—特集(間質性肺疾患)
の病態と診断—

病態形成における肺胞マクロファージの役割—MCP-1—

菅 守隆

熊本大学医学部第一内科

Role of alveolar macrophages in the pathogenesis of interstitial lung diseases —MCP-1—

Moritaka Suga

First Department of Internal Medicine, Kumamoto University School of Medicine

1. 間質性肺疾患と肺胞マクロファージ

マクロファージ(M ϕ)は間質性肺疾患の局所で多様な機能を有し、その病態における中心的役割を果たしていると考えられる。肺胞M ϕ は常に外的刺激に曝露される好気的環境下で特殊に分化したM ϕ であり、定常状態ではGM-CSF依存的に自己増殖による維持も可能な細胞群である。しかし、炎症が惹起されると種々の遊走活性因子により末梢血より単球が動員され、局所でM ϕ へと分化成熟すると考えられている。局所に動員されたM ϕ は種々の因子により活性化され、活性化M ϕ は様々な炎症性・増殖性サイトカイン、炎症細胞

の遊走・活性化に重要なケモカインや種々の生理活性物質を産生分泌する(図1)。しかし、単球/M ϕ の動員や活性化の機序については未だよく解明されていない。近年、吉村ら¹⁾により、単球に特異的な遊走活性化因子monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)が単離・精製・クローニングされ、様々な病態でMCP-1の関与が報告されている。肺ではM ϕ 、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞に発現していることが明らかとなった。そこで、間質性肺疾患、特に予後不良の特発性間質性肺炎(IIP)²⁾の病態における肺胞M ϕ の役割の一端を明らかにするため、間質性肺疾患

図1 間質性肺疾患と肺胞マクロファージ

者における MCP-1 の発現とその局在, 役割, 臨床的意義について検討した成績について述べる。

2. IIP における MCP-1 の発現と局在³⁾

開胸および胸腔鏡下肺生検組織にて usual interstitial pneumonia (UIP) と診断された IIP と, その他の間質性肺疾患 (BOOP, non-specific interstitial pneumonia (NSIP), collagen vascular disease に伴う間質性肺炎 (IP-CVD) など) および正常肺について検討した。抗ヒト MCP-1 モノクローナル抗体 F9 を用いて, 免疫組織化学的に MCP-1 蛋白の局在を検討し, さらに, MCP-1 陽性細胞の正確な同定と, その陽性細胞の細胞生化学的性質を明らかにするために, 各種細胞特異的な抗体を用いて二重染色を施行した。Mφ に対して EBM 11, 上皮に対して抗上皮膜抗原抗体

EMA, 抗ケラチン抗体, 血管内皮に対して抗フォン・ヴィルブランド因子抗体, II 型細胞に対して抗サファクタントアポ蛋白抗体 PE 10 を使用した。また, Northern blot 法により whole lung でその発現量を比較し, さらに in situ hybridization 法で MCP-1 mRNA の発現細胞を同定した。

(1) 免疫組織化学的検索

抗ヒト MCP-1 単クローン抗体 F9 を用いた免疫組織化学的検索により, IIP の肺組織では MCP-1 蛋白が肺泡 Mφ・一部の間質 Mφ・血管内皮, さらに上皮系細胞にも局在することが明らかとなった(図 2)。一方, 正常肺およびその他の間質性肺疾患では上皮系細胞には MCP-1 蛋白の局在は認められなかった(表 1)。

図 2 IIP (IPF) 組織

F9: 抗 MCP-1 抗体 F9 による免疫染色。化生上皮, Mφ, 血管内皮に陽性像を認める。

F9→EMA: F9 と EMA による二重染色。化生上皮は二重陽性となり, 気腔の Mφ は F9 単独陽性である。

F9→EBM 11: F9 と EBM 11 による二重染色。Mφ は二重陽性であり, F9 単独陽性の化生上皮が明瞭である。

F9→vWF: F9 と vWF の二重染色。血管内皮に二重陽性像が認められる。他は拡張した気腔を被う化生上皮の F9 単独陽性像である。

表1 間質性肺疾患患者肺における MCP-1 発現細胞

	IIP	non-IIP	NCL
Alveolar macrophages	+/+	++	-
Interstitial macrophages	+/+	+/+	-
Vascular endothelial cells	+	+	-
Vascular smooth muscle cells	-	-	-
Epithelial cells (type I, II)	-	-	-
Metaplastic epithelial cells	+/+	-	-

Reactivity: ++ strongly, + moderately, +/- weakly, -negative

Abbreviations: non-IIP; non-IIP interstitial lung diseases, NCL; normal control lungs

Metaplastic Epithelial Cells: flattened and mildly stratified squamous metaplastic cells, bronchiolar metaplastic epithelial cells, cuboidal epithelial cells(hyperplastic type II cell)

(2) MCP-1 mRNA の発現

IIP 症例の肺組織の MCP-1 mRNA の発現を in situ hybridization で検討すると、MCP-1 蛋白の局在と同様の細胞に MCP-1 mRNA の発現を

認めた(図3)。Northern blotting 法により whole lung で MCP-1 mRNA の発現を検討した結果、IIP の肺組織ではコントロールの正常肺に比べて MCP-1 mRNA の著明な発現を認めた。

これらの結果は、IIP では局所の Mφ・血管内皮の他、正常肺ではみられない化生上皮細胞から MCP-1 の持続的な分泌が行われ、MCP-1 が末梢血から肺の炎症局所へ向う単球の動員と活性化に重要な役割を担っていると推察された。さらに、IIP と non-IIP でみられる上皮にはその性質において、重要な差異が存在することが示唆され、その意義は IIP の病態を考える上で極めて重要と考えられる。

3. IIP における MCP-1 の役割

IIP 患者の単球遊走活性の評価をするため、IIP, IP-CVD, NSIP, BOOP, Sarcoidosis (Sa 症), 過敏性肺炎 (HP), 健常対照者について、

図3 IIP 症例の肺組織の MCP-1 mRNA の発現 (In situ hybridization 法)
anti-sense probe を用いた組織では上皮、マクロファージ、一部の血管内皮に著明なシグナルを認め、上皮系細胞では重層扁平化生上皮の基底膜細胞側、cuboidal な上皮、また、扁平な化生上皮に MCP-1 mRNA の発現が認められる。

BALF および血清中 MCP-1 濃度の測定を行った。これらの疾患の BALF の単球遊走活性と抗 MCP-1 モノクローナル抗体を用いて BALF 中の MCP-1 を吸収した後の BALF 遊走活性を測定し、BALF 中の単球遊走活性における MCP-1 の評価を行った。

間質性肺疾患患者の BALF 中の総細胞数と総 $M\phi$ は、コントロール (NC) 群に比し、いずれの疾患群も有意に総 $M\phi$ 数の増加が認められた。

(1) BALF および血清中の MCP-1 濃度

BALF 中の MCP-1 を測定した結果、IIP, IP-CVD, Sarcoidosis 群で normal control 群に比し、有意に MCP-1 の上昇を認め、特に、IIP 群の濃度はその他の疾患と比較すると、有意に高値を示した。MCP-1 レベルを BALF 中のアルブミン量で補正して同様な結果であった。

血清中の MCP-1 濃度は、IIP, IP-CVD, NSIP, Sa 症群で正常対照者に比べて有意に上昇していたが、BALF 中の MCP-1 濃度と異なり、これらの疾患群の間では有意の差は認めなかった。

BALF 中 MCP-1 と血清中 MCP-1 量を比較すると、IIP 群ではすべての症例で BALF 中 MCP-1 濃度が血清中 MCP-1 濃度よりも高値を示した

のに対して、他疾患ではほとんどの症例で血清中の MCP-1 が BALF 中より高値かほぼ同じ濃度であった (図 4)。

(2) BALF の単球遊走活性

Microchemotaxis Chamber を用いて BALF の単球遊走活性を検討した結果、これらの疾患患者の BALF は単球遊走活性を認めた。さらに、BALF を anti-MCP-1 抗体で前処理して BALF 中の MCP-1 活性を消失させると、IIP で約 50%, IP-CVD で約 30%, Sa 症で約 20% の単球遊走活性が抑制された (図 5)。これらの結果は、IIP において MCP-1 が病巣への $M\phi$ 遊走に深く関与していることが *in vitro* の系でも明らかとなった。

4. MCP-1 の臨床的意義

IIP, IIP の急性増悪, NSIP, IP-CVD の臨床経過において、この血清中 MCP-1 の値が病勢を反映するか否か、また、LDH や CRP などの活動性のマーカーと比較してどのような動態を示すか、臨床経過と血中 MCP-1 濃度の推移を検討した。

i) IIP 症例では、病勢の安定期においては血清中 MCP-1 濃度の有意な変動を認めなかった

図 4 間質性肺疾患患者の BALF と血清中の MCP-1 濃度の比較：IIP；特発性間質性肺炎 17 例，IP-CVD；膠原病に伴う間質性肺炎 12 例，NSIP (non-specific interstitial pneumonia)：非特異的間質性肺炎 7 例，Sar；サルコイドーシス 5 例，NC：健常対象者（喫煙者 5 名，非喫煙者 5 名）

図5 間質性肺疾患患者のBALFの単球遊走活性とMCP-1中和試験
BALFをanti-MCP-1抗体で前処理してBALF中のMCP-1活性消失させると、IIPで約50%、IP-CVDで約30%、Sa症で約20%の単球遊走活性が抑制された。

図6 IIP急性増悪時の血清中MCP-1濃度の推移：症例；72歳，男

が、急性増悪時には血清中MCP-1濃度は上昇し、LDHやCRPとは解離した動きを示した(図6)。

ii) NSIPやIP-CVD症例では、血清中MCP-1濃度の高値例が多く、ステロイド療法により良好な臨床経過を示すとともにLDHやCRPと同様に血清中MCP-1濃度も次第に低下し、治療効果によく相応していた(図7)。

以上より、血清中MCP-1の測定は間質性肺炎の活動性とステロイド治療の効果を推し量る1つのマーカーとして有用であると考えられた。また、BALF中と血清中MCP-1濃度の両者を測定することは、臨床上鑑別が重要となるIIPとNSIP、IP-CVDとの鑑別に有用であり、補助診断学的な意義が有ると考えられる。

図7 IP-CVD 患者における血清中 MCP-1 の推移

図8 特発性間質性肺炎の病態に関する考察—傷害された上皮の不完全修復

5. まとめ

間質性肺炎における MCP-1 の関与を解析した結果を踏まえ、上皮細胞傷害の面より間質性肺炎の病態について考察すると図8のように考えられる。IIP の原因はいまだ不明であるが、上皮の傷害が起こっていることには異論がない。間質性肺炎において、この上皮傷害が軽微であり、また適切な治療が施された場合には、傷害された上皮は再生され修復される。しかし、傷害が重篤であったり、また繰り返された場合は、十分な修復機転が作動せず、その結果として、肺胞は虚脱し折り畳

まれ破壊され、肺胞構造の改変が生じるとともに、上皮には metaplasia が生じる。この IIP でみられる化生上皮は正常な機能を失い、今回我々が示した MCP-1 のほかにも、PDGF⁴⁾、TGF、TNF⁵⁾ などのサイトカインの発現がみられ、持続的にサイトカインの分泌能を有し、複雑なサイトカインネットワークの一翼を担う重要な炎症参画細胞と考えられる。IIP の病態を考える上で上皮の機能的変化は極めて重要であると考えられる。

文 献

- 1) 菅 守隆：特発性間質性肺炎。日本胸部臨床, 53, 173~183, 1994.
- 2) Yoshimura, T., Robinson, E.A., Tanaka, S., et al.: Purification and amino acid analysis of two human glioma-derived monocyte chemoattractants. J. Exp. Med., 169, 1449~1459, 1989.
- 3) Iyonaga, K., et al.: Monocyte chemoattractant protein-1 in idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung diseases. Human Pathol., 25, 455~463, 1994.
- 4) Antoniades, H.N., Bravo, M.A., Avila, R.E., et al.: Platelet-derived growth factor in idiopathic pulmonary fibrosis. J. Clin. Invest., 86, 1055~1064, 1990.
- 5) Piquet, P.F., Ribaux, C., Karpuz, V., et al.: Expression and localization of tumor necrosis factor- α and its mRNA in idiopathic pulmonary fibrosis. Am. J. Pathol., 143, 651~655, 1993.

(受付：1996年7月12日)