾン (Flut, 10 nM) およびサルメテロール+フルチカゾン (Salm + Flut) はライノウイルス (左図) および IL-6 (右図) の培養液放出量を抑制した。* P < 0.05; ライノウイルスのみ (RV) と比較した有意差。

放出量を減少させた。

8) サルメテロールおよびフルチカゾンのライノウイルス放出抑制の作用機序を検討するため、ウイルス RNA が細胞質に放出される部位である酸性エンドゾームを測定した。サルメテロール (10 nM) は細胞内の酸性エンドゾーム数を減少させた (写真省略)。また、酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度を減少させた (図 13)。これに対して、フルチカゾン (10 nM) は酸性エンドゾーム数および蛍光の強度を変化させなかった (図 13)。

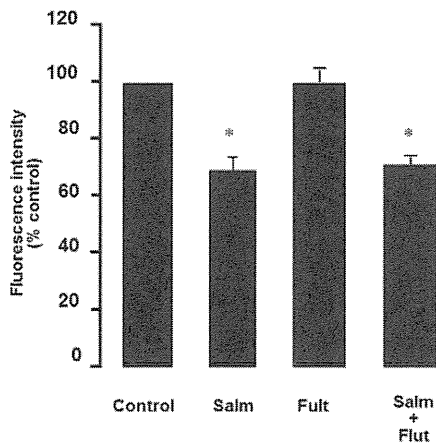


図 13. 酸性エンドゾームから放出される蛍光強度に与えるサルメテロールの抑制作用

酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度はサルメテロール (Salm) およびサルメテロール+フルチカゾン (Salm + Flut) の処理で減少し、フルチカゾン (Flut) は蛍光強度を変化させなかった。* $P < 0.05$; 培養液のみ (Control) と比較した有意差。

考 察

COPD の安定期管理薬として長時間作用性抗コリン薬 (チオトロピウム) に加えて長時間作用性 β 2 刺激薬および吸入ステロイド薬が使用され、さらに β 2 刺激薬/吸入用ステロイド配合薬の COPD 増悪抑制効果が報告されている^{3,4)}。また、吸入ステロイド薬の抗炎症作用が報告されている^{5,12)}。他方で、長時間作用性 β 2 刺激薬のライノウイルス感染に伴う炎症性物質の気道上皮細胞から

の放出に関しては抑制作用がないと報告がなされ^{5,12)}、臨床効果との違いが認められている。私たちはこれまで COPD 急性期の治療に用いられる経口あるいは点滴静注されたステロイドの濃度において、ステロイドがライノウイルス感染を抑制し、炎症性物質の放出を減少させることを報告してきた¹³⁾。また、本邦で β 2 刺激薬として内服や吸入で使用されているプロカテロール、および長時間作用性 β 2 刺激薬の貼付薬として使用されているツロブテロールがライノウイルス感染を抑制し、炎症性物質の放出を減少させることを報告してきた^{9,14)}。

本年度の研究において長時間作用性 β 2 刺激薬であるホルメテロールおよび吸入ステロイド薬であるブデソニドがライノウイルス培養液放出抑制、およびウイルス RNA 複製抑制をもたらすことを明らかにした。また、抑制機序として、ホルメテロールおよびブデソニドは感染受容体の ICAM-1 の発現を抑制し、ホルメテロールはライノウイルス RNA が細胞質に進入する酸性エンドゾームを減少することを報告した。さらに、これらの薬剤は単独で炎症性物質である IL-1 β 、IL-6 および IL-8 の培養液放出を減少させた。また、併用により、炎症性物質の放出減少は増強作用を示した。

他方、臨床で用いられている別の長時間作用性 β 2 刺激薬であるサルメテロールおよび吸入ステロイド薬であるフルチカゾンのライノウイルス培養液放出抑制、および IL-6 放出抑制が明らかとなった。作用機序に関しては今後検討が必要であるが、ウイルス RNA 進入経路である酸性エンドゾームに対するサルメテロールの減少効果を認めている。

これまでの報告では長時間作用性 β 2 刺激薬のライノウイルス感染に伴う炎症性物質の気道上皮細胞からの放出に関しては抑制作用がないと報告がなされていた^{5,12)}。また、ヒト気道上皮細胞を用いた研究において、ライノウイルスの放出に変化がないとの報告も最近なされている¹⁵⁾。細

胞実験の結果の違いの原因は不明であるが、研究に使用した細胞が継代細胞でなく、初代培養細胞であったこと、および培養液の組成の違いが考えられる。本研究により、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合薬のCOPD増悪抑制機序として、ライノウイルス感染抑制と気道炎症抑制が関与していることが明らかとなった。

結 論

長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合薬は感染受容体発現抑制あるいはウイルスRNA進入抑制を介して、ライノウイルス感染抑制効果を有すると示唆された。また、炎症性サイトカインの減少作用も示唆された。これらの結果はCOPD増悪抑制効果などの臨床成績を裏付けるものである。

参考文献

1. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A, et al : Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 164 : 1618 - 1623, 2001
2. Sethi S : New developments in the pathogenesis of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Infect Dis* 17 : 113 - 119, 2004
3. Calvey PM, Boonsawat W, Cseke Z, et al : Maintenance therapy with budesonide and formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 22 : 912 - 919, 2003
4. Calverley PM, Anderson JA, Celli B, Ferguson GT, Jenkins C, Jones PW, Yates JC, Vestbo J, TORCH investigators : Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 356 : 775 - 789, 2007
5. Edwards MR, Haas J, Panettieri RA Jr, et al : Corticosteroids and $\beta 2$ agonists differentially regulate

- rhinovirus-induced interleukin-6 via distinct Cis-acting elements. *J Biol Chem* 282 : 15366 - 15375, 2007
6. Fukuchi Y, Nagai A, Seyama K et al : Clinical efficacy and safety of transdermal tulobuterol in the treatment of stable COPD. An open-label comparison with inhaled salmeterol. *Treat Respir Med* 4 : 447 - 455, 2005
7. Greve JM, Davis G, Meyer AM, et al : The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. *Cell* 56 : 839 - 847, 1989
8. Casasnovas JM, Springer TA : Pathway of rhinovirus disruption by soluble intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) : an intermediate in which ICAM-1 is bound and RNA is released. *J Virol* 68 : 5882 - 5889, 1994
9. Yamaya M, Nishimura H, Hatachi Y, et al : Procaterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Eur J Pharmacol* 650 : 431 - 444, 2011
10. Zhu Z, Tang W, Ray A, et al : Rhinovirus stimulation of interleukin-6 in vivo and in vitro. Evidence for nuclear factor κB -dependent transcriptional activation. *J Clin Invest* 97 : 421 - 430, 1996
11. Silvestri M, Fregonese L, Sabatini F, et al : Fluticasone and salmeterol downregulate in vitro, fibroblast proliferation and ICAM-1 or H-CAM expression. *Eur Respir J* 18 : 139 - 145, 2001
12. Skevaki CL, Christodoulou I, Spyridaki IS, et al : Budesonide and formoterol inhibit inflammatory mediator production by bronchial epithelial cells infected with rhinovirus. *Clin Exp Allergy* 39 : 1700 - 1710, 2009
13. Suzuki T, Yamaya M, Sekizawa K, et al : Effects of dexamethasone on rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Am J Physiol*. 278 : L560 - L571, 2000
14. Yamaya M, Nishimura H, Nadine L, Kubo H, Nagatomi R : Tulobuterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Physiol Reports* 1 : e00041, 2013
15. Bochkov Y, Busse WW, Brockman-Schneider RA, et al : Budesonide and formoterol effects on rhinovirus replication and epithelial cell cytokine responses. *Respir Res* 14 : 98, 2013

肺癌合併 COPD の病態・臨床的特徴に関する研究

田中希宇人, 別役 智子

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

はじめに

COPD の悪性腫瘍の合併率は過去の報告では約 6-18% と推定されている¹⁾ が, COPD の死因としては 5-38% が肺癌とされており²⁾, 重要な合併症であると考えられる。また 1 秒量の減少が大きいほど肺癌のリスクが高いこと³⁾, 喫煙量や喫煙期間が長いほど肺癌のリスクが高いこと⁴⁾ が分かっており, COPD と肺癌の関連性が数多く報告されている。いくつかの研究で肺気腫が喫煙歴や閉塞性換気障害とは独立した肺癌のリスクと報告されている⁵⁻⁷⁾ が, 肺気腫と特定の肺癌の組織型の関係は明らかにされていない。また, 閉塞性換気障害の進行とともに肺癌のリスクが上がるという報告がある³⁾ かたわら, 閉塞性換気障害の軽度な患者群の方が肺癌のリスクが高かったとの報告⁷⁾ もあり, COPD に合併する肺癌の特徴は明確でない部分が存在する。COPD 患者の CT による肺癌のスクリーニングの有用性は言われている⁸⁾ が, 発見契機の違いによる COPD 合併肺癌の特徴の違いを指摘している報告はない。

COPD 合併肺癌の発見契機として, 肺癌を診断されてから肺機能検査で COPD を指摘される症例と, COPD として経過観察中に肺癌を診断される症例が考えられる。この 2 通りの経過に注目し, 発見契機の違いによる関連を患者背景, 臨床症状, 肺機能, 気腫化の面からレトロスペクティブに評価した。

対象と方法

「COPD 合併肺癌症例」として, 2006 年から 2011 年に当院呼吸器内科で肺癌と診断された症例の中から,

① 40 歳以上

② 1 秒率 70% 未満

③ 20pack-year 以上の喫煙歴

の①から③の基準を満たす 104 症例を抽出した。COPD 合併肺癌症例中,

A) 肺癌が発見され, その経過で COPD を指摘された症例 (肺癌→COPD 発見群)

B) COPD の経過中に肺癌が発見された症例 (COPD→肺癌発見群)

の 2 群に分け, 年齢, 性別, BMI, 喫煙歴, 基礎肺機能, CT 画像での気腫化の程度, 肺癌組織型, 肺癌病期など比較検討した。気腫化については Goddard 分類に基づいて各肺野についてスコアリングを行った。

結果

COPD 合併肺癌 104 例のうち男性が 93%, 平均年齢は 71.3 ± 9.3 歳, 喫煙歴は 56.6 ± 28.1 pack-year であった。肺機能では閉塞性換気障害の程度が高度 (%1 秒量が 50% 未満) の症例が 15 例 (14.4%) と比較的少数であった。組織型の内訳は非小細胞癌が 89 例 (腺癌 51 例, 扁平上皮癌 28 例, 大細胞癌 2 例, NSCLC-NOS 8 例), 小細胞癌が 14 例, 診断時の肺癌病期は I/II 期が 37 例, III/IV 期が 67 例であった。外科的治療が行えた症例は 30 例 (28.8%) であった。COPD 合併肺癌症例での組織型と肺癌病期の内訳は当院呼吸器内科で診断された全肺癌患者の割合とほぼ同等であることが分かった。

104 症例のうち COPD 合併肺癌の発見契機として, 肺癌が見つかった後に肺機能から COPD と診断された症例 (肺癌→COPD 発見群) と COPD の経過観察中に肺癌を診断された症例 (COPD→

肺癌発見群)の2群に分類した。発見契機では肺癌→COPD発見群は69例、COPD→肺癌発見群は35例であり、肺癌からCOPDを指摘された症例が約2倍の症例数であった。両群間で年齢、BMI、喫煙歴、CTでの肺気腫スコアで差は認めなかったが、肺癌→COPD発見群で閉塞性換気障害の程度(%1秒量)が有意に低かった(73.1% vs 88.4%, t-test, $p < 0.01$)。肺癌組織型では肺癌→COPD発見群では非小細胞癌が90%以上を占めていたが、COPD→肺癌発見群は74%に留まり、小細胞癌が20%以上と高率であった。肺癌病期ではCOPD→肺癌発見群において進行肺癌(III/IV期)が有意に多く認められた(chi-square test, $p = 0.05$)。さらに、有意差は認められなかったが肺癌→COPD発見群で外科的治療を行えた症例が33%いるのに対し、COPD→肺癌発見群では20%にとどまった。

考 察

過去の報告でもCTによる肺癌スクリーニングの有用性は示唆されており、早期からのCOPD診断にCTを用いることや喫煙者のCT検診の実施を勧める研究者もいる⁹⁾。特にCTでの気腫化の程度はCOPDや肺癌の予後予測因子⁷⁾であり、肺癌を発見する以外の目的としても気腫化の画面的評価を行う上でもCTは有用と考えられる。

発見契機の違いでは、年齢、BMI、喫煙歴、気腫化の程度に差は認められなかった。肺癌からCOPDを診断される症例では、有意に閉塞性換気障害の程度が重度であり、肺癌が発見された時にはCOPDが進行していることが考えられた。逆に、COPDとして経過観察中に肺癌が指摘された症例においては、閉塞性換気障害の程度が軽度であるにも関わらず、肺癌病期の進行期で発見される症例が多く存在した。その理由として、COPDとして経過を見ている患者に小細胞癌の発生が多く、肺癌が発見される際にすでに進行している症例が多く存在することが考えられた。その他にも、肺気腫の程度では差は認めなかったが、COPDとし

て経過観察されている症例は比較的気腫化の程度が強く、CT上での気腫化の存在は肺癌の診断を遅らせることや肺癌の進行が速いことなどが考えられた。

結 論

肺癌の診断後にCOPDを指摘される症例は、閉塞性換気障害の程度が重く、肺癌が診断された時にはCOPDも進行していることが考えられた。逆にCOPDの経過観察中に発生する肺癌は閉塞性換気障害の程度が軽度であるにも関わらず、進行期で発見されることが多く、組織型では小細胞癌がより多く認められた。

参考文献

1. Chatila WM, Thomashow BM, Minai OA, Criner GJ, Make BJ: Comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2008 ; 5 : 549 - 555
2. Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB, Agusti AG: Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur Respir J.* 2006 ; 28 : 1245 - 1257
3. Wasswa-Kintu S, Gan WQ, Man SF, Pare PD, Sin DD: Relationship between reduced forced expiratory volume in one second and the risk of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Thorax.* 2005 ; 60 : 570 - 575
4. Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ: The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ.* 1997 ; 315 : 980 - 988
5. de Torres JP, Bastarrika G, Wisnivesky JP, Alcaide AB, Campo A, Seijo LM, Pueyo JC, Villanueva A, Lozano MD, Montes U, Montuenga L, Zulueta JJ: Assessing the relationship between lung cancer risk and emphysema detected on low-dose CT of the chest. *Chest.* 2007 ; 32 : 1932 - 1938
6. Wilson DO, Weissfeld JL, Balkan A, Schragin JG, Fuhrman CR, Fisher SN, Wilson J, Leader JK, Siegfried JM, Shapiro SD, Scirba FC: Association of radiographic emphysema and airflow obstruction with lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 ; 178 : 738 - 744
7. Zulueta JJ, Wisnivesky JP, Henschke CI, Yip R, Farooqi AO, McCauley DI, Chen M, Libby DM, Smith JP,

- Pasmantier MW, Yankelevitz DF : Emphysema scores predict death from COPD and lung cancer. *Chest*. 2012 ; 141 : 1216– 1223
8. de Torres JP, Marín JM, Casanova C, Cote C, Carrizo S, Cordoba-Lanus E, Baz-Dávila R, Zulueta JJ, Aguirre-Jaime A, Saetta M, Cosio MG, Celli BR : Lung Cancer in patients with COPD: Incidence and predicting factors. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 ; 184 : 913– 919
9. Sekine Y, Katsura H, Koh E, Hiroshima K, Fujisawa T : Early detection of COPD is important for lung cancer surveillance. *Eur Respir J*. 2012 ; 39 : 1230– 1240

50歳以上のリンパ脈管筋腫症患者における臨床的特徴

安藤 克利¹, 栗原 正利², 片岡 秀行², 星加 義人¹, 飛野 和則³

郡司 陽子¹, 久能木真喜子¹, 高橋 和久¹, 瀬山 邦明¹

順天堂大学大学院医学研究科呼吸器内科学¹, 日産玉川病院気胸センター², 飯塚病院呼吸器内科³

はじめに

リンパ脈管筋腫症 (LAM) は, 異常な平滑筋様細胞 (LAM 細胞) が, 肺や体軸中心のリンパ流路で増殖して病変を形成し, 病変内にリンパ管新生を伴う腫瘍性疾患である¹⁾。肺には多発性の嚢胞が生じ, 労作時の息切れ, 気胸, 血痰, などの胸郭内病変による症状を契機に発症することが多いが, 全体の 15% 程度は, 乳び腹水, 腎血管筋脂肪腫 (angiomyolipoma : AML) や腹部リンパ節腫大に伴う腹部膨満感などの胸郭外病変を契機に発症する¹⁾。

通常 LAM は, 生殖可能年齢の女性に発症し, 本邦における疫学調査では, 発症年齢, 診断年齢 (平均 ± 標準偏差) がそれぞれ 31.6 ± 8.7 歳, 34.0 ± 8.8 歳で, 発症から診断までの平均期間は約 2.4 年と報告された²⁾。一方, 診断技術の向上や LAM の認知度の上昇により³⁾, 閉経後に健康診断や他疾患の精査中に偶発に診断される症例が報告されてきている⁴⁻⁶⁾。予後については, 気胸で発症した症例の 5, 10, 15 年後生存率は労作性呼吸困難を契機に発症した症例と比較して良好であることが報告された (95% vs. 85%, 89% vs. 60%, 89% vs. 47%)。すなわち, LAM は発症様式や病態の進行の早さが多様であり, その自然史は軽症例から重症例に至るまで複数のパターンが存在することが推測される^{7,8)}。

今回我々は LAM の多彩な臨床像を明らかにするため, 従来の LAM の疾患概念からは, “LAM としては高齢”, と認識される 50 歳以上の LAM 患者に注目し, その臨床像を検討した。

対象と方法

順天堂大学医学部付属順天堂医院呼吸器内科に通院歴を有し, 2013 年 10 月の時点で 50 歳を超えている 44 症例を対象に, 診断時の年齢に応じて Group A (診断時年齢が 50 歳以上, 22 例) と Group B (50 歳未満, 22 例) の 2 群に分け, 臨床像を比較検討した。

FEV₁ の経年的変化率が算出可能な症例については, その値を Group 毎, 及び 50 歳前後で比較検討した。

結果

1. 対象

対象 44 症例 (sporadic LAM 40 例, TSC-LAM 4 例) は全例が女性で, 症状出現時, 診断時, 解析時の年齢 (平均 ± 標準偏差) は, それぞれ 45.0 ± 8.3 歳, 48.7 ± 7.9 歳, 57.4 ± 5.3 歳であった。診断は, 組織診断により LAM と確定診断された症例が 30 例 (68.2%), 臨床診断例が 14 例 (31.8%) であった。組織診断法は, TBLB 8 例, VATS 19 例, 腹腔内リンパ節生検 3 例であった。臨床診断にあたっては, 胸部 HRCT で LAM に典型的な嚢胞性病変を有し, TSC や AML などの臨床所見を有する⁹⁾, もしくは, 血清 VEGF-D 値が 800 pg/ml 以上の症例とした¹⁰⁾。

2. Group A と Group B の臨床像の比較 (表 1)

Group A および Group B の症状出現時, 診断時, 解析時の年齢はそれぞれ, 48.6 歳 (Group A) vs. 41.3 歳 (Group B), 54.7 歳 (A) vs. 42.3 歳 (B), 59.1 歳 (A) vs. 55.2 歳 (B), であった。TSC-LAM の割合, 喫煙歴や妊娠・出産歴は両群で差を認めなかった。初発症状として胸郭内病変を契機に発症し

表 1. Group A と Group B の患者背景

	Group A 診断時年齢 ≥ 50 歳 (n = 22)	Group B 診断時年齢 < 50 歳 (n = 22)	p-value
発症年齢 (歳)	48.6 ± 8.3	41.3 ± 6.4	
診断時の年齢 (歳)	54.7 ± 4.9	42.3 ± 5.3	
Sporadic/TSC-associated LAM	20/2	20/2	1.0
喫煙歴 - n (%)			
現喫煙者	1 (5)	3 (14)	0.607
過去に喫煙歴を有する症例	6 (27)	5 (23)	1.0
Smoking index (pack-years)	2.6 ± 7.2	5.7 ± 9.7	0.578
妊娠・出産歴			
経験症例数 - n (%)	16 (73)	13 (59)	0.526
平均出産回数 (2 回以上有する例)	1.24 (7)	1.05 (7)	0.491 (1.0)
平均年齢	29.2 ± 5.8	30.1 ± 5.2	0.433
婦人科併存症			
子宮内膜症/子宮筋腫	0/8 (36)	3 (14)/11 (50)	0.277
卵巣嚢腫	0	1 (5)	1.0
肺機能			
評価時の年齢	54.8 ± 4.6	47.3 ± 4.4	< 0.001
VC (L)	2.84 ± 0.50	2.97 ± 0.75	0.521
VC (% predicted)	101.74 ± 16.61	100.26 ± 25.98	0.705
FVC (L)	2.73 ± 0.50	2.86 ± 0.79	0.421
FVC (% predicted)	97.07 ± 18.25	91.95 ± 24.07	0.500
FEV ₁ (L)	1.96 ± 0.49	1.86 ± 0.77	0.960
FEV ₁ /FVC (%)	72.04 ± 14.58	63.55 ± 17.69	0.113
FEV ₁ (% predicted)	89.20 ± 20.27	76.83 ± 29.91	0.195
DL _{CO} (mmol/min/mmHg)	10.49 ± 2.57	10.64 ± 3.51	0.962
DL _{CO} (% predicted)	55.65 ± 15.76	48.10 ± 15.65	0.215
初発症状 - n (%)			
胸郭内症状	17 (77)	22 (100)	< 0.05
気胸	5 (23)	14 (64)	< 0.05
呼吸困難	2 (9)	3 (14)	1.0
咳嗽	2 (9)	0	0.489
血痰	1 (5)	1 (5)	1.0
健診のレントゲンで異常を指摘	7 (32)	4 (18)	0.488
胸郭外症状	5 (23)	0	< 0.05
臨床所見 - No. (%)			
肺病変以外の所見	14 (64)	11 (50)	0.543
乳糜胸水	0	1 (5)	1.0
乳糜腹水	0	1 (5)	1.0
縦隔リンパ節腫大	2 (9)	0	0.489
腎血管筋脂肪腫	9 (41)	8 (36)	1.0
後腹膜リンパ節腫大	5 (23)	4 (18)	1.0
骨盤内リンパ節腫大	3 (14)	3 (14)	1.0
リンパ浮腫	1 (5)	1 (5)	1.0

た症例は Group B に多く (77.3% vs. 100%, p<0.05), 中でも気胸を契機に発症した症例の割合は Group B で有意に多かった (22.7% vs. 63.6%, p<0.05)。最も頻度の多い診断契機は, Group A が健診発見

(無症状, 31.8%) であるのに対し, Group B は気胸 (63.6%) であった。呼吸困難で発症した例は両群共に少数であった (9.1% vs. 13.6%)。乳糜漏, AML やリンパ節腫大の合併は, 両群で差を認め

なかった。

肺機能の初回評価時の平均年齢は Group A が 54.8 歳で、Group B の 47.3 歳と比較して有意に高かったが、FEV₁ %pred は 89.2% vs. 76.8% (p=0.195), DLCO %pred は 55.7% vs. 48.1% (p=0.2115) であり、ともに両群間に差を認めなかった。

3. 50 歳代で施行した肺機能の比較

Group A および Group B のうち、それぞれ 19 例、14 例では 50 歳代で肺機能検査が施行されていたので、50 歳代で行われた初回肺機能について両群で比較検討を行った (表 2)。評価時の年齢は Group A, Group B でそれぞれ、53.8 歳、53.0 歳と差を認めなかったが、DLCO %pred は Group B で有意に低かった (56.4% vs. 43.3%, p<0.05)。FEV₁ は Group B で低い傾向にあったが、統計学的有意差は認めなかった。

4. 全対象例での 50 歳前後での FEV₁ の変化量

対象 44 例のうち、診断後の経年的変化が算出可能な症例は 27 例であった。50 歳以前および 50 歳以降での経年変化が解析可能な症例は、それぞれ 16 例 (Group B のみで 16 例)、24 例 (Group A が 11 例、Group B が 13 例) であった (表 3)。FEV₁ の経年的変化率は 50 歳以前では -84.5 ml/年、50 歳以降は -11.9 ml/年であり、50 歳以降では有意に低下していた (p=0.017)。

5. Group 別に解析した 50 歳前後での FEV₁ の変化量

Group B のうち、50 歳以前と 50 歳以降のいずれの経年的変化も算出可能な症例は 9 例認められた。これらの Group B の 9 例と 50 歳以降の経年的変化が算出可能な Group A の 11 例について、それぞれの変化率を比較検討した (表 4)。

その結果、Group B の 9 例では、50 歳以前に比べて 50 歳以降では肺機能の低下率が緩徐で

表 2. 50 歳以降で施行した肺機能の比較

	Group A (n = 19)	Group B (n = 14)	p-value
50 歳以降で施行した初回の肺機能			
評価時の年齢	53.8 ± 3.1	53.0 ± 2.8	0.560
FVC (L)	2.69 ± 0.51	2.71 ± 0.61	0.681
FEV ₁	1.92 ± 0.50	1.66 ± 0.76	0.372
FEV ₁ (% predicted)	86.56 ± 19.43	72.84 ± 32.90	0.302
DLCO (% predicted)	56.41 ± 15.76	43.25 ± 15.85	< 0.05

表 3. 全対象症例の呼吸機能指標の経年的変化率 : 50 歳前後での比較

	診断後の平均期間 (n = 27)	年齢 ≥ 50 歳 (n = 24)	年齢 < 50 歳 (n = 16)	p-value
平均観察期間 (日)	1210.0 ± 801.7	864.0 ± 770.3	1244.5 ± 844.2	
FEV ₁ (L)	-59.32 ± 102.29	-11.94 ± 76.09	-84.45 ± 107.81	< 0.05
DLCO (mmol/min/mmHg)	-0.49 ± 0.66	-0.38 ± 0.60	-0.51 ± 0.68	0.534
DLCO (% predicted)	-3.14 ± 4.47	-2.18 ± 4.25	-2.67 ± 3.48	0.466

表 4. Group 毎の呼吸機能指標の経年的変化率 (50 歳前後での比較)

	Group A	Group B	
	年齢 ≥ 50y (n = 11)	年齢 ≥ 50 歳 (n = 9)	年齢 < 50 歳 (n = 9)
FEV ₁ (L)	-19.11 ± 78.07	-65.56 ± 55.70	3.89 ± 74.30
DLCO (mmol/min/mmHg)	-0.48 ± 0.64	-0.52 ± 0.67	-0.43 ± 0.57
DLCO (% predicted)	-3.77 ± 5.38	-2.63 ± 3.47	-1.52 ± 2.69

あった (3.9ml vs. -65.6ml/yr, $p=0.063$)。一方、50歳以降の変化率は Group A, B の両群で差を認めなかった。

考 察

今回、我々は当院に受診歴を有する LAM 患者のうち、50歳以上で生存が確認されている症例に注目して検討した。日本での疫学調査では、呼吸困難を契機に発症した症例は予後が不良であるとされるが、本研究の対象 44 例のうち呼吸困難で発症した例は 4 例 (11.4%) のみであった。すなわち、50歳以上の生存が確認されている本研究の対象例は LAM の中でも予後良好群であると考えられる。

一方、診断年齢による Group 別に検討すると、Group B では気胸で発症する例の割合が高かったのに対し、Group A は無症状で健診を契機に診断される例が多かった。また、診断時の肺機能は両群で差を認めないものの、50歳代における拡散障害や気流制限の程度は Group B でより強い傾向にあった。従って、50歳を越えて生存する LAM 症例においても、50歳以前に LAM と診断される症例の方が 50歳以降に診断される症例よりも、病態が進行した症例と推測される。

LAM 細胞はエストロゲンやプロゲステロンなど女性ホルモンに対するレセプターを発現する⁷⁾。さらにエストロゲン濃度が高値で推移する妊娠中に症状の増悪や進行、気胸や乳び胸水の合併がみられる症例が複数報告され¹¹⁾、エストロゲンが発症・進展に関与していると考えられてきた。このため、経験的に偽閉経療法が行われ、また、その有効性を示唆する報告も複数なされている^{12,13)}。また、シロリムスの LAM に対する有効性を証明した MILES 試験においても月経の有無による subgroup 解析がなされ、プラセボ群のなかで閉経後の症例は FEV₁ の経年的変化率が閉経前の症例と比較して有意に軽度であり (-37ml/yr vs. -195ml/yr, $p<0.01$)、月経の有無が肺機能の経時的変化に関連していることが報告された¹⁴⁾。本研究

でも 50歳以降の FEV₁ の変化量は 50歳以前と比較して有意に小さく、これには閉経が関与していると推測される。

結 論

- 1) 50歳以上の LAM 症例は自覚症状が軽度で、肺機能の低下率も緩徐な予後良好群であると考えられる。さらに、この群の症例内でも発症年齢が 50歳以降の症例でより病態の進行は遅いことが示唆された。
- 2) 50歳以前に LAM と診断された症例でも、LAM の病勢は 50歳以降に緩徐になり、閉経が影響すると考えられた。

参考文献

1. 林田美江, 藤本圭作, 久保恵嗣, 他: 肺リンパ管筋腫症に関する全国疫学調査, 追跡調査および第 2 回目全国横断調査, 厚生労働省難治性疾患呼吸不全に関する調査研究, 平成 19 年度総括・分担研究報告書, 2008; 37-41
2. Hayashida M, Seyama K, Inoue Y, et al: The epidemiology of lymphangioliomyomatosis in Japan: a nationwide cross-sectional study of presenting features and prognostic factors. *Respirology*. 2007; 12: 523-30
3. Cohen MM, Pollock-BarZiv S, Johnson SR: Emerging clinical picture of lymphangioliomyomatosis. *Thorax* 2005; 60: 875-9
4. Kaira K, Iwasaki Y, Tsuchiya S, et al: A case of postmenopausal lymphangioliomyomatosis without signs of aggravation in the follow-up period. *Kitakanto Med J* 2005; 55: 161-3
5. 松島秀和, 高柳 昇, 川田一郎, 他: 高齢者びまん性過誤腫性肺脈管筋腫症の 1 例. *日呼吸会誌* 2001; 39: 519-23
6. 大村春孝, 川平雄之, 若松謙太郎, 他: 胸腔鏡下肺生検で診断しえた 61 歳無症状リンパ脈管筋腫症の 1 例. *気管支学* 2012; 34: 11-6
7. 安藤克利, 瀬山邦明: リンパ脈管筋腫症 (LAM). 希少疾患/難病の診断・治療と製品開発 (株) 技術情報協会 2012; 1082-97
8. 安藤克利, 瀬山邦明: リンパ脈管筋腫症 (LAM) 治療の最前線. *呼吸* 2012; 31: 612-9

9. 林田美江, 瀬山邦明, 井上義一, 他: 特定疾患治療研究事業対象疾患 リンパ脈管筋腫症 (LAM) 認定基準の解説. 日呼吸会誌 2011; 49 (2): 67-74
10. Young LR, Inoue Y, McCormack FX: Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangiomyomatosis. N Engl J Med. 2008; 358 (2): 199-200
11. Yockey CC, Riepe RE, Ryan K: Pulmonary lymphangiomyomatosis complicated by pregnancy. Kans Med 1986; 293: 277-8
12. 瀬山邦明, 佐藤輝彦, 郡司陽子, 他: 乳び胸腹水合併 LAM 症例における低用量 GnRH 療法の効果. 厚生労働省特定疾患呼吸不全に関する調査研究, 平成 18 年度研究報告書 2007; 116-20
13. 瀬山邦明, 飛野和則, 郡司陽子, 他: GnRH 療法の呼吸機能および血清 VEGF-D 値に対する影響. 厚生労働省特定疾患呼吸不全に関する調査研究, 平成 19 年度研究報告書 2008; 94-6
14. McCormack FX, Inoue Y, Moss J, et al: The Miles Trial: Effect of menopausal status on disease progression and treatment response in lymphangiomyomatosis. 2012; 185; A4442

リンパ脈管筋腫症 (LAM) に関する研究

井上 義一, 広瀬 雅樹, 新井 徹, 杉本 親寿
佐々木由美子, 小橋 保夫, 岡田 全司, 林 清二

国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター

はじめに

リンパ脈管筋腫症 (LAM) は肺に多発嚢胞形成を伴う稀少疾患であり, 2009年10月に厚生労働省特定疾患治療研究事業に認定され医療費助成の対象となった。2011年3月にはMILES (Multicenter International LAM Efficacy of Sirolimus) 試験の結果が The New England Journal of Medicine に報告されシロリムスのLAMに対する治療の有用性が示され, 現在MLSTS試験により主要評価項目としてシロリムスの安全性, 副次項目としてシロリムス投与による血清vascular endothelial growth factor (VEGF)-D値の変動が評価されている。我々の施設では定期的にLAM患者および他の嚢胞性肺疾患患者の血清VEGF-D値の測定を行っている。

今回我々は, ①これまでの血清VEGF-D値を後ろ向きに検討し, LAM患者に対する血清VEGF-D値測定の意義を評価する。

また, ②LAM患者とその家族支援のため, 第12回LAM勉強会に関して報告する。

対象と方法

対象は全て女性のLAM患者109例。弧発性LAM患者93例 (年齢: 41 ± 9 歳), 結節性化症合LAM:16名 (年齢: 41 ± 14 歳), 健常コントロール76例 (男性: 25例 (年齢: 45 ± 10 歳), 女性51例 (年齢: 40 ± 12)), 対照肺疾患患者35名 (慢性閉塞性肺疾患, ランゲルハンス細胞組織球症, 特発性肺線維症 等, 男性: 21名, 女性: 14名, 年齢: 45 ± 15 歳)。血清液中のVEGF-D値はR & D社製Quantikine ELISA (Human VEGF-D) を用いて測定, 検討を行った。

結果

①診断:LAM患者血清VEGF-D値は, $1789.7(293.7 - 10535.6)$ pg/mlで, 健常コントロール, $382.6(225.0 - 759.5)$ pg/ml, 対象肺疾患患者, $390.7(196.7 - 631.7)$ pg/ml と比べ有意に高値であることが認められた (p値は, それぞれ $p < 0.0001$)。また, 女性患者において800pg/ml以上は全てLAM患者であった (図1)。

Characteristics	Sporadic-LAM	TSC-LAM	Other Lung Diseases	Healthy control
Gender-F/M	93 (93/0)	16 (16/0)	35 (14/21)	76 (51/25)
Age-yr (mean \pm SD)	41 ± 9	41 ± 14	45 ± 15	41 ± 12
Smoking				
Current	3	1	8	8
Ex	21	1	14	13
Never	69	14	3	31
Unknown	0	0	10	24
Way of diagnosis				
SLB	54	2	-	-
TBLB	26	1	-	-
Not pathology	13	13	-	-

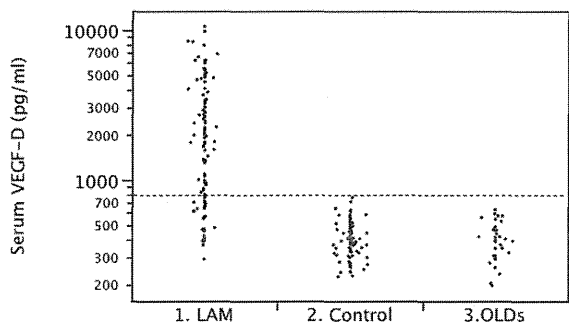


図1. LAM患者, 健常コントロール, 他肺疾患における血清 VEGF-D 値。点線は 800pg/ml を示す。

経過: 血清 VEGF-D 値は経過と共に常に上昇していないことが認められた (図2)。

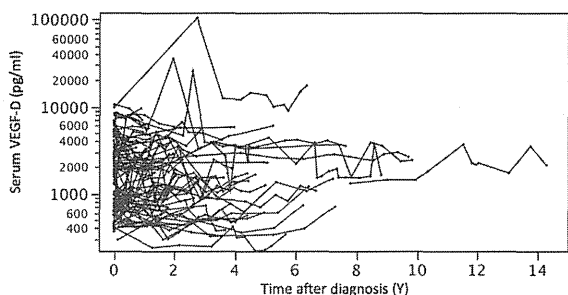


図2. 診断後の血清 VEGF-D 値の変動

治療反応性: シロリムスの治療前, 治療 6, 12 ヶ月後の血清 VEGF-D 値を評価した結果, 投薬により有意な減少 ($p < 0.05$) が認められた (図 3a)。また, ホルモン療法 (GnRH) の治療前後における血清 VEGF-D 値の顕著な変動は今回の評価において認めなかった (図 3b)。

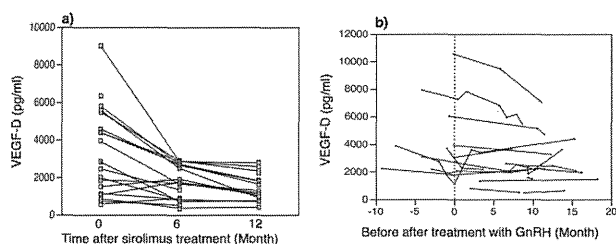


図3. 血清 VEGF-D 値の変動。(a) シロリムス治療 (n = 19), (b) ホルモン療法 (GnRH) (n = 15)

転帰: 本年までに, 近畿中央胸部疾患センターに 109 名の LAM 患者が登録された。109 例のうち, 死亡症例 9 例, および肺移植例 7 例を経験した。また, シロリムスによる治療例を 39 例経験した。②第 12 回 LAM 勉強会を平成 25 年 10 月 13 日 (日曜) 13:00-17:00, 第二吉本ビルディング (大阪市) で行った。当日は, LAM 患者 47 名, 患者家族 45 名, および医療関係者 27 名, 計 129 名が参加した。勉強会では, 「LAM 研究のこれまでの取り組み」, 「J-LAM の会活動報告」 「LAM 病態の基礎知識」, 「疫学調査」, 「呼吸リハビリテーション」, 「シロリムス治療」, 「肺移植」 「緩和療法 (心のケア)」 等に関する, LAM 患者にとって有益な情報の解説が担当講師によって行われた。また, 会の最後には, 質問コーナーを設け, 患者および患者家族が実際に知りたい事項を, それぞれ専門の先生が回答した。



第 12 回 LAM 勉強会風景
(平成 25 年 10 月 13 日, 大阪)

考 察

① LAM 患者において VEGF-D 値測定の意義は, 初診時には臨床診断, シロリムス服薬中は治療の指標として有用であると考えられる。

VEGF ファミリーとして VEGF-A から VEGF-E 及び PlGF (Placental Growth Factor)-1, PlGF-2 の 7 種類が知られている。LAM 病態においては,

これまで、VEGF-D 意外に VEGF ファミリーとして VEGF-A, VEGF-C に関して報告されているが、VEGF-D のような顕著な変動は認められていない。このことから VEGF-D 値の臨床診断に対する有用性の高さが示唆される。現在、800pg/ml 以上の VEGF-D 値が臨床的に重要とされているが、今後、国際的な定義作成が急務であると考えられる。

VEGF-D 値は経過を通じて変動しない。しかし、シロリムス治療での反応性は高く治療の反応性指標として有望である。後ろ向き研究であるため評価ポイントが一定ではないが、今回の評価において、ホルモン療法による VEGF-D 値の変動は認めなかった。しかし、急激な変動時は肺に限定されるのではなく、全身性の疾病を考慮に入れる必要性があると考えられる。

本研究において、シロリムス服薬などの治療によって病態改善、維持が可能となった症例もあったが、治療後でも肺移植の必要性な症例、死亡症例も経験した。これらの結果は新たな治療法の必要性を示唆する結果であった。

②患者、患者家族と医療関係者が同じ会場で意見交換を行うことの重要性が示された。特に、間接的な伝達でなく、患者・患者家族と医療関係者の双方の考え、要求が直接伝えることができる機会の重要性が示唆された。

結 論

① VEGF-D 測定の意義について検討した。非喫

煙者、女性で、典型的な HRCT 所見を認め、血清中 VEGF-D > 800pg/ml である場合、LAM の診断的価値がある。他疾患、非典型例では、慎重を要する。

②患者、家族支援の目的とした LAM 勉強会は今後も継続する必要性が高いと考えられる。

謝 辞

本研究を行うのに対してご指導ご協力をいただいた先生方に深く感謝申し上げます。

参考文献

1. Seyama K, Kumasaka T, Souma S, Sato T, Kurihara M, Mitani K, Tominaga S, Fukuchi Y : Vascular endothelial growth factor-D is increased in serum of patients with lymphangioleiomyomatosis. *Lymphat Res Biol.* 4 (3) : 143-52, 2006
2. Young LR, Inoue Y, McCormack FX : Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med.* 358 (2) : 199-200, 2008
3. McCormack FX, Inoue Y, et al : Efficacy and safety of sirolimus in LAM. *N Engl J Med.* 364 (17) : 1596-606, 2011
4. Young LR, Inoue Y, McCormack FX et al : Serum VEGF-D concentration as a biomarker of lymphangioleiomyomatosis severity and treatment response: a prospective analysis of the Multicenter International LAM Efficacy of Sirolimus (MILES) trial. *Lancet Respir Med.* Aug ; 1 (6) : 455-452, 2013
5. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z : Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* Jan ; 13 (1) : 9-22, 1999

非喫煙喘息死患者における炎症細胞・サイトカインに関する研究

星野 友昭¹, 坂崎 優樹², 小田 華子¹, 岡元 昌樹¹

松岡 正信¹, 加来庸一郎¹, 竹中 慎一¹, 川山 智隆¹

久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門¹, 大牟田済生会病院²

はじめに

過去の喘息死に関しての報告では、喘息死患者の気道において、好酸球の増加、多量の粘液栓、リモデリングの所見が認められる。更には発症 24 時間以内に死亡した超急性例では、好酸球浸潤よりも好中球浸潤が優位であることや喘息死患者において CD8 陽性 T 細胞、IFN- γ の発現増加が認められることが報告されている^{1,2)}。すなわち、CD4 陽性細胞や IL-4, 5, 13 などの Th2 サイトカインの増加が優位である安定期の喘息と異なる気道炎症の環境が存在することが示唆されている。しかしながら、これらの報告では、喫煙歴についての詳細が明らかではなく、COPD の症例が含まれている可能性を否定できない。

IL-18 は、IFN- γ などの Th1 サイトカインの産生を誘導する一方で、Th2 サイトカイン、IgE の産生も誘導する^{3,4)}。我々は、IL-18 が COPD、間

質性肺炎、RA の病態に関与していることを明らかにしている⁵⁻⁸⁾。アレルギー性気管支喘息においても、平滑筋細胞、気道上皮にも IL-18 が発現していること、血清 IL-18 が上昇していることが示されている^{9,10)}。また、IL-18 の遺伝子多型が喘息の重症度に関連している¹¹⁾。さらに我々は、IL-18 トランスジェニックマウスにおいて、気道過敏性と気道炎症が亢進していることを証明した¹²⁾。しかし、喘息死の病態における IL-18 の関与は明らかではない。

今回、我々は、COPD の合併のない非喫煙の喘息死における気道炎症のプロセス、喘息死における IL-18 の関与を明らかにするため、研究を行った。

対象と方法

対象症例

①喘息死群 (図 1) : 12 例 (男性 9 名, 年齢 : 44.4

表 1. 喘息死症例の患者背景

番号	年齢	性別	死亡年	治 療						発作からの時間
				全身ステロイド	ICS	B2 刺激薬	テオフィリン	抗 LT 薬	人工呼吸器	
1	32	M	1973	+	-	-	+	-	-	75 min
2	52	M	1974	+	-	-	-	-	-	5 days
3	5	M	1977	-	-	-	-	-	+	36 hrs
4	67	M	1980	-	-	-	-	-	-	5 hrs
5	43	M	1981	+	-	-	-	-	-	< 24 hrs
6	75	M	1982	+	-	-	-	-	-	20 min
7	16	F	1984	-	-	+	+	-	-	DOA (6 hrs)
8	79	F	1986	+	-	-	-	-	+	7 days
9	57	M	1986	+	-	-	-	-	-	unknown
10	14	M	1994	-	-	-	-	-	-	DOA (13 days)
11	24	M	1998	+	+	+	+	-	-	4days
12	68	F	1998	-	+	-	-	-	+	DOA (7 days)

ICS : inhaled corticosteroid

抗 LT 剤 : 抗ロイコトリエン (leukotriene) 剤

DOA : death on arrival

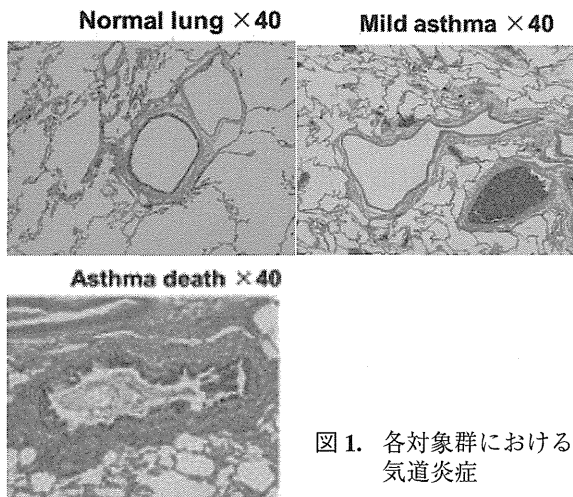


図1. 各対象群における気道炎症

±7.4歳) : 1973年から1998年の間に病理解剖を行われた12人の非喫煙喘息死患者肺組織

②軽症喘息群: 5例(男性1名, 年齢: 66.8 ± 4.1歳) : 肺癌切除術を施行された5人のコントロール良好な非喫煙喘息患者肺組織

③コントロール群: 10例(男性5名, 年齢: 62.5 ± 4.9歳) : 肺癌切除術を施行された10人の非喫煙者肺組織

炎症細胞, 炎症性サイトカインの解析

炎症細胞: メイ・ギムザ染色にて好酸球, 好塩基球, リンパ球, 好中球, 肺胞マクロファージの定量的評価を行った。

免疫染色

①抗CD4 (4B12 [mouse IgG2a], Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK)

②抗ヒトCD8 (C8/144B [mouse IgG1], Dako)

③抗ヒトIL-18 (clone8 [mouse IgG2a])

④抗IL-18受容体α (H44 [mouse IgG1])

上記モノクローナル抗体にてCD4陽性細胞, CD8陽性細胞, IL-18発現細胞を定量的に評価した。

結果 (図2~4)

①喘息死の気道では, 組織学的に粘液栓形成, 杯細胞増加, 平滑筋過形成などの著明な気道炎症とリモデリングが認められた。全ての症例で組織学的に肺気腫はなかった。

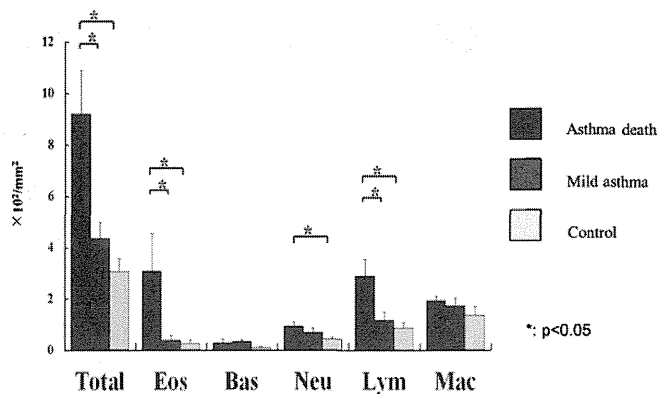


図2. 浸潤炎症細胞数

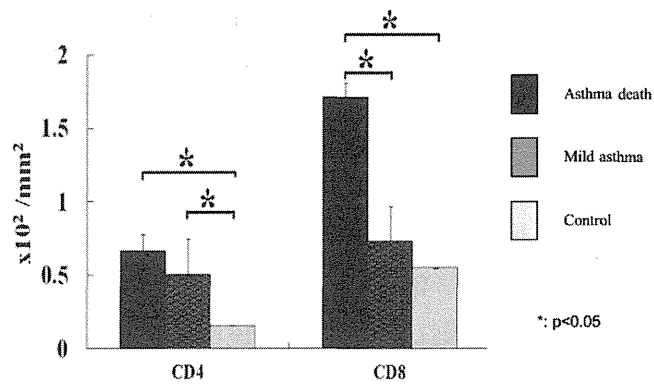
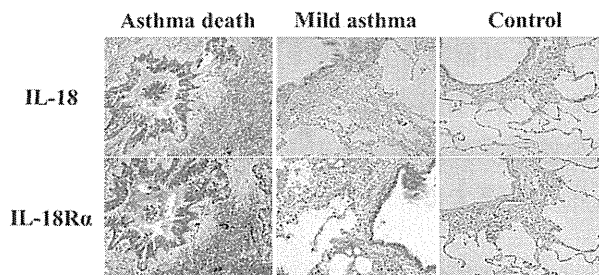


図3. CD4, 8陽性T細胞数



上段: Immunostaining with anti-hIL-18 mAb
下段: Immunostaining with anti-hIL-18Ra mAb

図4. 抗IL-18, IL-18レセプターモノクローナル抗体による免疫組織学的分析

②喘息死の気道における好酸球, リンパ球数増加は著明であり, 浸潤細胞数のカウントでは, 喘息死における好酸球数, リンパ球数は軽症喘息群, コントロール群よりも高値であった。

③過去の報告とは違い, 喘息死群における好中球の増加は軽度であった。喘息死群における好中球は, コントロール群より有意に増加していたが, 軽症喘息群とは差がなかった。

- ④喘息死群，軽症喘息群において，気道における CD4 陽性 T 細胞はコントロール群よりも有意に増加していたが，2 群間に差はなかった。それに対して，CD8 陽性 T 細胞は，喘息死群では，軽症喘息群，コントロール群よりも有意に増加していた。
- ⑤気管支肺胞上皮細胞，炎症細胞は IL-18，IL-18 受容体が強発現しており，CD8T 細胞でもそれらの発現の増加が認められた。
- ⑥以上の現症は年齢や性別には関係が無く 12 名のすべての喘息死患者でみられた。
- ⑦喘息死群の 12 例中 5 例は発作から 24 時間以内に死亡していた超急性群であったが，超急性群とそれ以外の症例で炎症細胞数に差はなかった。

考 察

- ①過去の報告と異なり，本研究では喘息死群，軽症喘息群で肺組織中の好中球数の差がなかった。そのため，過去の報告は，喫煙，COPD の関与が否定できない。
- ②喘息死における CD8 細胞，IL-18 がなんらかの役割を果たしており，新規治療薬のターゲットとなり得る。さらに喘息死におけるそれらの細胞，蛋白の関与のメカニズムの解析が必要である。

結 論

喘息死においては，COPD を除外した上で，その病態を解明する必要がある。

謝 辞

今回の研究をご指導頂いた故相澤久道教授，editing を行って頂いた Dr. Howard Young に謝辞を申し上げます。

参考文献

1. Sur S, Crotty TB, Kephart GM, et al: Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and

- relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis.* 1993 ; 148 : 713-719
2. O'Sullivan S, Cormican L, Faul JL, et al: Activated, cytotoxic CD8(+) T lymphocytes contribute to the pathology of asthma death. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 ; 164 : 560-564
3. Hoshino T, Yagita H, Ortaldo JR, et al: In vivo administration of IL-18 can induce IgE production through Th2 cytokine induction and up-regulation of CD40 ligand (CD154) expression on CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2000 ; 30 : 1998-2006
4. Kawayama T, Okamoto M, Imaoka H, et al: Interleukin-18 in pulmonary inflammatory diseases. *J Interferon Cytokine Res.* 2012 ; 32 : 443-449
5. Takei S, Hoshino T, Matsunaga K, et al: Soluble interleukin-18 receptor complex is a novel biomarker in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011 ; 13 : R52
6. Okamoto M, Kato S, Oizumi K, et al: Interleukin 18 (IL-18) in synergy with IL-2 induces lethal lung injury in mice: a potential role for cytokines, chemokines, and natural killer cells in the pathogenesis of interstitial pneumonia. *Blood.* 2002 ; 99 : 1289-1298
7. Hoshino T, Okamoto M, Sakazaki Y, et al: Role of proinflammatory cytokines IL-18 and IL-1beta in bleomycin-induced lung injury in humans and mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009 ; 41 : 661-670
8. Kitasato Y, Hoshino T, Okamoto M, et al: Enhanced expression of interleukin-18 and its receptor in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004 ; 31 : 619-625
9. Imaoka H, Hoshino T, Takei S, et al: Interleukin-18 production and pulmonary function in COPD. *Eur Respir J.* 2008 ; 31 : 287-297
10. Imaoka H, Gauvreau GM, Watson RM, et al: Interleukin-18 and interleukin-18 receptor-alpha expression in allergic asthma. *Eur Respir J.* 2011 ; 38 : 981-983
11. Harada M, Obara K, Hirota T, et al: A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 ; 180 : 1048-1055
12. Sawada M, Kawayama T, Imaoka H, et al: IL-18 Induces Airway Hyperresponsiveness and Pulmonary Inflammation via CD4(+) T Cell and IL-13. *PLoS One* 2013 ; 8 : e54623