

学位論文題名

Serum KL-6 Levels in Dairy Farmers

(酪農従事者における血清 KL - 6 値)

学位論文内容の要旨

研究目的：農夫肺症は、乾燥牧草中で成長する好熱性放線菌の吸入によって引き起こされる過敏性肺臓炎である。酪農家の中には、臨床症状や胸部レ線異常がないにもかかわらず、沈降抗体が陽性であったり、肺胞洗浄で明らかになるリンパ球性胞隔炎を呈する者が含まれるなど、従来の診断基準は農夫肺症を検出するのに十分に鋭敏であるとはいえない。しかしながら、肺胞洗浄検査や肺生検は侵襲的であり、農夫肺症検診に用いるのには適さない。一方、ムチン様高分子糖蛋白である KL-6 は、当初、腫瘍マーカーとして発見され、その血中濃度は肺癌、特に腺癌患者で高値であることが知られている。最近になって、間質性肺疾患の疾患活動性の指標となることがわかってきた。しかしながら、血清 KL-6 の測定が農夫肺症の疾患活動性を反映するか否かについての検討はいまだなされていない。今回、血清 KL-6 が農夫肺症の指標となりうるかどうかについて検討した。

対象と方法：我々は、1978 年から 1998 年まで北海道の最北の酪農地域で農夫肺症検診を行ってきた。今回、同地区の 272 名の酪農家を対象として検討した。全例が現在、酪農業を営んでおり、検診受診時に詳細なアンケート調査、内科的診察、呼吸機能検査、胸部レ線撮影と採血をおこなった。農夫肺症の診断は、かびの生えた乾燥牧草や糞への暴露歴、それらと接触した際や接触後におこる特徴的症状（発熱、咳嗽、呼吸困難）、*Saccharopolyspora rectivirgula* (SR) や *Thermoactinomyces vulgaris* (TV) に対する血清沈降抗体、及び、胸部レ線上のびまん性小粒状影やスリガラス影の存在の全てを満たしたとき、農夫肺症活動期と診断した。対象者を農夫肺症発症者（農夫肺症群）、沈降抗体陽性者（陽性群）、沈降抗体陰性者（陰性群）に分類した。血清 KL-6 値は、全ての対象者で測定した。農夫肺症群では農夫肺症を発症していない時期（非活動期）、すなわち、診断基準を満たさない時期の保存血清中の KL-6 値も測定した。SR と TV に対する沈降抗体の測定は対向流電気泳動法で行った。血清 KL-6 値の測定は ELISA 法で測定した。

結果：農夫肺症群は 5 例、沈降抗体陽性群は 30 例、陰性群は 237 人であった。年齢、性別、酪農従事年数、牛舎内作業時間、牧草地面積、酪農従事者数、成牛頭数、牧草取り扱い時間を含む酪農条件に三群間で差はなかった。喫煙率は抗体陰性群で農夫肺症群、抗体陽性群に比べて有意に高率であった（それぞれ 31%、20%、10%、 $p < 0.05$ ）。農夫肺症群における有症状者は抗体陽性群と陰性群に比べて高率であった（それぞれ 100%、43%、41%、 $p < 0.05$ ）。胸部異常陰影を有する率も農夫肺群において有意に高率であった（それぞれ 100%、3%、0.8%、 $p < 0.05$ ）。

ラ音を聴取する率も農夫肺症群で有意に高率であった（それぞれ 100%、10%、0.8%、 $p < 0.05$ ）。肺拡散能は農夫肺症群で抗体陽性群に比べ有意に低下していた（それぞれ DLco; 14.2 ± 0.5 [SE] 対 20.0 ± 1.3 、 $p < 0.01$ 、DL/VA ; 3.98 ± 0.38 対 5.02 ± 0.21 、 $p < 0.01$ ）。農夫肺症群、抗体陽性群、抗体陰性群のそれぞれの血清 KL-6 値は、 1263 ± 288 U/ml、 328 ± 57 U/ml、 207 ± 6 U/ml であり、農夫肺症群が他の二群に比べて有意に高値であった（ $p < 0.001$ ）。また、抗体陽性群は陰性群より有意に高値であった。5 例の農夫肺症群では活動期と非活動期の血清 KL-6 値を測定したが、活動期で有意に高値であった（それぞれ 1263 ± 288 U/ml 対 419 ± 209 U/ml、 $p < 0.05$ ）。血清 KL-6 値が抗体陽性群は陰性群に比べ有意に高値であったため、抗体陽性群を高 KL-6 群と正常 KL-6 の二群に分類した。血清 KL-6 値の正常範囲は、肺病変がないと考えられる抗体陰性群の値をもとに決定した。血清 KL-6 値は性別により有意に影響を受けたため、カットオフ値を男性では 440-450 U/ml、女性では 410-420 U/ml に設定した。高 KL-6 群は 8 例で、正常 KL-6 群は 22 例であった。肺拡散能が高 KL-6 群で正常 KL-6 群に比べて有意に低かった（それぞれ DLco; 16.2 ± 2.1 対 21.9 ± 1.3 、 $p < 0.01$ 、DL/VA ; 4.66 ± 0.33 対 5.22 ± 0.25 、 $p < 0.05$ ）。

考察：最近、血清 KL-6 値が間質性肺疾患における疾患活動性の良い指標であることが認識されてきた。特発性間質性肺炎では疾患活動性とよく相関し、肺胞洗浄液中の KL-6 値も上昇しており、肺胞洗浄液中のリンパ球数や好中球数と相関することが知られている。免疫染色で KL-6 は正常肺の II 型肺胞上皮細胞と呼吸細気管支上皮細胞に発現しており、特に特発性間質性肺炎では再生 II 型肺胞上皮細胞と肺胞マクロファージに発現している。これらの結果から、間質性肺疾患患者の血清 KL-6 の上昇は、下気道における、障害・再生した II 型肺胞上皮細胞からの産生を反映するものと考えられる。しかしながら、血清 KL-6 値が農夫肺症患者で上昇し、また、疾患活動性と関連があるか否かは不明であった。本研究で、農夫肺症群で抗体陽性群と陰性群に比べ血清 KL-6 値が有意に高値であり、また、農夫肺症の活動期は非活動期に比べて有意に高値であることが明らかになった。この結果は、血清 KL-6 値が農夫肺症の疾患活動性の良い指標であり得ることを示唆する。無症候性の沈降抗体陽性農夫が潜在的なリンパ球性胞隔炎を呈していたり、また、症状が消失した後もリンパ球性胞隔炎を呈する場合は認められる。しかしながら、抗 KL-6 抗体を用いた免疫染色では間質に浸潤するリンパ球は陰性であり、KL-6 と肺胞洗浄液中のリンパ球浸潤とは異なる病態をあらわしていると考えられる。サルコイドーシスでは血清 KL-6 値と胸部 CT での肺病変の広がりとは相関がある。特に活動期の農夫肺症の組織所見は II 型肺胞上皮細胞の増殖や II 型肺胞上皮や細気管支上皮細胞の変性という点で類似しており、このことが農夫肺症で血清 KL-6 値が高値である原因と推測される。本研究で沈降抗体陽性群は陰性群より血清 KL-6 値が高く、抗体陽性群のうちの 8 例で血清 KL-6 値は正常上限を越えていた。また、この 8 例は正常 KL-6 群に比べて DLco が 53%、DL/VA が 24% 低下していた。以上より、農夫肺症患者で血清 KL-6 値が高値であることと考えると、抗体陽性群の中の高 KL-6 群は、現在の診断基準では診断できない潜在する農夫肺症の存在を示唆するかもしれない。農夫肺症は酪農家における主たる職業性肺疾患の一つであり、酪農従事者を対象とした健康管理は重要である。農夫肺症検診の重要な点は、肺胞洗浄や胸部 CT、肺生検などの侵襲的な検査が必要な農夫肺症疑い例を如何に抽出するかということである。従来農夫肺症の

診断基準ではこのような検診には十分ではないことがいわれており、本研究で血清 KL-6 値の測定は疾患活動性を判定する非侵襲的で低コストの指標であり得るということと、検診により早期の農夫肺症を検出できる可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 石 橋 輝 雄
副 査 教 授 岸 玲 子
副 査 教 授 川 上 義 和

学 位 論 文 題 名

Serum KL-6 Levels in Dairy Farmers

(酪農従事者における血清 KL - 6 値)

従来の診断基準は農夫肺症を検出するのに十分に鋭敏であるとはいえないが、肺胞洗浄検査や肺生検は侵襲的であり、農夫肺症検診に用いるのには適さない。ムチン様高分子糖蛋白である KL-6 は、当初、腫瘍マーカーとして発見されたが、間質性肺疾患の疾患活動性の指標となることがわかってきた。しかし、血清 KL-6 の測定が農夫肺症の疾患活動性を反映するか否かについての検討はいまだなされていない。申請者は、272 名の酪農家を対象として、ELISA 法で血清 KL-6 値を測定し、これが農夫肺症の指標となりうるか否かについて検討した。農夫肺症の診断は、従来の診断基準を用いた。すなわち、かびの生えた乾燥牧草や糞への暴露歴、それらと接触した際や接触後におこる特徴的症状、*Saccharopolyspora rectivirgula* や *Thermoactinomyces vulgaris* に対する血清沈降抗体、及び、胸部レ線上のびまん性小粒状影やスリガラス影の存在の全てを満たしたとき、農夫肺症活動期と診断した。この診断基準に基づき、対象者を農夫肺症群、沈降抗体陽性群、沈降抗体陰性群に分類した。農夫肺症群は 5 例、沈降抗体陽性群は 30 例、陰性群は 237 人であった。年齢、性別、酪農従事年数、牛舎内作業時間、牧草地面積、酪農従事者数、牛頭数、牧草取扱時間を含む酪農条件に 3 群間で差はなかった。喫煙率は抗体陰性群で農夫肺症群、抗体陽性群に比べて有意に高率であった。農夫肺症群における有症状者は抗体陽性群と陰性群に比べて高率であった。胸部異常陰影を有する率も農夫肺症群において有意に高率であった。ラ音を聴取する率も農夫肺症群で有意に高率であった。肺拡散能は農夫肺症群で抗体陽性群に比べ有意に低下していた。農夫肺症群、抗体陽性群、抗体陰性群のそれぞれの血清 KL-6 値は、 1263 ± 288 、 328 ± 57 、 207 ± 6 U/ml であり、農夫肺症群が他の二群に比べて有意に高値であった。また、抗体陽性群は陰性群より有意に高値であった。5 例の農夫肺症群では活動期と非活動期の血清 KL-6 値を測定したが、活動期で有意に高値であった。血清 KL-6 値が抗体陽性群は陰性群に比べ有意に高値であったため、抗体陽性群を高 KL-6 群と正常 KL-6 の二群に分類した。血清 KL-6 値の正常範囲は、肺病変がないと考えられる抗体陰性群の値をもとに決定した。高 KL-6 群は 8 例で、

正常 KL-6 群は 22 例であった。肺拡散能が高 KL-6 群で正常 KL-6 群に比べて有意に低かった。以上の結果は、血清 KL-6 値が農夫肺症の疾患活動性の良い指標であり得ることを示唆し、抗体陽性群の中の高 KL-6 群は、現在の診断基準では診断できない潜在する農夫肺症の存在を示唆する可能性が考えられた。

発表後、副査岸教授から活動期・非活動期血清の測定期間についての質疑があった。申請者は年 1 回の農夫肺検診で得られた保存血清を用いており、受診状況により前年度分から 5 年前までばらつきがあると回答した。次に、活動性の評価にはどのくらいの間隔をおいて測定すべきかについての質疑があったが、季節性を考慮することと、他疾患での検討結果を挙げて、おおむね月 1-2 回の測定が妥当であると回答した。次に、副査川上教授から、正常値の男女差と、一般的に正常上限を 500U/ml に設定している理由についての質疑があった。他施設での正常値の設定結果を引用し、同様に男女差が認められ、85%以上の診断率が得られるための便宜的な設定値であると回答した。最後に、主査石橋教授から、KL-6 の接着能力の阻害作用と間質性肺疾患における意義についての質疑があった。構造上の特徴より、上皮細胞に発現することで感染防御の役割を果たしているかと回答した。次に、KL-6 の亜分子があるのであれば、その亜分子を用いることで、より疾患特異的な検討が可能ではないかとの質疑があった。亜分子はいままで 3 型が報告されているが、いまだ測定法は確立されておらず、現段階では検討できないが、今後、検討に値すると回答した。次に、DLco の差が少なく、本当に病気を発症しているかとの質疑があった。肺全体の拡散能を反映しているため、軽度の低下でも病変がびまん性に存在していることを表すと回答した。また、活動期でのみ上昇するのであれば、早期発見に結びつかないのではないかとの質疑があった。沈降抗体陽性群の中でも高値例が存在し、潜在する発症者を抽出できる可能性があるかと回答した。

この論文は、農夫肺症と KL-6 の関係についての初めての検討であり、その有用性を明らかにし、将来、早期の農夫肺症を検出できる可能性を示唆したものとして高く評価され、今後の臨床的な展開が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。