

## 塵肺症における HTLV-I 感染の検討

— 悪性腫瘍との関連を含めて —

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

佐々木 高

(平成6年2月14日受稿)

**Key words:** 塵肺症, HTLV-I (human T-lymphotropic virus type I), 間接蛍光抗体法, 免疫電顕法, PCR (polymerase chain reaction method) 法

### 緒 言

ヒトレトロウイルスである human T-lymphotropic virus type I (以下 HTLV-I) は, 成人性 T 細胞性白血病/リンパ腫 (adult T-cell leukemia/lymphoma, 以下 ATL/ATLL) の原因ウイルスとして報告<sup>1)2)</sup>されていたが, 血液腫瘍性病変以外にも神経性疾患である HTLV-I associated myelopathy (以下 HAM) の発症にも関与することが報告<sup>3)</sup>されている。一方, ATL/ATLL 発症後の経過中や HTLV-I キャリアー状態においても, 呼吸器病変をしばしば合併することが知られている。木村は, びまん性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis: DPB) や特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia: IIP) において抗 HTLV-I 抗体あるいは HTLV-I 関連反応を高率に認めたことから, HTLV-I 関連細気管支・肺胞異常症 (HABA) と呼ぶべき特異な病態を報告してきた<sup>4-6)</sup>。

塵肺症は各種無機粉塵吸入により発症し, 発症機序としては, 粉塵吸入に加えて気道クリアランスの低下, 粉塵自体の毒性等によるとされているが, 惹起される炎症反応の個体差, 粉塵の種類等により必ずしもその進展は一定していない。さらに本症においては, 免疫学的な異常や感染症, 膠原病, 悪性腫瘍の合併が高率に認められている<sup>7-9)</sup>。今回, 塵肺症例において, HTLV-I 感染を伴い骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic syndrome: MDS) から白血病を合併し

た症例を経験したことから, 塵肺と HTLV-I との係わりを検索すると共に合併悪性疾患についても検討したので報告する。

### 対象と方法

1) 対象症例: 当科および関連病院を受診した塵肺症24例を対象とし, 健康人対照10例を合せて検討した。

2) 間接蛍光抗体法 (immunofluorescent 法: IF 法) による抗 HTLV-I 抗体の検出法: 抗 HTLV-I 抗体の検索を日沼らの方法<sup>2)</sup>に準じて行った。ATL 患者から樹立した HTLV-I 感染細胞株である MT-1 細胞株<sup>2)</sup>と ATL 患者リンパ球と臍帯血リンパ球の混合培養で樹立した MT-2 細胞株<sup>1)</sup>を用いた。10%FCS (仔牛血清) 添加 RPMI 1640 で培養したこれらの株細胞をリン酸緩衝液 (pH7.2, 100mM: 以下 PBS) で洗浄を繰り返し, 約  $5 \times 10^5$  個/ $\mu$ l 細胞浮遊液をスライドグラス上に塗抹し, 冷風乾燥後アセトン固定を行った。一次抗体として PBS で10倍希釈した患者血清, 陽性対照として HTLV-I キャリアー血清, 陰性対照として健康人血清を用いた。二次抗体には, PBS で10倍希釈した FITC 標識抗ヒト IgG F(ab)<sub>2</sub> ウサギ血清 (Immunoreserch 社) を用い各々, 30分間37°C で incubation した。PBS で再度洗浄した後, 50%グリセリン PBS 液で包埋し, 落射型蛍光顕微鏡 (オリンパス社) を用いて405nm 励起波長により検鏡した。IF 法における蛍光パターンから MT-1 細胞が granular pattern, MT-2 細胞が diffuse pat-

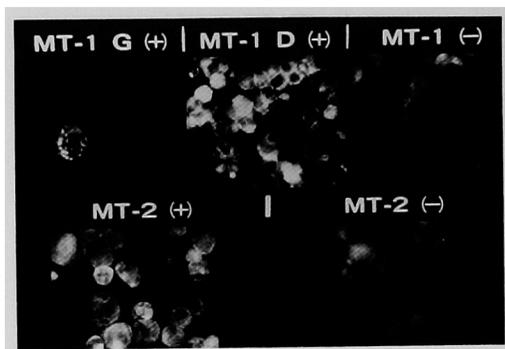


Fig. 1 間接蛍光抗体法による MT-1, MT-2 細胞の反応

MT-1 細胞が granular pattern, MT-2 細胞が diffuse pattern を呈するものを抗 HTLV-I 抗体陽性, MT-1 または MT-2 細胞が diffuse pattern を呈するものを関連反応陽性として判定した。

tern を呈するものを抗 HTLV-I 抗体陽性, MT-1 または MT-2 が diffuse pattern を呈するものを関連反応陽性として判定した<sup>4)5)</sup>(Fig. 1).  
 3) 免疫電顕法<sup>11-13)</sup>: 10% FCS 添加 RPMI 1640 で培養した MT-2 細胞を浮遊液中に  $5 \times 10^5$  個/ $\mu$ l に調整し, 得られた細胞沈渣を 4% パラホルムアルデヒド溶液で一昼夜固定を行った後, 細胞塊が壊れないように注意しながら蔗糖勾配液で順次置換し, 8% グリセリン加 OCT-compound (Tissue-Teck 社) に包埋しドライアイス・エタノール・アセトンで急速凍結した。次いで,  $-20^\circ\text{C}$  に冷却したクライオスタット (Tissue-Teck 社) により  $6 \sim 8 \mu\text{m}$  の凍結切片を作成し, アルブミン処理スライドガラス上に採取し風乾した。以後の実験は, 試料を乾燥させないようにしながらスライドガラス上で全てを行った。非特異反応を防止する目的で室温 30 分間, 正常ヤギ血清で pre incubation を行った後, 一次抗体と  $4^\circ\text{C}$  で 24 時間反応させた。一次抗体として PBS で 10 倍希釈した患者血清, 陽性対照として HTLV-I キャリアー血清と抗 HTLV-I マウス・モノクローナル抗体 (p19, p24, p33, p58) (EPITOPE. INC. 社), 陰性対照として健康人血清を用いた。二次抗体はヒト血清に対してペルオキダーゼ標識抗ヒト IgG F(ab')<sub>2</sub> ヤギ抗体 (Cappel 社) と, 抗 HTLV-I マウス・モノクローナル抗体に対してペルオキダーゼ標識

抗マウス IgG F(ab')<sub>2</sub> ヤギ抗体 (E. Y. Lab. INC. 社製) を各々使用し,  $4 \sim 6$  時間反応させた。1% グルタルアルデヒド PBS 溶液で後固定を 10 分間行い, 更に PBS で十分に洗浄し, DAB-DMSO 溶液 (DAB-4HCl 20mg, 1% DMSO 1 g, 50mM Tris buffer (pH7.6) 100 ml) にて 30 分間と DAB-0.005% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 (DAB-4HCl 20mg, 50mM Tris buffer (pH7.6) 75ml, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 原液 17 $\mu$ l) にて 5 分間発色反応させた。次に 2% オスミウム酸溶液に  $45 \sim 60$  分間反応させ, 50, 70, 80, 90, 100% エタノールで順次脱水処理後, エポキシ樹脂 (TAAB 社) 包埋し,  $60^\circ\text{C}$ , 48 時間重合反応を行い ultramicrotome (Rheihert-Jung 社) にて  $700 \sim 800\text{nm}$  の超薄切片を作製しニッケルグリッド (メッシュサイズ 100) に採取し検鏡に供した。透過型電子顕微鏡は日立社製 (H-300, H-700) を使用した。

4) PCR (polymerase chain reaction method) 法<sup>14)</sup>: ヘパリン加末梢血 20ml を Histopaque (Sigma 社) に重層遠沈後, 分離して得られた単核球  $1.0 \sim 5.0 \times 10^7$  個を PBS で 2 回洗浄後, プロテアーゼ K, 10mM Tris-10mMEDTA-1% SDS 溶液中で 8 時間インキュベートし, フェノール・クロロホルム法<sup>15)</sup>により, 高分子 DNA を抽出した。一方, HTLV-I pX gene に特異的なプライマーとして, HTLV-I proviral DNA の塩基配列の中から pX gene の一部 371 塩基対を目標とする 5' 側プライマー KI-7<sup>16)</sup> と 3' 側プライマー KI-8<sup>16)</sup> を DNA シンセサイザー (Applied Biosystem 社製) を用い, phosphoramidite 法<sup>17)</sup> に従って合成した。PCR 法は, 100  $\mu$ l の反応液に対して 200  $\mu$ M の dATP, dGTP, dCTP, dTTP と HTLV-I 特異的プライマー KI-7, KI-8 各々 1  $\mu$ M および Amplitaq™ DNA ポリメラーゼ (Perkin-Elmer-Cetus 社) 2.5 単位を使用し, Programable Dri. Block (LKB 社) を用いて,  $95^\circ\text{C}$  1.5 分,  $37^\circ\text{C}$  1 分,  $72^\circ\text{C}$  2 分を 1 サイクルとして, 35 サイクル反応させた。この PCR 産物をクロロホルム抽出, エタノール沈澱させ 10mM Tris-1mMEDTA に溶解した。以後の過程は Southern Blot 法<sup>18)</sup> に準じて, 1.2% アガロースゲルで電気泳動後, ナ

Table 1 対象症例の性別, 年齢, 出身地, 暴露粉塵, 暴露歴, 輸血歴

No	症例	性別	年齢	出身地	暴露粉塵	暴露年数 (年)	輸血歴
1	N. T	男	63	岡山	珪酸	35	有
2	S. H	男	60	岡山	珪酸	36	有
3	H. J	男	80	岡山	珪酸	20	無
4	S. T	男	73	岡山	珪酸	28	無
5	Y. M	男	62	兵庫	珪酸	27	不明
6	I. T	男	66	岡山	珪酸	12	不明
7	S. K	男	75	岡山	珪酸	57	不明
8	F. K	男	63	岡山	珪酸	20	不明
9	M. S	女	76	広島	珪酸	不明	不明
10	T. N	男	59	岡山	アスベスト	30	不明
11	K. K	男	75	岡山	珪酸	17	不明
12	A. T	男	72	岡山	珪酸	30	不明
13	K. A	男	73	岡山	珪酸	44	不明
14	K. M	男	57	岡山	珪酸	32	有
15	K. T	男	59	岡山	珪酸	30	有
16	K. M	男	80	岡山	珪酸	58	不明
17	T. M	男	66	広島	珪酸	22	無
18	I. T	男	62	岡山	珪酸	10	不明
19	Y. K	男	69	岡山	珪酸	21	無
20	K. H	男	46	岡山	珪酸	26	有
21	M. T	男	71	岡山	珪酸	30	無
22	I. K	男	64	福岡	珪酸	22	無
23	T. Y	男	79	香川	珪酸	32	無
24	N. I	男	72	岡山	珪酸	2	無

Table 2 対象症例の背景因子

症例数	24例
性別(男/女)	23/1
年齢中央値(歳)	63(46~80)
粉塵暴露歴(平均年数)	26.3±14.49
輸血歴	5例/13例
肺機能	
% VC (%)	76.1±20.3
FEV <sub>1.0</sub> % (%)	72.7±17.9
動脈血液ガス分析	
PaO <sub>2</sub> (Torr)	74.1±9.0
PaCO <sub>2</sub> (Torr)	39.5±5.6
Aa-DO <sub>2</sub> (Torr)	28.4±7.8

イロンフィルター(Hybond-N, Amersham 社)上に転写し, <sup>32</sup>P 標識 HTLV-I DNA プロブを用いてハイブリダイゼーション, オートラジオグラフィーを行い3~7日後に現像し判定した。

尚, PCR 産物による汚染を防止するために, サンプルと PCR 産物を扱うピペット類は全て個別のものを用い, チップは使い捨てとした。

Table 3 抗 HTLV-I 抗体と合併悪性腫瘍

抗 HTLV-I 抗体	合併悪性腫瘍
抗体陽性 (case 1-3)	MDS 2例 肺扁平上皮癌 1例 小計 3例(100%)
関連反応陽性 (case 4-7)	AML 1例 肺小細胞癌 1例 小計 2例(50%)
陰性 (case 8-24)	MDS 3例 胃癌 1例 小計 4例(24%)

また, サンプルと PCR 産物は各々別室で取り扱った。

## 結 果

1) 塵肺症の背景因子に関する検討(Table 1, 2)

24例中男性23例, 女性1例で, 年齢中央値は63歳, 平均粉塵暴露歴は26.3年(2年~58年)で, そのほとんどが岡山, 広島, 兵庫, 香川の HTLV-I 非流行地域出身であった。暴露粉塵は23例が珪酸, 1例がアスベストであった。この内, 調べ得た13例中5例に輸血歴を認めた。

入院時の肺機能は, 平均値で%VC 76.1%, FEV<sub>1.0</sub>% 72.7%, 動脈血液ガス分析では PaO<sub>2</sub> 74.1Torr, PaCO<sub>2</sub> 39.5Torr, AaDO<sub>2</sub>は28.4 Torrであった。粉塵暴露期間と肺機能あるいは動脈血液ガス分析の成績との間に関連は認めなかった。

また, 今回検討した塵肺症例において合併のみられた悪性疾患としては, 非小細胞性肺癌(NSCLC), 肺小細胞癌(SCLC), 急性骨髄性白血病(AML), 胃癌(G.C.)が各々1例(4.2%)ずつと前白血病状態ともいえるMDSは5例(20.8%)であり, 全体としては9例(37.5%)に悪性疾患の合併を認めた(Table 3)。

2) IF法による抗 HTLV-I 抗体の検討

塵肺症24例中抗体陽性3例(12.5%), 関連反応陽性4例(16.7%), 陰性は17例(70.8%)であった。尚, 抗体陽性者中2例に輸血の既往があり1例は輸血歴なく, 関連反応陽性4例では3例が不明, 陰性9例中3例に輸血の既往があ

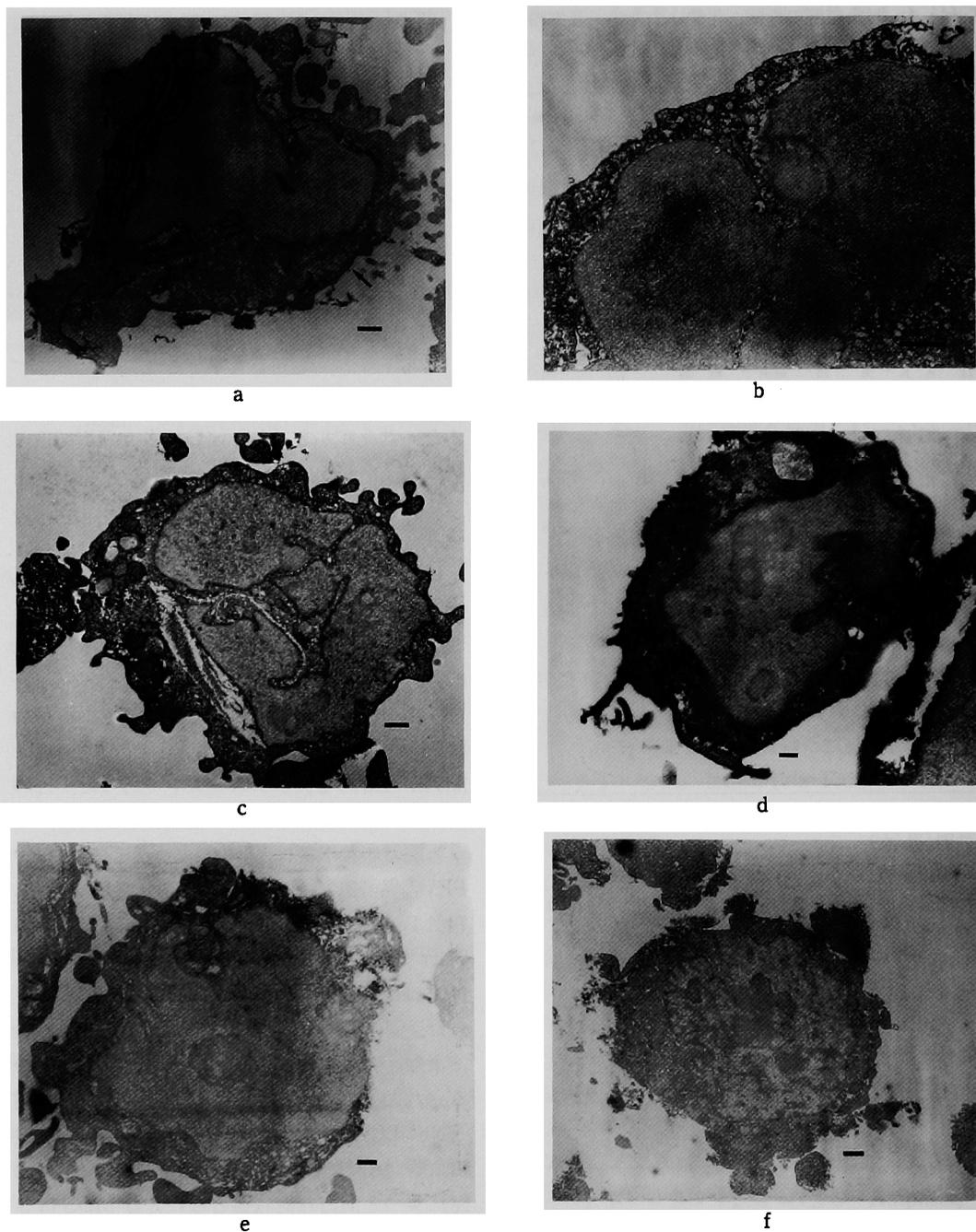


Fig. 2 免疫電顕法による抗原の局在：

- a：陽性コントロール（マウスモノクローナル抗体）細胞膜の一部（↑）と核膜（↑↑），細胞質内システルナ（▲）に反応し，さらに細胞質がびまん性に反応
- b：抗 HTLV-I 抗体陽性（case 1）細胞膜と細胞質がびまん性に反応
- c：抗 HTLV-I 抗体陽性（case 2）細胞膜と核膜，細胞質がびまん性に反応
- d：抗 HTLV-I 抗体陽性（case 3）細胞膜と核膜，細胞質がびまん性に反応
- e：陰性コントロール（健康人対照）反応を認めず。
- f：関連反応陽性（case 6）反応を認めず。
- Bars = 1  $\mu$ m (a - f)

った。

### 3) IF 法による抗 HTLV-I 抗体と粉塵暴露歴, 呼吸機能の関連

抗体陽性および関連反応陽性群 7 例では, 粉塵暴露歴が平均 28.7 年, % VC 72.1%, FEV<sub>1.0</sub> % 78.4%, Aa-DO<sub>2</sub> 26.9 Torr であった。陰性群 17 例においては, 各々 25.3 年, 77.4%, 70.8 %, 29.1 Torr であり, 抗体陽性あるいは関連反応陽性の有無と, 暴露粉塵歴あるいは肺機能との間に関連は認めなかった。

### 4) 塵肺症における抗 HTLV-I 抗体と悪性疾患の関連

抗体陽性 3 例中 2 例 (67%) が MDS であり, このうち 1 例は後に急性白血病化し, 他の 1 例は肺扁平上皮癌を併発していた。関連反応陽性群 4 例では急性骨髄性白血病 (以下 AML) 1 例, 肺小細胞癌 1 例であった。また陰性群 17 例においても, MDS 3 例 (17.6%), 胃癌 1 例 (5.9 %) の合併が認められた。抗 HTLV-I 抗体陽性群および関連反応陽性群をあわせると, MDS のような前癌病変と悪性腫瘍は 7 例中 5 例 (71.4 %) に合併がみられ, 陰性群 17 例中 4 例 (23.5 %) に比べ高率であった。さらに悪性腫瘍の中では MDS が 9 例中 5 例と特徴的であった (Table 3)。

### 5) 抗 HTLV-I 抗体並びに関連反応に対応する抗原の MT-2 細胞内における局在の検討

抗 HTLV-I 抗体陽性群 (case 1-3) の血清では MT-2 細胞の細胞膜, 核膜の一部並びに細胞質がびまん性に反応 (Fig. 2 a, b, c, d) していた。また抗体陰性の血清では全く反応を認めなかった (Fig. 2 e)。一方, 関連反応陽性群 (case 4) の血清では, IF 法に認められる MT-2 細胞の様な所見を含め, 全く反応は認められなかった (Fig. 2 f)。さらに HTLV-I と関連のないリンパ球系の cell line である Molt-4 を用いて同様に免疫電顕を行ったが, いずれの血清を用いても陽性反応を認めなかった。

### 6) PCR 法による HTLV-I proviral DNA の検索

IF 法による抗体陽性 3 例と関連反応陽性 2 例の 5 例について, 末梢血リンパ球を用いて proviral DNA として pX gene について検討した。

Table 4 抗 HTLV-I 抗体と pX gene の検出

抗 HTLV-I 抗体	pX gene 検出
抗体陽性 (case 1-3)	3 例 (100%)
関連反応陽性 (case 4, 5)	1 例 (50%)
合計	4 例 (80%)

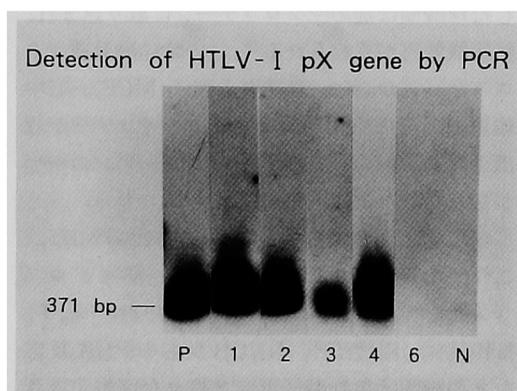


Fig. 3 PCR 法による HTLV-I pX gene の検出  
P:陽性コントロール—MT-2 細胞の DNA, N:陰性コントロール—Molt-4 細胞, No. 1, 2, 3:抗 HTLV-I 抗体陽性患者リンパ球(1-3), No. 4, 6:関連反応陽性患者リンパ球(4, 6), case 1, 2, 3, 4 では, 陽性コントロールと同様に pX gene 内の 371bp (塩基対) が増幅されたが, case 6 では, 認められなかった。

抗 HTLV-I 抗体陽性の 3 例全例と関連反応陽性で AML を合併した 1 例において pX gene が検出されており, 検討した 5 例中 4 例において陽性であった。一方, 関連反応陽性で悪性腫瘍を合併していない症例 (case 6) では, pX gene が検出されておらず, pX gene の検出された全例に悪性疾患の合併が認められた (Table 4, Fig. 3)。

## 考 察

塵肺症はその病像形成に, 粉塵暴露の期間, 暴露からの経過年数, 粉塵の性状が関与する。一方, 今回検討した塵肺症 24 症例中 23 例が珪肺症であり, 暴露作業は鉱山, 石工, サンドブラスト, トンネル工事などさまざまであるが, い

ずれも遊離の結晶無水珪酸を高濃度を含む粉塵吸入により惹起されている。しかしながら、粉塵暴露歴は数年から50年以上であり、発症までの期間も様々であった。

肺胞マクロファージは、各種病原微生物の感染における生体防御に対する重要な役割を果たしている<sup>19)</sup>。吸入され肺内に入った珪酸塵は肺胞マクロファージに取り込まれ、lytic enzymeが遊離し、さらにマクロファージが破壊され遊出した珪酸塵は別のマクロファージに取り込まれ、肺組織障害が惹起される<sup>22)</sup>。この時珪酸暴露マクロファージからは、単球遊走因子(MCF)、好中球遊走因子(NCF)等のサイトカイン<sup>21)22)</sup>が放出され肺内への細胞浸潤からコラーゲンの増生がもたらされ<sup>23)</sup>線維化が進行する。

珪肺患者における免疫学的異常については、これまで免疫グロブリン高値<sup>24)25)</sup>、高 $\gamma$ グロブリン血症<sup>26)</sup>、自己抗体(抗肺抗体、リウマチ因子、抗核抗体)陽性<sup>27)28)</sup>、DNCB反応やPHA反応などの細胞性免疫の低下など様々な報告がなされている。

塵肺症における肺癌合併については古くから注目されており、肺以外にも血液系、消化器系をはじめ多臓器に悪性腫瘍の多発が指摘<sup>29-31)</sup>されている。一方、石綿暴露の塵肺症でしばしば認められる悪性中皮腫や肺癌の合併は、石綿自体のcarcinogenesisによって説明されている。いずれにしても、体内に入った珪酸を含む種々の粉塵の障害作用によって、発癌に対する免疫監視機構<sup>32)</sup>の障害や細胞性免疫能の低下がもたらされ、悪性腫瘍の合併を促進する可能性があると考えられる。

HTLV-Iはウイルス複製に必要なgag, pol, env遺伝子に加え、その3'末端側にpX遺伝子が存在する。pX遺伝子から合成されるp40<sup>tax</sup>蛋白質は、long terminal repeat (LTR)をtransactivateしウイルスの複製を促進する。また、このウイルス増殖に必須な蛋白であるp40<sup>tax</sup>は、NF- $\kappa$ B様蛋白質の誘導ないし活性化によってCD25遺伝子発現を誘導したり<sup>33-35)</sup>、IL-2<sup>36)</sup>、c-fos<sup>37)</sup>などの細胞側遺伝子のプロモター活性をも上昇させることが知られている。これらの遺伝子はいずれも細胞増殖に関与する因

子であり、p40<sup>tax</sup>蛋白質はウイルス増殖とともに、細胞自体の増殖回路を誘導する可能性が示唆されている<sup>38)</sup>。

一方、HTLV-Iはリンパ球系以外に線維芽細胞、astroglia, osteosarcoma cell line, fibrosarcoma cell lineや血管内皮細胞等に感染し<sup>39)40)</sup>、合胞体を形成することが報告されている。HTLV-I感染状態における標的細胞はCD4陽性細胞であり、HLA-DR抗原やCD25抗原を発現し<sup>41)</sup>、IL-2を始め種々のサイトカインの産生異常をきたす。さらに、cytotoxic T細胞が細胞傷害能を消失し<sup>42)</sup>、多くのATL細胞がCD4抗原を発現しながらsuppressor T細胞機能を持つ。またHTLV-IによってtransformしたT cell lineからはインターフェロン $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、IL-6、granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)、macrophage activating factorなど多数のサイトカイン産生が報告<sup>43-45)</sup>されている。これらの免疫異常により免疫監視機構が破綻し、そのために悪性疾患の高率な合併を起こすと考えられている<sup>9)</sup>。木村らはHTLV-Iによって引き起こされる呼吸器病変として、日和見感染や腫瘍細胞浸潤の他にHABAの存在、さらには肺癌との密接な関連についても報告<sup>46)</sup>している。

今回、HTLV-I感染の面から塵肺症についての検討を行った。当科を受診した塵肺症例の抗HTLV-I抗体陽性者は24例中3例(12.5%)関連反応陽性者は4例(16.7%)であり、pX geneの検出を指標とした検索では24例中4例(16.7%)に陽性であった。対象症例は陰性の1例を除いて、HTLV-I陽性率1%前後の岡山、広島、香川、兵庫県の非流行地域の出身<sup>47)</sup>であり、抗HTLV-I抗体陽性者は高率であると考えられた。

免疫電顕法による抗HTLV-I抗体の反応性の検討では、抗HTLV-I抗体陽性群の細胞膜、核膜の一部と細胞質がびまん性に反応しており、陰性対照ではこのような特異的な反応を認めなかった。しかしながら関連反応陽性群の血清では、HTLV-Iに対する特異反応は認められなかった。免疫電顕法において反応を認めなかった理由として、間接法による免疫電顕法は直接法と比べ抗体の浸潤性、深達性が弱いために、関

連反応に対応する抗体あるいは抗体様の活性を持つ成分が十分に反応しえなかった可能性がある。さらに関連反応の本態は依然として不明であるが、間接蛍光抗体法という非常に感度の高い検査でしか認められず、免疫電顕法による検出感度以下であった可能性が考えられた。

木村らは IIP 症例において当初関連反応陽性で2年の経過で抗体陽性となり、さらにその後肺癌を発症するに至った症例を報告している<sup>48)</sup>。一方、今回の検討においても関連反応陽性症例の内1例の末梢血リンパ球には、PCR法を用いた検討から HTLV-I の pX gene の組み込みが証明された。このことはウイルス感染状態にあっても、宿主の抗体産生は一様でないことから IF 法による関連反応が陽性であれば HTLV-I がリンパ球に組み込まれている可能性を考慮する必要のあることが示唆された。

塵肺症の形成には、珪酸を主体とする粉塵の組織障害作用により引き起こされるとされている。一方、今回の検討において、抗 HTLV-I 抗体陽性並びに関連反応陽性が塵肺症に高率に認められたことは、塵肺形成過程に HTLV-I 感染に伴う種々の免疫異常が加わることにより、肺組織傷害が持続的に進行する可能性が考えられる。

塵肺症の合併症としては、24例中5例(20.8%)に MDS が認められた。MDS の頻度が最も高い60歳以上の年齢群における MDS の発症頻度0.075%<sup>49)</sup>と比較して高率であった。また当科における MDS32例全例について、検討したところ、塵肺症の合併は既に述べた32例中5例(15.6%)に認められ、抗 HTLV-I 抗体は、6例(18.8%)が陽性で、この内2例に塵肺症の合併が認められた。

塵肺症においては、白血病、悪性リンパ腫の合併率が対照群の各々1.50, 1.79倍という報告<sup>29)</sup>があり、肺癌や胃癌のみならず血液悪性疾患の合併頻度は高いと考えられる。これまで報告されている塵肺症に合併した白血病としては、急性骨髄性白血病(AML)<sup>50)</sup>、hypoplastic low percentage leukemia<sup>51)</sup>等があり、悪性リンパ腫としてはホジキン病などが認められている。MDS は不応性貧血ないし前白血病状態という性格を

持つ疾患群と定義され、その25~40%が急性白血病化すること<sup>52)53)</sup>が知られており、前癌的病態と考えられている。今回検討した塵肺症例中の抗 HTLV-I 抗体陽性あるいは関連反応陽性例に、MDS の様な前癌病変と悪性疾患の合併が高率に認められた。このことは、HTLV-I 感染が塵肺症自体の発症に加えて、悪性疾患の合併を促進させる上で一定の役割を果たしていることが示唆された。

## 結 論

塵肺症24例について合併症と共に HTLV-I との係わりを検索した。

1) MT-1, MT-2 細胞株を用いた間接蛍光抗体法(IF法)による抗 HTLV-I 抗体の検索では、抗体陽性3例(12.5%)、関連反応4例(16.7%)、と高率に陽性であった。

2) IF 法における抗 HTLV-I 抗体と HTLV-I 関連反応について、免疫電顕法により検討した。抗 HTLV-I 抗体陽性の血清では、抗 HTLV-I モノクローナル抗体と同様に、細胞膜、細胞質、核膜、細胞内小器官の一部に反応を認めた。一方、関連反応陽性血清では反応を認めなかった。

3) 抗 HTLV-I 抗体と塵肺症に合併する悪性疾患との関連を検討した。抗体陽性あるいは関連反応陽性の7例中5例(71.4%)に悪性疾患が合併しており、陰性群17例中4例と比べ高率であった。

4) PCR 法による pX gene の検出を5例で行ったところ、抗体陽性の3例と関連反応陽性の1例に pX gene が検出され、5例中4例が陽性であった。

以上の成績より、塵肺症の肺病変形成と引き続く悪性疾患合併の各々に HTLV-I 感染が関与している可能性が考えられた。

この稿を終えるにあたり、御指導御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表するとともに、直接御指導頂いた坪田輝彦先生並びに多田慎也講師に深謝いたします。

内容の要旨は第32回日本胸部疾患学会総会にて発表した。

## 文 献

- 1) Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, Nagata K and Hinuma Y : Type C virus particles in a cord T-cell line derived by co-cultivating normal leukemic T cells. *Nature* (1981) **294**, 770—771.
- 2) Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nagai M, Mathumoto T, Kinoshita K, Shirakawa S and Miyoshi I : Antigens in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* (1981) **78**, 6476—6480.
- 3) Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, Matsumoto M and Tara M : HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* (1986) **1**, 1031—1032.
- 4) 木村郁郎, 大塚泰亮, 坪田輝彦, 高橋 功, 中田安成, 高橋 清, 上田暢男, 平木俊吉, 多田慎也, 十川重次郎, 白石高昌, 名部 誠, 米井敏郎 : びまん性汎細気管支炎における成人性 T 細胞性白血病の発症並びに ATLA 関連反応の出現について. *日胸疾患会誌* (1987) **25**, 240—244.
- 5) 木村郁郎, 大塚泰亮, 坪田輝彦, 高橋 功, 中田安成, 高橋 清, 平木俊吉, 多田慎也, 十川重次郎, 白石高昌, 名部 誠, 米井敏郎, 真田 浩 : 特発性間質性肺炎における成人性 T 細胞性白血病の発症並びに ATLA 関連反応の出現について. *日胸疾患会誌* (1987) **25**, 245—250.
- 6) 木村郁郎 : HABA (HTLV-I 関連細気管支・肺胞異常症, HTLV-I associated bronchiolo-alveolar disorder). *日胸疾患会誌* (1993) **30**, 787—795.
- 7) 海老原勇 : じん肺罹患の合併症 (第 2 報) — 粉塵暴露と悪性腫瘍 —. *労働科学* (1981) **57**, 441—449.
- 8) 海老原勇 : じん肺にみられる自己免疫疾患に関する臨床的検討 (第 2 報) サルコイドーシス例を中心に. *労働科学* (1982) **58**, 329—341.
- 9) Asou N, Kumagai T, Uekihara S, Ishii M, Sato M, Sakai K, Nishimura H, Yamaguchi K and Takathuki K : HTLV-I seroprevalence in patients with malignancy. *Cancer* (1986) **58**, 903—907.
- 10) Miyoshi I, Kubonishi I, Sumida M, Hiraki S, Tsubota T, Kimura I, Miyamoto K and Sato J : A novel T-cell line derived from adult T-cell leukemia. *Gann* (1980) **71**, 155—156.
- 11) Oda T, Watanabe S, Sumii H, Nakamura T, Arakaki Y and Shimotohno K : Immunoelectron microscopic localization of the pX gene products in human T-cell leukemia virus type I-producing cells. *Cancer Res* (1987) **47**, 2077—2082.
- 12) Sumii H, Watanabe S and Oda T : Detection of adult T-cell leukemia-associated antigens by direct immunoperoxidase microscopy with Fab'-peroxidase conjugates prepared with a maleimide compound. *Acta Histochem Cytochem* (1987) **20**, 135—146.
- 13) 小田琢三 : ヒト T 細胞白血病ウイルス抗原とその免疫電顕的局在. *組織培養* (1988) **14**, 84—89.
- 14) Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB and Erlich HA : Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* (1988) **239**, 487—491.
- 15) Maniatis T, Fritsch EF and Sambrook J : Molecular cloning — A laboratory manual —. Cold Spring Harbor Lab, New York (1982) pp458—459.
- 16) Imajyo K, Shinagawa K, Tada S, Tsubota T and Kimura I : Detection of HTLV-I pX gene by polymerase chain reaction using newly designed primers. *Acta Med Okayama* (1993) **47**, 355—361.
- 17) Adams SP, Kavka KS, Wykes EJ, Holder SB and Gallupi GR : Hindered dialkylamino nucleoside phosphate reagents in the synthesis of two DNA 51 mers. *J Am Chem Soc* (1983) **105**, 661—663.
- 18) Southern EM : Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophor-

- esis. *J Mol Biol* (1975) **98**, 503—517.
- 19) McCombs CC, Michalski JP, Westerfield BT and Light RW : Human alveolar macrophages suppress the proliferative response of peripheral blood lymphocytes. *Chest* (1982) **82**, 266—271.
  - 20) Allison AC, Harington JS and Birbeck M : An examination of the cytotoxic effects of silica on macrophage. *J Exp Med* (1966) **124**, 141—161.
  - 21) Miller K, Calverley A and Kagan E : Evidence of a quartz-induced chemotactic factor for guinea pig alveolar macrophages. *Environ Res* (1980) **22**, 31—39.
  - 22) Schmidt JA, Oliver CN, Green I and Grey I : Silica stimulated macrophages ( $M\phi$ ) release a fibroblast proliferation factor identical to interleukin-1 (IL-1). *Fed Proc* (1982) **41**, 438.
  - 23) Richards RJ and Westerman FS : The effects of silica dust and alveolar macrophages on lung fibroblasts grown in vitro. *Life Sci* (1974) **14**, 355—364.
  - 24) Vigliani EC and Pernis B : Immunological factors in the pathogenesis of the hyaline tissue of silicosis. *Br J Ind Med* (1958) **15**, 8—14.
  - 25) 森田積二, 松本一郎, 立石 晃, 藤井一利, 真柴裕人, 山崎郁雄, 岡本至公 : ヒト肺の免疫学的研究. *日災医誌* (1983) **31**, 790—798.
  - 26) Schmidt ST and Brunner HS : Silikose-eine Autoimmunerkrankung oder ein chronisch-entzündlicher Prozess? *Z Erkr Atmungsorgane* (1982) **159**, 66—73.
  - 27) Doll NJ, Stankus RP, Hughes J, Weil H, Gupta RC, Alspaugh MA, Salvaggio JE, Jones RN and Rodrigues M : Immune complexes and autoantibodies in silicosis. *J Allergy Clin Immunol* (1981) **68**, 281—285.
  - 28) McCombs RP : Diseases due to immunologic reaction in the lung. *N Engl J Med* (1972) **286**, 1245—1252.
  - 29) Enterline PE : Mortality rates among coal mines. *Am J Public Health* (1964) **54**, 758—768.
  - 30) Enterline PE : A review of mortality data for American coal miners. *Ann N Y Acad Sci* (1972) **200**, 260—272.
  - 31) Katnelson BA and Mokoronsova KA : Non-fibrous mineral dusts and malignant tumors. An epidemiological study of mortality. *J Occup Med* (1979) **21**, 15—20.
  - 32) Burnet FM : Immunological surveillance in neoplasia. *Transplant Rev* (1971) **7**, 3—25.
  - 33) Löwenthal JW, Bohnlein E, Ballard DW and Greene WC : Regulation of interleukin 2 receptor  $\alpha$  subunit (Tac or CD25 antigen) gene expression : binding of inducible nuclear proteins to discrete promoter sequences correlates with transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* (1988) **85**, 4468—4472.
  - 34) Cross SL, Halden NF, Lenard M and Leonard WJ : Functionally distinct NF- $\kappa$ B binding sites in the immunoglobulin  $\kappa$  and IL-2 receptor  $\alpha$  chain genes. *Science* (1989) **244**, 466—469.
  - 35) Leung K and Nabel GJ : HTLV- I transactivator induces interleukin-2 receptor expression through an NF- $\kappa$ B-like factor. *Nature* (1988) **333**, 776—778.
  - 36) Arima N, Daitoku Y, Ohgaki S, Fukumori J, Tanaka H, Yamamoto Y, Fujimoto K and Onoue K : Autocrine growth of interleukin 2-producing leukemia cells in a patient with adult T cell leukemia. *Blood* (1986) **68**, 779—782.
  - 37) Fujii M, Sassone-Corsi P and Verma IM : c-fos promoter trans-activation by the Tax protein of human T-cell leukemia virus type I. *Proc Natl Acad Sci USA* (1988) **85**, 8526—8530.
  - 38) 畑中正一 : HTLV- I の tax 遺伝子と細胞のがん化. *日本臨床* (1990) **48**, 2431—2441.
  - 39) Ho DD, Rota TR and Hirsch MS : Interferon of human endothelial cells by human T lymphotropic

- virus type I. Proc Natl Acad Sci USA (1984) **81**, 7588—7590.
- 40) Hoxie JA, Matthews DM and Clines DB : Infection of human endothelial cells by human T-cell leukemia virus type I. Proc Natl Acad Sci USA (1984) **81**, 7591—7595.
  - 41) Hattori T, Uchiyama T, Toibana T, Takathuki K and Uchida M : Surface phenotype of Japanese adult T-cell leukemia cells characterized by monoclonal antibodies. Blood (1981) **58**, 645—647.
  - 42) Popovic M, Flomenberg DJ, Volkman D, Mann D, Fauci AS and Gallo RC : Alteration of T cell functions by infection with HTLV- I or HTLV-II. Science (1984) **116**, 459—462.
  - 43) Salahuddin SZ, Markham PD, Lindner SG, Gootenberg J, Popovic M, Hemmi H, Sarin PS and Gallo RC : Lymphokine production by cultured human T cells transformed by human T-cell leukemia-lymphoma virus- I. Science (1984) **223**, 703—707.
  - 44) Sugamura K, Mathuyama M, Fujii M, Kannagi M and Hinuma Y : Establishment of human cell lines constitutively producing immune interferon ; transformation of T-cells by a human retrovirus. J Immunol (1983) **131**, 1611—1612.
  - 45) Shimizu K, Hirano T, Ishibashi K, Nagano N, Taga T, Sugamura K, Yamamura Y and Kishimoto T : Immortalization of BGDF (BCDF II)-and BCDF-producing T cells by human T cell leukemia virus (HTLV) and characterization of human BGDF (BCGF II). J Immunol (1985) **134**, 1728—1733.
  - 46) 木村郁郎, 大熨泰亮, 高橋 清, 多田慎也, 上岡 博, 石丸文彦, 十川重次郎, 今城健二, 品川克至, 川畑秀俊, 柴山卓夫, 吉永浩明 : HTLV- I 関連肺癌 HTLV- I associated lung cancer (HALC) — 前癌病変としての HABA の重要性について —. 岡山医誌 (1991) **103**, 167—177.
  - 47) T/B リンパ系腫瘍研究グループ : 第 5 次成人性 T 細胞性白血病/リンパ腫 (ATL) 全国実態調査の報告 — 第 4 次全国実態調査の評価 —. 癌の臨床 (1992) **38**, 405—416.
  - 48) 木村郁郎 : HTLV- I 関連肺病変. 内科 (1992) **69**, 1030—1033.
  - 49) Hamblin TJ and Oscier DG : The myelodysplastic syndrome. A practical guide. Haematol Oncol (1987) **5**, 19—34.
  - 50) 岸本卓巳, 日野理彦, 小野哲也, 岡田啓成 : 石綿曝露者に発症した急性骨髄性白血病の 2 例. 日内会誌 (1987) **76**, 1738—1739.
  - 51) Chinushi M, Koyama S, Takahashi M, Shibata A and Emura I : The Occurrence in a patient with pulmonary asbestosis. Jpn J Med (1990) **29**, 607—610.
  - 52) Linman JW and Bagby GC : The preleukemic syndrome (hemopoietic dysplasia). Cancer (1978) **42**, 854—864.
  - 53) Tricot G, Boogaerts MA, De Wolf-Peeters C, Van Den Berghe H and Vermilghen RL : The myelodysplastic syndromes. Different evolution patterns based on sequential morphological and cytogenetic investigation. Br J Haematol (1985) **59**, 659—670.

**HTLV-I infection in patients with pneumoconiosis  
in regard to complications of malignancy**

**Takashi SASAKI**

**Second Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. I. Kimura)**

The pathogenesis of pneumoconiosis following exposure to inorganic dust remains obscure. HTLV-I, known as a cause of adult T cell leukemia, has been reported to participate in various interstitial lung diseases. So, HTLV-I infection in patients with pneumoconiosis was investigated by detecting anti-HTLV-I antibodies by the indirect immunofluorescent method and the pX gene by polymerase chain reaction (PCR) and Southern blotting. Furthermore, various malignancies in pneumoconiosis were also analyzed in relation to HTLV-I infection. Three of 24 patients (12.5%) demonstrated anti-HTLV-I antibodies. Four of 5 patients including the 3 patients with antibodies demonstrated the pX gene. Various malignant diseases including myelodysplastic syndrome and lung cancer showed a higher incidence in patients with HTLV-I infection than in those without HTLV-I infection.

These findings indicate that HTLV-I infection could play an important role in the pathogenesis of pneumoconiosis and complications of malignancy.