

間質性肺疾患の病態に関する研究

第1編

気管支肺胞洗浄液における Fibronectin の検討

岡山大学医学部第2内科学教室 (主任: 木村郁郎教授)

名 部 誠

(昭和62年9月8日受稿)

Key words : Bronchoalveolar lavage
Fibronectin
Interstitial pneumonia

緒 言

Fibronectin (FN) は細胞とコラーゲン, フィブリノーゲンなど器質との接着促進, 組織の修復, 細胞の移動の促進¹⁾²⁾³⁾, 線維芽細胞増殖促進⁴⁾⁵⁾⁶⁾などの多様な生物学的活性を持つ糖蛋白質で, 広く生体内に分布している. また, FN は線維芽細胞, 内皮細胞, 肺胞マクロファージ等より生産され, 血漿中と共に種々の間葉系細胞や表皮, 粘膜, 皮下組織, 基底膜などにおける存在が証明されている⁷⁾⁸⁾.

肺に関しては, 特発性間質性肺炎 (Idiopathic interstitial pneumonia : IIP) において肥厚した肺間質に FN の沈着が増加しているという報告や⁹⁾, 気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid : BALF) 中 FN 濃度, AMDGF (Alveolar macrophage derived growth factor) が高値であり, そのレベルと予後が相関するとの報告があり¹⁰⁾, 間質性肺疾患における肺線維化の過程において FN が重要な役割を果たす可能性が指摘されている⁴⁾¹⁰⁾.

そこで, 著者は肺局所で産生されて増加する FN の測定が間質性肺疾患の病態や活動性を検討する上で有用と考え, IIP をはじめとする各

種間質性肺疾患の血漿中 FN 濃度を測定する共に気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage : BAL) により BALF を採取し, 細胞成分を検討すると共に液性成分について肺局所 FN 濃度を測定しその臨床的意義について検討した.

対象並びに方法

1. 対象

昭和59年9月より昭和62年4月までに当教室において BAL を施行した IIP 7例, 慢性関節リウマチに合併した間質性肺炎 (RA+IP) 4例, 過敏性肺臓炎 (HP) 10例, サルコイドーシス (サ症) 24例, 健康人対象 (NC) 12例の

表1 対象症例

疾患名	例数	年齢	男/女
特発性間質性肺炎 (IIP)	7	60(45-66)	4/3
RA合併間質性肺炎 (RA+IP)	4	60(55-73)	1/3
過敏性肺臓炎 (HP)	10	40(17-61)	4/6
サルコイドーシス (サ症)	24	51(24-70)	13/11
健康人対照 (NC)	12	27(23-60)	11/1
計	57	35(17-73)	33/24

合計57症例に対して66回のBALを施行した(表-1).

2. 血漿 Albumin (Alb) の定量

BAL直前にEDTA 2Naを加えて2ml採血し直ちに4℃1000×g 10分にて血漿を遠心分離した. 血漿あるいは標準血漿(協和メディックス) 10μlとBCG (Bromocresol green) 試薬(第一化学) 1.25mlを反応させ, BCG法によりAuto analyzer (日立) を用いて測定した.

3. 血漿中 FN の定量

Alb測定と同様に血漿分離し, 検体は当日までAprotinin (Trypsin inhibitor: Boehringer) を検体1ml当り1単位加え-70℃に保存した. 血漿中FNの定量はFN測定キット(Boehringer) を用いて測定した. FN 0μg/mlから1000μg/mlまで6段階の標準液あるいは検体血漿10μlと抗FN血清1mlをincubateし, 1分後と30分後の2回吸光度(O.D. 340nm)を測定し, 両者の差をもって検量曲線を作成すると共に血漿中FN濃度を求めた.

4. BAL

竹山らの方法¹¹⁾に準じ気管支ファイバースコープを右中葉にwedgeし, 37℃の生理的食塩水50mlにて計4回洗浄し, 回収されたBALFをstainless steel meshにて濾過後250×gで10分間遠沈し上清と沈査に分離した. 沈査については総細胞数を算定するとともに塗抹標本作製し, May-Giemsa染色にて細胞分類を行ない, 上清については以下に示す方法にてalbuminとFNの定量を行なった(図1).

5. BALF中 Albumin (Alb) の定量

PBS (PH 7.2) によりAlb原液(Alb濃度43mg/ml: レーザーネフロメーター用標準血清: Boehringer) を0.43 mg/mlから0.0043 mg/mlの6段階に希釈し標準液を作製した. この標準液あるいはBALFの検体10μlを4%ポリエチレングリコールPBS溶液にて50倍に希釈したレーザーネフロメーター用抗ヒトAlbヤギ血清(Boehringer) 1mlに加え1時間室温にてincubateした. incubate後レーザーネフロメーター(Hyland)にて光散乱強度(% RLS)を測定し, 標準曲線を作成すると共にBALF中Alb濃度を求めた.

6. BALF中 FN の定量

Rennardらの方法¹²⁾に準じ, 96 well microplate (Costar) をBovine serum albumin (BSA: Sigma) のみでcoatingしたものを反応プレートとし, FN (ミドリ十字) でcoating後, さらにBSAでcoatingしたものを発色プレートとしたEnzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した(図1). 反応プレートのcoatingは1% BSA溶液200μlを各wellに注入し室温にて2時間incubate後0.1% Tween20 PBSにて3回洗浄した. 発色プレートのcoatingは, 先ずFN溶液(10μg/ml) 100μlを各wellに注入し4℃にて24時間incubate後溶液を廃棄し, 次いで反応プレートと同様にBSAでcoatingした. PBSにてFN 15μg/mlから0.015μg/mlまで11段階の標準液を作成し, この標準液あるいはBALFの検体75μlをPBS (PH 7.2) にて16000倍希釈したペルオキシダーゼ標識抗ヒトFN家兔抗体(serotec) 75μlと共に反応プレートのwellに注入し, 1時間反応させた後各wellの反応液100μlを発色プレートのwellに

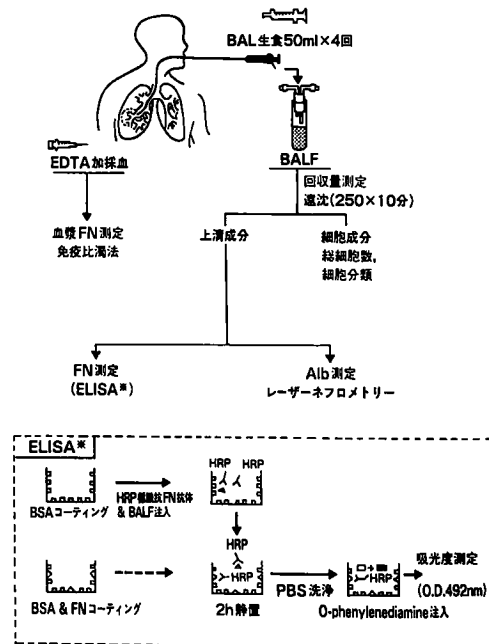


図1 検査方法

移し、さらに2時間 incubate した。次いで反応液破棄後、発色プレートの各 well を0.1% Tween20PBS にて5回洗浄し ortho-phenylenediamine を含む基質液100 μ l を注入し、30分後 4 NH_2SO_3 を100 μ l 加え発色反応を停止させた。次いでこの発色液をエリサリーダー (Bio Rad) にて吸光度 (O. D. 492nm) を測定し (図1)、検量曲線 (図2) を作成すると共に FN 濃度を求めた (測定限界: 3.8-0.29 $\mu\text{g/ml}$)。BALF 中の FN 濃度はそのまま直接検討に用いたが、同一 BALF 中の Alb 濃度との相対的な比を求め¹³⁾¹⁴⁾ これについても検討した。

7. BALF 中細胞による FN 産生能

BALF 中に回収された細胞をマクロファージについて RPMI-1640 により 5×10^5 個/ml に調整し、1 ml を直径33mm のプラスチックシャーレの中に入れ 5% CO_2 incubater を用いて37 $^\circ\text{C}$ 2時間静置した。RPMI-1640 1 ml \times 3回シャーレを洗浄し非付着細胞を分離した。非付着細胞は10% FCS 加 RPMI-1640 にて 5×10^5 個/ml に再調整し 1 ml を別のシャーレに入れ、付着細胞についてはそのまま10% FCS 加 RPMI-1640 1 ml にて 5% CO_2 incubater 内で37 $^\circ\text{C}$ 48時間培養後、各々上清中の FN 濃度

を BALF 中 FN と同様の方法で測定した。

成 績

1. 血漿中 FN 濃度

血漿中 FN 濃度は NC 群 333.3 ± 92.4 (M \pm SD) $\mu\text{g/ml}$ に対し、IIP 群 $365 \pm 96.5 \mu\text{g/ml}$, RA + IP 群 $330 \pm 33.7 \mu\text{g/ml}$, HP 群 $339 \pm 114.9 \mu\text{g/ml}$, サ症群 $326.3 \pm 112.9 \mu\text{g/ml}$ といずれも差を認めなかった (図3)。

2. 血漿中 Alb 濃度

血漿中 Alb 濃度は NC 群 $47.2 \pm 4.6 \text{mg/ml}$ に対して IIP 群 $40.8 \pm 6.5 \text{mg/ml}$, RA + IP 群 $38.3 \pm 4.1 \text{mg/ml}$, HP 群 $46.4 \pm 4.5 \text{mg/ml}$, サ症群 $46.9 \pm 3.8 \text{mg/ml}$ と IIP 群と RA + IP 群で軽度低値であった。

3. 血漿 FN/Alb

血漿 FN/Alb 比は NC 群 $7.1 \pm 2.0 \mu\text{g/mg}$ に対して IIP 群 $8.1 \pm 1.1 \mu\text{g/mg}$, RA + IP 群 $8.6 \pm 1.4 \mu\text{g/mg}$, HP 群 $7.5 \pm 2.9 \mu\text{g/mg}$, サ症群 $6.7 \pm 2.2 \mu\text{g/mg}$ と各群で差はなかった。

4. BALF 中 FN 濃度

BALF 中 FN 濃度は最高5.1 $\mu\text{g/ml}$ で IIP, RA + IP 群では全例測定範囲にあったが、HP 群で1例測定限界以上であったため検体を PBS にて2倍希釈して測定した。また、NC 群で12例中8例、HP 群で10例中3例、サ症群

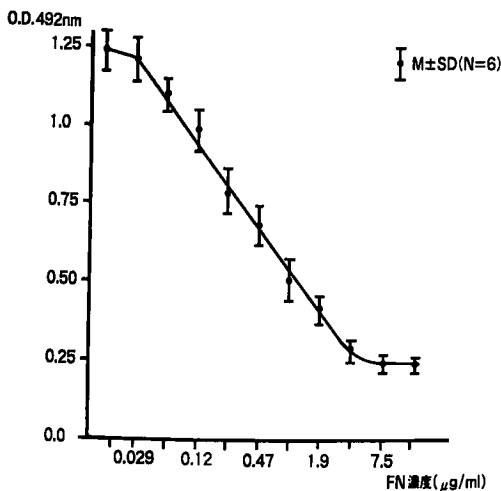


図2 ELISA による Fibronectin 測定
BALF 中 Fibronectin 測定時の検量線を示した。Fibronectin 濃度0.029-3.8 $\mu\text{g/ml}$ の間で直線が得られた。

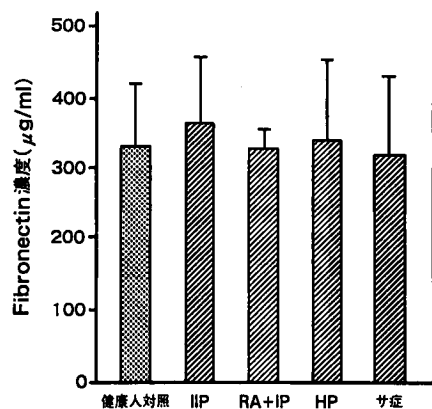


図3 各種間質性肺疾患における血漿 Fibronectin 濃度
健康人対照と各種間質性肺疾患の間で差はなかった。

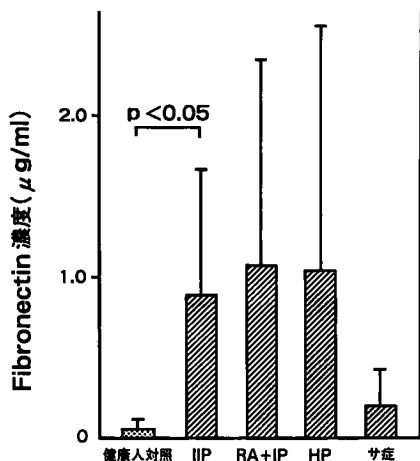


図4 各種間質性肺疾患におけるBALF中Fibronectin濃度
健康人対照に比較して、サ症を除く間質性肺疾患で高い傾向であった。

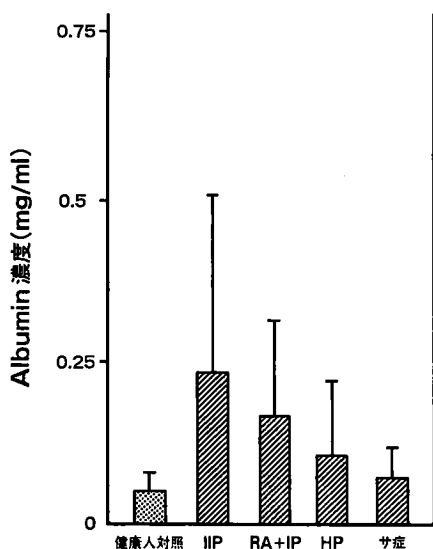


図5 各種間質性肺疾患におけるBALF中Albumin濃度
健康人対照に比較して、サ症を除く間質性肺疾患で高い傾向であった。

で24例中6例が測定限界以下でありそれらの症例については、一括して測定限界下限の0.029 μg/mlとして以下の検討を行った。NC群0.064 ± 0.059 μg/mlに対し、IIP群0.85 ± 0.77 μg/ml、RA+IP群1.07 ± 1.28 μg/ml、

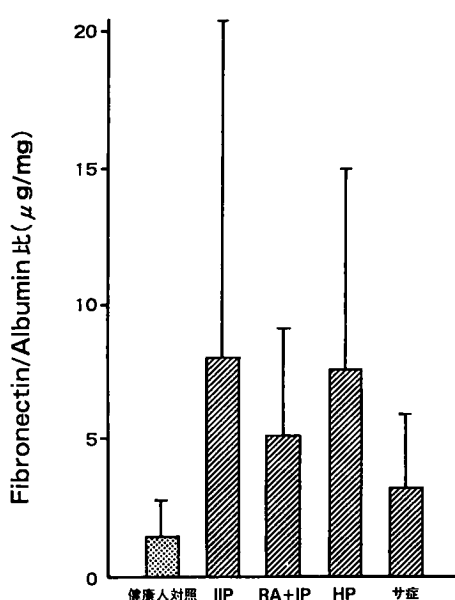


図6 各種間質性肺疾患におけるBALF中Fibronectin/Albumin比
健康人対照に比較して、各種間質性肺疾患で高い傾向であった。

HP群1.05 ± 1.58 μg/ml、サ症群0.20 ± 0.23 μg/mlとIIP群、RA+IP群、HP群において高値となる傾向がみられ、サ症でも軽度高値であった(図4)。

5. BALF中Alb濃度

BALF中Alb濃度はNC群0.052 ± 0.026 mg/mlに対し、IIP群0.23 ± 0.28 mg/ml、RA+IP群0.15 ± 0.14 mg/ml、HP群0.11 ± 0.12 mg/ml、サ症群0.059 ± 0.038 mg/mlとサ症を除く間質性肺疾患群で高値となる傾向であった(図5)。

6. BALF中FN/Alb比

BALの回収率が症例により異なることや炎症に伴うFNの流血中より肺局所への移行を補正する意味で、BALF中FN/Alb比(μg/ml)を求め各疾患群の比較を行なった。NC群1.4 ± 1.2 μg/mlに対し、IIP群8.2 ± 12.4 μg/ml、RA+IP群5.1 ± 3.9 μg/ml、HP群7.7 ± 7.5 μg/ml、サ症群3.2 ± 2.5 μg/mlいずれの間質性肺疾患群においても高値となる傾向が認められた(図6)。

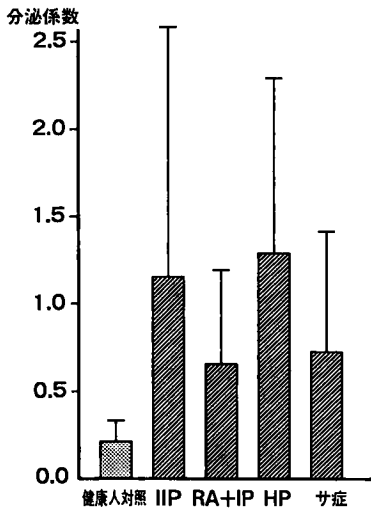


図7a 各種間質性肺疾患と Fibronectin 分泌係数
健康人対照に比較して、各種間質性肺疾患において Fibronectin 分泌係数 [(BALF FN/Alb)/(血漿 FN/Alb)] は高値となる傾向であった。

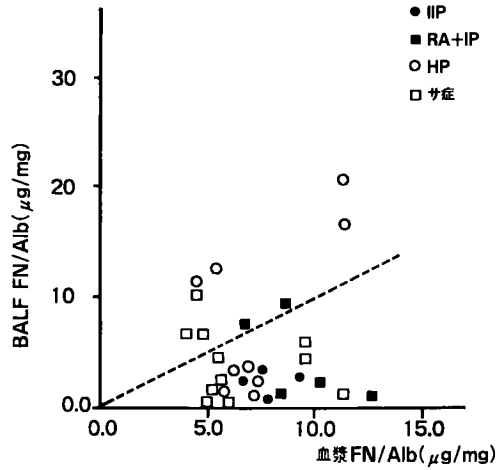


図7b 血漿 Fibronectin/Albumin 比と、BALF 中 Fibronectin/Albumin 比の相関
血漿 FN/Alb 比と BALF 中 FN/Alb 比の間に相関は認められなかった。点線 (y=x) より左上部の10例は分泌係数が1.0以上で肺局所での FN 産生が増加していると考えられた。

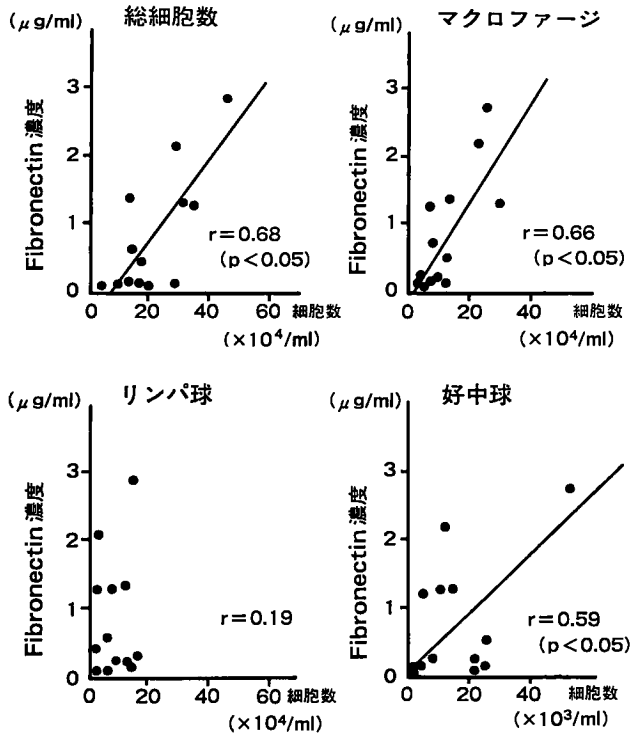


図8 IIP, RA+IPにおけるBALF中細胞とFibronectin濃度
総細胞濃度、マクロファージ濃度、好中球濃度とFN濃度との間に正の相関が認められた。

7. FN の分泌係数

肺局所での FN 産生能を検討する目的で FN の分泌係数¹⁵⁾ [BALF 中 FN/Alb ($\mu\text{g}/\text{mg}$) / 血漿中 FN/Alb ($\mu\text{g}/\text{mg}$)] を算出し比較した. NC 群 0.204 ± 0.13 に対して, IIP 群 1.14 ± 1.472 , RA+IP 群 0.64 ± 0.52 , HP 群 1.3 ± 1.0 , サ症群 0.7 ± 0.68 , と各間質性肺疾患で高値であった (図 7 a). また, NC 群では全例 1.0 以下であったが IIP 群で 5 例中 1 例, RA+IP 群で 4 例中 2 例, HP 群で 9 例中 4 例, サ症群で 11 例中 3 例が 1.0 以上であり BALF 中 FN 濃度の増加が血流よりの移行でなく局所における FN 産生増加によるものである事を示唆する成績であった (図 7 b).

8. BALF 中の FN 濃度と細胞成分

BALF 中 FN 濃度と BALF 中細胞成分との関連をみる目的で, IIP と RA+IP に関して BALF 中 FN 濃度と BALF 1 ml 中の各種細胞成分との相関を検討した. 総細胞数 ($r=0.68$, $p<0.05$), 肺泡マクロファージ ($r=0.66$, $p<0.05$), 好中球 ($r=0.59$, $p<0.05$) と FN 濃度との間にいずれも有意の正の相関が認められた. BALF 中肺泡マクロファージ, あるいは好中球各々の実数増加と FN 濃度との間に密接な関連があると考えられた (図 8). しかし, 各細胞百分率比との間には一定の傾向はなかった.

9. BALF 中細胞による FN 産生能

肺局所における FN 産生を解析する目的で, NC 群と間質性肺疾患症例 (IIP 5 例, サ症 1 例) において BALF 中細胞を分画し付着細胞と非付着細胞に区分し, 各々の分画について FN 産生能を比較した. ここで付着細胞は 90% 以上が肺泡マクロファージであり, 非付着細胞は 75% 以上がリンパ球であった. そこで, 付着細胞を肺泡マクロファージと考えて以下の検討を行なった. まず, 間質性肺疾患症例付着細胞である肺泡マクロファージ (5×10^5 個) を用いて経時的に FN 産生能を検討した. 4 時間で $0.059 \pm 0.045 \mu\text{g}$, 12 時間で $0.21 \pm 0.25 \mu\text{g}$, 24 時間で $0.34 \pm 0.13 \mu\text{g}$, 48 時間で $0.61 \pm 0.20 \mu\text{g}$, 72 時間で $0.67 \pm 0.43 \mu\text{g}$ と 48 時間でほぼ平衡に達した (図 9 a). そこで, 肺泡マク

ロファージ培養 48 時間における FN 産生能を比較した. NC 群 ($n=5$) で $0.075 \pm 0.064 \mu\text{g}$ に対して間質性肺疾患症例 ($n=6$) では $0.59 \pm 0.18 \mu\text{g}$ と有意 ($p<0.001$) に高値であり間質性肺疾患における肺泡マクロファージの FN 産生能の亢進が明らかとなった (図 9 b).

一方, 間質性肺疾患における BALF 中の非付着細胞 (5×10^5 個) による FN 産生能を見

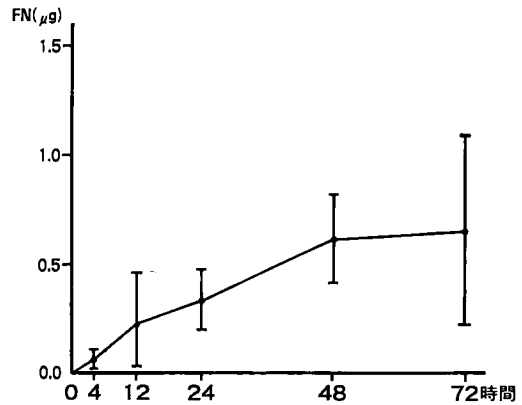


図9a 間質性肺疾患症例の BALF 中マクロファージ (5×10^5 個) の Fibronectin 産生能の経時的变化
間質性肺疾患症例より得られた BALF 中 FN 産生能は 48 時間で平衡となった.

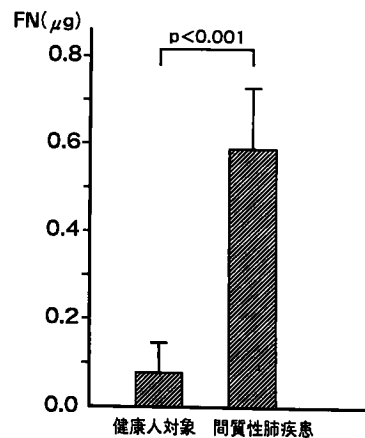


図9b 健康人対照, 間質性肺疾患症例より得られた BALF 中マクロファージ (5×10^5 個) の Fibronectin 産生能
48 時間の肺泡マクロファージ FN 産生能は間質性肺疾患群で有意に増加していた.

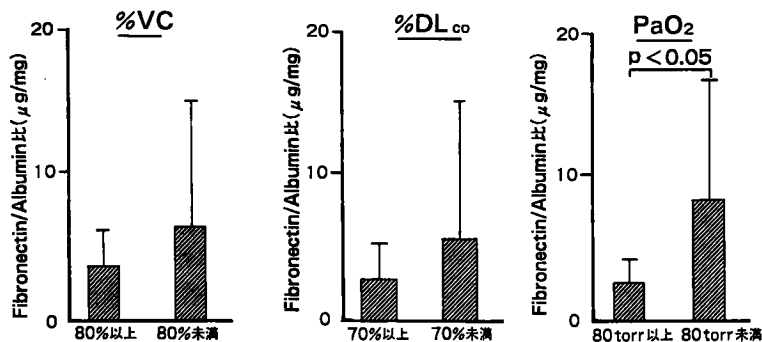


図10 間質性肺疾患における BALF 中 Fibronectin/Albumin 比と肺機能検査成績
拘束性障害、拡散障害、低酸素血症を示す群で BALF 中 FN/Alb は高値となる傾向であった。

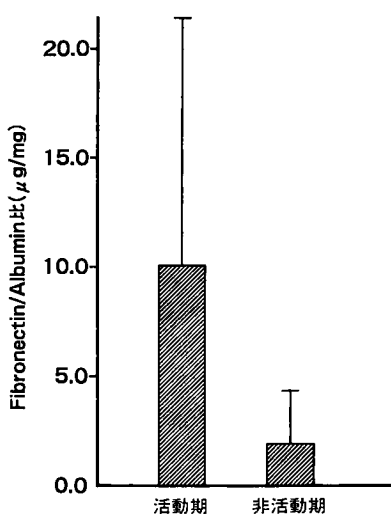


図11 IIP, RA+IP の活動期と非活動期における
BALF 中 Fibronectin/Albumin 比
非活動期に比較して活動期において BALF 中
FN/Alb 比は高値となる傾向であった。

PaO₂ が30例であった。% VC 80%以上の群で 2.6 ± 2.0 μg/mg に対し、80%未満の群では 7.0 ± 9.0 μg/mg と高い傾向があった。% DLco については70%以上の群で 3.2 ± 2.7 μg/mg に対し、70%未満の群で 5.4 ± 9.0 μg/mg と高い傾向があった。PaO₂ については80 torr 以上の群で 2.4 ± 1.4 μg/mg に対し、80 torr 未満の群では 7.7 ± 9.1 μg/mg (p < 0.05) と有意に高値であった。以上より、拘束性換気障害、拡散障害、低酸素血症の各々の肺機能低下すなわち肺線維化の進行に一致して肺局所 FN の増加が認められた (図10)。

2). IIP, RA+IP の活動性

IIP と RA+IP に限って、3ヶ月以内における胸部 X 線像、肺機能、臨床症状の進行程度により活動期と非活動期に区分¹⁶⁾して BALF 中 FN/Alb 比の比較を行なった。活動期症例では 9.9 ± 11.7 μg/mg と高値であったが、非活動期症例では 1.9 ± 1.3 μg/mg と低値であった。間質性肺炎の活動性と肺局所 FN レベルとが密接な関連にあることが推察された (図11)。

3). HP の病期分類

HP においては、抗原暴露に伴う有症状期と無症状期の症例を区分して BALF 中 FN/Alb 比の比較を行なった。無症状期の 3.2 ± 3.8 μg/mg に対して有症状期で 12.1 ± 3.2 μg/mg と有意 (p < 0.01) に高値であり、肺局所 FN レベルは過敏性肺臓炎における活動性を反映すると思われた (図12)。

4). サ症の病期分類

ると 0.053 ± 0.043 μg と付着細胞に比較して低値であり肺局所で産生される FN は主にマクロファージに由来すると思われた。

10. 間質性肺疾患の病態と BALF 中 FN/Alb 比

1). 肺機能検査

間質性肺疾患例全体を一括して、% VC, % DLco, PaO₂ の各肺機能検査項目の値に基づいて2群に区別し、BALF 中 FN/Alb 比の比較を行なった。BAL とほぼ同時期に検査が出来たのは % VC が 36 例、% DLco が 25 例、

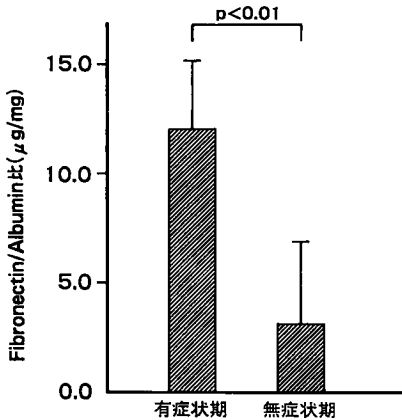


図12 HPにおける症状の有無とBALF中Fibronectin/Albumin比
無症状期に比較して有症状期にBALF中FN/Alb比が高値であった。

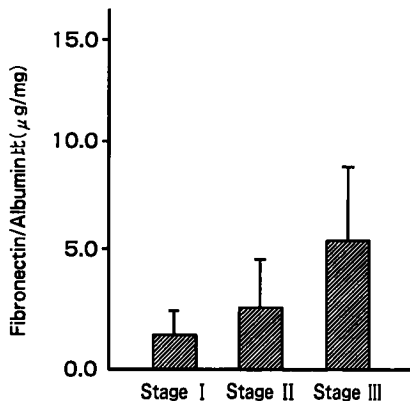


図13 サ症における肺病変とBALF中Fibronectin/Albumin比
肺野陰影の認められる群においてBALF中FN/Alb比が高値となる傾向であった。

サ症においては胸部X線像における肺野の陰影の有無と肺門リンパ節腫大¹⁷⁾の有無によってBALF中FN/Alb比の比較を行なった。肺門リンパ節腫大のみのstage Iで $1.6 \pm 0.7 \mu\text{g/mg}$ 、肺門リンパ節腫大と肺野陰影を有するstage IIで $2.9 \pm 2.1 \mu\text{g/mg}$ 、肺野陰影のみのstage IIIで $5.9 \pm 3.2 \mu\text{g/mg}$ と肺野陰影のある群で高値となる傾向であった(図13)。サ症においてBALF中FNレベルは肺野病変と密接に関連すると思われた。

考 案

血漿中のFNについては、増加を来す疾患として瘧¹⁸⁾、SLE¹⁹⁾、甲状腺機能亢進症²⁰⁾、ネフローゼ症候群²¹⁾等があり、減少するものとしてはDIC⁷⁾、熱傷²²⁾、肝硬変²³⁾等の報告があるが、呼吸器疾患に関しては重症の呼吸器感染症で低下するという報告が有るのみで、慢性閉塞性肺疾患²⁴⁾、間質性肺疾患⁴⁾ではFN血中レベルに変動は見られてない。間質性肺疾患における我々の行なった検討においても、血漿中FNの値に差はみられなかった。FNは内皮細胞、線維芽細胞など間葉系の細胞より産生されており血漿中FNプールの大きさのために間質性肺疾患では変動が見られないものと思われた。

間質性肺疾患における肺線維化自体の進展機序として、活性化した肺胞マクロファージよりのFN、AMDGFなどmediatorの産生増加、これに伴う肺局所への線維芽細胞の遊走促進、線維芽細胞の増殖促進、さらにコラーゲン線維産生増加という一連の過程²⁵⁾が推定されている。従って、肺局所におけるFNを測定することが、間質性肺炎における線維化進行のより直接的指標となることが推定された。

BALは種々のびまん性肺疾患における診断、病態解析に応用され、細胞成分、液性成分の変動が間質性肺炎の活動性や臨床上の予後との関連で注目されている^{26) 27) 28) 29)}。

著者らがBALを用いて検討したBALF中FN、即ち肺局所FNレベルは健康人対照に比較して間質性肺疾患症例において高値であった。症例によるバラツキは各症例の病期が異なるためと思われた。Rennard⁴⁾らはIdiopathic pulmonary fibrosis (IPF)、サ症など間質性肺炎症例のBALF中FNを測定し、健康人対照に比較して高値であったと報告している。著者の検討ではサ症においてはあまり高値でなく、これは対象となったサ症症例の肺野病変、線維化が軽度であったためと思われた。

間質性肺疾患症例のBALF中のAlb濃度の測定を行った所、サ症を除くIIP、RA+IP、HPの各群において高値となり、BALF中FN

と Alb レベルが同様な傾向を示した事は間質の炎症性変化による血管の透過性亢進により流血中の種々の蛋白が肺局所へ移行する事が考えられた。しかしながら、間質性肺疾患における FN の肺局所における高値が、単に透過性の亢進によるものか、局所産性能の亢進によるものかどうかは鑑別が困難である。そこで、著者の検討では BALF 中 FN と Alb の比を求めこの FN/Alb 比を比較したところ間質性肺疾患において高値であり、このことは BALF 中 FN 濃度増加が肺局所産生の亢進によることを推定させる。さらに、安岡らは対象とする蛋白の分子量が Alb と同程度の場合に分泌係数 [BALF 中 FN/Alb ($\mu\text{g}/\text{mg}$) / 血漿中 FN/Alb ($\mu\text{g}/\text{mg}$)] が 1.0 以下であれば肺局所で産生されている度合いが少なくと報告している¹⁵⁾。しかし、血漿 FN は 2 量体で分子量は約 45 万であり分子量約 6.9 万の血清 Alb に比べ大きく当然透過率は低いと考えられ、FN については分泌係数が 1.0 以下であっても肺局所の産生が少ないとはいえない。著者の対象とした IIP, HP, RA+IP, サ症において分泌係数を算出し検討したところ、健康人対照に比べ各間質性肺疾患で高値を示しさらに、IIP と HP では分泌係数が平均値 1.0 を越えており、さらに全症例中 1.0 以上の分泌係数を示す症例が 10 例認められた。また、BALF 中 FN/Alb 比と血漿中 FN/Alb 比の相関を検討しても両者の間に相関関係はなく BALF 中 FN が血漿中からの移行したものでないことが推察された(図 7b)。

肺局所における FN 産生を直接検討する目的で BALF 中の細胞成分を付着細胞と非付着細胞に区分し、各々の細胞による FN 産生能を比較検討したところ BALF 細胞成分の FN 産生能は大部分付着細胞即ち肺胞マクロファージによることが明らかとなった。さらに、健康人対照と間質性肺疾患症例の肺胞マクロファージの FN 産生能を比較したところ、間質性肺疾患症例の肺胞マクロファージにおいて有意に FN 産生が亢進していた。以上のように BALF 中 FN 増加の大きな要因として肺局所における肺胞マクロファージによる FN 産生亢進が関与していることが明らかとなった。

BALF 中 FN/Alb 比と間質性肺疾患における種々の病態との関連を検討した。拘束性換気障害、ガス拡散障害、動脈血酸素分圧低下などの各々の肺機能検査上の parameter における肺機能障害の程度との関連では障害程度の増強に一致した FN/Alb 比の高値が明らかとなり、FN/Alb 比が間質性肺疾患における臨床上の病像を反映すると思われた。また、IIP 及び RA+IP において、臨床経過から判定した活動性か非活動性かの病期区分を行ない、HP においては臨床症状の有無により有症状期と無症状期に区分して各群の BALF 中 FN/Alb 比を比較したところ IIP, RA+IP においては活動期に、HP においては有症状期に高値であった。さらに、サ症においては Stage I-III までの病期区分を行い、各病期における BALF 中 FN/Alb 比を比較したところ肺野病巣の有無と密接な関連が示され各種間質性肺疾患における臨床上の病態の活動性を判定する上で BALF 中 FN/Alb 比は有用な指標となり得ると思われた。

さらに、間質性肺疾患の病態と密接な関連を有する BALF 中細胞成分と同一の BALF 上清中に含まれる FN 濃度について検討したところ、BALF 1 ml 中の肺胞マクロファージ数、好中球数と推計学上有意の正の相関が認められた事は肺線維化の機序を考える上で興味深い成績と思われた。

結 語

各種間質性肺疾患について、肺線維化と密接に関与すると思われる Fibronectin の BALF 中濃度を ELISA により定量測定しその臨床的意義について検討を行い以下の結果を得た。

1. 血漿中 FN 濃度は健康人対照と各種間質性肺疾患において差はなかった。
2. BALF 中 FN 濃度並びに FN/Alb 比は健康人対照に比較して IIP, RA+IP, HP, サ症において高値となる傾向であった。
3. BALF 中細胞成分と BALF 中 FN/Alb 比との関連を検討したところ、IIP, RA+IP では総細胞数、マクロファージ数、好中球数との間に有意の正の相関が認めら

れた。

4. BALF 中 Alb との対比あるいは分泌係数より見た BALF 中 FN レベルの検討より肺局所 FN の増加が局所産生に基づく事が推定された。
5. 間質性肺疾患の BALF 中のマクロファージの FN 産生能は、健康人対照に比較して有意に亢進していることより、間質性肺疾患では肺局所で FN の産生が亢進しており、BALF 中 FN 増加の大きな要因になっていると思われた。

6. BALF 中 FN/Alb 比は、IIP, IP+RA の臨床上的活動期, HP の有症状期, サ症の肺野病巣のある群において高値となり臨床病態の有用な指標となると思われた。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜りました恩師木村郁郎教授に深謝すると共に、始終懇切な御指導、御助言を頂きました多田慎也講師、中田安成講師に深謝致します。尚、本論文要旨は第26回日本胸部疾患学会総会、第9回日本気管支学会総会において発表した。

文 献

1. 松田道生：フィブロネクチンと組織修復。最新医学 (1984) 39, 2030-2033.
2. 長田 博, 長谷川 淳, 川上義和：fibronectin と肺, 呼吸と循環 (1984) 32, 336-340.
3. 林 正夫, 平野英保：フィブロネクチンの構造と機能—ドメイン構造・遺伝子構造を中心に—。蛋白質核酸酵素 (1983) 28, 169-181.
4. Rennard SI and Crystal RG: Fibronectin in human bronchopulmonary lavage fluid, elevation in patients with interstitial lung disease. J Clin Invest (1981) 69, 113-122.
5. Bitterman P, Rennard S, Adelberg S and Crystal RG: Role of fibronectin in fibrotic lung disease. A growth factor for human lung fibroblasts. Chest (1983) 83, 96S May.
6. Bitterman PB, Rennard SI, Adelberg S and Crystal RG: Roles of fibronectin as a growth factor for fibroblasts. J Cell Biol (1983) 97, 1925-1932.
7. Matsuda M, Yoshida N, Aoki N and Wakabayashi K: Distribution of cold-insoluble globulin in plasma and tissue. Ann NY Acad Sci (1978) 312, 74-92.
8. Rennard SI, Hunninghake GW, Bitterman PB and Crystal RG: Production of fibronectin by the human alveolar macrophage; mechanism for the recruitment of fibroblast to sites of tissue injury in interstitial lung disease. Proc Natl Acad Sci (1981) 78, 7147-715.
9. 山本眞志：特発性間質性肺炎における局所フィブロネクチンの動態。日胸疾会誌 (1986) 24, 991-998.
10. Bitterman PB, Rennard SI, Keogh BA, Adeberg S and Crystal RG: Chronic release of fibronectin and macropage derived growth factor correlates with functional deterioration on fibrotic lung. Clin Res (1983) 31, 414A.
11. 竹山博泰：気道細胞反応からみた呼吸器疾患の研究。気管支肺胞洗浄法による気管支喘息の病態に関する研究。岡山医学会雑誌 (1981) 93, 1040-1041.
12. Rennard SI, Rerg GR, Martin JM, Foidart JM, Geheron-robey P: Enzyme-linked immunoassay (ELISA) for connective tissue components. Anal and Biochem (1980) 104, 205-214.
13. Reynolds HY, Fulmer JD, Kazmierowski JA, Roberts WC, Frank MM, Crystal RG: Analysis of cellular and protein content of bronch-alveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. J Clin Invest (1977) 59, 165-175.
14. 安岡 劭, 中山 正, 石見寿康, 尾崎敏夫, 蝶良英郎, 越智規夫：気管支—肺胞洗浄液の蛋白成分、とくにアルブミンと IgG の測定。日胸疾会誌 (1981) 19, 230-238.
15. 安岡 劭, 尾崎敏夫, 河野智弘, 中西嘉巳, 谷 憲治, 前田道彦, 藤沢謙次, : 気管支肺胞洗浄液の免疫学的。生化学的動態。最新医学 (1986) 41, 1366-1377.

16. 木村郁郎：一老年者の疾病・病態別の薬物療法—びまん性間質性肺炎。老年医学 (1984) 22, 1835—1841.
17. Scadding JG and Mitchell DN : Sarcoidosis (1985) pp 101—180
18. Choate JJ. and Mosher EF : Fibronectin concentration in plasma of patients with breast cancer, colon cancer, and acute leukemia. Cancer (1983) 51, 1142—1147.
19. 松本美富士, 若園清行, : 膠原病における血漿中 Fibronectin の検討。医学のあゆみ (1982) 120, 1122—1124.
20. 白神 暉, 平井裕二郎, 武市俊彰, 宮 恵子, 猪木淳司, 渡辺滋夫, 重清俊夫, 川内茂徳, 斉藤史朗, : 甲状腺疾患における血漿フィブロネクチンの動態, 最新医学 (1984) 39, 2096—2100
21. Stathakis NE, Fountas A and Tsianos E : Plasma fibronectin in normal and various disease states. J Clin Pathol (1981) 34, 504—508.
22. Lanser ME, Saba TM and Scovill WA : Opsonic glycoprotein (Plasma fibronectin) levels after burn injury. Ann Surg (1980) 192, 776.
23. 白神 暉, 川内茂徳, 上里隆信, 宮 恵子, 重清俊夫, 荒川忠治, 武市俊彰, 宮本 弘, 小坂昌明 : 各種疾患における血漿 Fibronectin 値とその臨床的意義。日血会誌 (1982) 45, 345.
24. 押谷 浩 : 呼吸器感染症におけるフィブロネクチンの動態。最新医学 (1984) 39, 2051—2054.
25. Hunnigake WG, Garrett KC, Richerson HB, Fantone JC, Ward PA, Rennard SI, Bitterman PB, Crystal RG : Pathogenesis of the Granulomatous lung diseases. Am Rev Respir Dis (1984) 130 : 476—496
26. Godart P, Clot J and Jonquet O. : Lymphocyte subpopulation in bronchoalveolar lavage of patients with sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. Chest (1981) 80, 447—452.
27. 木村郁郎. : 気管支肺胞洗浄液。免疫と疾患 (1982) 4, 329—336
28. 木村郁郎, 中田安成, 多田慎也, 田村尚彦. : 特発性間質性肺炎の病態に関する研究—気管支肺胞洗浄法による検討—。厚生省特定疾患。間質性肺疾患調査研究班, 昭和58年度研究報告書 (1984), pp 73—77.
29. 木村郁郎, 中田安成, 多田慎也, 田村尚彦. : 特発性間質性肺炎の気道細胞反応。厚生省特定疾患。間質性肺疾患調査研究班, 昭和59年度研究報告書 (1985), pp 49—54.

**Studies on clinicopathological changes
in interstitial lung diseases.**

Makoto NABE

I. Fibronectin in bronchoalveolar lavage fluid.

Second Department of Internal Medicine.

Okayama University Medical School.

(Director: Prof. I. Kimura)

Fibronectin (FN) is known to promote fibroblast proliferation and attachment of collagen fibers at the site of tissue repair or fibrosis. Although increased levels of FN were shown in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid of patients with interstitial pneumonia, the source of FN and the role of FN in the pathogenesis of interstitial pneumonia are still obscure. BAL fluid of patients with various types of interstitial pneumonia were obtained to measure FN and albumin (Alb) levels and to examine the cellular components. Because of the different recovery rate of BAL fluid, the FN/Alb ratio of the BAL fluid was evaluated as the real FN level in the lungs. A high FN/Alb ratio was shown in patients with idiopathic interstitial pneumonia, interstitial pneumonia with rheumatoid arthritis, hypersensitivity pneumonitis, and sarcoidosis in comparison with normal volunteers. Patients with impaired pulmonary function or acute and progressive interstitial pneumonia were shown to have a higher FN/Alb ratio than patients with normal pulmonary function or inactive interstitial pneumonia. The levels of FN in BAL fluid showed a statistically significant correlation with total cell, alveolar macrophage and neutrophil concentrations of BAL fluid, but not with the lymphocyte concentration. Alveolar macrophages, isolated as adhesive cells by a brief incubation in plastic culture plates, were cultured for 48 hours, and the level of FN in the culture medium was measured. FN production by alveolar macrophages was greater in patients with interstitial pneumonia than in normal volunteers. These data suggest that the local increased production of FN might accelerate the fibrotic process in the alveolar wall, following the accumulation of alveolar macrophages and other cellular components.