

慈大

2000
sep. 12-3

呼吸器疾患研究会誌

Jikei Journal of Chest Diseases

第 48 回慈大呼吸器疾患研究会を終えて	吉村邦彦	33
特別講演		
特発性肺胞蛋白症の病態形成と 抗 GM-CSF 抗体の臨床応用	中田 光	34
胸膜転移に IL-2 を胸腔内投与した 頭皮原発血管肉腫の 1 例	館野 直ほか	38
嚢胞液中の各種腫瘍マーカーが高値を呈した 成熟型縦隔奇形種の 1 手術例	佐藤修二ほか	40
Progastrin-releasing peptide 遺伝子 promoter と Cre/loxP system を用いた肺小細胞癌特異的 遺伝子治療の基礎的研究	諸川納早ほか	42

第 48 回研究会記録		44
投稿規定		45

**共催：慈大呼吸器疾患研究会
エーザイ株式会社**

Jikei University Chest Diseases' Research Association

第 48 回慈大呼吸器疾患研究会を終えて

当番世話人・吉村 邦彦
(青戸病院 呼吸器・感染症内科)

第 48 回慈大呼吸器疾患研究会は 2000 年 9 月 18 日午後 6 時より西講堂にて開催されました。今回は前半 4 題の一般臨床・基礎研究演題発表に続き、後半は国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部細菌性呼吸器疾患研究室長の中田光博士をお招きしての特別講演を拝聴しました。

まず、一般演題では土屋昌史先生（青戸病院呼吸器・感染症内科）に座長をお願いし、内科および外科系の症例報告と基礎研究発表についての活発な議論が交わされました。一般演題 1 は本院呼吸器・感染症内科の館野直先生による「胸膜転移に IL-2 を胸腔内投与した頭皮原発血管肉腫の一例」の発表で、まれな悪性腫瘍に対するサイトカイン療法について新しい知見を示されました。一般演題 2 は本院呼吸器外科の佐藤修二先生による「嚢胞中の各種腫瘍マーカーが高値を呈した縦隔奇形種の 1 手術例」に関する演題でしたが、腫瘍マーカーを産生する腫瘍細胞の起源について示唆に富む症例報告でした。次いで一般演題 3 は第三病院呼吸器・感染症内科の南次郎先生による「嗄声を主訴とし、ボタローリンパ節腫脹で発見された悪性リンパ腫の 1 例」についての発表で、悪性リンパ腫の初発症状としてボタローリンパ節腫脹に基づく嗄声がありうることをご指摘いただいた貴重な症例の報告でした。最後の一般演題 4 は、DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門の諸川納早先生による「ProGRP promoter と Cre/loxP system を用いた肺小細胞癌の遺伝子治療の基礎研究」に関する発表で、肺小細胞癌に特異的な腫瘍マーカーである proGRP の遺伝子 promoter と Cre/loxP システムによる発現制御系を利用し、アデノウィルスベクターを用いた肺小細胞癌特異的かつ導入遺伝子の高度発現に関する *in vitro* 研究成果を示され、将来的な肺小細胞癌の遺伝子治療の実現に関する精力的な研究の一端が報告されました。

後半の中田光先生による特別講演「特発性肺胞蛋白症の病態形成と抗 GM-CSF 抗体の臨床応用」では、これまでの数年に及ぶ中田先生らの研究グループの世界的な研究成果をお話いただきました。すでに概略は 1999 年 9 月の *J. Exp. Med.* 誌に発表されていますが、これまで病因が不明でありました特発性肺胞蛋白症が、実は肺胞上皮や肺胞マクロファージで産生され、サーファクタントの再吸収や異化に密接に関わるサイトカイン、GM-CSF に対する自己抗体産生に起因する自己免疫疾患であることを明らかにしたものであります。すでに 1994 年に GM-CSF のノックアウトマウスにおいて肺胞蛋白症ときわめて類似した病態が生じることが発表されておりましたが、その後実際のヒトの特発性肺胞蛋白症の成因解析までは至っておりませんでした。中田光先生方の成績は、わが国が世界に誇れる快挙と言っても過言ではありません。今後、ますますの研究面での活躍を期待したいと思います。

研究会の終了後、高木 2 号館のリーベにおいて、中田光先生を交えてのささやかな懇親会を開催させていただきました。臨床呼吸器診療や、また呼吸器疾患に関わる基礎研究の方向などさまざまな意見交換が行なわれ、和やかなうちに会はお開きとなりました。

2000 年および 20 世紀も残すところあと 3 ヵ月余となりましたが、来るべき新世紀に向けて、東京慈恵会医科大学ならびにその関連施設におきまして、呼吸器疾患の診療、教育、ならびに研究に携わられる諸先生方のますますのご発展と、本研究会の盛会を祈念して、当番世話人のまとめとさせていただきます。

特発性肺胞蛋白症の病態形成と抗 GM-CSF 抗体の臨床応用

中 田 光

(国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部)
細菌性呼吸器疾患研究室長

特発性肺胞蛋白症の肺胞洗浄液上清が単球やマクロファージ細胞株の増殖を強く抑制することを見出し、この活性の精製を試みたところ、GM-CSF 特異的な中和抗体であることを確認した。また、この中和抗体は患者血清中にも存在することを利用し、本症の血清診断を試みた。この抗体は 24 例の特発性の患者血清および肺洗浄液においてのみ検出され、5 例の続発性、2 例の先天性の患者からは検出されなかったことから、血清診断が可能と考えた。本症においては、何らかの原因で GM-CSF 中和自己抗体が産生され、肺胞中の GM-CSF の生物活性を中和することにより、単球からの肺胞マクロファージへの分化と肺胞マクロファージの自己増殖が抑制され、サーファクタントの分解が障害され発症するのではないかと思われる。

肺胞蛋白症と肺サーファクタントの代謝障害

肺胞蛋白症 (PAP) は、肺胞および終末気管支に過剰なサーファクタントの貯留が認められるまれな疾患で、先天性と後天性に分類され、後天性はさらに、血液疾患、呼吸器感染症、粉塵吸入歴に続いて発症する続発性肺胞蛋白症と原因不明とされる特発性肺胞蛋白症に分類される。疾患の 90% が、特発性肺胞蛋白症 (Idiopathic Pulmonary Alveolar Proteinosis: IPAP) であり、30～50 歳代をピークに発症し、非常に緩やかに呼吸困難が進行する。かつてはステロイドの投与が試みられたが効果なく、心不全や肺真菌症などの日和見感染症を合併して死亡する例が多かった。気管支肺胞洗浄法の進歩により、現在では全身麻酔下での全肺洗浄や反復肺区域洗浄で寛解する例が増え、

比較的予後のよい疾患となっている。

肺胞蛋白症で肺胞に貯留しているサーファクタントの成分を調べると、SP-A とリン脂質のうち、dipalmitoyl phosphatidyl choline (DPPC) の割合が増加している¹⁾が、両者ともに肺胞マクロファージによりよく吸収分解される。また、肺胞洗浄液中の肺胞マクロファージの遊走能、異物貪食能などの機能低下が見られること²⁾から本症の原因はサーファクタントの過剰産生にあるのではなく、サーファクタントの分解吸収を行なう肺胞マクロファージの機能低下にあると考えられるようになった。

ヒト肺胞蛋白症の病因と GM-CSF

われわれは、特発性肺胞蛋白症の患者肺胞洗浄液は *in vitro* で単球の増殖を強く抑制することを見出した。この洗浄液は、GM-CSF あるいは IL-3 依存的に増殖するマクロファージ系細胞株 TF-1 の GM-CSF 存在下での増殖も阻害するが、IL-3 存在下での増殖には全く影響を与えないことから、GM-CSF 特異的に働く物質の存在が示唆された。13 例の肺胞蛋白症と 10 例の健常者肺洗浄液を用いて調べたところ、この抑制は、11 例の特発性肺胞蛋白症の肺胞洗浄液においてのみ見られ、2 例の続発性肺胞蛋白症および健常者のそれらには見られなかった。¹²⁵I-GM-CSF を用いた実験で、特発性肺胞蛋白症の洗浄液は GM-CSF 受容体には影響を与えないことを確認し、また、洗浄液蛋白との架橋実験から、GM-CSF 結合活性が存在することを発見した³⁾。ウエストウエスタン法により、¹²⁵I-GM-CSF と肺胞洗浄液中の蛋白の結合を調べると、11 例の IPAP 全例で 180 kD の単一なバンドが検出され、続発性肺胞蛋白症、

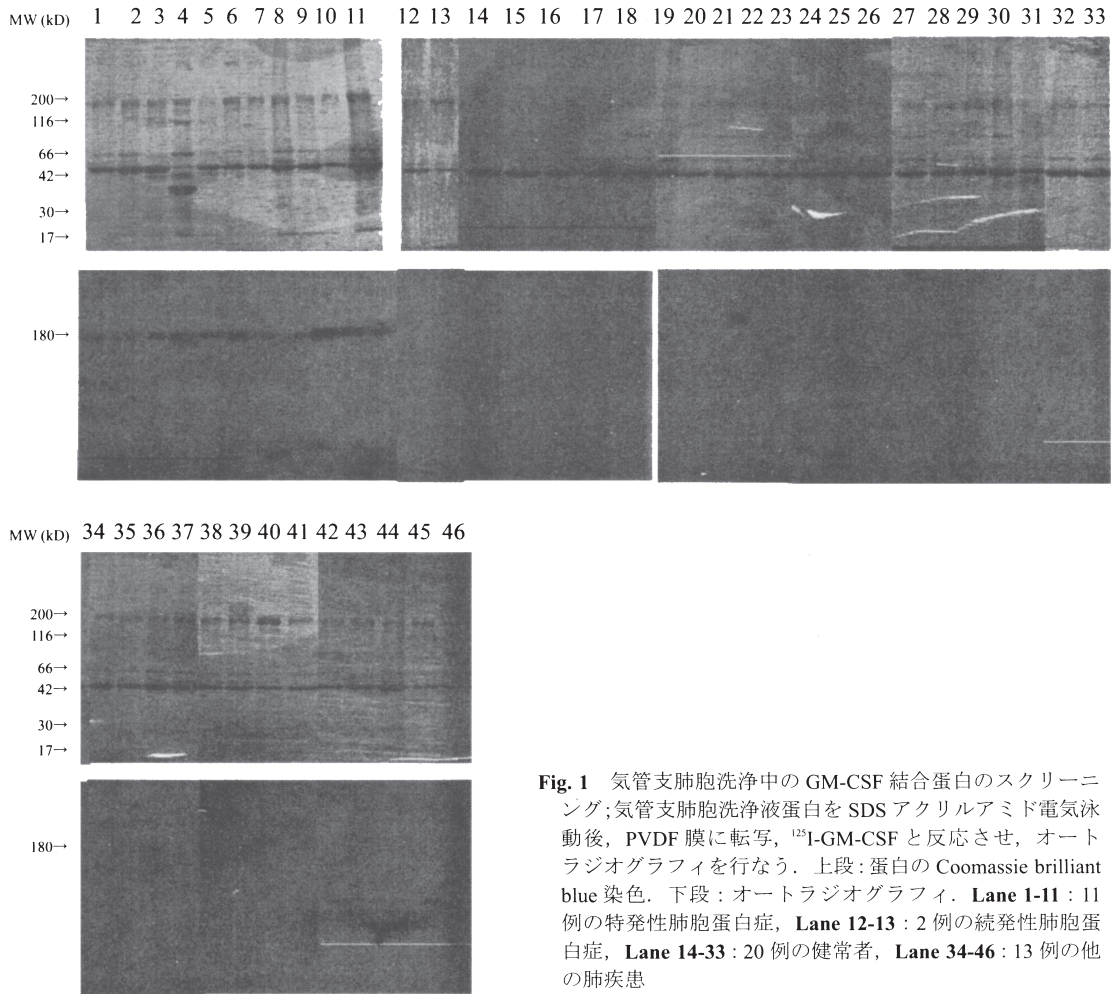
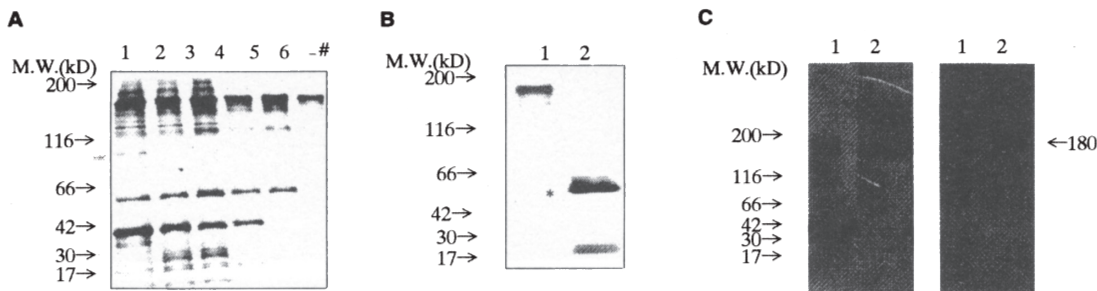


Fig. 1 気管支肺胞洗浄中の GM-CSF 結合蛋白のスクリーニング;気管支肺胞洗浄液蛋白を SDS アクリルアミド電気泳動後, PVDF 膜に転写, ^{125}I -GM-CSF と反応させ, オートラジオグラフィを行なう. 上段:蛋白の Coomassie brilliant blue 染色. 下段: オートラジオグラフィ. **Lane 1-11**: 11 例の特発性肺胞蛋白症, **Lane 12-13**: 2 例の続発性肺胞蛋白症, **Lane 14-33**: 20 例の健常人, **Lane 34-46**: 13 例の他の肺疾患

種々の肺疾患, 健常人の洗浄液には全くバンドが検出されないことから, GM-CSF 結合蛋白が疾患特異的に存在していると考えられた (**Fig. 1**). そこで, 患者肺胞洗浄液をブタノール抽出により脱脂し, 透析後, 5 種のカラムクロマトグラフィ行ない SDS 非還元ゲル電気泳動上 180 kD の単一蛋白を得た. この蛋白を還元状態で電気泳動すると, 57 と 28 kD のバンドが得られ, 57 kD のバンドの N 末端アミノ酸シーケンスを行なったところ, 免疫グロブリン H 鎖のそれに一致し, ウェスタンブロット法, Protein A 結合性などから, immunoglobulin であることを確認した (**Fig. 2**). 精製した IgG

は, ^{125}I -GM-CSF と結合し, 過剰量の非放射性 GM-CSF の存在で阻害された. また, この抗体は TF-1 細胞の GM-CSF 存在下における増殖を阻害するが, IL-3 の存在下の増殖は阻害しなかったことから, GM-CSF 特異的な中和抗体であることが確認された⁴⁾. この抗体のアイソタイプは IgG であり, さらに, サブクラスは IgG1 と IgG2 であると同定した.

これまで, 肺胞蛋白症の病因解明の研究は主として疾患モデルマウスにおいて行なわれ, ヒトにおいても GM-CSF と本症との関係が指摘されてきた. 本研究において初めてその関連が物質レベルで明らかにされたわけである.



#Mono S (cation exchange; 2, 6), Mono Q (anion exchange; 3, 5) and Superose 12 (gel filtration; 4).

Fig. 2 特発性肺胞蛋白症気管支肺胞洗浄中の GM-CSF 結合蛋白の精製 : **A**: SDS-PAGE of the purified proteins. Lane 1: delipidated BALF. **B**: SDS PAGE of the purified GM-CSF binding factor. Lane 1: under non-reducing condition; Lane 2: under reducing condition. **C**: West western blotting of the purified GM-CSF binding factor. Proteins are electrophoresed, transferred to membranes, stained with Coomassie brilliant blue (the left panel), incubated with ^{125}I -GM-CSF, and autoradiographed (the right panel). Lane 1: delipidated BALF; Lane 2: the purified GM-CSF binding.

抗 GM-CSF 自己抗体と特発性肺胞蛋白症の病態との関連

その後、この自己抗体は特発性肺胞蛋白症の患者血清中にも存在することが判明した。米国、スイス、オーストラリアの肺胞蛋白症患者血清を調べたところ、24例の特発性肺胞蛋白症の全例に自己抗体が検出され、5例の続発性、3例の先天性肺胞蛋白症の患者血清には検出されなかったことから、特発性肺胞蛋白症の疾患特異的に自己抗体が存在することが確認され、血清診断の道が開かれた⁸⁾。しかし、抗 GM-CSF 自己抗体はごく一部の健常者や他の自己免疫疾患でも報告されていること⁹⁾から、中和自己抗体が特発性肺胞蛋白症の病因であると断言するにはまだ時間がかかりそうである。GM-CSF 欠損マウスが肺胞蛋白症を発症すること⁷⁾、抗 GM-CSF 自己抗体がわれわれの検索では特発性肺胞蛋白症の患者血清に100%検出されることが自己抗体説を支持する根拠である。

最近、自己抗体と特発性肺胞蛋白症の病因を繋げる有力な証拠が判明した。米国、オーストラリア、スイスにおいて、特発性肺胞蛋白症の病因を GM-CSF のシグナル伝達機構の障害と考え、GM-CSF の大量療法を患者に試み

てきた⁸⁾。通常、自己抗体が原因であるとすれば、抗原である GM-CSF の投与は、抗体の産生を促すこととなり、禁忌のはずである。しかし、投与を受けた13例の患者のうち、6例に血中酸素分圧の改善、胸部レントゲン写真の改善、呼吸困難などの症状の改善を呈した。これらの患者血清の自己抗体量を調べたところ、症状徴候の改善を認めた6例は、治療前の抗体価よりも治療後の抗体価が大幅に低下していた。この機序は不明であるが、抗原の大量投与により抗体の脱感作が生じた可能性も考えられる。自己抗体量と症状徴候が密接に関連していることが示唆された。

以上、特発性肺胞蛋白症と抗 GM-CSF 自己抗体の関係について述べたが、なぜこのようなサイトカインに対する自己抗体が生ずるのかという点は依然不明で、今後検討する課題は多そうである。

文 献

- 1) Honda Y, Takahashi H, Shijubo N, et al. Surfactant protein-A concentration in bronchoalveolar lavage fluids of patients with pulmonary alveolar proteinosis. *Chest* 1993; 103: 496-499.
- 2) Hoffman RM, Dauber JH, Rogers RM. Improvement in alveolar macrophage migration after therapeutic whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis. *Am Rev*

- Resp Diseases 1998; 139: 1030-1032.
- 3) Tanaka N, Watanabe J, Kitamura T, et al. Lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis express a factor which neutralizes granulocyte-macrophage colony stimulating factor. FEBS Letters 1999; 442: 246-252.
 - 4) Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J, et al. Idiopathic Pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte macrophage colony stimulating factor. Journal of Experimental Medicine 1999; 190: 875-880.
 - 5) Kitamura T, Uchida K, Tanaka N, et al. Serological Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Alveolar Proteinosis. Am J Respir Dis Crit Care Med in press.
 - 6) Svenson M, Hansen MB, Ross C, et al. Antibody to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a dominant anti-cytokine activity in human IgG preparations. Blood 1998; 91:2054-2061.
 - 7) Dranoff G, Crawford AD, Sadelain M, et al. Involvement of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in pulmonary homeostasis. Science 1994; 264: 713-716.
 - 8) Kavaru MS, Sullivan EJ, Piccin R, et al. Exogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor administration for pulmonary alveolar proteinosis. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 1143-8.

Involvement of Autoantibody Against GM-CSF in the Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Alveolar Proteinosis and its Clinical Applications

Koh NAKATA, M.D., Ph.D.

*Department of Respiratory Diseases, Research Institute,
International Medical Center of Japan*

Abstract

Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis (I-PAP) is an acquired lung disease, in which alveoli and terminal bronchioli fill with surfactant. The accumulation of surfactant is due to reduced surfactant clearance and definitive diagnosis of I-PAP needs histopathological inspection of specimens obtained by open lung or transbronchial lung biopsy and/or analysis of bronchoalveolar lavage fluid. We have recently reported occurrence of auto-antibody against GM-CSF of IgG type in I-PAP patients. Based on our findings, we have developed serological methods for diagnosis of I-PAP. Data showed that I-PAP patients consistently have the autoantibody but secondary and congenital PAP patients did not. Our results strongly suggest that neutralization of GM-CSF bioactivity by the antibody in the lung and serum causes dysfunction of alveolar macrophages, which results in reduced surfactant clearance.

Key words : Pulmonary alveolar proteinosis, Surfactant, GM-CSF, Auto-antibody

胸膜転移に IL-2 を胸腔内投与した頭皮原発血管肉腫の 1 例

館野 直¹⁾, 清水久裕¹⁾, 木村 啓¹⁾, 古田島 太¹⁾,
南谷めぐみ¹⁾, 深澤健至¹⁾, 神宮希代子¹⁾,
栗原悦子¹⁾, 村松弘康¹⁾, 佐藤哲夫¹⁾, 田井久量¹⁾,
羽野 寛²⁾ (慈大 呼吸器内科¹⁾, 同 病理学講座²⁾)

症例は 64 歳男性, 主訴は右頭頂部腫瘍. 既往歴は, 63 歳時胸腹部大動脈瘤を指摘されている. 頭部外傷の既往はない.

現病歴としては, 1994 年頃より右頭頂部に米粒大の腫瘍が出現. その後, 出血を繰り返して約 15 mm に拡大したため 98 年 3 月 14 日当院皮膚科受診. 生検にて悪性血管内皮細胞腫の診断にいたり, 加療目的で 3 月 30 日入院となり, その際右側胸水を認めたため当科併診となった.

入院時身体所見では, 右肺野の呼吸音の減弱, 右頭頂部に約 15 mm で周囲に紫斑を伴う易出血性の黒色隆起病変を認めた. 検査所見では, 軽度の低酸素血症を認めた. 画像所見では, 胸部 X 線, CT にて胸部大動脈瘤と右側胸水を認めた. この時点では肺野内に転移を示唆する所見は見られなかった. 組織所見では, 真皮の浅層から深層にかけて一部に不規則な大小の管腔形成を認め, 内皮状の細胞は核が腫大し大小不同で異型性を有していた. 免疫染色で第 8 因子が陽性であった. これらより悪性血管内皮細胞腫の診断にいたり臨床経過より胸膜転移による胸水と考えた.

臨床経過としては, 98 年 4 月 9 日より右頭頂部病変に対して IL-2 1 日 35 万単位計 1260 万単位を局所投与し, X 線 60 Gy と電子線 20 Gy の放射線療法を行なった. また, 転移の抑制などを目的として 4 日間 IL-2 計 140 万単位を静脈

投与したが, 好酸球増多と喘鳴のため中止した. 当科では IL-2 1 回 20 万単位の胸腔内投与を 4 回施行した. その後, 胸水は増加せず約 1 年間は安定していた. 翌 99 年 5 月に右肩, 右背部, 左頬部, 左足底に転移を認め, 99 年 5 月 26 日切除術を施行, 右肩と左足底の各部位に 60 Gy の放射線療法を行なった. また, 右肩に IL-2 計 70 万単位を局所投与した. その後外来で経過観察していたが, 胸部 X 線上両側胸水を認め 99 年 10 月当科入院となった. 右は好中球優位の胸水, 左はリンパ球優位の胸水であった. 左側に IL-2 1 回 20 万単位を 1 回のみ胸腔内投与した. 一時的な胸水の増加の後減少し約 1 ヶ月は安定していたが, 99 年 12 月下旬より両側胸水の増加を認め, 99 年 12 月 27 日永眠された. 病理剖検所見では, 肺は IL-2 胸腔内投与の影響で広範囲の胸膜肥厚を認めた.

悪性血管内皮細胞腫は全肉腫の中で 1% のまれな疾患である. 原発は頭皮が 30 ~ 50% と最多である. 70 歳以上の男性に多く, 5 年生存率は 5% である. 発症半年以内の罹患部の既往が危険因子に挙げられている. 頭皮型は 70 ~ 80% 肺や胸膜に転移し, 10 ~ 20% に気胸や血胸を合併するといわれている. 予後は非頭皮型と比べ悪く, 平均生存期間は 11.5 ヶ月である. 治療は放射線療法, 手術療法, そして最近 IL-2 / LAK 養子免疫療法が施行されるようになったが, 治療法はいまのところ確立していない.

A Case of Angiosarcoma Treated with Intrapleural Injection of IL-2

Sunao TATENO¹⁾, Hisahiro SHIMIZU¹⁾, Akira KIMURA¹⁾, Futosi KOTAJIMA¹⁾,
Megumi MINATANI¹⁾, Takeshi FUKAZAWA¹⁾, Kiyoko JINGU¹⁾, Etsuko KURIHARA¹⁾,
Hiroyasu MURAMATSU¹⁾, Tetsuo SATO¹⁾, Hisakazu TAI¹⁾, Hiroshi HANO²⁾

*Department of Respiratory Disease¹⁾
and Department of Pathology²⁾, Jikei University*

嚢胞液中の各種腫瘍マーカーが高値を呈した 成熟型縦隔奇形種の1手術例

佐藤修二¹⁾, 山下 誠¹⁾, 塩谷尚志¹⁾,
秋葉直志¹⁾, 永田 徹¹⁾, 山崎洋次¹⁾,
佐藤哲夫²⁾, 鈴木正章³⁾, 河上牧夫³⁾
(慈大 呼吸器外科¹⁾, 同 呼吸器内科²⁾,
同 病理部³⁾)

症 例

症例は20歳の女性である。主訴は発熱と咳嗽。胸部X線写真 (Fig. 1) 上、縦隔から左胸腔に突出する腫瘤陰影を認めた。胸部CT (Fig. 2) では一部に石灰化を含む内部不均一な腫瘤を前縦隔から左胸腔の前方に認め、成熟型奇形腫を疑った。血清腫瘍マーカーはCA19-9が274 U/mL, SCCが2.1 ng/mLと高値を示した。2000年6月20日に腫瘍摘出術を行なった。腫瘍は肺動脈や左肺と癒着を認めたが、浸潤はなく剥離可能であった。また左胸腔内に漿液性の胸水を少量認めた。摘出標本は薄い皮膜で被われ表面平滑な腫瘍で、大きさは125 × 115 × 85 mm, 重量は580 gであった。病理組

織学的には表皮組織, 軟骨, 骨, 多列円柱線毛上皮, 気管支腺, 腸粘膜, 膵外分泌腺, 横紋筋, 平滑筋, 毛胞などの三胚葉成分を認め、悪性所見はないことから成熟奇形腫と診断した。血清, 胸水および嚢胞内容液の各種腫瘍マーカーと膵酵素の値をTable 1に示した。CEAとCA19-9の免疫組織染色では、CEAが気管支上皮と腸粘膜が陽性で、CA19-9は気管支腺のみが陽性であった。術後血清腫瘍マーカーはすべて基準値内まで低下した。

考 察

縦隔良性奇形腫において嚢胞内貯留液中の腫瘍マーカーや膵酵素の高値が報告されてい

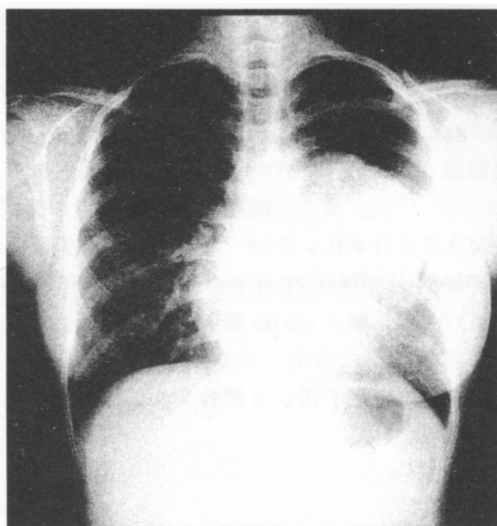


Fig. 1

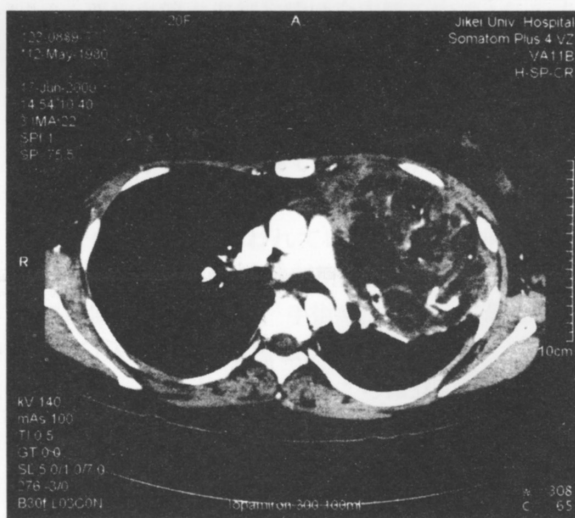


Fig. 2

Table 1

	血清	胸水	嚢胞内容液	血清基準値	(単位)
アミラーゼ	63	30	422	30~130	IU/L
リパーゼ	49	112	52,018	11~53	IU/L
エラスターゼ1			110,000	100~400	ng/dl
CEA	1.6	45.8	3,201.60	<5.8	ng/ml
AFP	4	17	5	<10	ng/ml
CA19-9	274	1,063	110,000	<37	U/ml
SCC	2.1	110	14,000	<1.5	ng/ml
NCC-ST439			4,400	<7.0	U/ml
SLX			1,800	<38	U/ml
HCG	0.4	0.4		<0.7	mIU/ml

る。これは腫瘍組織での産生と嚢胞という閉鎖腔での貯留、濃縮が主因と考えられる。したがって腫瘍マーカーの上昇は悪性を意味す

るものではない。しかし自験例のように多数の腫瘍マーカーが高値を呈するのはまれと思われ、報告した。

A Case of Mediastinal Mature Teratoma with High Level of Tumor Markers in Cystic Fluid

Shuji SATO¹⁾, Makoto YAMASHITA¹⁾, Hisashi SHIOYA¹⁾, Tadashi AKIBA¹⁾, Toru NAGATA¹⁾,
Yoji YAMAZAKI¹⁾, Tetsuo SATO²⁾, Masaaki SUZUKI³⁾, Makio KAWAKAMI³⁾

*Department of Surgery¹⁾, Department of Respiratory²⁾,
and Department of Pathology³⁾, Jikei University*

Progastrin-releasing peptide 遺伝子 promoter と Cre/loxP system を用いた肺小細胞癌特異的遺伝子治療の基礎的研究

諸川納早¹⁾, 児島章^{1,3)}, 内田和弘^{1,3)}, 安斎千恵子¹⁾, 青木薫^{1,2)}, 田井久量²⁾, 衛藤義勝¹⁾, 吉村邦彦^{1,2)}
(慈大 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門¹⁾, 同呼吸器内科²⁾, 富士市立中央病院 内科³⁾)

目 的

肺癌はわが国で死因の第1位であり, その患者数は増加の一途にある. なかでも肺小細胞癌 (SCLC) は初回の抗癌剤, 放射線療法には反応するものの, 早晚再発転移するためその予後は不良であり, 新たな治療法の開発が急務である. SCLC 特異的な腫瘍マーカーである proGRP の遺伝子 promoter と, Cre/loxP による発現制御系を利用し, SCLC に特異的かつ目的遺伝子の高度発現が可能な遺伝子治療の開発を目指す.

方 法

ProGRP promoter から Cre を発現する制御 adenovirus vector (AdGRPCre) と, CAG promoter の下流に loxP 配列に挟まれた stuffer 領域と proapoptotic molecule の一つである Bax の cDNA を持つ標的 adenovirus vector (AxCALNLhBax-alpha) を用い, proGRP を産生する SCLC の細胞株 SBC-5 と, proGRP 産生のない NSCLC 細胞株 A549 に感染させ, その効果を *in vitro*, *in vivo* で検討した.

結 果

In vitro おいて AdGRPCre と AxCALNLhBax-

alpha の二重感染によって, SBC-5 において SCLC 細胞特異的な Bax- α mRNA が Reverse transcription-polymerase chain reaction により, また Bax 蛋白の発現が Western blot により確認された. さらに, MTT assay により SCLC 細胞特異的な細胞傷害性を認め, Hoechst 33324 の染色により apoptosis 誘導が確認された. 一方, AxCALNLhBax-alpha 単独の感染では, SBC-5 と A549 のいずれにも Bax の mRNA および蛋白の発現, 細胞障害, apoptosis は認められなかった. Balb/c nude mouse の皮下に SBC-5 または A549 を接種した *in vivo* 動物モデルにおいて, AdGRPCre と AxCALNLhBax-alpha の腫瘍内投与にて, SBC-5 の群で顕著な抗腫瘍効果が得られた.

結 語

これらのシステムは SCLC 細胞特異的な遺伝子治療に応用可能であると考えられる. しかしながら, Adenovirus vector は遺伝子導入効率が高いものの, 近年その毒性が問題となっており, 全身的投与が可能な vector の開発が今後, 必要である.

**SCLC Cell Type-specific Gene Therapy
Using Progastrin-releasing Peptide Gene Promoter and Cre/loxP System**

Nasa MOROKAWA¹⁾, Akira KOJIMA¹⁾³⁾, Kazuhiro UCHIDA¹⁾³⁾, Chieko ANZAI¹⁾,
Kaoru AOKI¹⁾²⁾, Hisakasu TAI²⁾, Yoshikatsu ETO¹⁾, Kunihiko YOSHIMURA¹⁾²⁾

*Department of Gene Therapy, Institute of DNA Medicine¹⁾,
Division of Respiratory Diseases, Department of Internal Medicine²⁾, Jikei University,
Department of Internal Medicine, Fuji City General Hospital³⁾*

第 48 回慈大呼吸器疾患研究会 記録

日 時 2000 年 9 月 18 日(月) 18:00 ~ 20:00

会 場 東京慈恵会医科大学 西講堂

開会の辞 (18:00 ~ 18:05) ————— 吉村邦彦 (慈大 青戸病院 呼吸器内科)

一般演題 (18:05 ~ 19:00) ————— 座長 土屋昌史 (慈大 青戸病院 呼吸器内科)

(1) 胸膜転移に IL-2 を胸腔内投与した頭皮原発血管肉腫の 1 例

慈大 呼吸器・感染症内科

○館野 直 清水久裕 木村 啓
古田島 太 南谷めぐみ 深澤健至
神宮希代子 栗原悦子 村松弘康
佐藤哲夫 田井久量
羽野 寛

同 病理学講座

(2) 囊胞液中の各種腫瘍マーカーが高値を呈した成熟型縦隔奇形腫の 1 手術例

慈大 呼吸器外科

○佐藤修二 山下 誠 塩谷尚志
秋葉直志 永田 徹 山崎洋次
佐藤哲夫
鈴木正章, 河上牧夫

同 呼吸器内科

同 病院病理部

(3) 嗄声を主訴とし、ボタローリンパ筋腫脹で発見された悪性リンパ腫の 1 例

慈大 第三病院 呼吸器・感染症内科

○南 次郎 青木 薫 竹田 宏
澤井博典 斎藤桂介 木村哲夫
帆足茂久 多田浩子 牛尾龍朗
石井慎一 田井久量
福味禎子
氏田万寿夫
野村浩一 福永真治

同 血液・腫瘍内科

同 放射線部

同 病院病理部

(4) Progastrin-releasing peptide 遺伝子 promoter と Cre/loxP system を用いた肺小細胞癌特異的遺伝子治療の基礎的研究

慈大 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部門¹⁾

同 呼吸器感染症内科²⁾

富士市立中央病院 内科³⁾

○諸川納早¹⁾ 児島 章¹³⁾ 内田和弘¹³⁾
安斎千恵子¹⁾ 青木 薫¹²⁾ 田井久量²⁾
衛藤義勝¹⁾ 吉村邦彦¹²⁾

特別講演 (19:00 ~ 19:55) ————— 座長 吉村邦彦 (慈大 呼吸器内科)

特発性肺胞蛋白症の病態形成と抗 GM-CSF 抗体の臨床応用

国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部 細菌性呼吸器疾患研究室長

中田 光

閉会の辞 (19:55 ~ 20:00) ————— 矢野平一 (慈大 附属柏病院 呼吸器内科)

会 長 佐藤 哲夫
当番世話人 吉村 邦彦

共催：慈大呼吸器疾患研究会, エーザイ株式会社

慈大呼吸器疾患研究会

(◎印：編集委員長 ○印：編集委員)

- 顧問 谷本 普一 (谷本内科クリニック)
桜井 健司 (聖路加国際病院)
伊坪喜八郎 (前・慈大第三病院外科)
貴島 政邑 (明治生命健康管理センター)
岡野 弘 (総合健保多摩健康管理センター)
牛込新一郎 (慈大病理学講座)
天木 嘉清 (慈大麻酔科)
米本 恭三 (東京都立保健科学大学)
飯倉 洋治 (昭和大学医学部小児科)
- 会長 ○佐藤 哲夫 (慈大呼吸器内科)
- 副会長 ○田井 久量 (慈大 第三病院呼吸器内科)
- 世話人 宮野 佐年 (慈大リハビリテーション科)
徳田 忠昭 (富士市立中央病院臨床検査科)
○久保 宏隆 (慈大 柏病院外科)
佐竹 司 (慈大 柏病院麻酔科)
○羽野 寛 (慈大病理学講座)
島田 孝夫 (社会保険桜ヶ丘総合病院)
中森 祥隆 (国家公務員共済組合連合会三宿病院呼吸器科)
矢野 平一 (慈大柏病院呼吸器内科)
福田 国彦 (慈大放射線科)
吉村 邦彦 (慈大 DNA 医学研究所)
堀 誠治 (慈大薬理学講座)
◎秋葉 直志 (慈大呼吸器・内分泌外科)
増渕 正隆 (慈大 第三病院外科)

事務局 〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8
東京慈恵会医科大学呼吸器内科 佐藤哲夫気付
慈大呼吸器疾患研究会

編集室 〒222-0011 横浜市港北区菊名 3-3-12 Tel. & Fax. 045-401-4555
ラボ企画 (村上昭夫)

慈大呼吸器疾患研究会誌 2000年9月30日発行◎

第12巻第3号

慈大呼吸器疾患研究会