

平成 28 年度労災疾病臨床研究事業

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と  
健康管理の有効性に関する研究

平成 29 年 3 月

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と  
健康管理の有効性に関する研究班

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と  
健康管理の有効性に関する研究

研究者一覧

研究代表者	岡山労災病院副院長	岸本 卓巳
研究分担者	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床腫瘍学教授 川崎医科大学衛生学教授 川崎医科大学放射線医学教授 名古屋市立大学大学院医学研究科環境労働衛生学分野教授 名古屋市立大学大学院医学研究科放射線医学分野研究員 中部労災病院呼吸器内科部長 旭労災病院健康診断部部长	芦澤 和人 大槻 剛巳 加藤 勝也 上島 通浩 原 眞咲 松尾 正樹 横山 多佳子
研究協力者	旭労災病院副院長 労働安全衛生総合研究所産業毒性・生体影響研究グループ部長 労働安全衛生総合研究所所長代理 労働安全衛生総合研究所産業疫学研究グループ上席研究員 旭労災病院中央検査部部长 労働安全衛生総合研究所産業毒性・生体影響研究グループ研究員 川崎医科大学衛生学准教授 岡山労災病院臨床病理科 岡山労災病院臨床病理科 岡山労災病院臨床検査部 岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター	宇佐美 郁治 王 瑞生 甲田 茂樹 佐々木 毅 谷川 直人 豊岡 達士 西村 泰光 藤木 正昭 妹尾 純江 宮原 基平 児島 葉子 佐藤 史織 安井 利枝

## 目次

はじめに	・・・・・・・・	1
1. 現在及び過去のベリリウム作業者における胸部レントゲン及び胸部 CT による肺・リンパ節・胸膜病変等の読影結果について	・・・・・・・・	3
	岸本 卓巳	
2. 臨床的に慢性ベリリウム肺と診断されている 2 症例の画像所見の検討	・・・・・・・・	6
	芦澤 和人、原 眞咲、松尾 正樹 横山多佳子、加藤 勝也、岸本 卓巳	
3. 当院における慢性ベリリウム肺の 1 例	・・・・・・・・	15
	松尾 正樹	
4. ベリリウム健診対象者における胸部 CT 所見について	・・・・・・・・	23
	加藤 勝也、岸本 卓巳	
5. 低線量 CT 読影の注意点	・・・・・・・・	32
	原 眞咲	
6. ベリリウム等のばく露に対する実用的健康影響評価手法の開発 -リンパ球幼若化試験の見直しと改良-	・・・・・・・・	37
	豊岡 達士、佐々木 毅、王 瑞生 甲田 茂樹	
7. 当院におけるベリリウム肺の 4 症例	・・・・・・・・	48
	横山 多佳子	
8. リンパ球の機能検査	・・・・・・・・	71
	大槻 剛巳、西村 泰光	

## はじめに

労災疾病臨床研究事業費補助金研究の「職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と健康管理の有効性に関する研究」はベリリウムばく露による慢性ベリリウム症とベリリウムの感作性についての早期診断と防止措置をどのように行うかについて研究することを目標に掲げてその取り組みを始めた。

ベリリウムは原子番号 4、原子量 9.012 のアルカリ土類の極めて軽い金属であるが、優れた電気・熱伝導性と進展力の強い性質から、銅をはじめ鉄やアルミニウムとの合金が電気や電子産業及び航空機、宇宙産業に使用されている。

しかし、ごく微量のばく露によっても細胞性免疫障害として肺に類上皮細胞肉芽腫病変が発生する慢性ベリリウム症を発生することが知られている。この病変はサルコイドーシスに類似した病理学的特徴を持つが、初回ばく露からの潜伏期間が 5~25 年と長いこともあり、世界的に規制濃度が  $2\mu\text{g}/\text{m}^3$  に設定されているが、これ以下の濃度でも発生する危険性も指摘されているなど、その病原性についてはいまだに明らかとなっていないことも多い。また、その症例報告もほとんどないため、発症に関わる新たな研究報告が少ないのが現状である。

我々の研究班では、ベリリウムによる健康障害を研究するため、現在及び過去のベリリウムばく露者を対象として、肺・リンパ節病変の有無を調査するため、通常線量と低線量胸部 CT を同時に撮影し、胸部レントゲン写真との病変検出感度を調査した。また、通常線量と低線量胸部 CT の診断上での不利益等の相違があるかどうかについて検討した。

胸部画像の読影には、日本医学放射線学会専門医の原眞咲、芦澤和人、加藤勝也研究分担者と日本呼吸器学会専門医である内科医の岸本卓巳研究代表、松尾正樹、横山多佳子研究分担者が合議制で最終診断を決定した。

また、ベリリウムによる感作の状況を的確に知るための検査方法として従来からその有用性が指摘されている末梢血リンパ球幼若化試験の意義を検討するためのよりよい検査方法の開発のための開発基礎実験を行い、慢性ベリリウム症を発症している 3 例を陽性対象としてその検査方法の有用性について検討した。本研究は王瑞生、豊岡達士研究協力者が担当した。

さらに慢性ベリリウム症患者の末梢血の免疫担当細胞とサイトカインを網羅的に検討し、本症に特異的な免疫原性とその反応性について特異性があるかどうか検討した。この研究は大槻剛巳研究分担者と西村泰光研究協力者が担当した。

班員の多くは慢性ベリリウム肺を経験したことがなかったことから、陽性コントロールとして旭労災病院に通院中の患者様から本研究の趣旨に同意をいただいて、その臨床と胸部画像の経過のわかる資料をいただくとともに血液検査をさせていただいた。

これらデータが揃った結果については、上島通浩研究分担者に総合的なまとめをしてい

ただくことになっている。

本研究は日本碍子株式会社のご協力と研究に協力していただいた現在・過去の従業員の皆様の同意を得て行われた。ご協力いただいた皆様に深謝致します。

平成 29 年 3 月 31 日

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と健康管理の有効性に関する研究班  
研究代表者 岸本 卓巳

## 現在及び過去のベリリウム作業における胸部レントゲン及び胸部 CT による肺・リンパ節・胸膜病変等の読影結果について

岸本 卓巳

### 【 目 的 】

ベリリウム取り扱い作業における肺・リンパ節・胸膜病変の有無を調査するため胸部レントゲン及び胸部 CT を撮影して検討した。

### 【 対象と方法 】

日本碍子株式会社において現在及び過去にベリリウム取り扱い業務に従事したことがあり、本研究の趣旨を説明して同意を得られた 90 例を対象とした。胸部レントゲンは直近の平成 28 年秋に会社の健康診断にて撮影されたものを入手した。また、胸部 CT は中部労災病院にて同時に通常線量と低線量で撮影した。

これら画像の読影は研究班員の原、芦澤、加藤、岸本、松尾、横山が独立行政法人労働者健康安全機構本部（川崎市中原区）にて行い、合議制で最終診断を決定した。

### 【 結 果 】

胸部レントゲン読影による有所見者は表 1 に示す 13 例であり、そのうち 3 例（No.7、8、9）は画像上慢性ベリリウム症と診断できると判断した。慢性ベリリウム症と診断した症例については、松尾、芦澤研究分担者が詳細にその所見について述べる。

また 1 例（No.1）は慢性ベリリウム症が疑われたが、総合的に判断してその他の疾患（何らかの炎症後変化）と診断した。その他の 9 例についても表 1 に示す如く、いずれも胸部 CT 所見より精査を必要としない所見と診断した。そのうち 1 例では胸部レントゲン上でも石灰化胸膜プラークと診断されたが、胸部 CT にて典型的な石灰化胸膜プラークと確認できた。また 2 例では異常所見が疑われたが胸部 CT により異常なしと判断された。

一方、胸部レントゲンでは異常が認められなかったが、胸部 CT にて有所見を認めた作業者を表 2 に示す。石綿ばく露による非石灰化胸膜プラークが確認された症例が 1 例あった（No.14）。また、びまん性粒状陰影と両側リンパ節腫大を認めるため溶接工肺

（No.15）あるいは珪肺症（No.16）を疑う有所見者が各 1 例あった。その他の 2 例には非特異的細気管支炎所見（No.17）、軽度線維化＋肺のう胞（No.18）所見を認めたため、経過観察を行ったほうが良いと判断した。これら症例の詳細については加藤研究分担者が詳細にその所見を述べる。

その他に何らかの胸部 CT 上有所見を認めた症例が 23 例あったが、いずれも炎症後変化や肺内リンパ節、肺の気腫性変化であり、活動性感染や悪性腫瘍等を疑う所見ではないため精査する必要はないと判断した。

さらに3例には肺外所見を認めた。その所見は腎結石、重症脂肪肝、肝血管腫が各1例であった。

胸部レントゲン及び胸部CTで全く異常所見が認められなかったのは49例であった。

### 【 考 察 】

慢性ベリリウム症では呼吸器に異常所見を認めることが多く、乾性咳嗽や呼吸困難等の自覚症状を来すことが多い。しかし、これら症状が出現する数年前に胸部画像上粟粒陰影を呈することが知られている。そして、長期経過で肺は縮小し、広範な網状粒状陰影を来して呼吸面積が減少し、慢性呼吸不全を来すことがある。そこで、今回我々は慢性ベリリウム症の早期病変が生じていないかどうかを確認するため、診断精度が高い胸部CT検査を行い、その病変の有無について検討した。その結果、3例の慢性ベリリウム症を診断した。慢性ベリリウム症は胸部画像上、肺サルコイドーシスとの鑑別が難しく、病理組織診断においても鑑別が難しいと言われている。今回我々が慢性ベリリウム症と診断した3例は既に胸部異常所見を指摘されており、病理組織学的にも同疾患と診断されて治療中であったが、今後このような症例を発見した場合には速やかな精査が必要と思われる。しかし、今回の検査では、その他には本症を示唆する所見を認める作業者を見つけることはできなかった。一方、ベリリウムばく露ではなく、石綿やその他の粉じんばく露が示唆される作業者を検出した。今後の対応が必要と思われる。一方、これらの所見を低線量CTでも確認したが、肺尖部にノイズによる偽病変を認めることが確認されたため、今後の研究において支障がないように、より良い画像を得られるように努力して行かなければならないことが課題となった。

胸部レントゲンあるいは胸部 CT にて有所見を認めた症例の一覧

表 1. 胸部レントゲン有所見者と CT での所見

	CR	CT
1	肺のう胞、右上下肺野、気腫、網状影	肺気腫、肺のう胞、両側肺門リンパ節腫大 (BHL)、肺底部小葉間隔壁肥厚
2	右肋横角鈍化	肺気腫、陳旧性胸膜炎
3	気管支壁肥厚、粒状影	肺気腫
4	両側胸膜プラーク	すりガラス影網状、リンパ節腫大、石灰化胸膜プラーク
5	右上肺粒状影	肺のう胞
6	両側肺門挙上、肺尖部炎症後変化	牽引性気管支・細気管支拡張、肺のう胞、炎症後胸膜肥厚
7	両側肺門拡大とびまん性粒状影 (慢性ベリリウム症)	びまん性すりガラス網状・粒状影・広義間質肥厚、BHL
8	両側肺門拡大と粒状影 (慢性ベリリウム症)	小葉中心性・びまん性粒状影、すりガラス影、明瞭結節影、BHL
9	びまん性網状・粒状影 両側肺門拡大 (慢性ベリリウム症)	びまん性粒状影・気管支・血管束肥厚、すりガラス網状、胸膜下楔状影、牽引性気管支・細気管支拡張、肺気腫、肺のう胞、BHL
10	肺気腫	肺気腫、炎症後変化、気管支拡張症
11	肺門拡大 (疑)、微細粒状影 (疑)	異常なし
12	びまん性粒状影 (疑)	異常なし
13	漏斗胸	リンパ節腫大

表 2. 胸部 CT 有所見者で胸部レントゲン無所見者であった症例

	CR	CT
14	異常なし	非石灰化胸膜プラーク
15	異常なし	溶接工肺類似粒状影あり、BHL
16	異常なし	珪肺類似粒状影あり、BHL
17	異常なし	非特異的細気管支炎像
18	異常なし	軽度線維化と肺のう胞

参考文献

- 1) 泉孝英、長井苑子： 職業性肺疾患の現状と課題 ベリリウム症 呼吸 21:569-575,2002
- 2) 泉孝英：慢性ベリリウム症 —日本における慢性ベリリウム症と慢性ベリリウム症診断上の問題点— 呼吸 11:790-802,1992



## 臨床的に慢性ペリリウム肺と診断されている 2 症例の画像所見の検討

芦澤 和人、原 眞咲、松尾 正樹、横山 多佳子、加藤 勝也、岸本 卓巳

### 【はじめに】

慢性ペリリウム肺は、サルコイドーシスおよび過敏性肺炎とともに、肺に類上皮細胞肉芽腫が形成される代表的な疾患である。今回、臨床的に慢性ペリリウム肺と診断された 2 症例の画像所見を検討する機会が得られたので報告する。

### 【症例提示】

[症例 1 : 27 歳男性]

臨床情報 :

平成 24 年 6 月の時点で、Be-LPT 値が 2651%。

平成 27 年 3 月の胸部単純写真で異常を指摘される。

平成 27 年 7 月に生検が行われ、慢性ペリリウム肺と診断される。

現在症状はなく、無治療で経過観察中である。

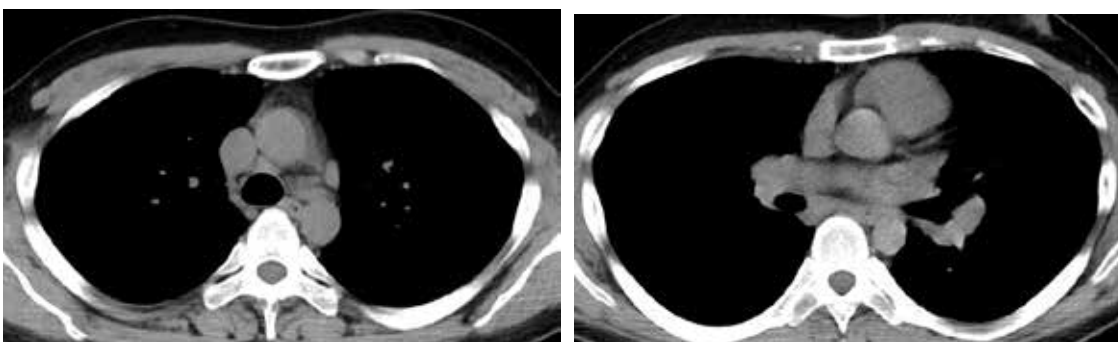
胸部単純写真（平成 28 年 6 月）：



左肺門部の腫大があり、リンパ節腫大が疑われる。両側下肺野の透過性がやや低下しているが、異常所見とは断定できない。

胸部 CT（平成 29 年 3 月）

縦隔条件（通常線量 画像再構成厚 5mm）

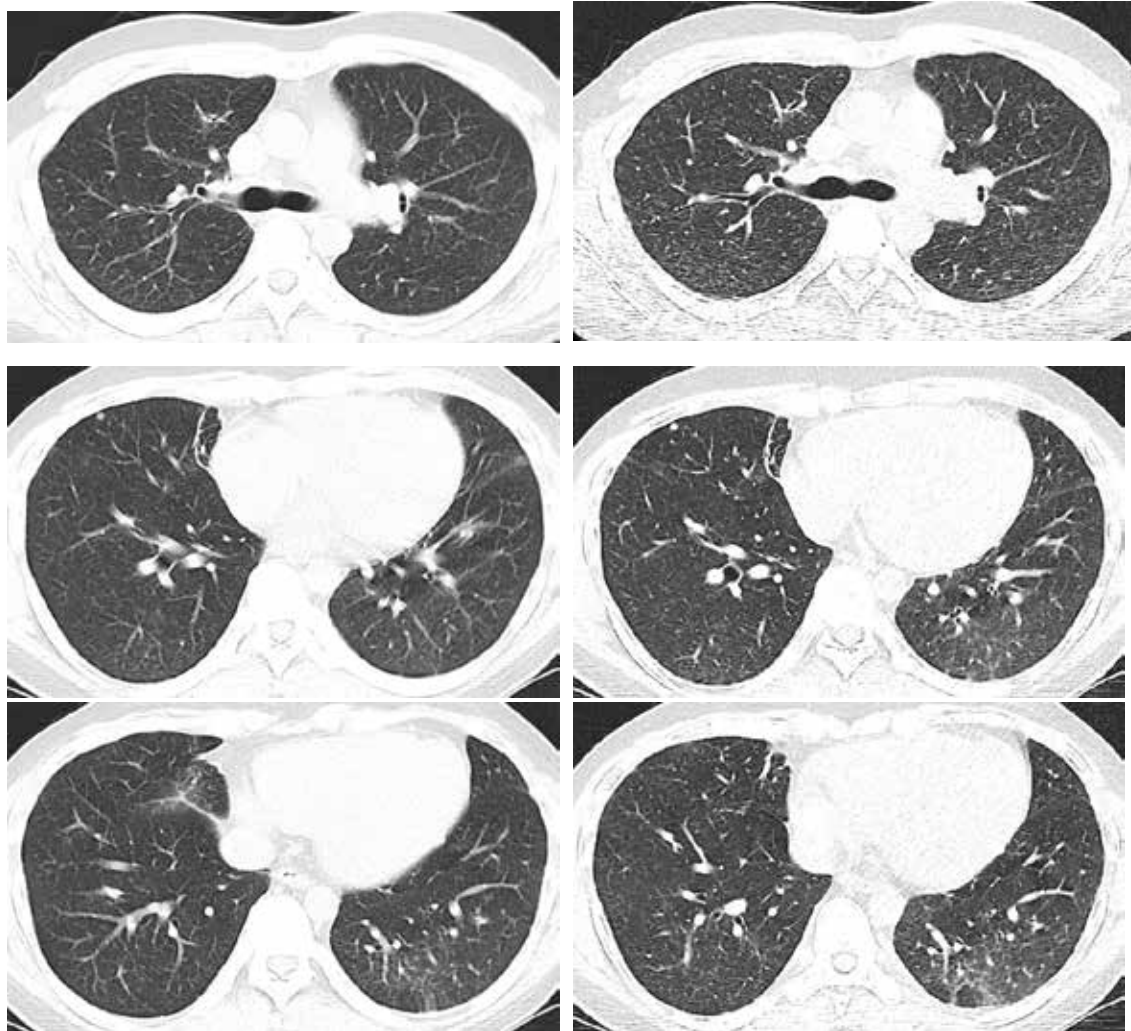


縦隔・両側肺門リンパ節腫大が認められる。

肺野条件

(通常線量 画像再構成厚 5mm)

(低線量 画像再構成厚 2.5mm)



左下葉には小葉単位ですりガラス影が認められ、さらに subtle な所見だが、両側下葉を主体に小葉中心性の淡い粒状影がみられる。

また、本例では、葉間を含めた胸膜下に多角形の小結節（肺内リンパ節疑い）が比較的多数認められた。

[症例 2 : 45 歳男性]

臨床情報 :

平成 27 年 10 月の時点で、Be-LPT 値が 635%。

平成 28 年 12 月の胸部単純写真、胸部 CT で異常を指摘される。

平成 29 年 2 月に生検が行われ、慢性ペリリウム肺と診断される。

現在症状はなく、無治療で経過観察が開始された。

胸部単純写真 (平成 28 年 9 月) :



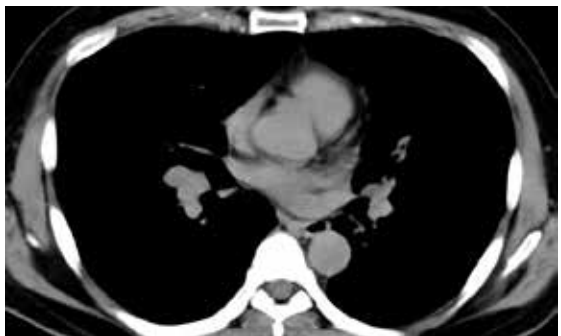
両側肺門部の腫大があり、リンパ節腫大が疑われる。両肺にはびまん性に線状・粒状影が認められる。

胸部 CT

縦隔条件

(平成 28 年 12 月

通常線量 画像再構成厚 7mm)



(平成 29 年 3 月

低線量 画像再構成厚 5mm)

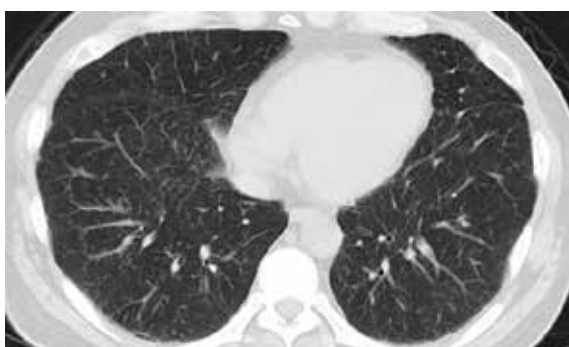
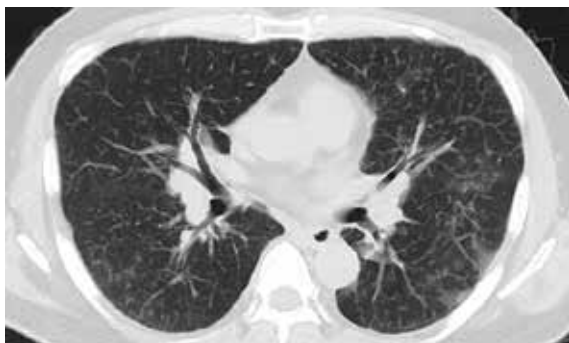
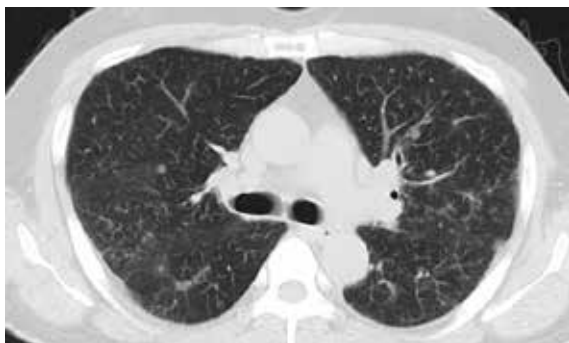
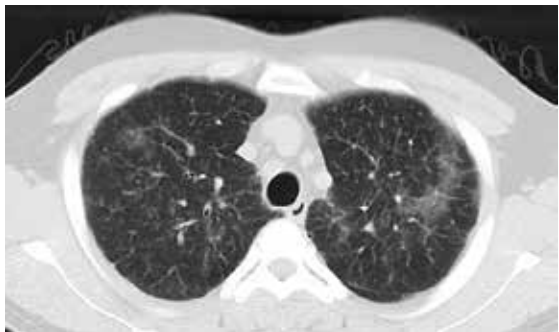


縦隔・両側肺門リンパ節腫大が認められる。

肺野条件

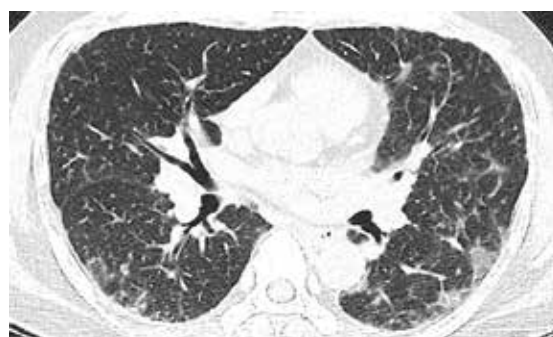
(平成 28 年 12 月

通常線量 画像再構成厚 7mm)



(平成 29 年 3 月

低線量 画像再構成厚 2.5mm)



(平成 28 年 12 月 通常線量 冠状断像)



両側上葉を主体に斑状のすりガラス影が多発性に認められる。胸膜側では、小葉中心性の淡い粒状影がみられる。さらに、小葉間隔壁の肥厚が目立ち葉間の不整も一部みられる。気管支壁の肥厚所見も軽度だが認められる。

## 【考 察】

慢性ベリリウム肺は、ベリリウムばく露者の 2～5%に起こるとされ、ばく露の種類や期間、また個人の免疫反応に依存する。病理学的にはベリリウムに対する細胞性免疫反応による二次性の肉芽腫性炎症性病変として特徴づけられ、病理所見のみではサルコイドーシスのような他の肉芽腫性病変との鑑別は困難である。全身臓器のなかでも肺に優位に病変が生じる。最終的に線維化を来すじん肺の一種に分類されるが、個人の過敏性障害という考え方もある<sup>1)</sup>。

画像所見に関しては、早期では胸部単純写真では異常が認められない<sup>2)</sup>。病変の進行に伴って上中肺野優位に、粒状・網状影がみられ<sup>3)</sup>、さらに進行すると、蜂巢肺や珪肺で見られる大陰影様の腫瘤影が認められる<sup>4)</sup>。肺門リンパ節腫大もしばしばみられる。症例 1 は、胸部単純写真で肺には明らかな異常が認められず、左肺門腫大のみが異常所見であった。症例 2 は、両側肺門部の腫大に加えて、両肺にはびまん性に線状・粒状影が認められ比較的進行した症例と考えられた。

慢性ベリリウム肺の胸部 CT 所見に関しては、いくつかの報告がみられる<sup>2)-6)</sup>。頻度の高い所見として、1) 気管支血管束や小葉間隔壁に沿う粒状・結節、2) 小葉間隔壁の肥厚、3) すりガラス影、4) 気管支壁の肥厚、5) 縦隔・両側肺門リンパ節腫大、が挙げられている。今回の 2 症例でも、同様の所見がみられたが、粒状・結節は境界が不明瞭な淡いものが、小葉中心部にみられた。また、症例 2 で顕著であったが、いずれの症例でもすりガラス影が認められた。すりガラス影の病理所見としては、florid granuloma の肺泡毛細血管壁へのびまん性の浸潤が考えられているが<sup>6)</sup>、早期の線維化を反映しているとの報告もある<sup>4)</sup>。すりガラス影は、サルコイドーシスと比較して慢性ベリリウム肺で頻度の高い所見のようである。病変が進行すると、網状影がみられ、一部の症例では蜂巢肺の所見も認められる。また、周囲に肺気腫を伴う腫瘤状の線維化がみられ、珪肺やサルコイドーシスの終末期に類似する。肺門リンパ節腫大は、サルコイドーシスと比較すると高度ではなく、比較的進行した症例でも認められる。

胸部単純写真と比較して、胸部 CT は慢性ベリリウム肺の存在診断・広がり診断および経過観察に有用である。本 2 症例において、線維化の進行を含めて胸部 CT による定期的な経過観察が必要と考えられる。



参考文献

- 1) Aronchick JM. Chronic beryllium disease. *Radiol. Clin. North Am.* 30 (6): 1209-17,1992
- 2) Newman LS, Buschman DL, Newell JD et al. Beryllium disease: assessment with CT. *Radiology.* 190 (3): 835-40,1994
- 3) Harris KM, McConnochie K, Adams H. The computed tomographic appearances in chronic berylliosis. *Clin Radiol.* 47 (1): 26-31,1993
- 4) Maier LA. Clinical approach to chronic beryllium disease and other nonpneumoconiotic interstitial lung diseases. *J Thorac Imaging.* 17(4):273-84,2002
- 5) Sharma N, Patel J, Mohammed TL. Chronic beryllium disease: computed tomographic findings. *J Comput Assist Tomogr.* 34 (6): 945-8,2010
- 6) Naccache JM, Marchand-Adam S, Kambouchner M et al. Ground-glass computed tomography pattern in chronic beryllium disease: pathologic substratum and evolution. *J Comput Assist Tomogr.* 27 (4): 496-500,2003

## 当院における慢性ベリリウム肺の 1 例

松尾 正樹

### 【背景】

慢性ベリリウム肺は、ベリリウムおよびその化合物の吸入ばく露後に遅延型過敏反応により生じる、肺の非乾酪性肉芽腫性疾患である。その正確な疫学は不明で治療法も確立されておらず、予後不良の疾患とされている。今回本研究班にてベリリウム感作の調査をするにあたり、当院にて経験した症例の経過が参考になると考え報告する。

【症 例】 53 歳、男性。

【主 訴】 労作時呼吸困難。

【現 病 歴】 平成 4 年からベリリウム作業に従事。平成 6 年にベリリウムリンパ球刺激試験 (beryllium lymphocyte proliferation test : Be-LPT) にて 927%と高値を示し、胸部レントゲンにて粒状影が出現したため、平成 8 年より配置転換された。平成 10 年より息切れ、体重減少が出現。藤田保健衛生大学病院を受診し、画像上の粒状影、Be-LPT 高値 (1676%)、呼吸機能検査にて拘束性肺障害 (%VC 47.2%) を認めたことなどから慢性ベリリウム肺と診断された。平成 10 年から平成 13 年までステロイドで加療 (PSL30mg/日から漸減) され、粒状影の改善、Be-LPT 低下 (100%台)、拘束性肺障害の改善 (%VC 84.4%) がみられ治療終了。以後、会社診療所にて経過観察されていたが徐々に労作時呼吸困難の悪化、拘束性肺障害の進行 (%VC 50%) などみられたため、平成 27 年 12 月 4 日当科に紹介受診となる。

【既 往 歴】 なし。

【生 活 歴】 喫煙歴は 20 本/日を 15 年間 (20~35 歳)。飲酒は機会飲酒程度。

【職 業 歴】 平成 4 年~平成 7 年 ベリリウム銅溶解鑄造作業に従事。

【身体所見】 身長 171cm、体重 67.7kg、血圧 121/65mmHg、脈拍 70/分、体温 36.5℃。表在リンパ節は触知せず。胸部聴診上、両肺に吸気時 fine crackles を聴取。明らかな皮膚所見なし。

【検査所見】 KL-6、SP-D といった肺の線維化マーカーが上昇していた以外は異常なく、ACE は正常範囲内であった (表 1)。

表 1. 初診時検査所見

血算		生化学		血清	
WBC	4700 / $\mu$ L	TP	8.3 g/dl	KL-6	1953 U/ml
neut	47.9 %	Alb	4.3 g/dl	SP-D	333.4 ng/ml
eosi	3.2 %	AST	29 IU/L	ACE	21.9 U/L
baso	0.4 %	ALT	39 IU/L	CRP	0.11 mg/dl
mono	6.6 %	LDH	187 IU/L		
lymph	41.9 %	CPK	66 IU/L		
RBC	544x10 <sup>4</sup> / $\mu$ L	Na	140 mg/dl		
Hb	16.9 g/dL	K	4.0 mEq/l		
Ht	47.4 %	Cl	104 mEq/l		
Plt	18.0x10 <sup>4</sup> / $\mu$ L	BUN	13.6 mEq/l		
		Cre	0.75 mg/dl		

【画像所見】胸部レントゲン上は両側上肺野優位に網状影、粒状影、すりガラス影を認めた（**図 1**）。胸部 CT では肺門、縦隔リンパ節腫脹（**図 2**）および両側上葉優位に胸膜直下の線維化、牽引性気管支拡張、粒状影、すりガラス影、気腫化がみられた（**図 3**）。



図 1. 初診時胸部レントゲン

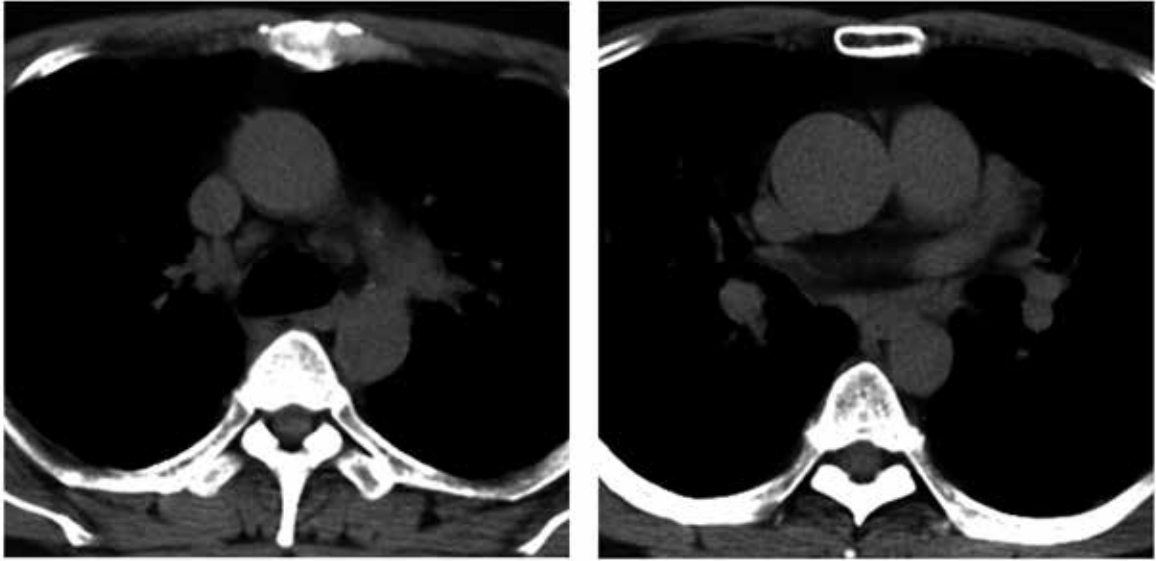


图 2. 初診時胸部 CT (縦隔条件)

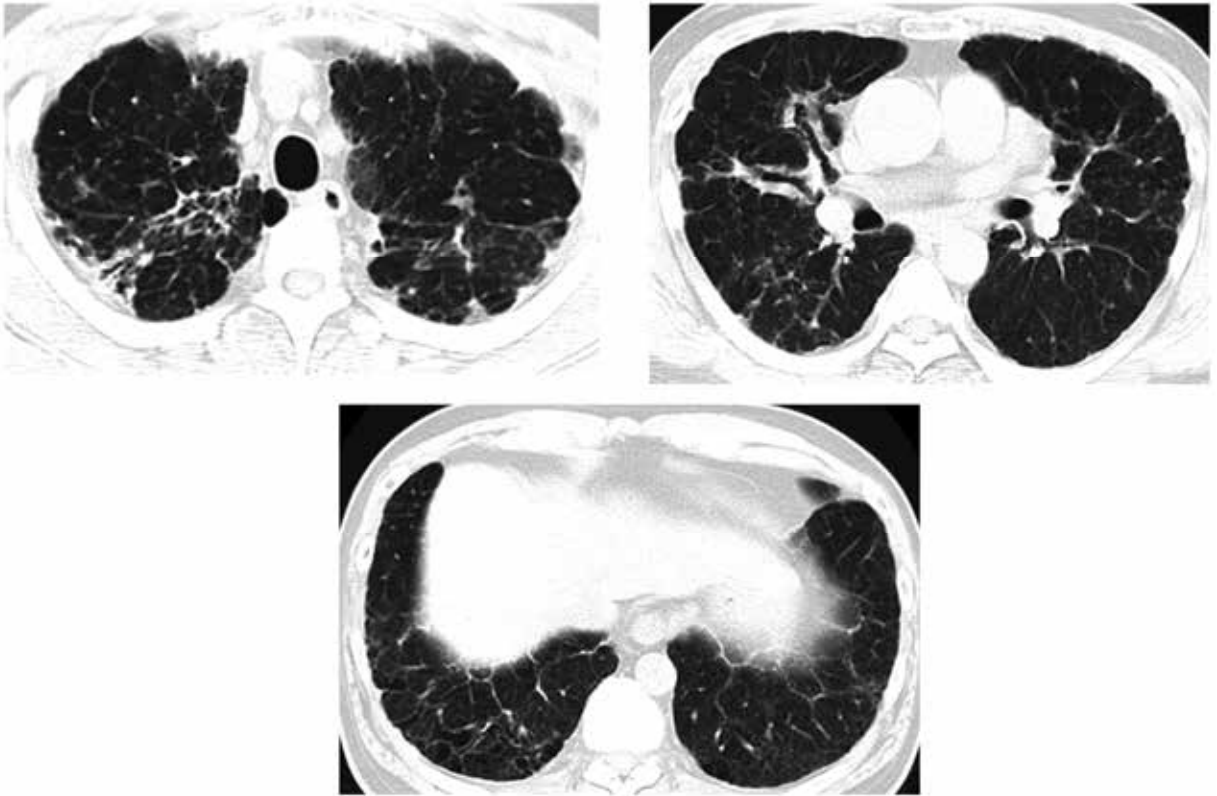


图 3. 初診時胸部 CT (肺野条件)

表 2. 検査所見

呼吸機能検査		気管支肺胞洗浄	
VC	2.37L	Total cell counts	3.6x10 <sup>5</sup> /ml
%VC	56.2%	Macrophage	58.0%
FEV1.0	1.77L	Lymphocyte	39.0%
FEV1.0%	72.2%	Neutrophils	1.0%
DLCO	55.5%	Eosinophils	2.0%
DLCO/VA	74.5%	CD4/8	1.3

【呼吸機能検査】呼吸機能検査では著明な拘束性肺障害と拡散能の低下を認めた（表 2）。

【経過】受診後しばらくは画像と症状の経過観察を行っていたが変化がみられないため、平成 28 年 4 月 14 日に気管支鏡検査を施行。経気管支肺生検では乾酪壊死を伴わない類上皮細胞肉芽腫を認め（図 4）、気管支肺胞洗浄ではリンパ球比率が 39%と上昇していたものの CD4/8 比は上昇していなかった（表 2）。臨床経過および検査所見から慢性ペリリウム肺の進行と診断し、平成 28 年 5 月よりプレドニゾン 30mg/日で加療開始。以後、症状は軽度軽快し、画像所見では縦隔リンパ節の縮小や肺野の粒状影、すりガラス影の改善が得られた（図 5、図 6）。KL-6 の低下や呼吸機能の改善も認めており、現在ステロイド漸減中である（表 3、表 4）。

会社に保存されていた CT 画像があったため比較を行った。ステロイド治療前である平成 10 年 10 月 9 日の画像（図 7）では、両肺びまん性に淡い小粒状影、すりガラス影が認められ、一部には気管支血管束の肥厚もみられたが、ステロイド導入後の平成 10 年 11 月 6 日にはすべての所見が軽快傾向にあることが確認できる（図 8）。その後の無治療期間を経て、平成 26 年 4 月 7 日には粒状影は消退しているものの胸膜直下の線維化や気管支血管束の肥厚、牽引性気管支拡張、肺底部の気腫性変化などが出現している（図 9）。

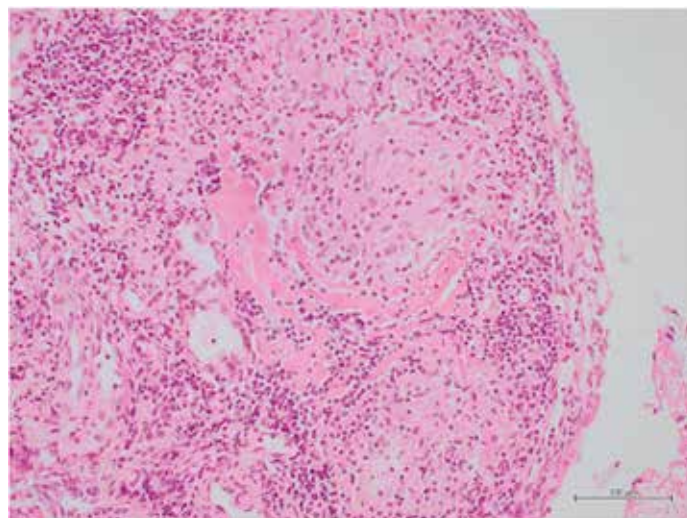


図 4. 経気管支肺生検

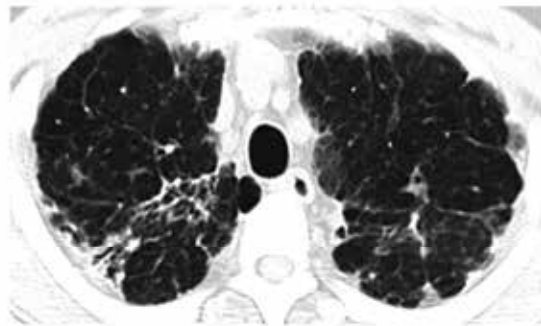


平成27年12月4日

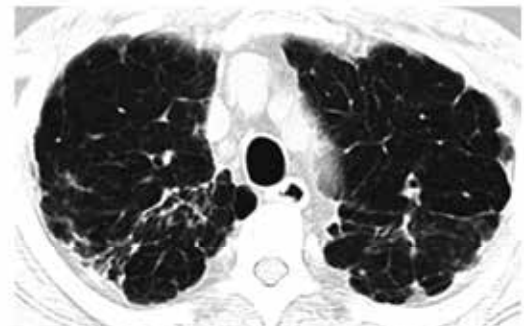


平成28年12月28日

図 5. 胸部 CT 経過 (縦隔条件)



平成27年12月4日



平成28年12月28日

図 6. 胸部 CT 経過 (肺野条件)

表 3. 臨床経過

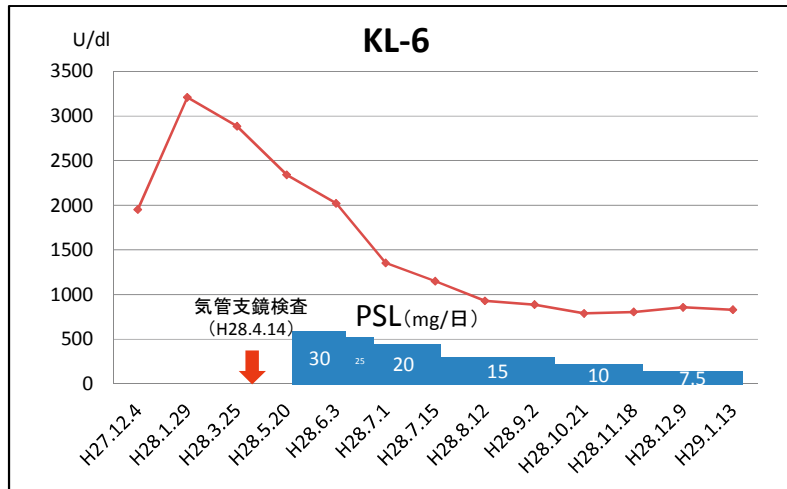


表 4. 呼吸機能検査の経過

平成27年12月15日			平成28年12月28日	
VC	2.37L		VC	2.60L
%VC	56.2%		%VC	62.5%
FEV1.0	1.77L	➡	FEV1.0	1.95L
FEV1.0%	72.2%		FEV1.0%	74.7%
DLCO	55.5%		DLCO	63.9%
DLCO/VA	74.5%		DLCO/VA	80.2%

平成10年10月9日

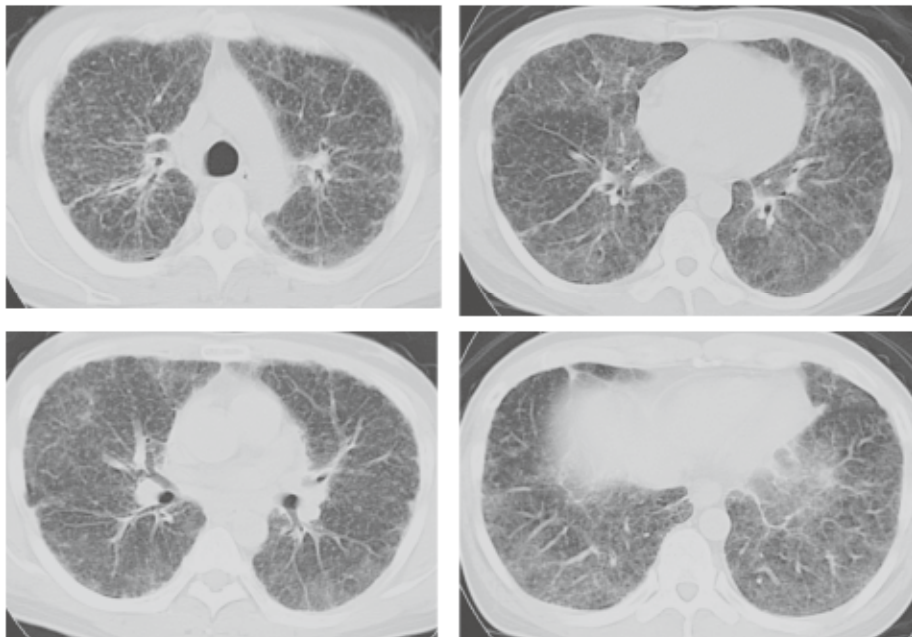


図 7. ステロイド治療前

平成10年11月6日

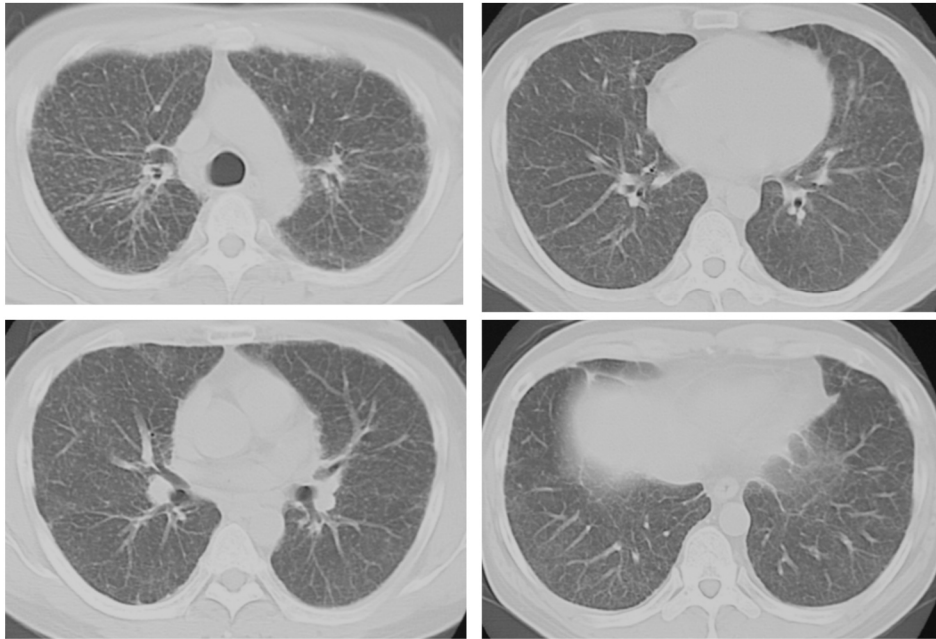


図8. ステロイド導入後

平成26年4月7日

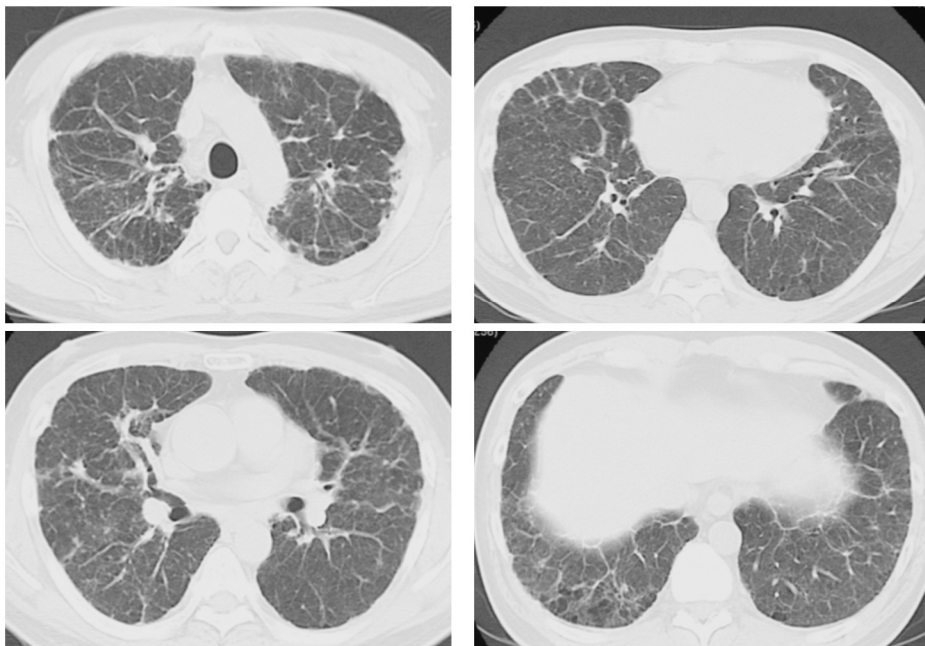


図9.

【考 察】ベリリウムは軽量かつ強靱な金属であり、物理化学的に安定で電気や熱の伝導性が高く、酸化抵抗性の高さなどから機械、通信、コンピュータ、航空宇宙産業、原子力産業など多くの分野で用いられている。ベリリウムにばく露された作業者の約2~5%に慢性ベリリウム肺が発症するといわれているが<sup>1)</sup>、それはベリリウム吸入ばく露の程度や様式と



同時に個体の遺伝的な感受性が関与しているとされている。なかでも HLA-DPB1-Glu69 の遺伝子多型が関連することが報告されている<sup>2)</sup>。本症例では一定期間ベリリウムばく露歴があり、配置転換にてばく露回避を図ったが病状は進行している。遺伝的な背景は残念ながら解析できていない。

慢性ベリリウム肺の診断は、ベリリウムばく露歴、Be-LPT などによるベリリウム感作の証明に加え、病理組織学的に非乾酪性肉芽腫性病変を確認することでなされる<sup>3)</sup>。本症例はベリリウム作業への従事歴があり、Be-LPT 高値、経気管支肺生検にて非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を認めており慢性ベリリウム肺と診断した。

本疾患の画像所見としては、粒状影、すりガラス影、気管支壁肥厚や小葉間隔壁の肥厚などがみられ、進行すると蜂窩肺や胸膜下の嚢胞性変化や石灰化などを認めるとされている<sup>4)</sup>。本症例でも平成 10 年にはびまん性に粒状影、すりガラス影、気管支血管束の肥厚がみられたが、経年変化にて胸膜下の線維化や牽引性気管支拡張、気腫性変化を生じた。詳細な機序は不明であるが吸入抗原への感作という病態を考慮すると、病初期には微細な粒状影が現れる可能性が高いと考えられ、本研究の今後の画像評価においては注意すべき所見と考えられた。

治療としてはベリリウム吸入ばく露の回避とともに薬物療法としてステロイドが用いられる。通常プレドニゾロン 20mg-40mg/日を呼吸機能の改善が得られるまで投与し、以後数年かけて漸減していく<sup>3)</sup>。ステロイドを中止できないこともしばしばある。本症例でもステロイド治療により一時的に症状、画像所見、呼吸機能の改善を認めるが、病変は緩やかに慢性的な進行を示しており、長期間の投与が必要になるかもしれない。

【結 語】当院において経験した慢性ベリリウム肺の 1 例を報告した。本症例での画像所見の推移などを参考に、今後の本研究での画像評価を注意深く行っていきたい。

#### 参考文献

- 1) Infante PF, et al. Beryllium exposure and chronic beryllium disease. Lancet . 363: 415-6,2004
- 2) Van Dyke MV, et al. Risk of chronic beryllium disease by HLA-DPB1 E69 genotype and beryllium exposure in nuclear workers. Am J Respr Crit Care Med . 183: 1680,2011
- 3) 3) Balmes JR, et al. An official american thoracic society statement: diagnosis and management of beryllium sensitivity and chronic beryllium disease. Am J Respir Crit Care Med.190: e34-59,2014
- 4) Sharma N, et al. Chronic Beryllium Disease: Computed Tomographic Findings. J Comput Assist Tomogr.34(6):945-8,2010

## ベリリウム健診対象者における胸部 CT 所見について

加藤 勝也、岸本 卓巳

### 【はじめに】

今回ベリリウム健診対象者に対し胸部 CT を施行した 90 例中、39 人には有所見を認めた。そのうち、胸部単純写真では無所見であった 5 例と胸部 CT と胸部単純写真の両方にて異常所見を認めた 1 例の計 6 例について、健診胸部 CT 画像と胸部単純写真を呈示する。

### 【症 例】

#### <症例 1. 40 歳代 男性>



図 1. 胸部単純写真

胸部単純写真では肺野病変は指摘出来ないが、左側肺門リンパ節腫大を認める。



図 2. 胸部 Thin Slice CT (TSCT)

胸部 TSCT にて上肺優位に比較的境界明瞭な小粒状影の所見を認める。珪肺症に近いパターンの胸部 CT 所見である。

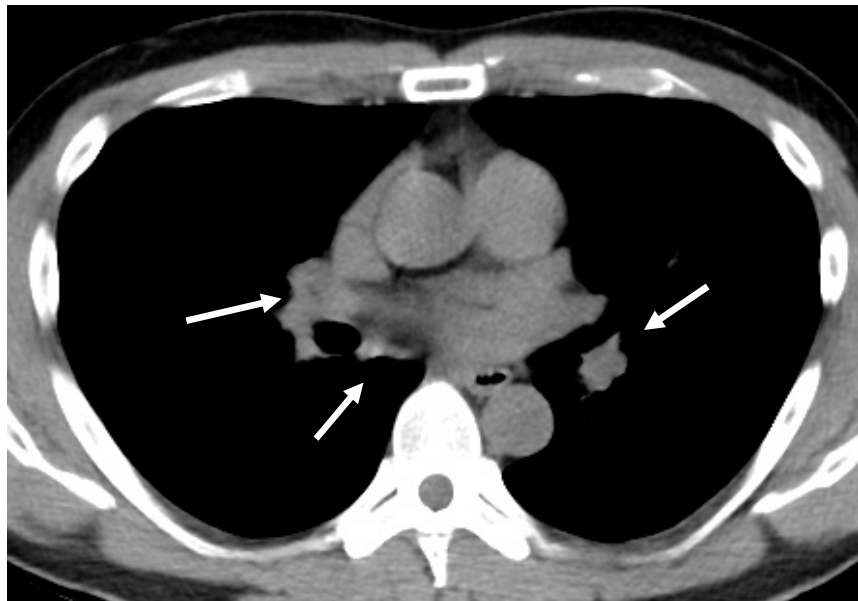


図 3. 胸部 CT (縦隔条件)

肺門、縦隔に軽度高吸収を呈するリンパ節腫大を左右対称性に認める (矢印)。

### 診 断

胸部単純写真では肺野に珪肺を示唆する粒状影を認めないが胸部 CT では珪肺パターンを示す所見である。

<症例 2. 40 歳代 男性>

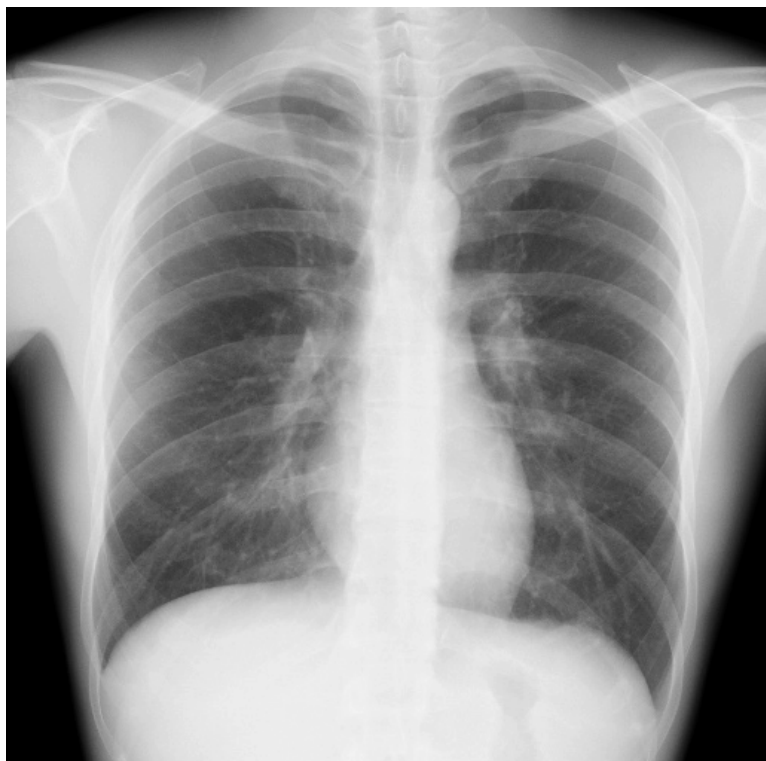


図 4. 胸部単純写真

胸部単純写真では異常所見は指摘出来ない。



図 5. 胸部 TSCT

両側びまん性に細気管支炎と思われる分岐状影の顕在化を認め、その周囲に淡いすりガラス影が認められる。溶接工肺に近いパターンの胸部 CT 所見である。

## 診 断

胸部単純写真ではじん肺を示唆する所見は認めないが、胸部 CT では溶接工肺を示唆する所見である。

### <症例 3. 20 歳代 男性>



図 6. 胸部単純写真

胸部単純写真では異常所見を指摘出来ない。



図 7. 胸部 TSCT

わずかに末梢領域で分岐状影が目立っており、非特異的な細気管支炎様の所見を呈している（矢印）。この分岐状影に関連するすりガラス影や粒状影は認められない。

#### 診 断

胸部単純写真では異常所見を認めないが、胸部 CT では粉じん吸入に関連した細気管支炎を示唆する所見である。

#### <症例 4. 60 歳代 男性>



図 8. 胸部単純写真

胸部単純写真では異常所見は指摘出来ない。



図 9. 胸部 TSCT

上肺優位に軽度気腫性変化を認め、一部ブラも伴っている。



図 10. 胸部 TSCT

右 S6 領域胸膜直下に限局的な線状網状影を認め、非特異的な線維化の所見である(矢印)。その他領域には線維化所見は認めなかった。

### 診 断

胸部単純写真上は異常所見を認めないが胸部 CT では肺気腫、多発ブラ、軽度肺線維化(限局的、非特異的)と診断する。

<症例 5. 50 歳代 男性>



図 11. 胸部単純写真

胸部単純写真では異常所見は認められない。

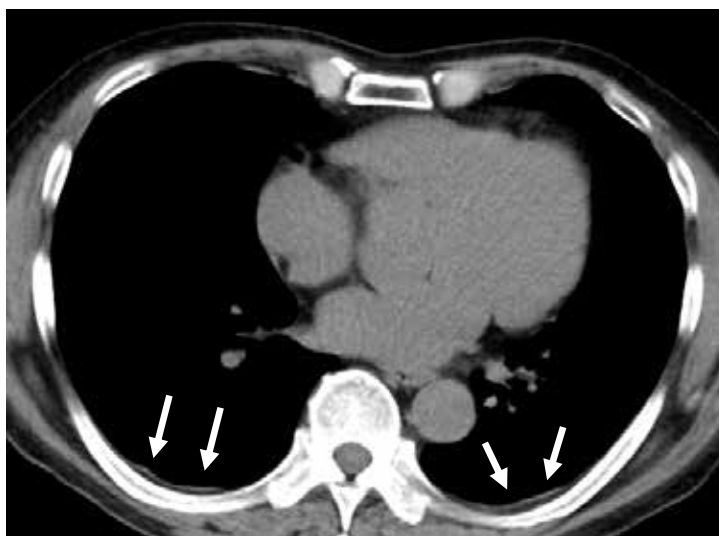


図 12. 胸部 CT (縦隔条件)

両側背側胸膜に薄い胸膜プラークを認める (矢印)。石灰化は伴っていない。

診 断

胸部単純写真上では異常所見を認めないが、胸部 CT では両側に薄い非石灰化胸膜プラークを認める。何らかの石綿ばく露によると思われる。



<症例 6. 60 歳代 男性>

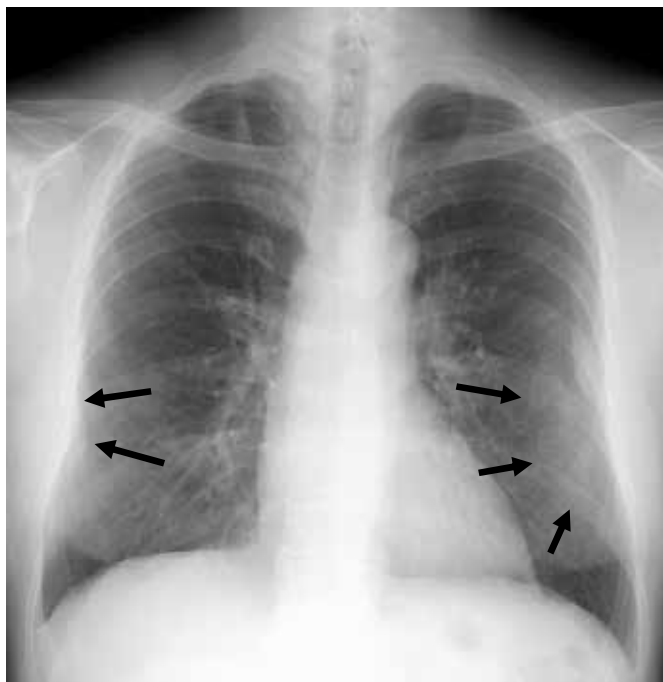


図 13. 胸部単純写真

胸部単純写真上、胸膜プラークと診断できる（矢印）。その他には異常所見は認められなかった。

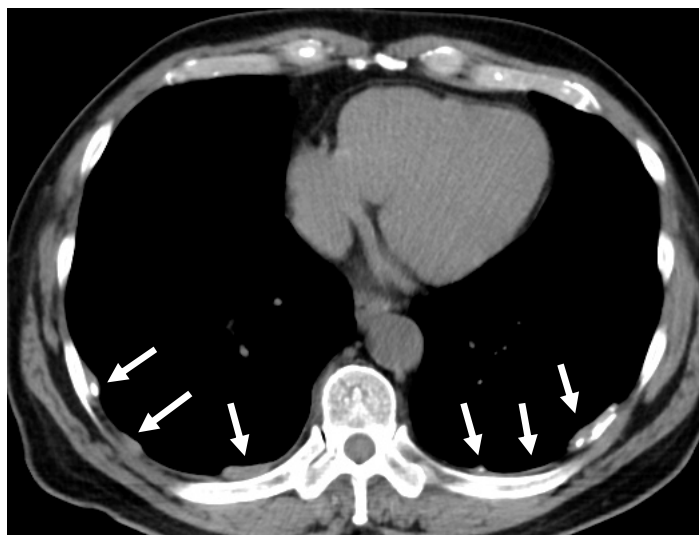


図 14. 胸部 CT（縦隔条件）

両側背側胸膜に厚めの胸膜プラークを複数認め（矢印）、一部には石灰化を伴う。

診 断

胸部単純写真の胸膜プラークを胸部 CT で確認できた症例である。

## 【まとめ】

症例 1 では両側肺野に珪肺パターンの比較的境界明瞭な粒状影を認めた。また、胸部単純写真では異常なしと判断されていたが、胸部 CT も合わせて両側肺内リンパ節腫大(BHL)ありといえる所見を認めた。

肺野にびまん性陰影を認めた症例はもう 1 例存在し（症例 2）、溶接工肺パターンの分岐状影の顕在化とその周囲のすりガラス影～粒状影を認めた。

その他では、非特異的な細気管支炎所見を 1 例（症例 3）で、軽度の上肺優位の気腫と限局的な軽度線維化所見をもう 1 例（症例 4）で認めた。ただ、これら 4 例の肺野所見はいずれも程度としては軽微であり、胸部単純写真では異常を指摘できなかった。

また、胸膜プラーク所見を 2 例（うち 1 例は石灰化あり）で認め（症例 5、6）、うち 1 例は胸部単純写真でもプラークを確認できた（症例 6）。

胸部 CT にて、じん肺を示唆する所見を認めた 2 例については胸部単純写真上、異常所見と認めなかったため、じん肺法上は PRO でじん肺なしと診断した。

今回胸部 CT にて認められた所見は、珪肺パターンや溶接工肺パターンのじん肺様所見、さらに胸膜プラークであり、いずれもベリリウム吸入関連の肺病変とはいえないものであった。従って、これらの所見を生じるような粉じん職歴やより詳細な業務内容の有無等について確認を行う必要があると考えられた。

## 低線量 CT 読影の注意点

原 眞咲

ベリリウム肺評価のため、平成 28 年度に単純 X 線写真正面像、通常線量 CT と低線量 CT を施行し、平成 29 年度以降、被曝量低減のため、通常線量 CT を省略し、低線量 CT のみでの評価が可能か否か、またその際の注意点について検討した。結果を基に画質改善に向けて新たな撮影プロトコルを検討した。

低線量 CT は肺癌検診のガイドラインで推奨されている撮影範囲全体を 50mA 一定電流で撮影する手法を採用した。低線量撮影においては線量低減に伴い画像のノイズが増加し、画質が劣化するため、従来の画像再構成法であるフィルタ補正逆投影法 (filtered back projection:FBP) に換えて、逐次近似画像再構成法をもちいて、ノイズを低減、アーチファクトを軽減し画質を担保する必要がある。

本研究の CT 検査は中部労災病院で実施されるが、当施設で使用可能な装置は平成 26 年 9 月に導入された GE 社製 OPTIMA 660 である。本装置においては、第 1 世代の逐次近似再構成法である、Adaptive Statistical Iterative Reconstruction (ASiR) が搭載されておりこれを利用した。本ソフトウェアの使用により、50~80%の被曝低減が可能とうたわれている。

本研究においては、被験者の同意の下、平成 28 年度においては、通常線量 CT 撮影と低線量 CT 撮影とを実施し、各々、5mm 厚と 2mm 厚画像の再構成を実施することとした。これは、急性ベリリウム肺で発生すると推察される局所の肉芽腫形成に伴う微細なすりガラス状病変の検出には 2mm 厚再構成像が必要となることが想定されたことによる。ASiR 使用に際しては、その割合の設定が可能であるが、60%が推奨されているため、当初これを採用し撮影を開始した。

平成 29 年 1 月 27 日の第 1 回小班会議において 37 例の読影を実施した。被曝線量については、通常線量 CT が 2.64mSv あるいは 4.38mSv に対し、低線量 CT は各々 0.97mSv、0.88mSv と 64%、80%の被曝線量低減が達成されており、有用性が確認された (図 1、2)。

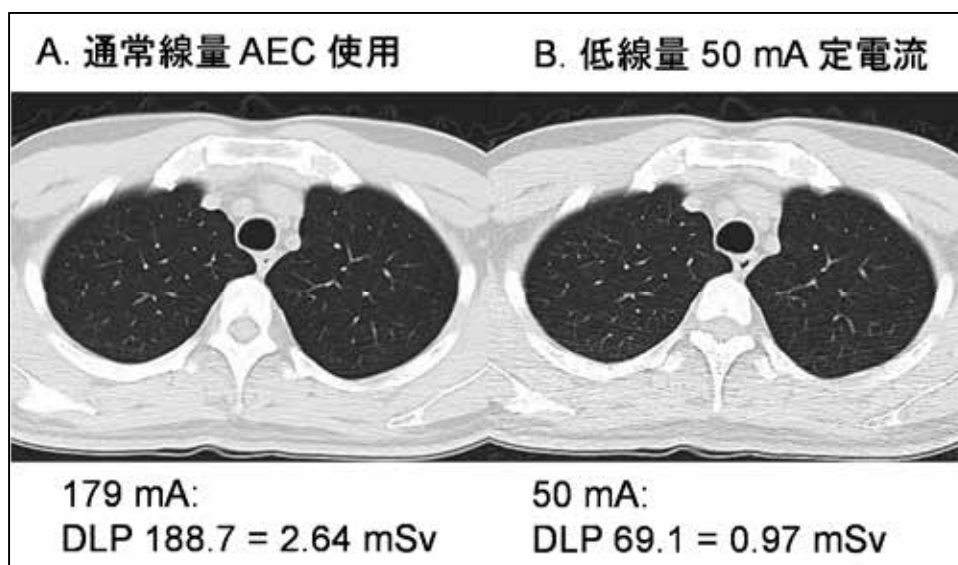


図 1. 通常線量 CT と低線量 CT との比較：症例 1

被曝線量は通常染津法 2.64mSv に対し、0.97mSv と 64%低減されている。一方、低線量 CT では両側肺背側に線状のアーチファクトが認められ、画質が低下している。

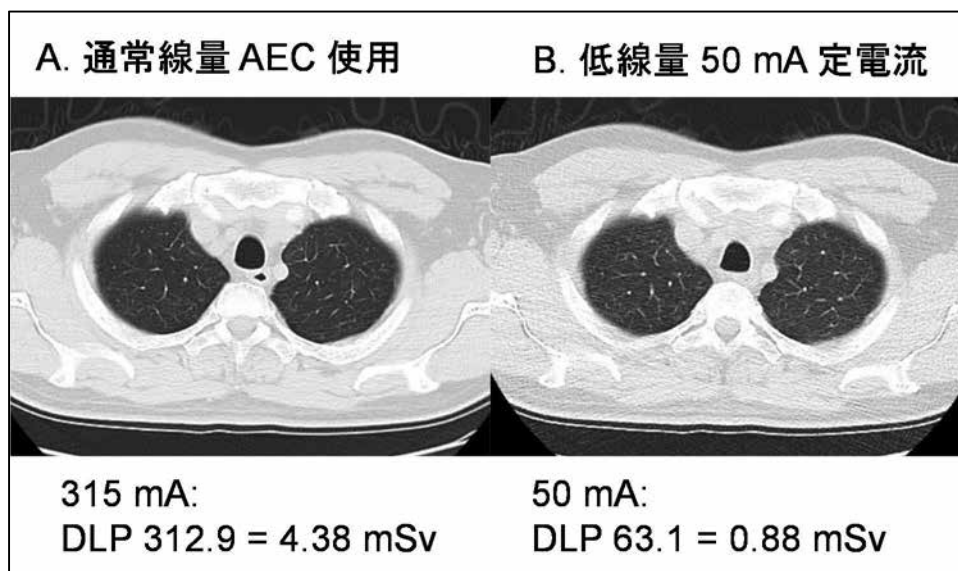


図 2. 通常線量 CT と低線量 CT との比較：症例 2

被曝線量は 80%低減されている。一方、streak artifact が目立ち、画質の低下が明瞭である。

一方、画質評価において、肥満傾向の患者、および、肺尖部領域について、背側優位に斜走する線状アーチファクトとノイズによる画質低下が確認され（図 1、2）、特に、微小病変を対象とする 2mm 厚再構成像で、評価困難例（図 3）や、線状病変が消失した偽陰性（図 4）、偽陽性例としてすりガラス状病変（図 4）、粒状病変（図 5）および斑状病変（図 6）が出現しうることが示唆された。アーチファクトは streak artifact が beam-hardening

artifactにより強調されたものと考えられ、ASiR 単独では除去が困難と考えられた。

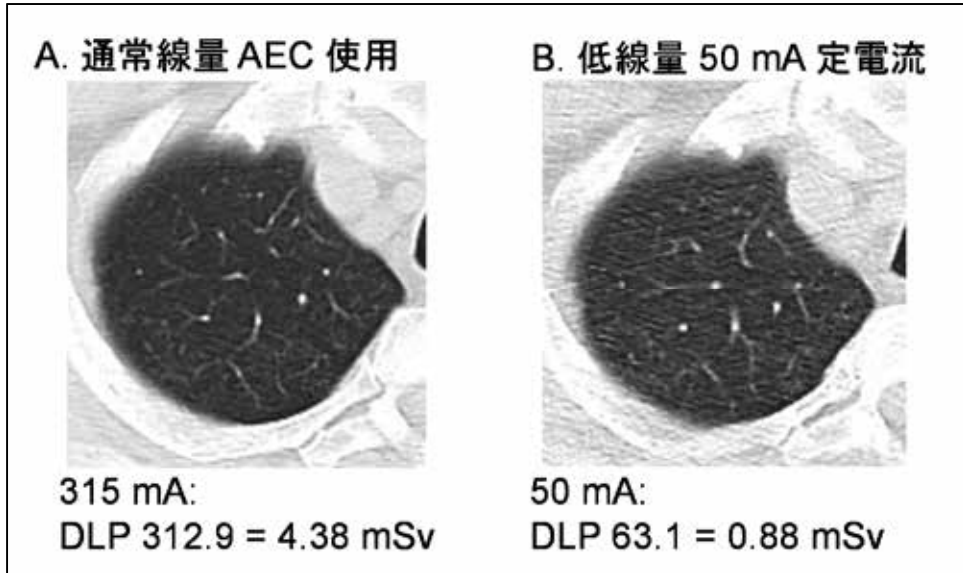


図3. 通常線量 CT と低線量 CT との比較 評価困難例：症例 2  
 streak artifact および微小斑状病変が全体に出現しており、通常線量との正確な比較は困難である。

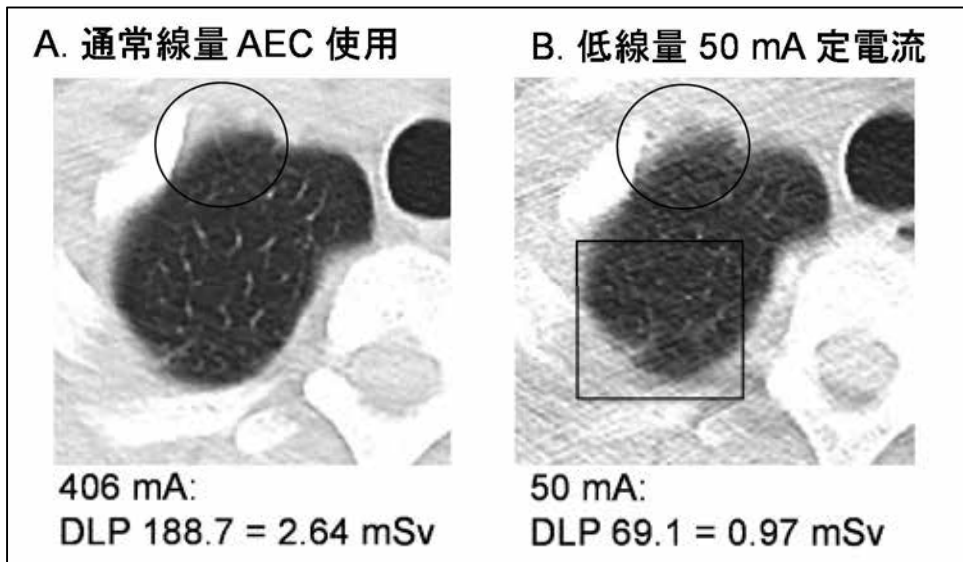


図4. 通常線量 CT と低線量 CT との比較 偽陰性（線状）と偽陽性（すりガラス状）：症例 1  
 通常線量では、右肺尖部腹側に線状病変が認められるが、低線量 CT では指摘できない。  
 一方、低線量 CT のみ、限局したすりガラス状病変が指摘でき、偽陽性病変と推察される。

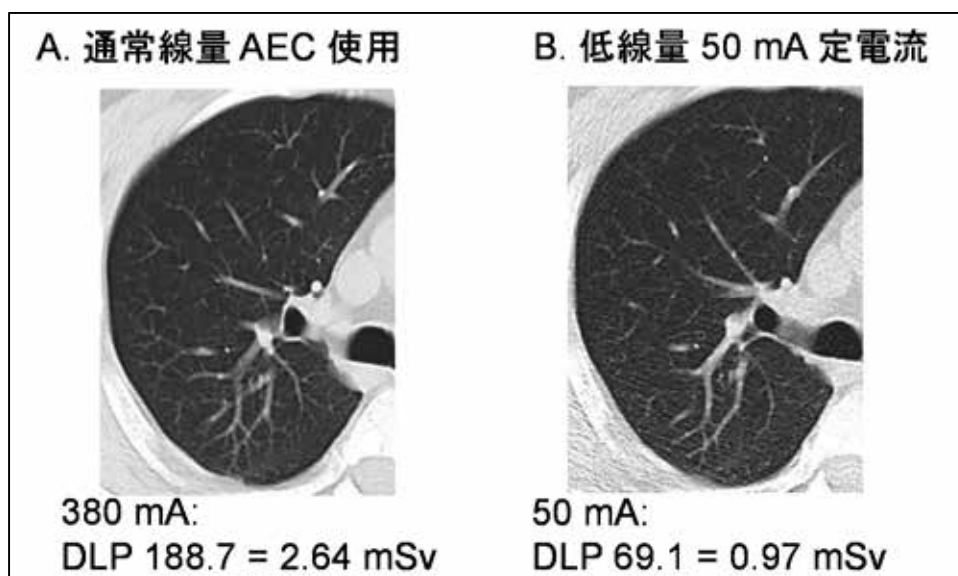


図 5. 通常線量 CT と低線量 CT との比較 偽陽性（粒状）：症例 1  
低線量 CT では streak artifact に起因する、微小粒状病変が指摘される。

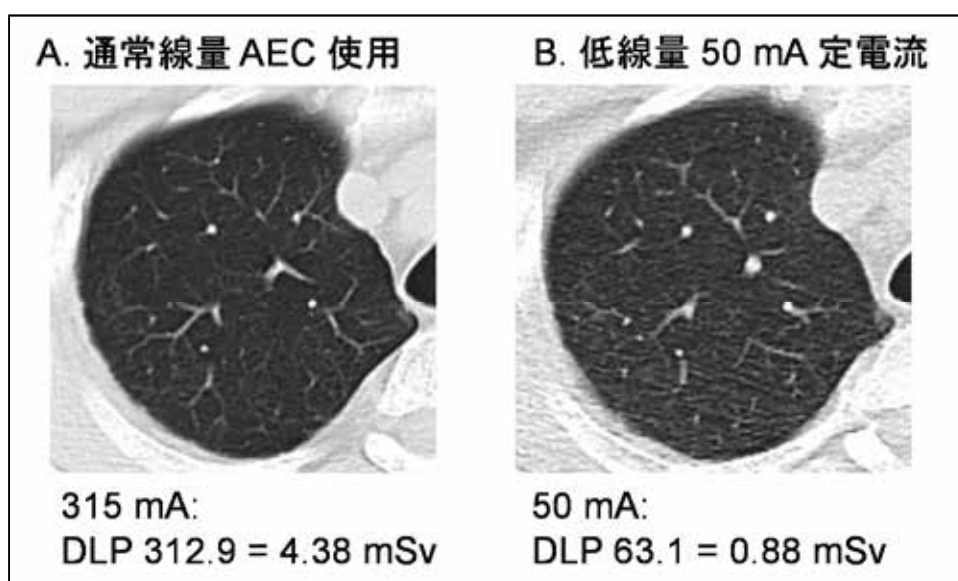


図 6. 通常線量 CT と低線量 CT との比較 偽陽性（斑状）：症例 2  
低線量 CT では小斑状病変が散見され、偽陽性と考えられる。

これに対し、さらなるノイズ低減による画質改善を目的として、ASiR 80%および 100%による再構成画像を評価する事となった。3月3日の第2回小班会議にて評価したところ、ASiR 80%、100%画像はいずれも streak artifact が画像処理により寸断され、むしろ微小粒状病変様の偽像を生ずること、また、微小すりガラス状偽病変が生ずることが観察され（図 7）、やはり推奨値である 60%が最適値であることが確認できた。

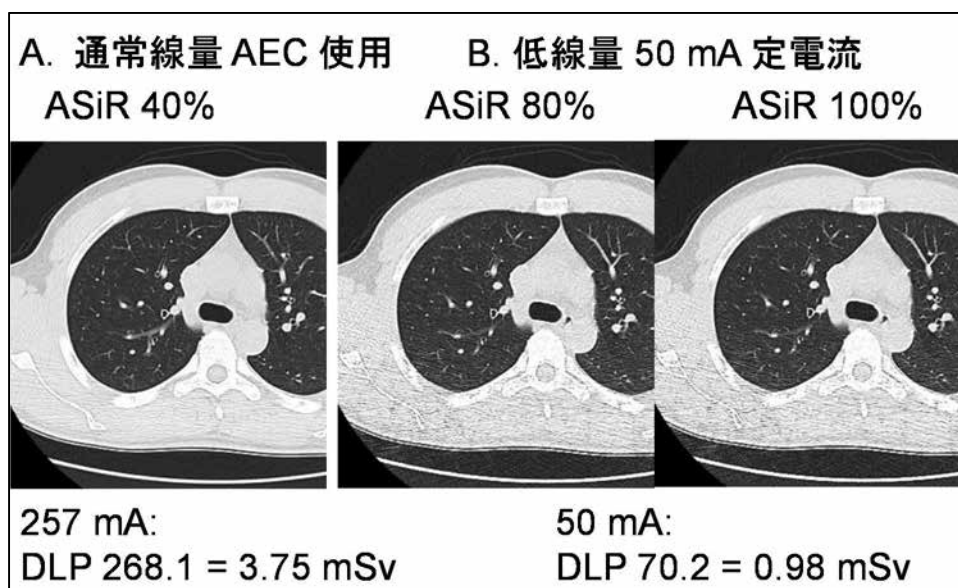


図 7. 通常線量 CT と低線量 CT との比較 ASiR 80%、100% : 症例 3  
ASiR80%、100%の画像では streak artifact による線状構造が断裂し、  
より評価がむずかしい artifact として描出されている。

平成 29 年度においては、低線量 CT 5mm 厚、2mm 厚を用いて平成 28 年度の撮影と比較検討することとなるが、比較的アーチファクトと偽像の弱い 5mm 厚画像を基本とし、2mm 厚画像において生ずる問題点、特徴を十分に理解した上で詳細に読影し、新たな病変の検出に備える必要があると考えられた。

一方、ノイズ低減、streak artifact 軽減を合わせた画質改善の可能性につき、技術的観点より検討を加えた。同装置において実施可能な画質改善法として、1) 低線量 CT 撮影の際に、通常線量で使用された automatic exposure control (AEC) 法を採用し、画質劣化の激しかった肺尖部、横隔膜化の部分の線量を相対的に増加、一方条件の良い肺成分が主体の肺中部の線量を低減する事により総線量を変更せず全体の画質を改善する。2) 患受検者の整位をさらに精度を向上し最適化する。3) 画像再構成関数を、5mm 厚、2mm 厚、1mm 厚の画像に対しよりきめ細かく変更し最適化を図るといった対策が考えられた。これらの対策を、ファントム実験により読影実験を実施し、撮影条件の最適化を図ることとした。50mA 低電流の被曝線量は概ね 1mSv であるが、実験にて不十分と判断された場合は、若干の線量増加を許容し、画質と被曝線量との最適化を図る予定である。

## ベリリウム等のばく露に対する実用的健康影響評価手法の開発 -リンパ球幼若化試験の見直しと改良-

豊岡 達士、佐々木 毅、王 瑞生、甲田 茂樹

### 【背景と目的】

ベリリウムばく露を受けた作業者の中には、ベリリウムに対する特異的な免疫反応（ベリリウム感作：BeS）が生じ、その一部はさらに、肺を中心とした全身の肉芽腫性疾患（慢性ベリリウム症：CBD）に発展することがある。

現在、BeSまたはCBDの生化学的判定にはリンパ球幼若化試験（BeLPT: Beryllium Lymphocyte Proliferation Test）と呼ばれるベリリウムに対するリンパ球増殖を<sup>3</sup>HチミジンのDNA取り込み量で測定する検査法（<sup>3</sup>Hチミジン法）が標準となっているが、測定値の大幅なバラツキ等が頻繁にみられる等、検査法自体の信頼性が重大な問題となっている。また、当該試験法は、放射性同位元素を用いるため、放射性物質の取得・使用・処分が問題となる場所では実施が制限される。これら背景を踏まえ、ベリリウムを扱う作業者の適切な健康管理のために、現行BeLPTの検査成績の向上および放射性同位元素を使用しない代替法の提案が喫緊の課題である。

現行BeLPTは2001年に米エネルギー省（DOE）が公表した手法が標準プロトコル化されているが、本研究では当該手法を詳細に見直し、測定値のバラツキ等の問題点がどこに起因するのか、どのように改良すればよいかを明確にする。同時に放射性同位元素を使用しない代替法を考案する。最終的には、改良BeLPTまたは代替法を、ベリリウムを取り扱う作業者の実サンプルへ応用できる段階まで持っていくことを目的とする。平成28年度は、主に培養リンパ球細胞を用い、<sup>3</sup>Hチミジン法の見直し、および代替法の開発に着手した。

### 【方法】

#### 1. <sup>3</sup>Hチミジン法の見直しに関する検討

リンパ球モデル細胞として汎用されるHL-60（前骨髄球性白血病由来リンパ芽球細胞）をあらかじめ規定した細胞数（ $10^4$ ~ $10^6$  cells/well）で96-well plateに播種し、一定時間後に<sup>3</sup>Hチミジン法により、細胞数と測定値の対応関係について検証した。また、この結果を受けて、<sup>3</sup>Hチミジン法の改良点について検討した。詳細については、「結果と考察」の項において、都度記述する。

#### 2. 代替法の開発

細胞数（細胞増殖）を評価する方法として、観察指標が異なる様々な方法が存在するが、本研究では、その研究目的から、できる限り簡便でかつ精度よく細胞数を評価



できる方法を選択する必要があった。そこで、細胞の代謝を指標に細胞数を評価するアラマブルー法（以下 ALMB 法）、および WST-8 法に着目し、上記、 $[^3\text{H}]$ チミジン法の見直しに関する検討と同様に、細胞数と測定値の対応関係について検証した。詳細については、「結果と考察」の項において、都度記述する。

### 3. 実血液サンプルへの応用

上記、 $[^3\text{H}]$ チミジン法の見直しに関する検討および、代替法の開発において、我々が提案する方法が、実血液サンプルへ応用可能か否かを検証した。当該検討は全て倫理審査委員会の承認を得て実施した。また CBD 患者の血液サンプルは、本研究への参加協力承諾を得た企業を通じて紹介された者から、同意書を取得した上で提供されたものである。実験方法の詳細は「結果と考察」の項において、都度記述する。

## 【結果と考察】

### 1. $[^3\text{H}]$ チミジン法の見直しに関する検討

$[^3\text{H}]$ チミジン法の一般的なプロトコール（**図 1 左**）を使用し、細胞数に対応した測定値が得られるか否かを検証した。細胞を多く播種したウェルほど、液体シンチレーションカウンターによる  $\beta$  線カウント数 (CPM) が高く、確かに細胞数に対応した測定値が得られていることがわかるが、測定値のバラツキが大きいことも否定できない結果となった。当該バラツキ原因を特定するために、まず人の操作が最も入る DNA 抽出過程をカットした。なお、この DNA 抽出方法も種々の方法が存在し、一般的には、ガラスフィルター上にトラップした細胞にトリクロロ酢酸を使用し、DNA をフィルター上に残す方法やキットを使用して DNA 抽出方法などが汎用されている。本研究では後者のキットによる DNA 抽出を行った。

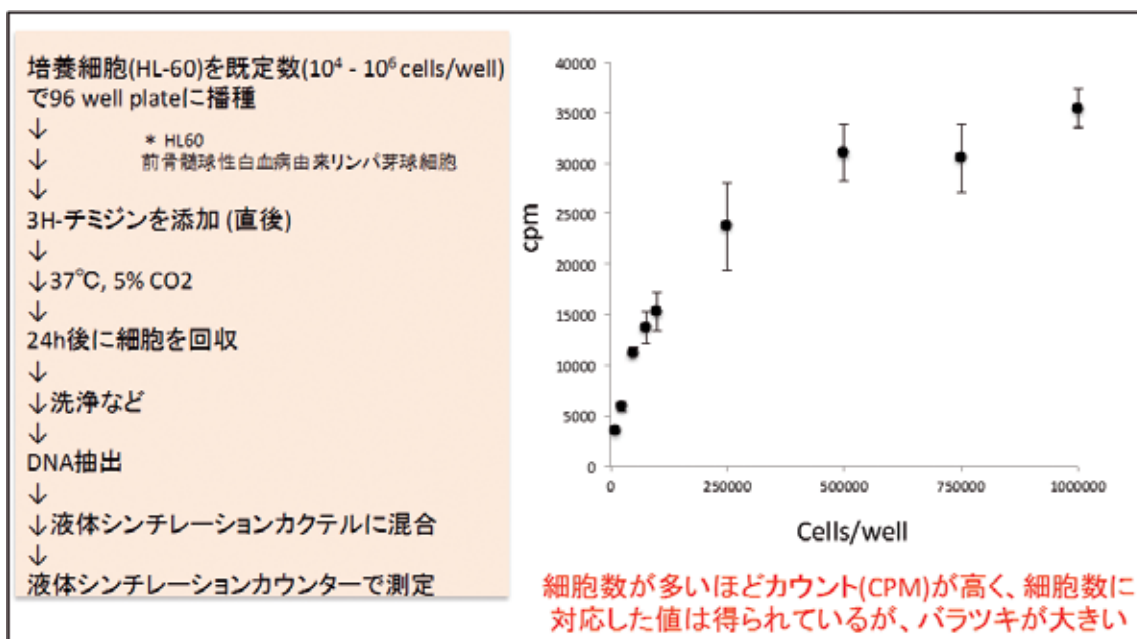


図1. <sup>3</sup>H-Thymidine 取り込み法の一般的プロトコールを使用し、細胞数に対応した測定値が得られるか検討

図2に示すとおり、DNA抽出過程を削除することで、細胞数に対するβ線カウント数のバラツキを顕著に抑制することができることが判明した。すなわち、DNA抽出過程がバラツキ原因の1つになっていたと考えられる。

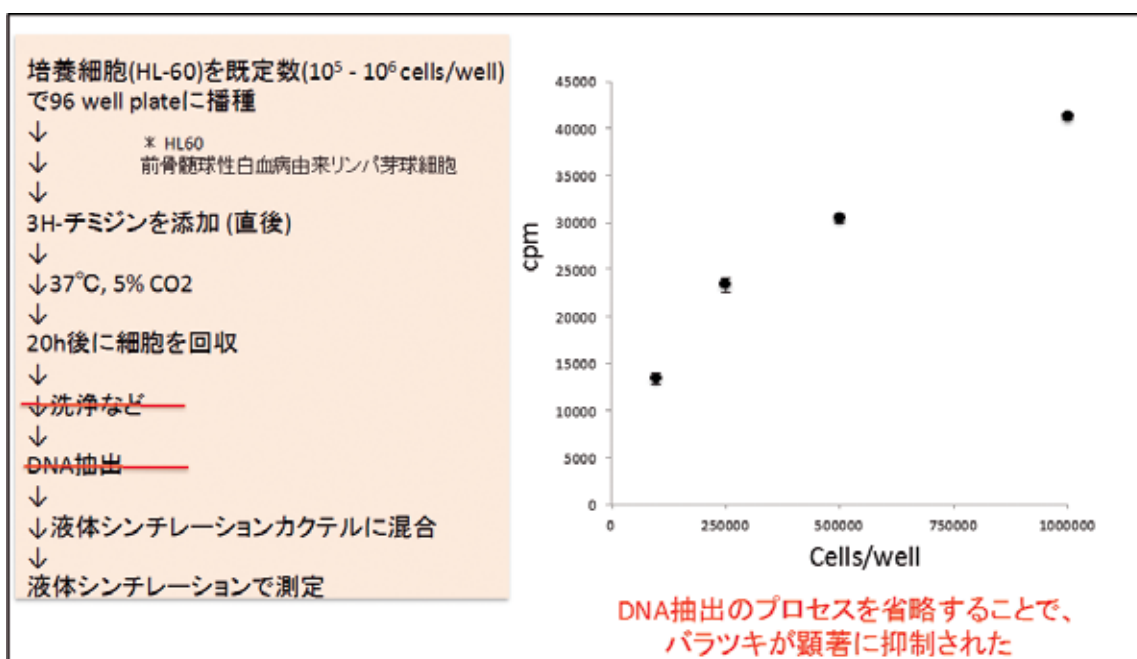


図2. バラツキ原因となる可能性があるプロセスの省略を検討

ここで、DNA 抽出過程を削除することにより変わってくる検出値の意味合い等をそれぞれの検出原理図（図 3）と合わせて表 1 にまとめた。図 3 に示すとおり、従来からの<sup>3</sup>Hチミジン法においては、DNA 抽出をするため、細胞分裂時に DNA に取り込まれた<sup>3</sup>Hチミジンからの β 線を液体シンチレーションカウンターで測定しているため、細胞分裂をした細胞のみを検出している（細胞内に取り込まれただけの<sup>3</sup>Hチミジンはトリクロロ酢酸処理により細胞外へ流出するため、細胞分裂していない細胞は検出されない）。一方で、本方法では DNA 抽出過程を削除したことにより、細胞分裂をした細胞と細胞分裂していない細胞（ただし、<sup>3</sup>Hチミジンは細胞内に取り込まれている）の両方を検出していることになる。この違いによって、従来法ではコントラストは高いがバラツキが大きい測定結果になると考えられる。すなわち、従来法では、細胞分裂しなかった細胞の測定理論値は 0 であり、細胞分裂をした細胞が 1 つでもあると値が得られることから、例えば、リンパ球幼若化誘導物質を作用しないコントロール細胞群と作用する細胞群を比較し、幼若化誘導物質を作用した方の測定値がコントロールの何倍になるかを算出すると非常に高い値が得る可能性がある（理論的には無限大である。ただし、実際にはコントロール細胞群においても、ある一定数の細胞は幼若化誘導物質を作用せずとも分裂が生じていることや、DNA 抽出過程における、トリクロロ酢酸の処理や洗浄過程が不十分である等、様々な理由で<sup>3</sup>Hチミジンからの β 線が検出される）。一方で、本方法では細胞分裂をした細胞と細胞分裂していない細胞の両方を検出しているため、コントラストについては従来法と比すると劣るが、実際の細胞数と相関性が高く、バラツキが少ない値が得られる。また、DNA への取り込み時間が必要ないため、大幅な時間短縮可能であり、実際に <sup>3</sup>Hチミジン作用時間は 4 時間で十分であった（結果示さず）。

<sup>3</sup>Hチミジン法における測定値は、<sup>3</sup>Hから放出される β 線を液体シンチレーションカウンターで検出することで得られるが、この液体シンチレーションカウンターで測定するサンプル調整の段階でバラツキの原因となりうる点を以下に列挙する。

- ❖ バイアル瓶はプラスチック製よりガラス製の方が値が一定する。
- ❖ カクテルとサンプルは完全に混合しないと値が相当バラつく。完全混合されているかを目視確認する際にも、バイアル瓶はガラス製の方が有利である。
- ❖ かく拌後は 15 分程度時間を置いてから測定しないと値がバラつく。置きすぎは問題にならない。

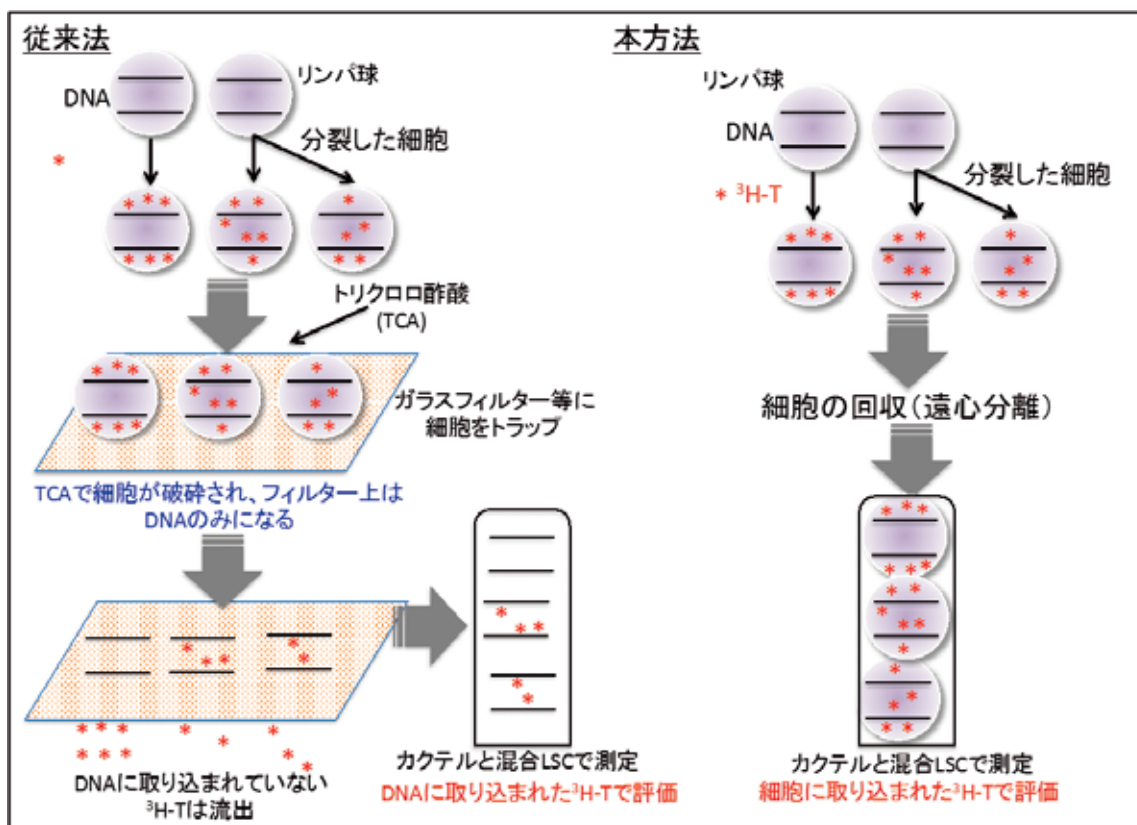


図 3. 検出原理図

表 1.

従来法 DNAに取り込まれた <sup>3</sup> H-Tで評価	本方法 細胞に取り込まれた <sup>3</sup> H-Tで評価
分裂(増殖)した細胞のみを検出	分裂していない細胞、分裂(増殖)した細胞両方を検出
コントラストが高い結果が得られるが、バラツキも大きい	コントラストでは劣るが、実際の細胞数と相関性が高く、バラツキが小さい
手技が煩雑(バラツキ要因の1つ)	手技が簡便
LSC測定に至るまでに長時間を要する (DNAにとりこまれるまでに時間を要する: 24時間前後)	大幅な時間短縮が可能 (細胞に <sup>3</sup> H-Tが取り込まれればよいため4h程度でLSC測定が可能)

## 2. 代替法の開発に関する検討

アラマブルー (ALMB) 法および WST-8 法はともに、細胞の代謝による色素変化または蛍光性物質の生成を指標に、吸光度または蛍光値で測定値を得る方法である。ALMB 法の簡単な原理図を 図 4 に示す。[<sup>3</sup>H]チミジン法の見直しに関する検討と同様に、あらかじめ

め規定した細胞数を 96-well plate に播種し、一定時間後に、細胞数と測定値の対応を検証した。図 5、6 には、ALMB を添加した後、それぞれ 4、24 時間後の結果を示す。

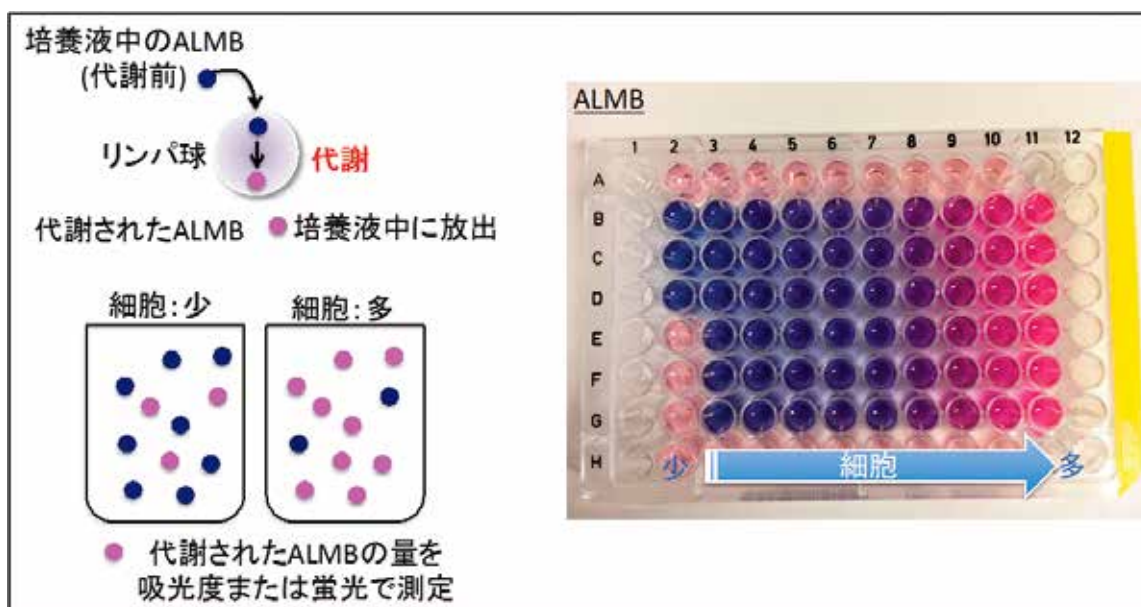


図 4. ALMB 法の原理図

図 5 に示すとおり、ALMB 法（4 時間後）でも、細胞数が多くなるにつれて測定値が高くなっており、細胞数に対応した測定値が得られていることがわかる。また、本実験では 1 つの細胞数条件につき、n=6 (well) で行っているが、その測定値のバラツキが非常に小さく、細胞数に対する測定値の直線性が高いことがわかる。なお、ALMB 添加 1 時間後の測定においても同様の結果が得られているが、測定値のバラツキは 4 時間後の方が小さかった。また、WST-8 法でもほぼ同様の結果が得られている（データ示さず）。一方で、24 時間後測定（図 6）においては、細胞数が多い条件で、細胞数に対する測定値の直線性が悪くなった。これは、ALMB 法では、細胞の代謝による蛍光物質生成を指標にしているため、未代謝 ALMB が枯渇したためであると考えられる。従って当該方法を適用するためには ALMB 添加後 4 時間以内に測定することが望ましいと考えられた。次に ALMB 法と  $[^3\text{H}]$ チミジン法を同一サンプルに適用できるか否か検討した（図 7、8）。



できると判断できた。このことは、量が限られている実血液サンプルを扱う上で有利に働くと考えられる。

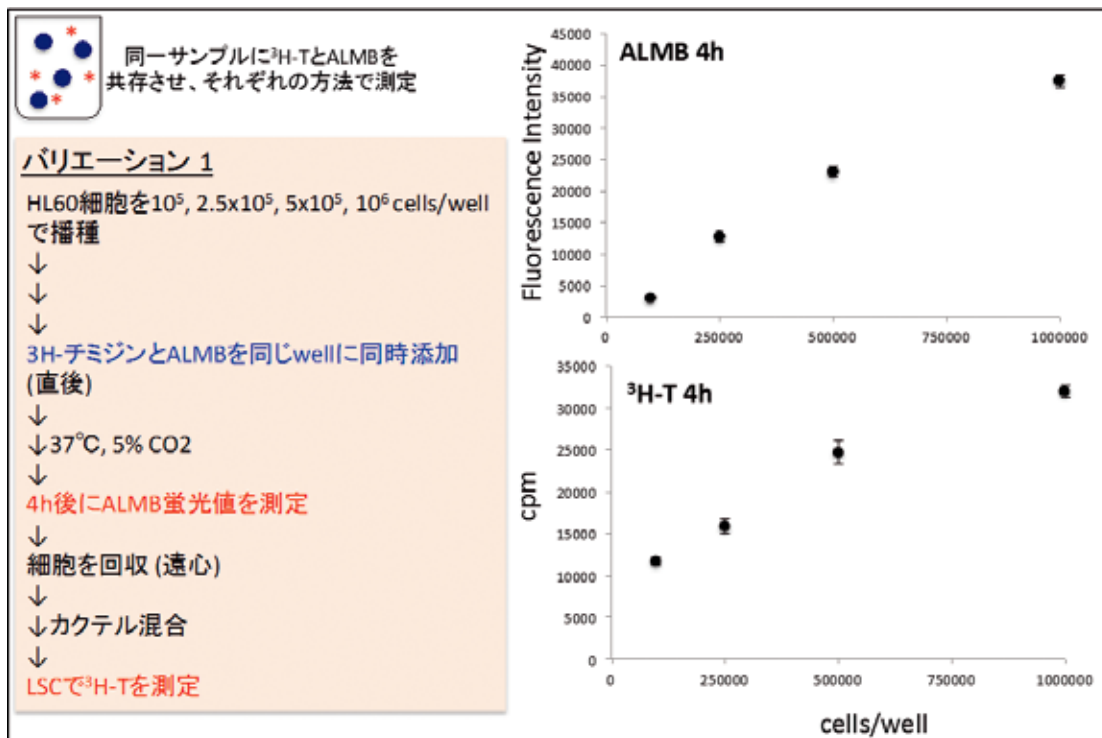


図7. バリエーション1

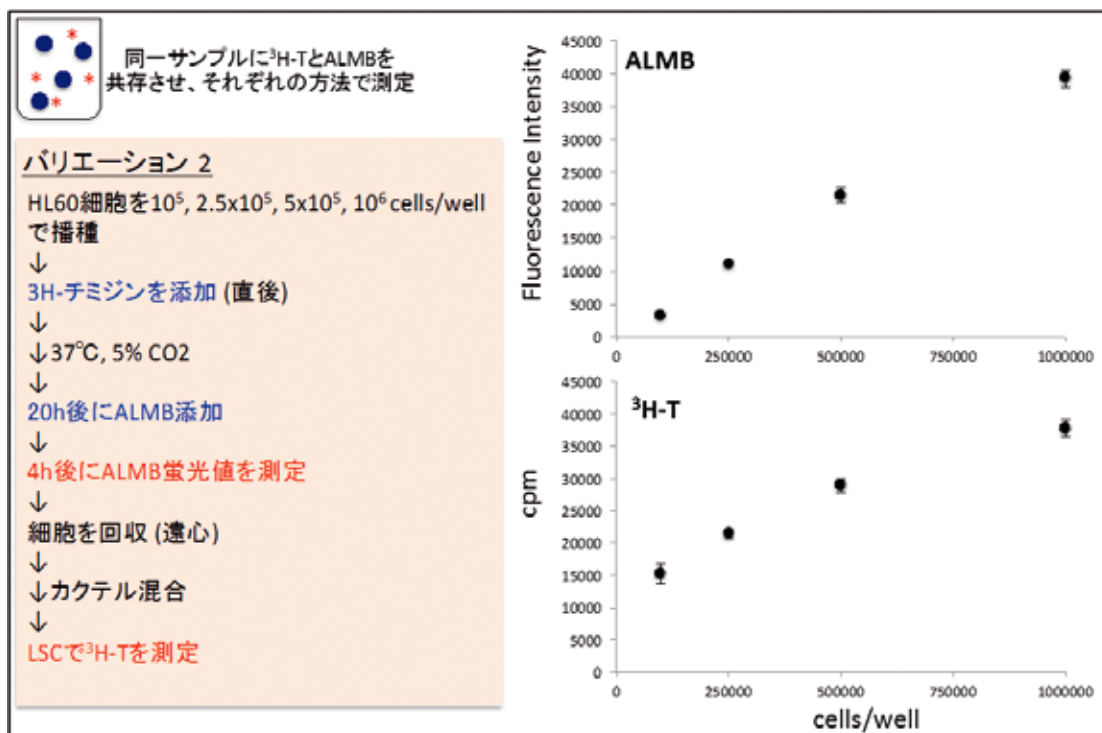


図8. バリエーション2

### 3. 実血液サンプルへの応用

本研究で提案する我々の手法が実血液サンプルに応用できるか否かを検討した。まず、本研究の健常人ボランティア 5 人から提供された血液から、密度勾配遠心法でリンパ球を分離した。健常人ボランティアからのリンパ球では、コンカナバリン A (Con A) を作用させ幼若化 (細胞分裂) を惹起し、一定時間後に、ALMB 法および $^{3}\text{H}$ チミジン法 (改良型) を用い細胞数と測定値の対応関係を検証した。なお、リンパ球の生存率は採血直後に分離を行った場合 90%以上、 $18^{\circ}\text{C}$ で 16 時間前後おいた場合は 80%前後であった。また、Con A はリンパ球幼若化促進剤としてよく知られている物質であり、健常人および CBD 患者両方のリンパ球を増殖させることができるため、ベリリウムリンパ球幼若化試験 (BeLPT) の陽性コントロールとして使用されているものである。図 9 に Con A で幼若化を惹起したリンパ球の顕微鏡写真 (7 日目) を示す。Con A を作用していない場合、リンパ球は、シングルセルの状態であるが、Con A を作用すると、細胞分裂が促進されてコロニー状になっていることがわかる。このコロニー状細胞塊は Con A 作用後、約 3 日程度から顕微鏡下で確認することができた。図 10 には Con A 作用 4 日後における ALMB 法および $^{3}\text{H}$ チミジン法の測定結果を示す。ボランティアから採取したリンパ球は Con A により、全員幼若化が促進されており、その細胞増殖の結果は ALMB 法および $^{3}\text{H}$ チミジン法にて捉えることができた (各人において、幼若化反応の程度が異なるが、測定値のバラツキが非常に小さいため、本方法をもって Con A に対するリンパ球幼若化反応を捕捉できていると判断できる)。次に、CBD の疑いがある患者 4 人 (ただし、内 1 人は臨床所見より CBD ではないと考えられている) のリンパ球を採取し、我々が提案する方法で、ベリリウムに対するリンパ球幼若化反応を検出できるのか否かを検証した。

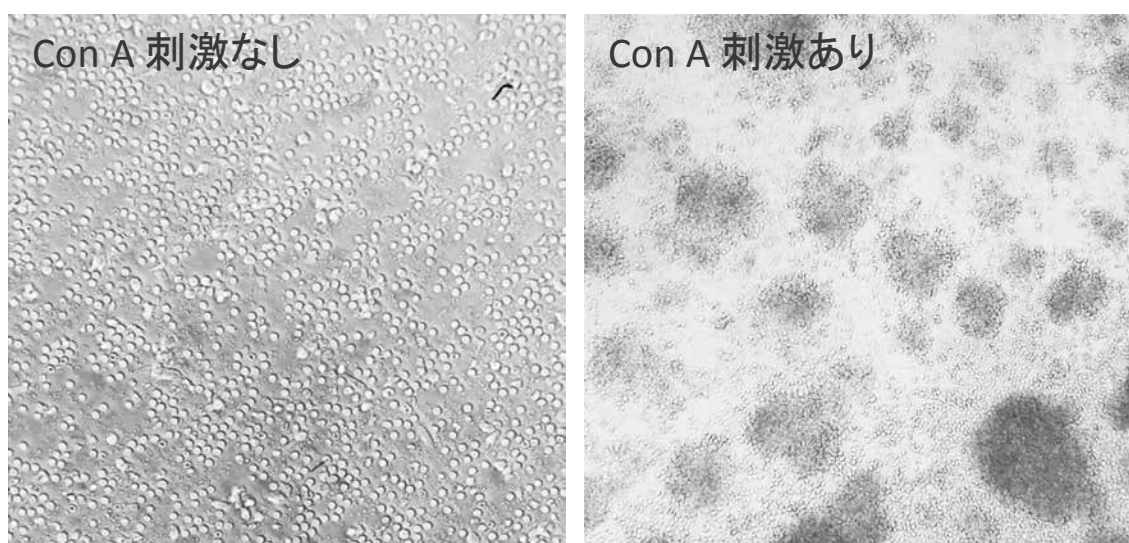


図 9. リンパ球の顕微鏡写真 (7 日目)



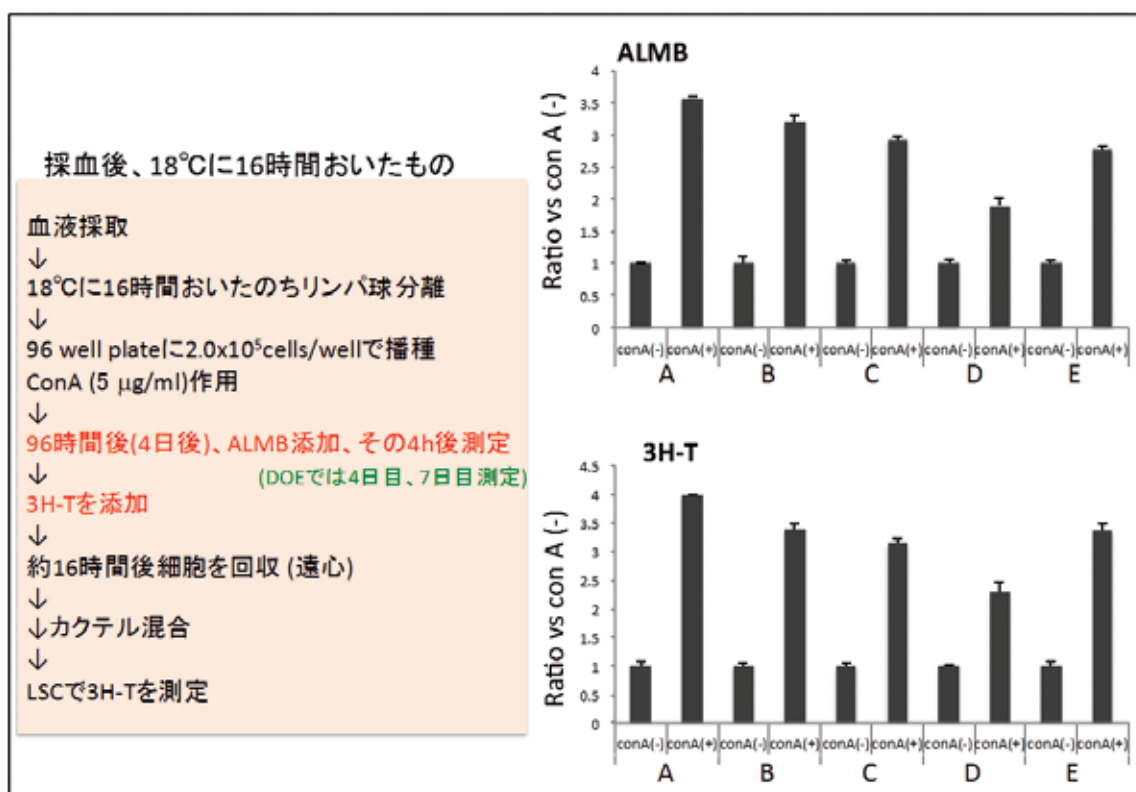


図 10. Con A 作用 4 日後における ALMB 法および $^3\text{H}$ チミジン法の測定結果

図 11 に示すとおり、すべての検査対象者のリンパ球において、陽性コントロールである Con A は無処理のものとは比べて明確な細胞増殖が起こっており、その細胞増殖は問題なく検出できた。一方で、ベリリウム作用によるリンパ球幼若化反応は、無処理のものとはほぼ同様の測定値であり、今回の結果のみからは検出できていないと判断せざるをえない結果であった。なお、幼若化反応が惹起されると、明らかな細胞形態の変化が顕微鏡下で見取れるが今回の実験ではいずれのベリリウム作用濃度においてもそのような現象を観察することはできなかった。

現時点では、CBD 患者のリンパ球がベリリウムに反応しなかったのか、または反応していたが我々の方法では検出できなかったのかを判断することは難しい状況である。これまでの報告では、ベリリウムに感作しているが、ベリリウムによる細胞増殖が起こらない例というものも報告されているが、今回の対象が全員その例にあてはまるということは確率的に考えにくい。一方で、今回は顕微鏡観察において、ベリリウムによる細胞増殖の兆しが全く観察されなかったが、この細胞増殖へ向かう細胞の形態変化等を見落とすことは考えにくく、なんらかの理由で、CBD 患者のリンパ球がベリリウムに反応しなかったことが考えられる。そうすると、ベリリウムの作用方法がその原因の一つであると可能性があり、ベリリウム作用条件を検討した上で、再度検証実験をする必要がある。

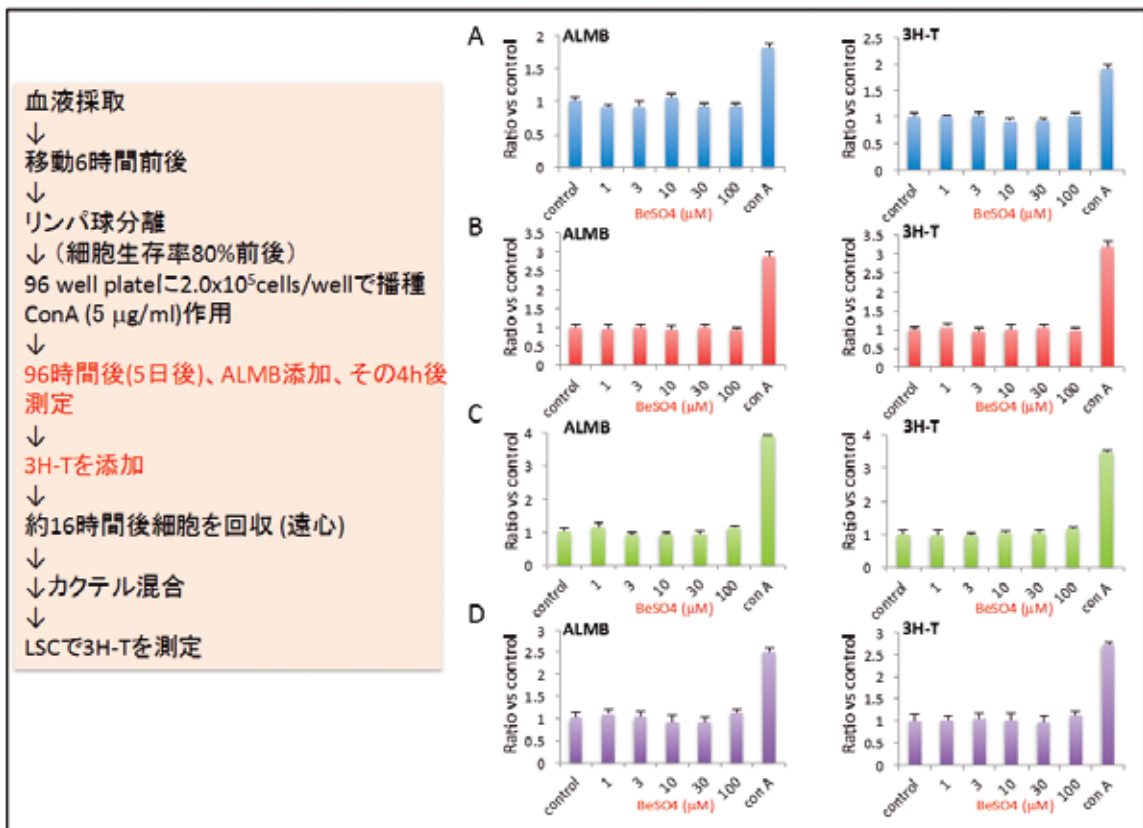


図 11. 細胞増殖

### 【今後の方針等】

ベリリウム作用条件を検討するとともに、次回、実血液サンプルを用いる際には、我々が提案する方法と従来からの $^3\text{H}$ チミジン法を平行に実施する予定である。また、CBD患者に関しては、過去のリンパ球幼若化試験結果および臨床所見等を合わせた総合的な調査を行う予定である。

## 当院におけるベリリウム肺の4症例

横山 多佳子

症例1	ベリリウムばく露が1ヶ月で発症した症例	70歳男性
症例2	ステロイド投与にて陰影の改善を認めた症例	29歳男性
症例3	慢性呼吸不全となり在宅酸素療法を必要とした症例①	71歳男性
症例4	慢性呼吸不全となり在宅酸素療法を必要とした症例②	79歳男性

### 症例1 70歳 男性

【現病歴】29歳（1976年）時より胸部X線写真にて全肺野にびまん性粒状陰影が指摘されていた。ベリリウムリンパ球幼若化試験（beryllium lymphocyte proliferation test：以下BeLPT）は陽性であった。その後は特に呼吸器症状の出現を認めなかった。64歳（2010年）時、精査のため施行した気管支鏡検査でベリリウム肺と診断された。その後、管理手帳健診を受診しているが、自他覚所見の変化は認められていない。

【既往歴】高血圧、脂質代謝異常症 53歳：腸閉塞、55歳：鼠径ヘルニア

【アレルギー歴】特になし 【家族歴】特になし 【生活歴】特になし

【喫煙歴】15本×6年（20歳～26歳）

【職業歴】22歳（1969年3月）時、1ヶ月間の工場実習に参加した。ベリリウム銅製造製造業務などを行い、1ヶ月間の実習で合計10時間程度のベリリウムばく露を受けた。以後、事務職でありベリリウムばく露歴はない。

【気管支鏡検査時検査所見】KL-6とACEは正常範囲内であった。動脈血液ガス分析結果は正常範囲内であったが、呼吸機能検査では拡散能の低下を認めた（表1）。

【気管支鏡検査時画像所見】胸部X線写真（図1）では両側にびまん性粒状影を認めた。胸部CT画像では、両上葉優位に小葉中心性のびまん性粒状影を認め、石灰化を伴う両側縦隔リンパ節の腫大を認めた（図2）。

【BeLPT】BeLP T stimulation index（以下BeLPT S.I）は400%以上が続いていた（図3）。

【気管支鏡所見】気管支粘膜は可視範囲内に異常所見を認めなかった。右B4よりBALを施行した。BALF中リンパ球は50.5%で、CD4/CD8比は15.32であった。右B3a、B4a、B8aより施行した経気管支肺生検の病理組織では、巨細胞を伴わないが類上皮肉芽腫がみられ、線維化を認めた（図4）。

【診断後の臨床経過】2010年と2016年を比較したところ、胸部X線写真（図5）、胸部CT画像（図6）、呼吸機能検査（図7）は著変を認めなかった。

本症例は、ベリリウムばく露歴は1ヶ月と非常に短いですが、ベリリウムに感作されベリリウム肺と診断された症例である。

表 1. 気管支鏡検査時検査所見

Hematology		Biochemistry		ABG	
RBC	460×10 <sup>4</sup> /μl	TP	7.7 g/dl	pH	7.42
Hb	15.1 g/dl	BUN	16.9 mg/dl	PaCO <sub>2</sub>	37.8 Torr
Ht	44.8 %	Cre	0.9 mg/dl	PaO <sub>2</sub>	94.9 Torr
WBC	6,100 /μl	CPK	115 U/L	HCO <sub>3</sub>	24.4 mmol/l I/L
neut.	55.3 %	AST	23 IU/L	BE	0.3 mmol/l
eosi.	1.6 %	ALT	27 IU/L	A-aDO <sub>2</sub>	15.8 mmHg
baso.	0.6 %	LDH	157 IU/L		
mono.	9.1 %	Na	145 mEq/L		
lymp.	33.4 %	K	4.3 mEq/L	<b>Pulmonary function test</b>	
Plt	17.5×10 <sup>4</sup> /μl	Cl	106 mEq/L	VC	3.58 L
ESR	4 mm/hr	Ca	9.4 mEq/L	%VC	88.6 %
				FEV <sub>1.0</sub>	2.65 L
				FEV <sub>1.0%</sub>	74.2 %
				%DLCO	68.8 %
		<b>Serology</b>			
		KL-6	367 U/dl		
		ACE	7.6 IU/L		
		CRP	0.01 mg/dl		



図 1. 気管支鏡検査時胸部 X 線写真

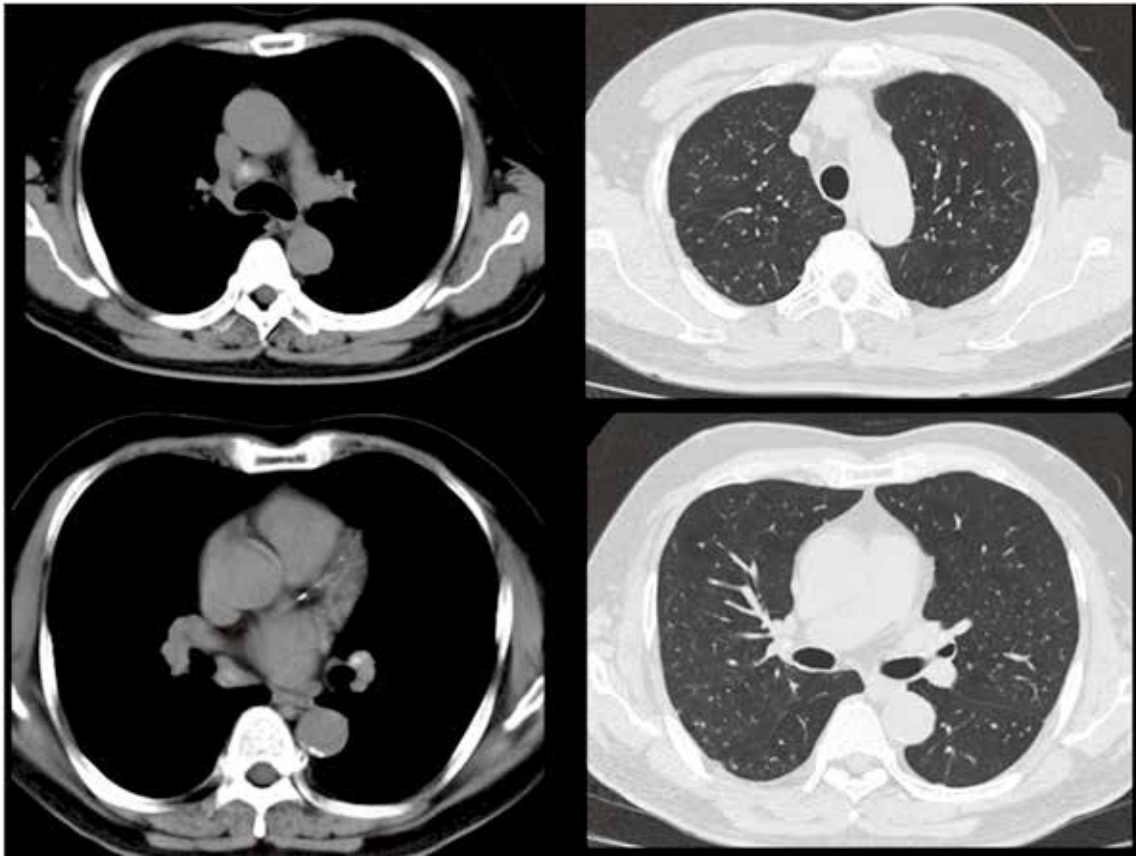


图 2. 支气管镜检查时胸部 CT 图像

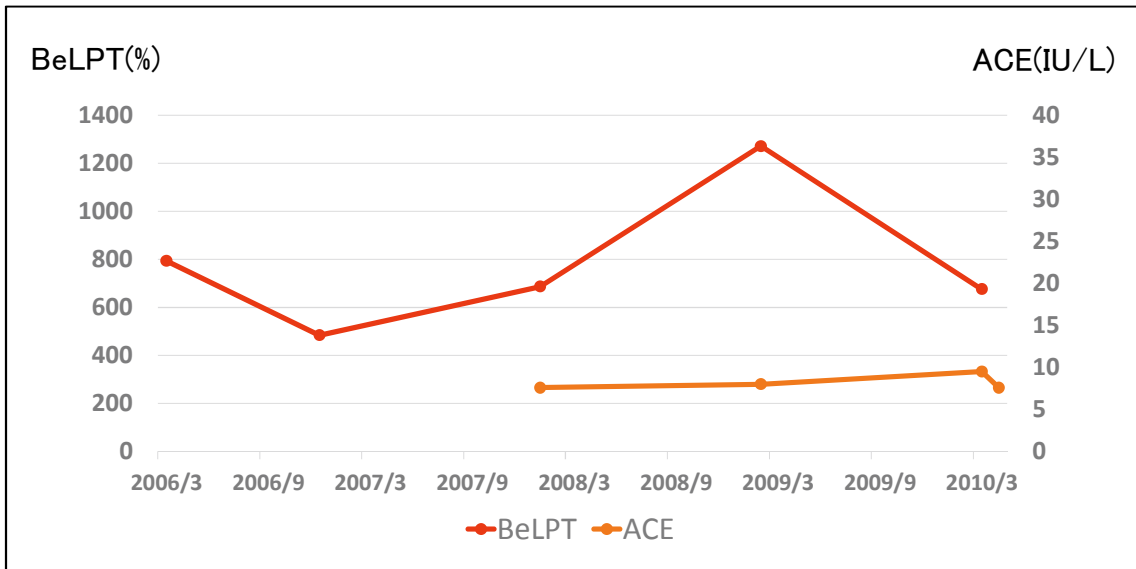


图 3. BeLPT

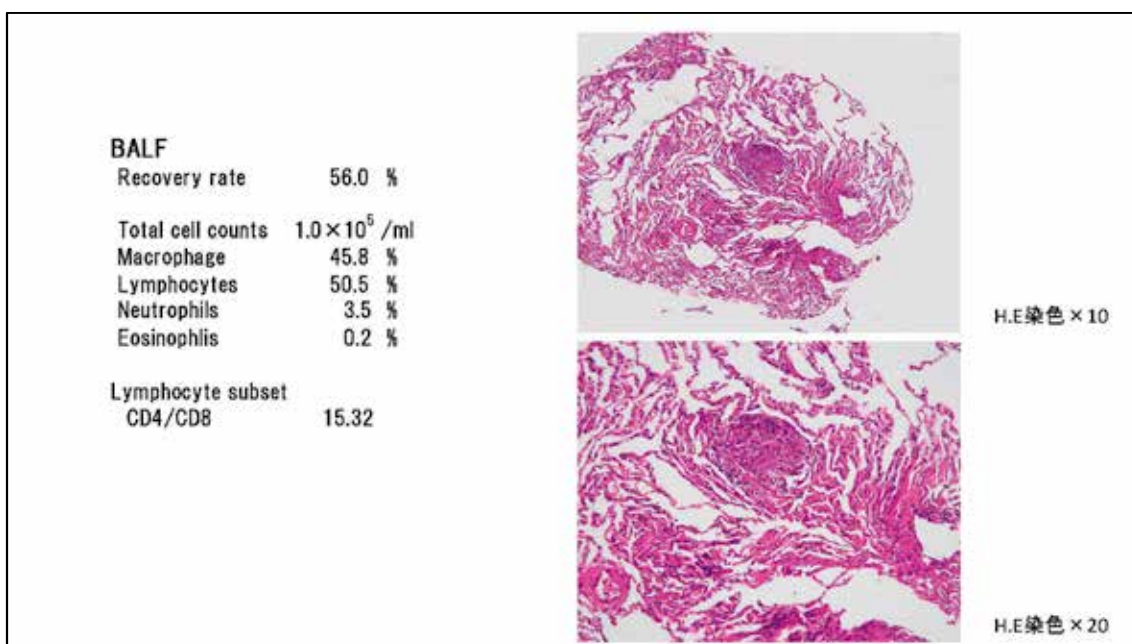


図 4. 経気管支肺生検の病理組織

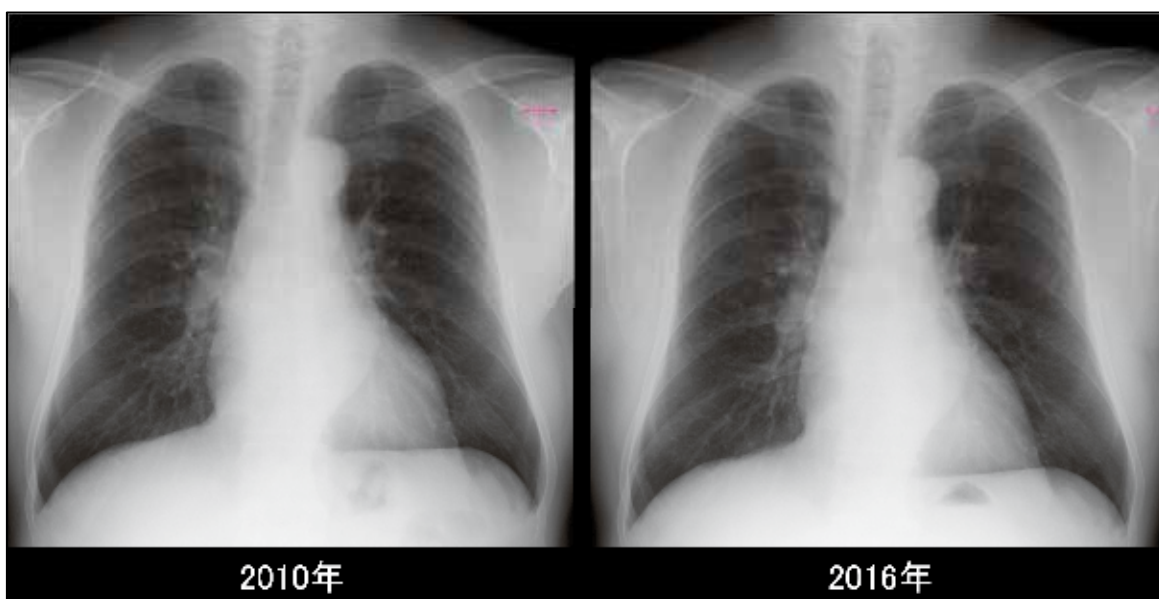


図 5. 胸部 X 線写真

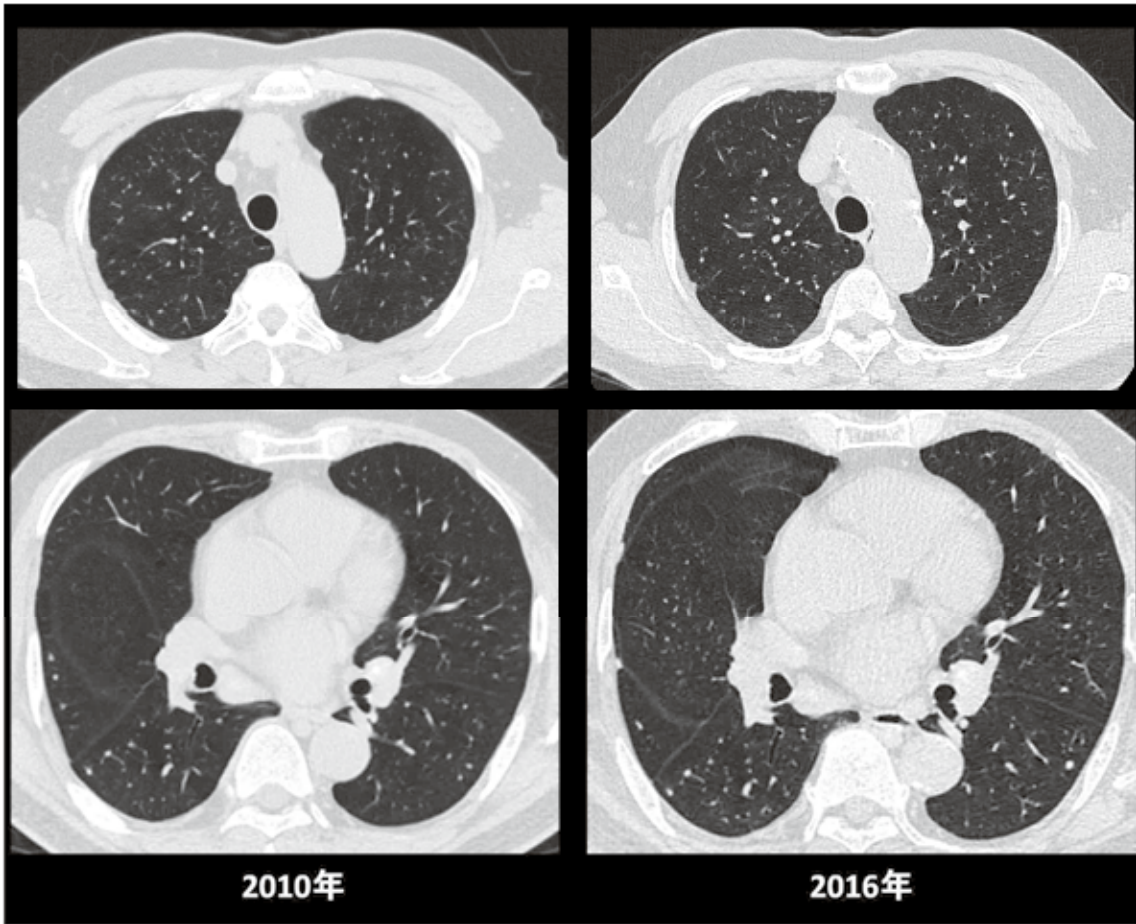


图 6. 胸部 CT 画像

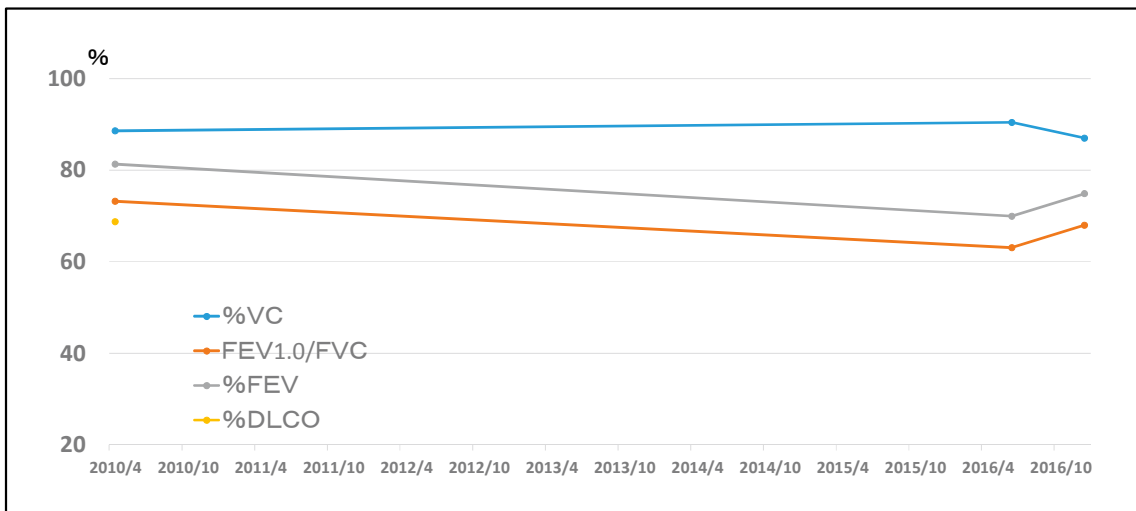


图 7. 呼吸機能検査

## 症例2 29歳 男性

【現病歴】ベリリウムばく露作業従事前は BeLPT 陰性であったが、ベリリウム作業開始 1 年後の 19 歳（2007 年 3 月）時には BeLPT S.I は 212% と上昇していた。21 歳（2008 年 11 月）時より胸部 X 線写真で両肺野にびまん性粒状影を指摘され、21 歳（2009 年 5 月）時に施行された気管支鏡検査でベリリウム肺と診断された。

【既往歴】特になし 【アレルギー歴】特になし 【生活歴】特になし

【喫煙歴】特になし

【職業歴】18 歳から 1 年 5 ヶ月間（2006 年 4 月～2007 年 8 月頃）断続的にベリリウム合金銅製造過程で溶解鑄造作業に従事していた。

【気管支鏡検査時検査所見】KL-6 と ACE の上昇を認めた。動脈血液ガス分析では PaO<sub>2</sub> が 71.9 Torr と低酸素がみられ、呼吸機能検査では FEV<sub>1.0</sub>/FVC と %DLCO の低下を認めた（表 2）。

【気管支鏡検査時画像所見】胸部 X 線写真では両側に淡いびまん性粒状影を認めた（図 8）。胸部 CT 画像では、びまん性に小葉中心性の粒状影とその周囲のすりガラス陰影、広義間質の肥厚、気管支血管壁の肥厚がみられ、両側に石灰化を伴わない縦隔リンパ節の腫大を認めた（図 9）。

【BeLPT】従事前には陰性であった BeLPT は、ベリリウムばく露開始 12 ヶ月後の健診にて BeLPT S.I は 212% となり、その 3 ヶ月後の検査でも 239% であったが、2008 年 11 月には BeLPT S.I 3768% となり、その後 9797% まで上昇した（図 10）。

【気管支鏡所見】気管支粘膜は可視範囲内に異常所見を認めなかった。右 B5 より BAL を施行した。BALF 中リンパ球は 89.8% で、CD4/CD8 比は 3.02 であった。右 B2b、B3a、B8a より採取した経気管支肺生検の病理組織では、類上皮肉芽腫がみられ、線維化を認めた（図 11）。

【臨床経過】ベリリウム肺と診断後、咳症状増悪、KL-6 の値上昇、SpO<sub>2</sub> の低下があり、胸部 X 線写真で粒状影の増悪（図 12）を認めたため、PSL 30 mg（0.5 mg/kg）の投与を開始したところ、自覚所見の改善を認めた（図 13）。その後、自覚症状の悪化はなく、呼吸機能検査結果も改善した（図 14）。KL-6 と ACE の値も安定していたため、2016 年 5 月には PSL を 3 mg まで減量した（図 15）。胸部 CT 画像では粒状影は残存したが、すりガラス陰影は改善した。しかし、2016 年 11 月頃より咳症状があったため PSL を 20 mg まで増量したところ症状は改善し、現在は PSL 10 mg を内服中である（図 16）。

本症例は、病理組織学的にはサルコイドーシスと鑑別ができないが、BeLPT がベリリウムばく露後に陽性になっておりベリリウム肺と診断した。自覚所見の悪化がありステロイド投与を開始したところ、症状と画像所見は共に改善した。ステロイドを漸減したが、自覚症状の悪化がありステロイドの増量が再度必要となった。本症例については、今後ベリリ



ウム肺に対するステロイドの適応や長期投与について検討する予定である。

表 2. 気管支鏡検査時検査所見

<b>Hematology</b>		<b>Biochemistry</b>		<b>ABG</b>	
RBC	584×10 <sup>4</sup> / μl	TP	7.0 g/dl	pH	7.42
Hb	16.8 g/dl	BUN	12.2 mg/dl	PaCO <sub>2</sub>	37.9 Torr
Ht	49.3 %	Cre	0.9 mg/dl	PaO <sub>2</sub>	71.9 Torr
WBC	4,500 / μl	CPK	86 U/L	HCO	24.3 mmol/l
neut.	69.9 %	AST	26 IU/L	BE	0.2 mmol/l
eosi.	0.7 %	ALT	19 IU/L	A-aDO <sub>2</sub>	32.44 mmHg
baso.	0.3 %	LDH	231 IU/L		
mono.	9.2 %	Na	145 mEq/L	<b>Pulmonary function test</b>	
lymp.	19.9 %	K	4.3 mEq/L	VC	4.25 L
Plt	18.7×10 <sup>4</sup> / μl	Cl	106 mEq/L	%VC	82.3 %
ESR	3 mm/hr	Ca	9.6 mEq/L	FEV <sub>1.0</sub>	2.80 L
				FEV <sub>1.0</sub> %	65.8 %
				%DLCO	62.6 %
		<b>Serology</b>			
		KL-6	2270 U/dl		
		ACE	34.8 IU/L		
		CRP	0.2 mg/dl		



図 8. 胸部 X 線写真

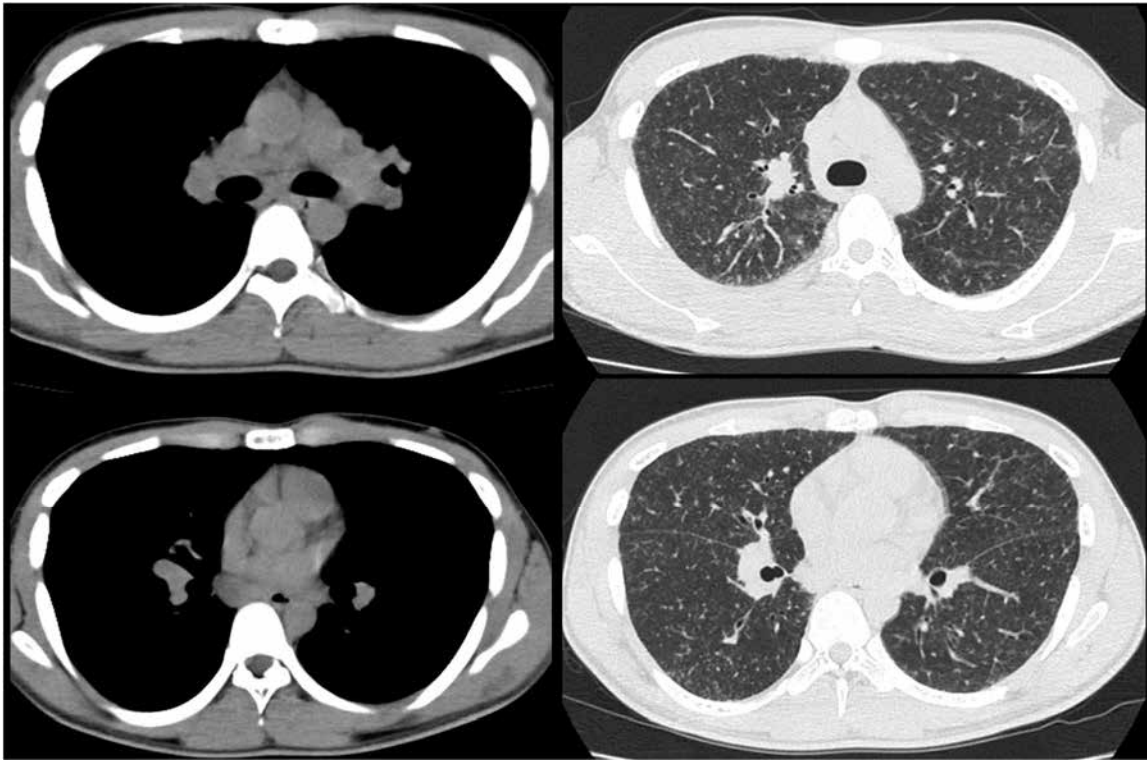


图 9. 胸部 CT 画像

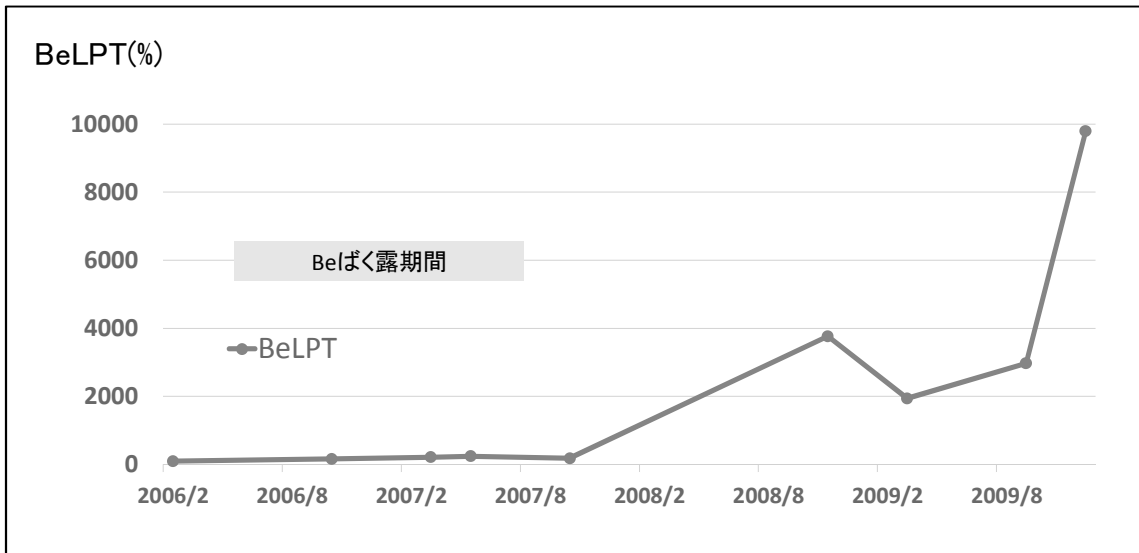


图 10. BeLPT

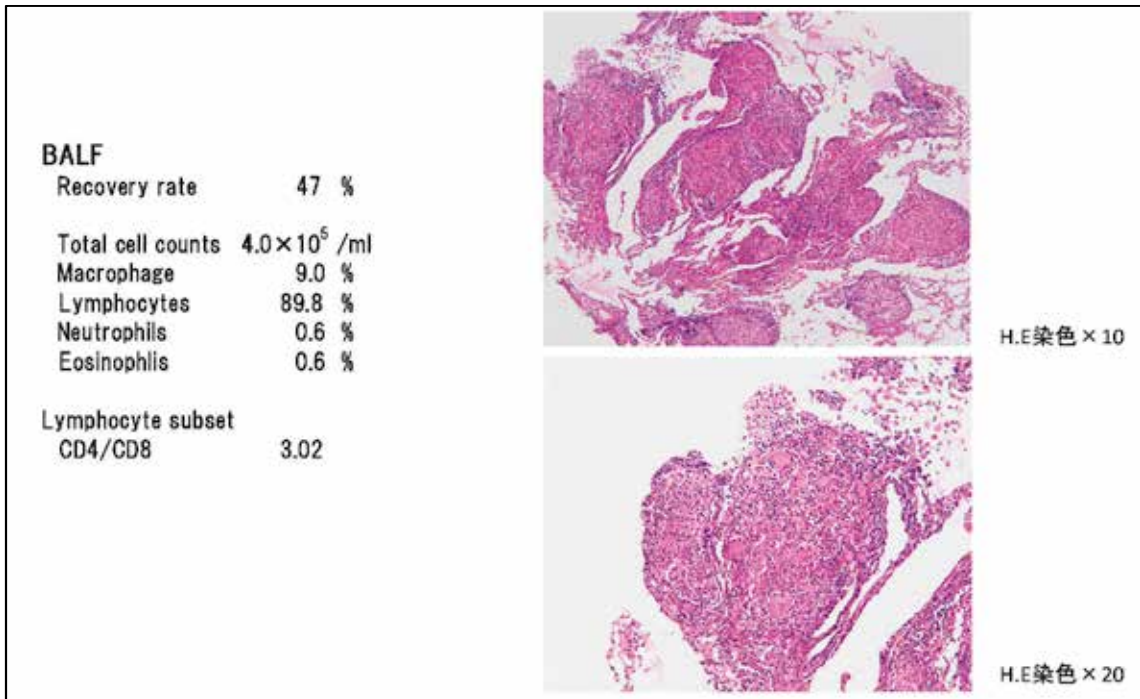


図 11. 経気管支肺生検の病理組織

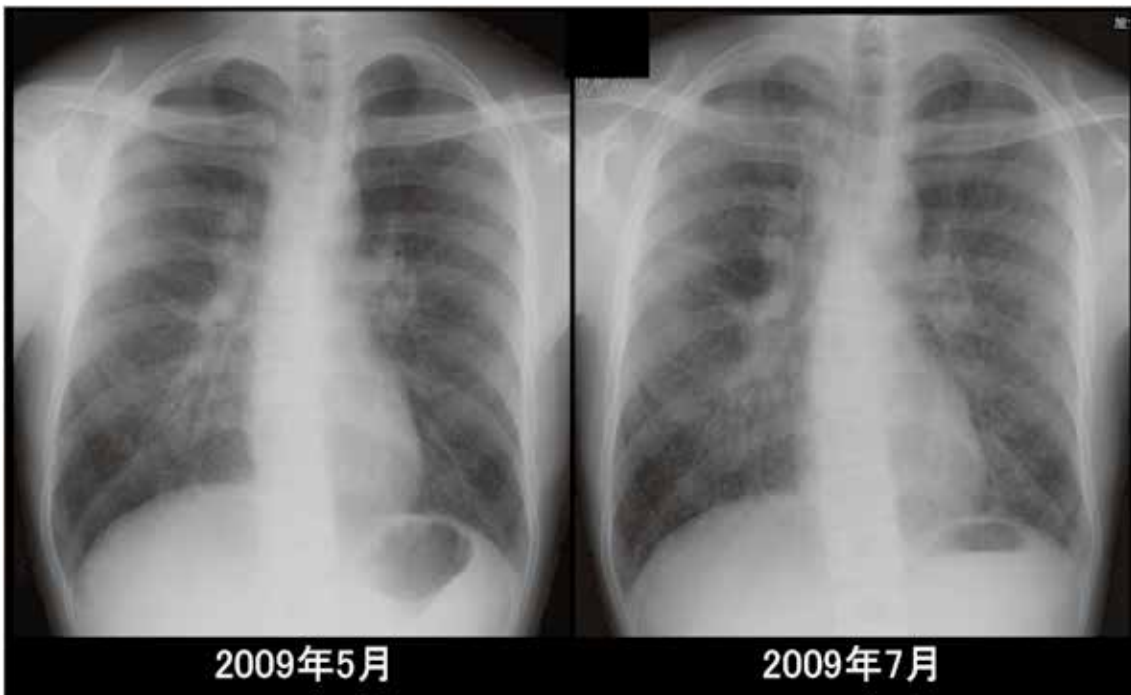


図 12. 胸部 X 線写真

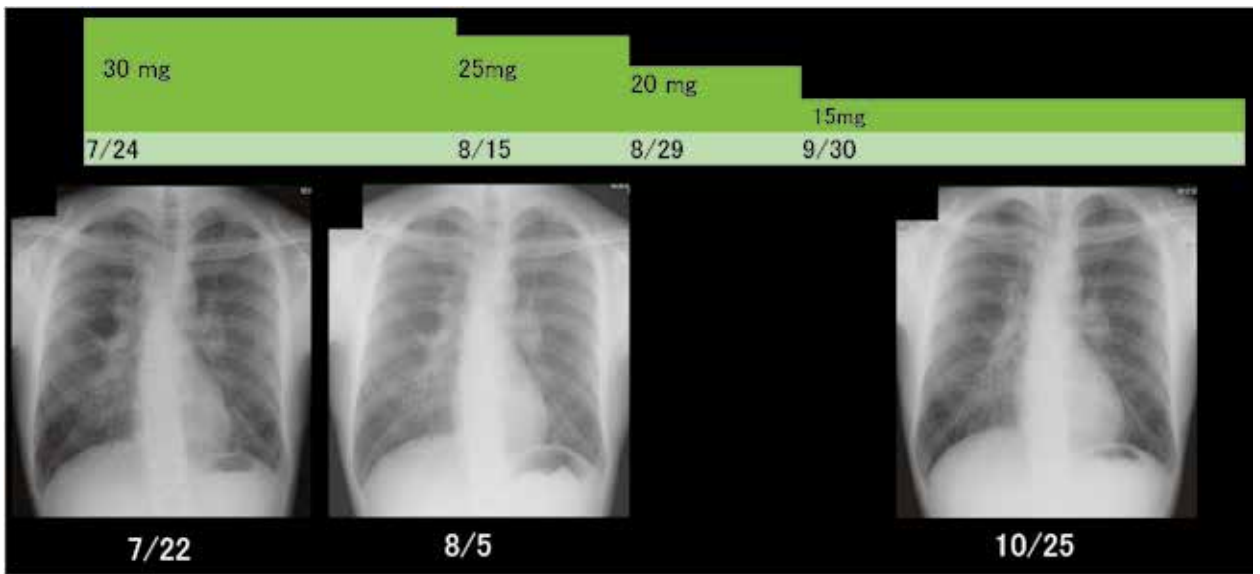


図 13. 胸部 X 線写真の推移

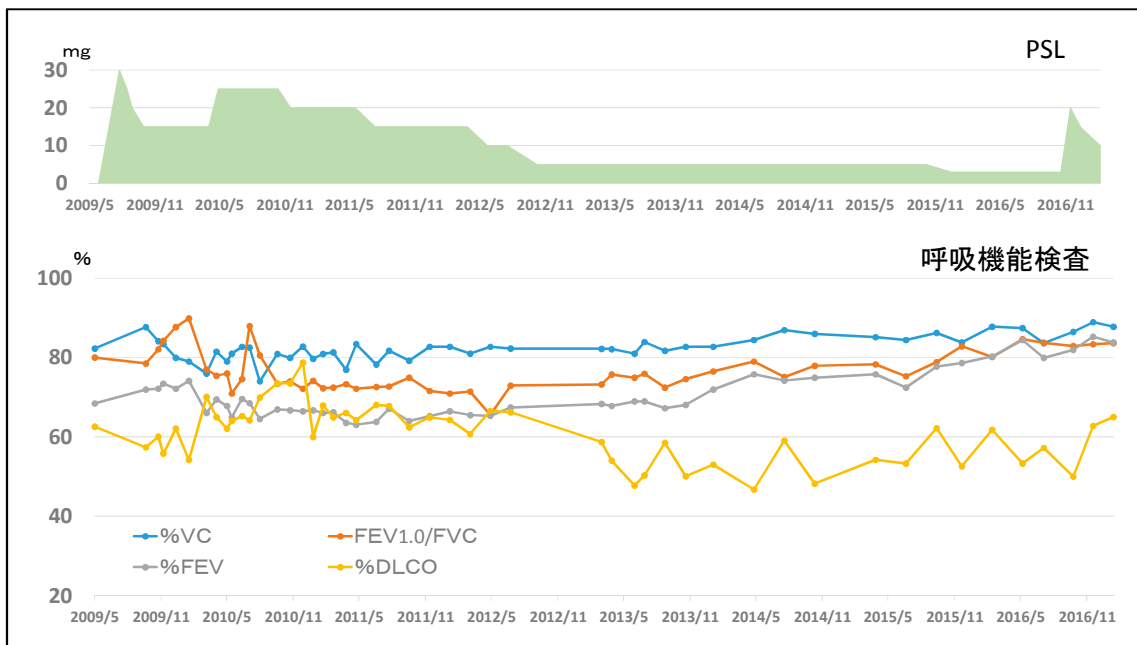


図 14. 呼吸機能検査の推移

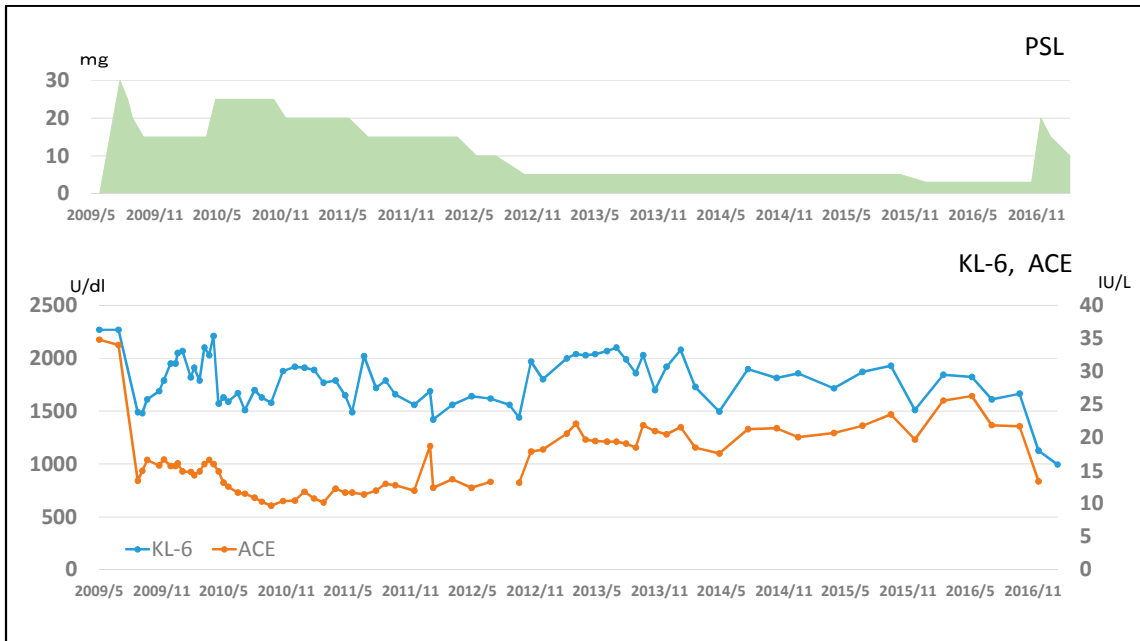


図 15. KL-6、ACE の推移

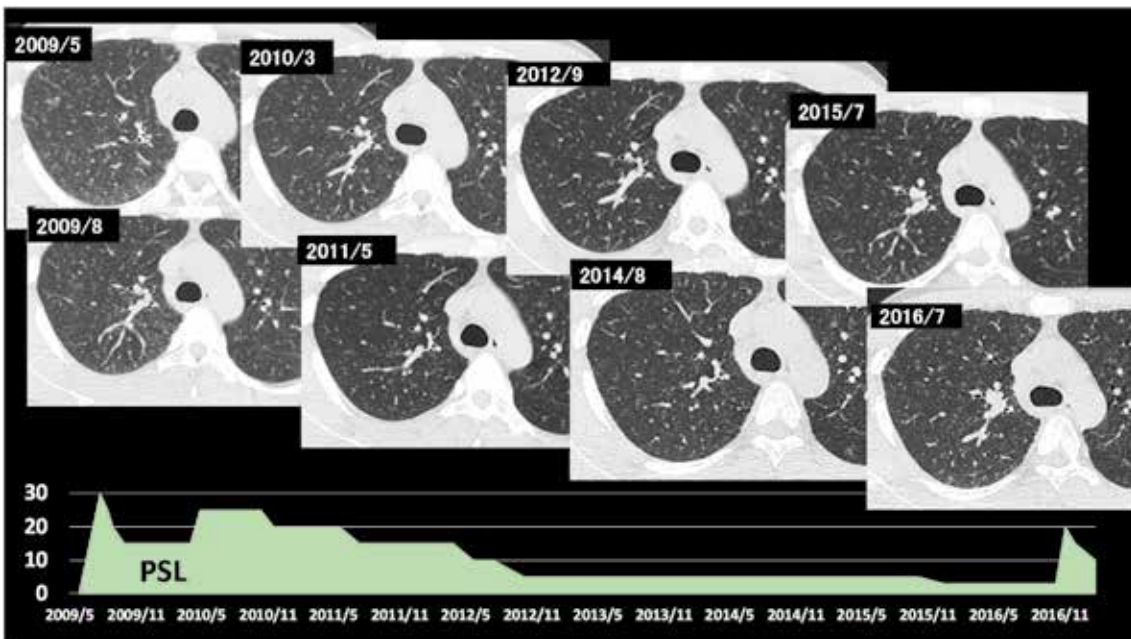


図 16. 胸部 CT 画像の推移

### 症例3 71歳 男性

【現病歴】17歳（1962年）時に急性ベリリウム症と診断され10日間の入院治療を受けた。34歳（1977年）時に会社のベリリウム定期健診の胸部X線写真において両側のびまん性結節陰影を指摘された。37歳（1982年）時に他院にて経気管支肺生検が施行され慢性ベリリウム肺と診断された。60歳（2006年）時に気胸を発症した。64歳（2009年）時より在宅酸素療法が導入された。現在は酸素を安静時に4L/分、労作時に6L/分使用している。

【既往歴】特になし 【アレルギー歴】特になし

【家族歴】特になし 【生活歴】特になし

【喫煙歴】40本×6年（20歳～26歳）

【職業歴】17歳時に2ヶ月間ベリリウム磁器製造で、酸化ベリリウムを混入する作業に従事していた。

【現在の画像所見】胸部X線写真では両肺野網状粒状影、嚢胞性変化が見られる（**図17**）。胸部CT画像では上葉優位にびまん性粒状影、小葉間隔壁の肥厚、気管支血管束肥厚を認め、一部にすりガラス影も認めた。両肺野にびまん性嚢胞性変化がみられ、石灰化を伴わない両側縦隔リンパ節腫大が見られる（**図18**）。

【画像所見の経過】当院で確認できた2003年からの画像所見を振りかえると、びまん性粒状影が徐々に減少し嚢胞性変化が出現した（**図19**、**図20**）。

【呼吸機能検査、KL-6値の推移】当院で経過観察しえた2009年よりの経過では、KL-6値は1000~1500 U/dLで推移し大きな変化はなかった。呼吸機能検査では%VC、FEV<sub>1.0</sub>/FVCに大きな変化を認めなかったが、%DLCOは低下傾向であった（**図21**）。

本症例は長い臨床経過で、胸部の画像において嚢胞性変化が進行し、慢性呼吸不全をきたした症例である。



图 17. 胸部 X 線写真

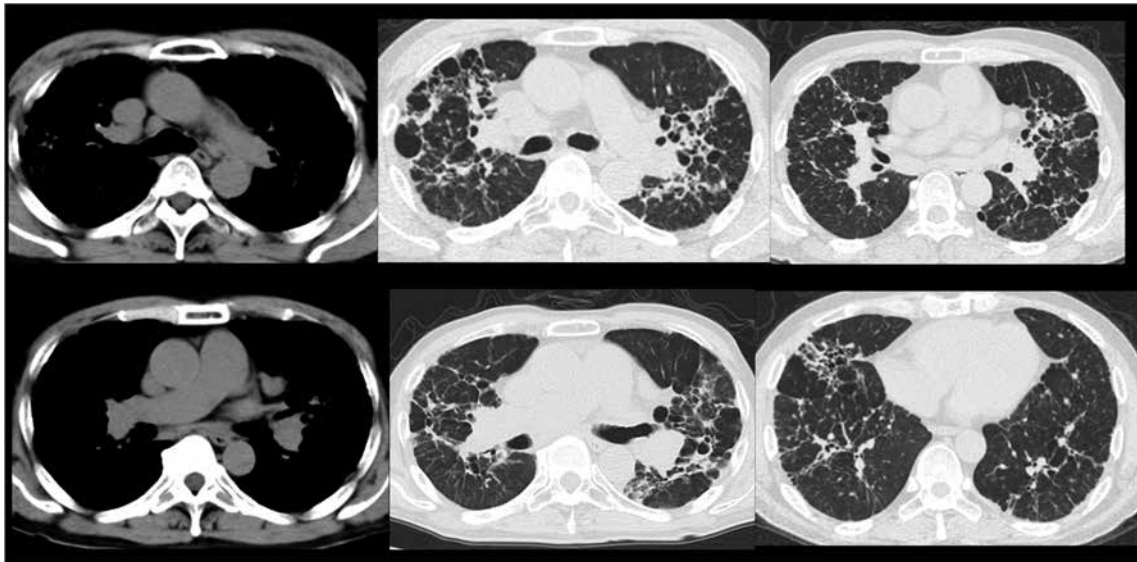


图 18. 胸部 CT 画像

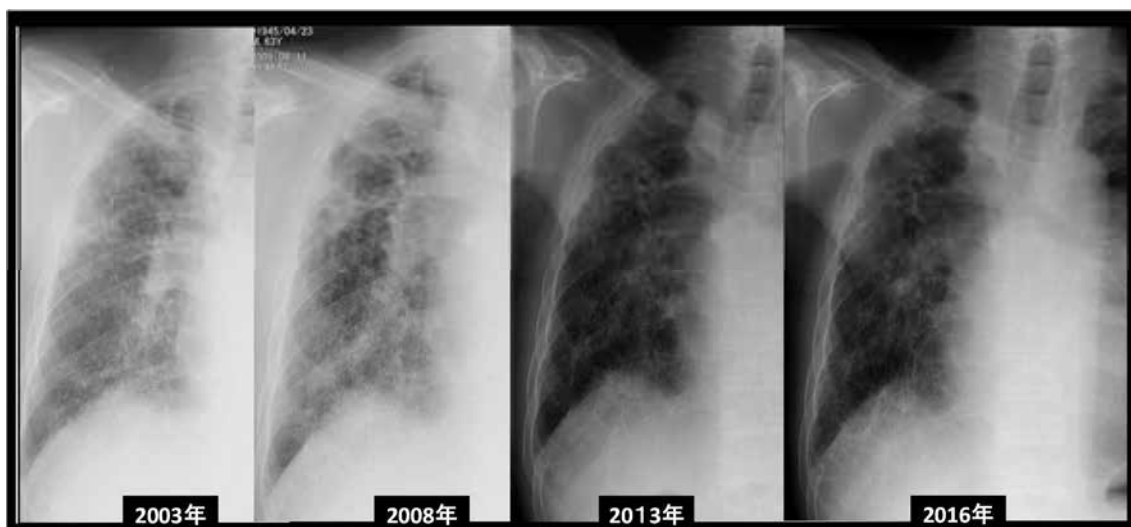


图 19. 胸部 X 線写真経過

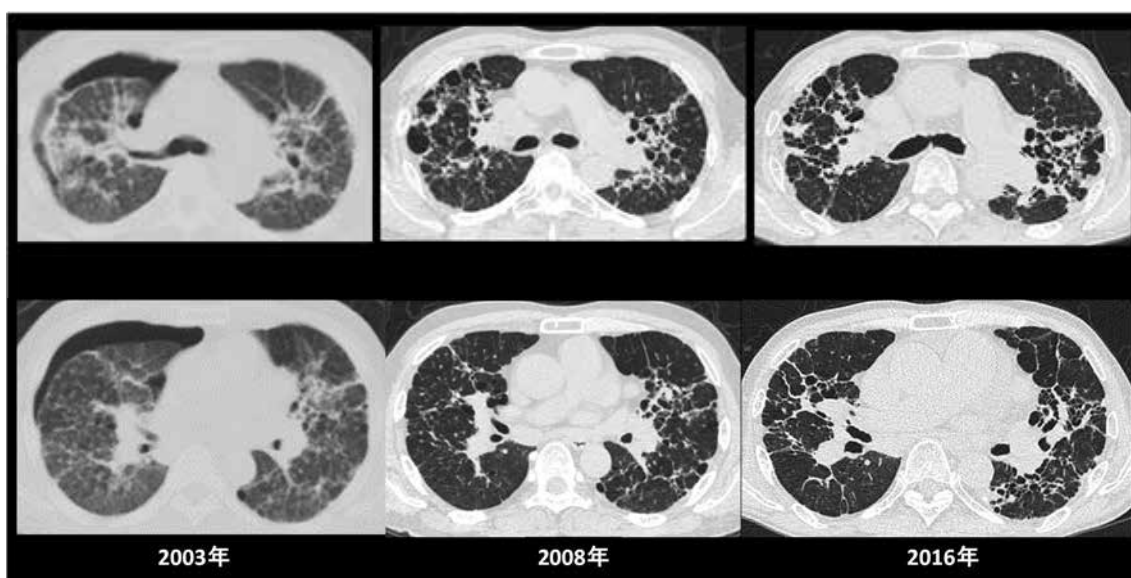


图 20. 胸部 CT 画像経過



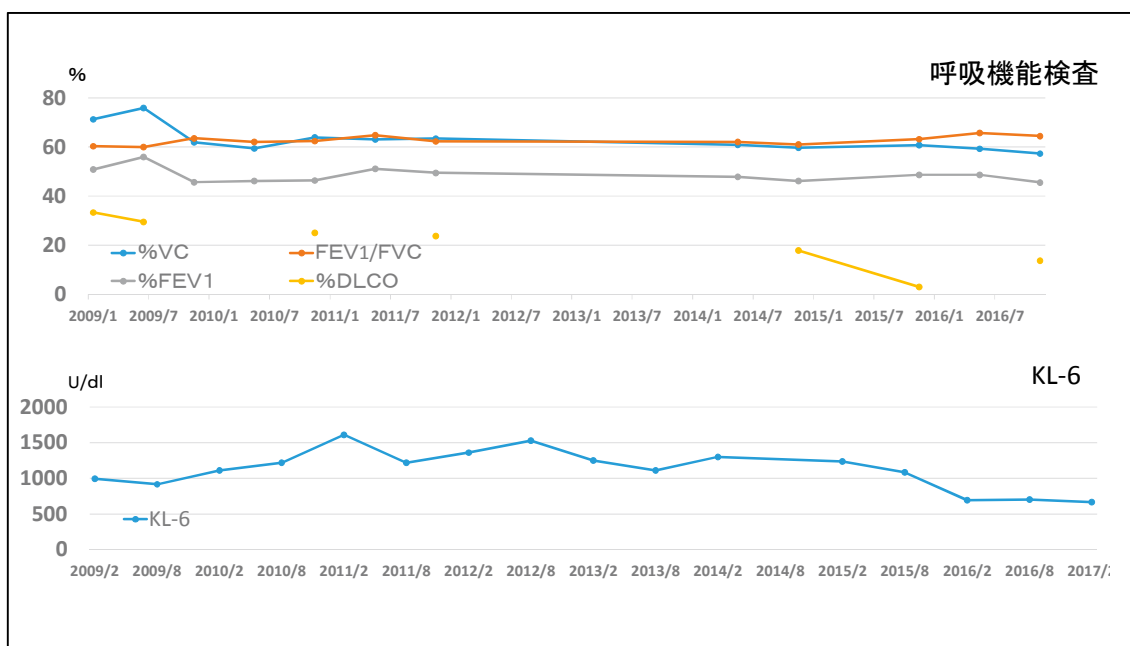


図 21. 呼吸機能検査、KL-6 値の推移

症例 4 79 歳 男性

【現病歴】38 歳（1975 年）時より胸部 X 線写真にて両肺野に小粒状影を指摘されていた。56 歳（1993 年）時より階段昇降時に息切れを自覚した。65 歳（2003 年）時に施行された胸腔鏡下肺生検（VATS）でベリリウム肺と診断された。71 歳（2008 年）時に右気胸を発症した。72 歳（2009 年）時より在宅酸素が導入され、現在は酸素を安静時 1L/分、労作時 1.5L/分使用している。

【既往歴】痛風、前立腺肥大

【アレルギー歴】特になし 【家族歴】特になし 【生活歴】特になし

【喫煙歴】20 本×45 年（20 歳～65 歳）

【職業歴】23 歳から断続的に 1 年間（1961 年 5 月～1964 年 3 月頃）ベリリウム金属の精錬研究や融解塩の粘度特性評価など試験研究業務に従事。

【現在の画像所見】胸部 X 線写真では両肺野に網状粒状影が広がり、嚢胞性変化を認める（図 22）。胸部 CT 画像では、両側の一部にすりガラス陰影がみられ、両上肺野優位にびまん性粒状影、小葉間隔壁の肥厚、軽度の気管支血管束の肥厚があり、広義間質の肥厚、牽引性の気管支拡張を認める。両肺野にびまん性の嚢胞性変化と石灰化を伴う両側縦隔リンパ節の腫大がみられる。両側に境界明瞭な結節影、石灰化した胸膜病変を認める（図 23）。

【気管支鏡、肺生検が前医で施行された時の検査所見】KL-6 値の上昇を認めた（表 3）。BALF 中リンパ球は 55.0%であり、CD4/CD8 比は 11.74 であった。VATS で得られた病理組織所見（左下葉 S8）では、胸膜の肥厚や肺泡構造が壊れた部分が散見される。胸膜直下

部分は微小腺腫様過形成となっており、肺胞構造が保たれるところもあるが、全体に類上皮肉芽が多発し、線維化も認める（**図 24**、**図 25**）。

【画像所見の推移】当院で経過観察しえた 2003 年以降の画像の経過を比較したところ、びまん性粒状影が減少し嚢胞性変化が出現した（**図 26**、**図 27**）。

【呼吸機能検査、KL-6 値の推移】当院で経過観察しえた 2009 年以降、KL-6 値は徐々に 3000 U/dL 前後から 1000 U/dL 前後に低下した。呼吸機能は%VC、FEV<sub>1.0</sub>/FVC、%DLCO が低下傾向であった（**図 28**）。

本症例は症例 3 と同様、長い臨床経過で、胸部の画像において嚢胞性変化が進行し、慢性呼吸不全をきたした症例である。



**図 22. 胸部 X 線写真**

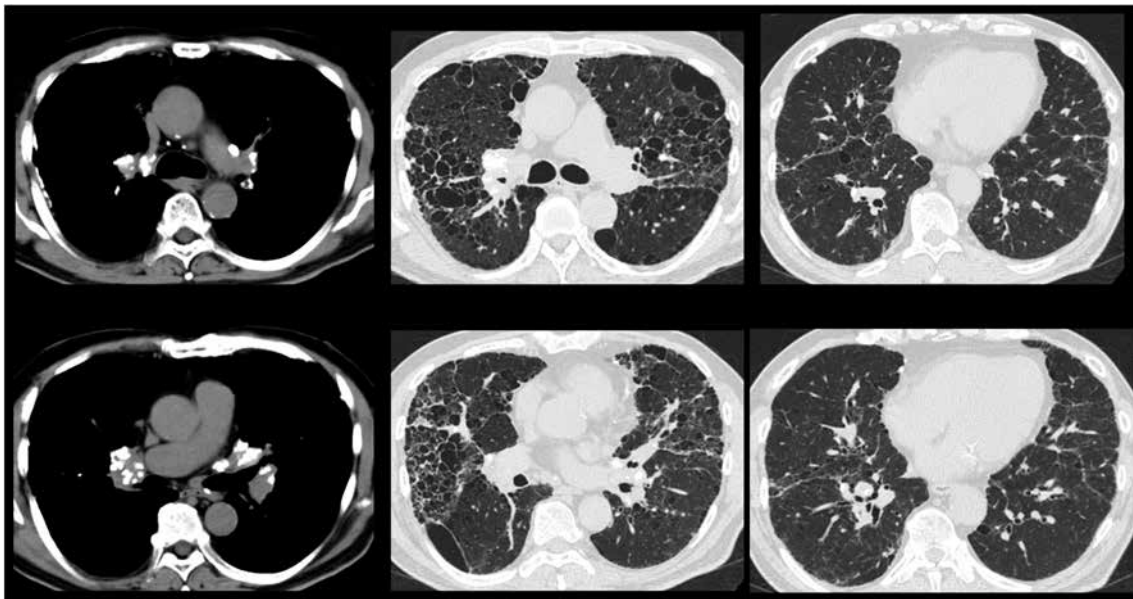


図 23. 胸部 CT 画像

表 3. 気管支鏡、肺生検が前医で施行された時の検査所見

<b>Serology</b>		<b>ABG</b>		
KL-6	2670 U/dl	pH	7.43	
ANA	40 倍以下	PaCO <sub>2</sub>	34.2	Torr
RF	38 IU/ml	PaO <sub>2</sub>	75.0	Torr
<b>Pulmonary function test</b>		HCO <sub>3</sub>	22.8	mmol/l
VC	3.88 L	BE	-0.8	mmol/l
%VC	113.1 %	A-aDO <sub>2</sub>	32.25	mmHg
FEV <sub>1.0</sub> %	67.5 %			
%DLCO/VA	82.2 %			

前医退院サマリーより抜粋

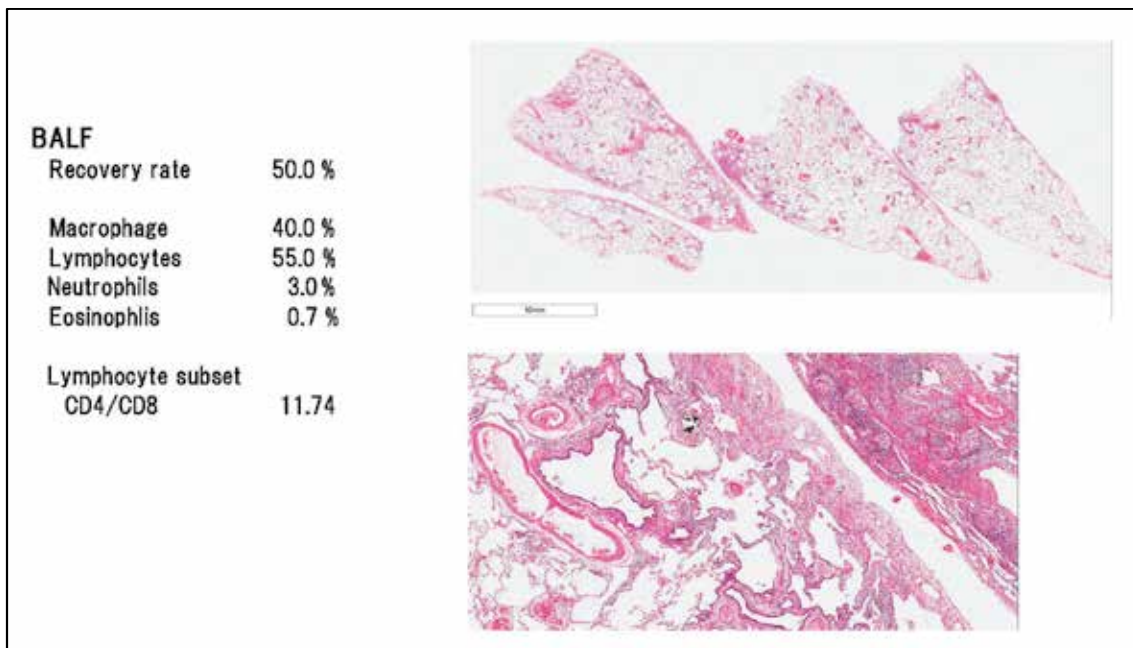


図 24. VATS で得られた病理組織所見 (左下葉 S8)

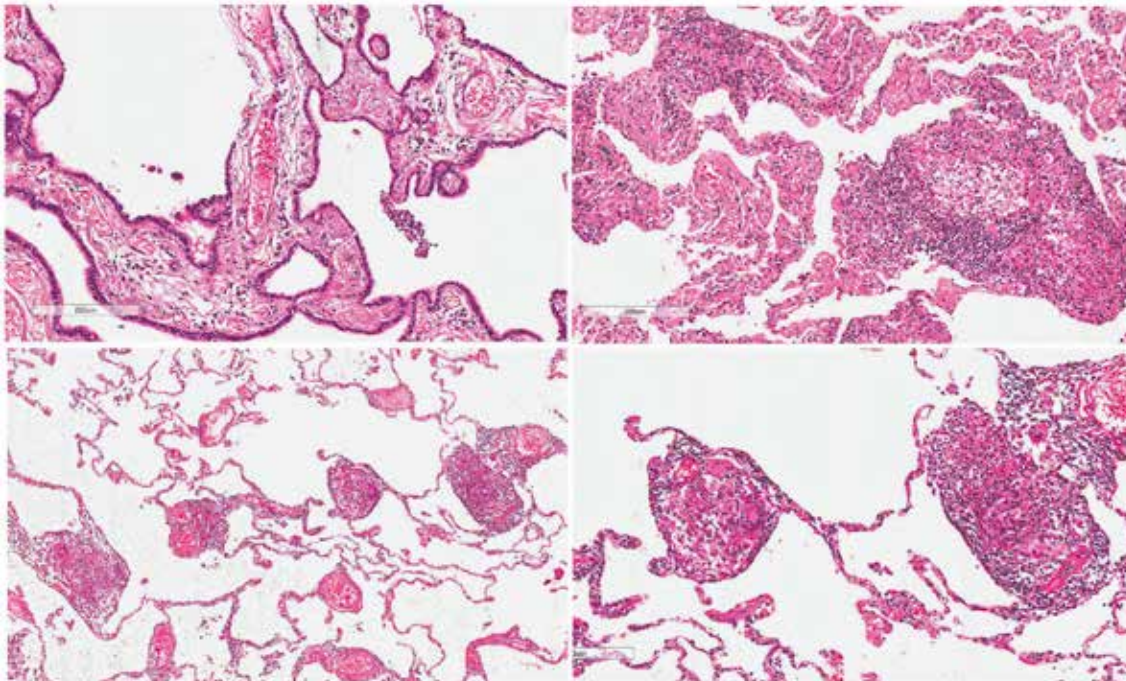


図 25. VATS で得られた病理組織所見 (左下葉 S8)



図 26. 胸部 X 線写真の推移

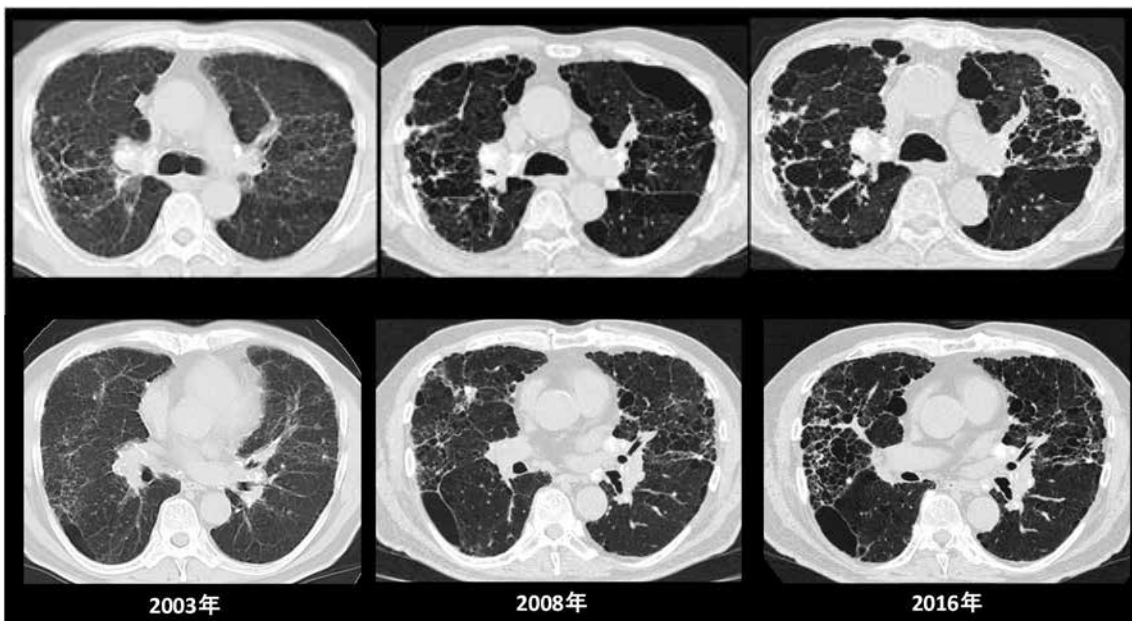


図 27. 胸部 CT 画像の推移

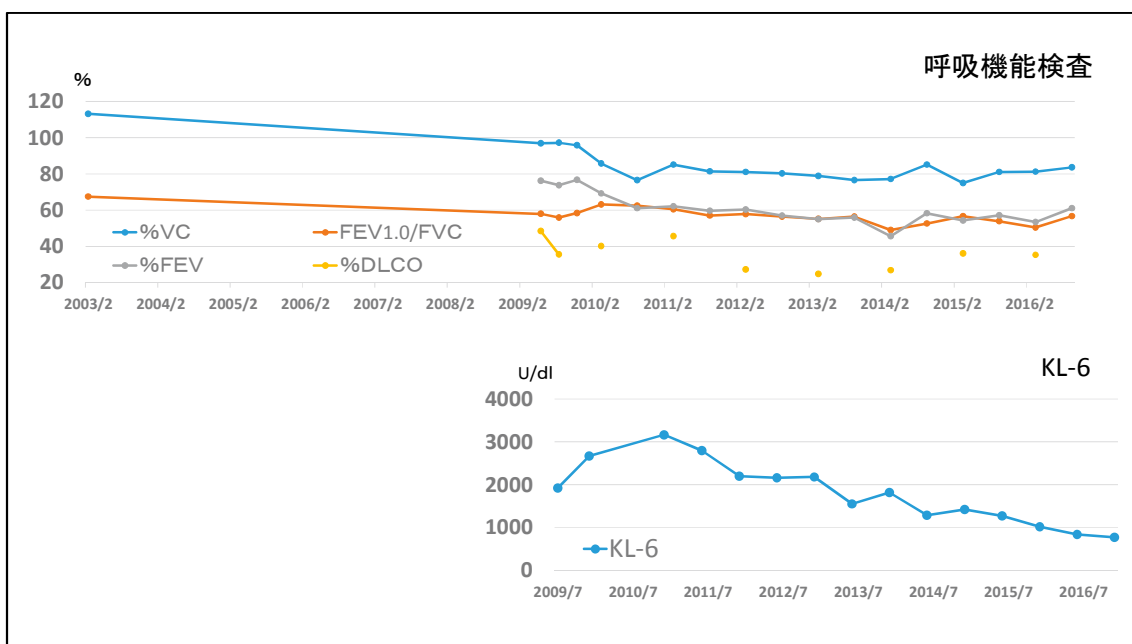


図 28. 呼吸機能検査、KL-6 値の推移

当院における 4 症例について検討した。職業歴を検討すると、ばく露時間は 1 ヶ月から 17 ヶ月であった。また画像所見は 4 症例に共通した所見は粒状影 (図 29、図 30) と縦隔リンパ節腫大 (図 31) であった。症例 2、症例 3、症例 4 の 3 症例では広義の間質肥厚 (図 32) と軽度の気管支血管束肥厚 (図 33) が認められた。呼吸不全をきたした 2 症例については、経過中に新たな嚢胞変化 (図 34) が出現し、長年の臨床経過で進行した。

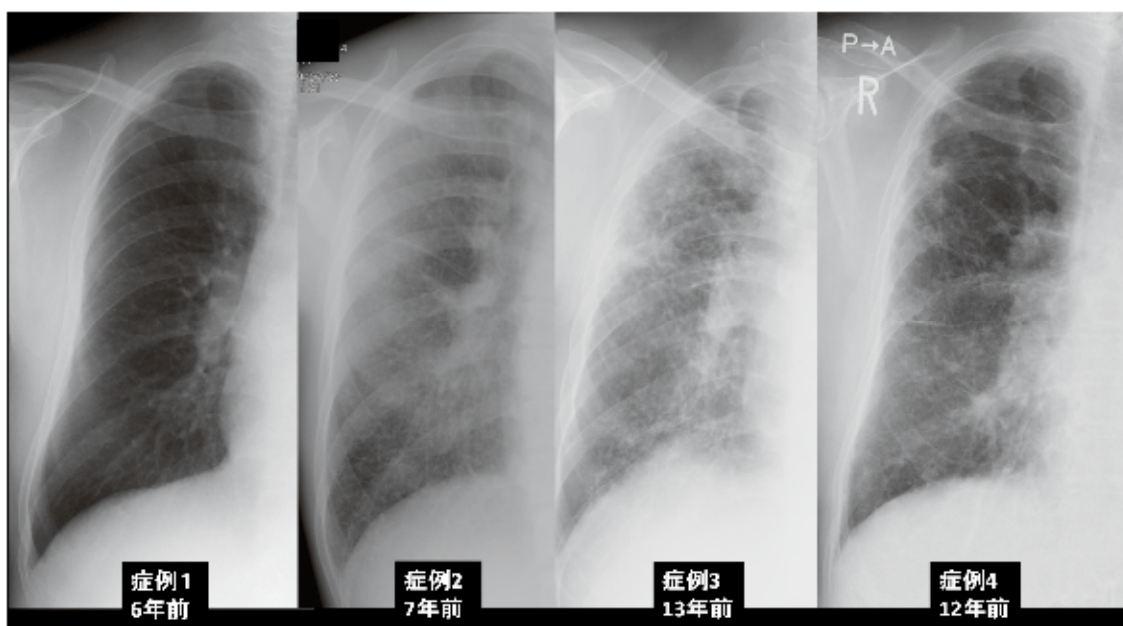


図 29. 胸部 X 線写真 粒状影

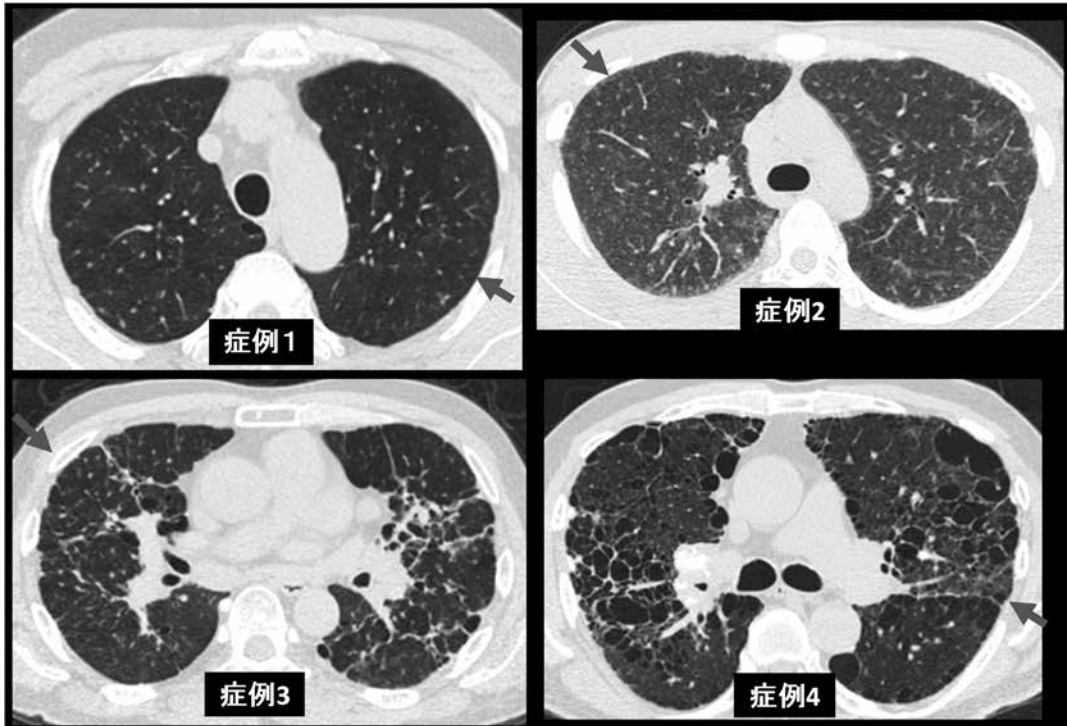


图 30. 胸部 CT 画像 粒状影



图 31. 胸部 CT 画像 リンパ腫大

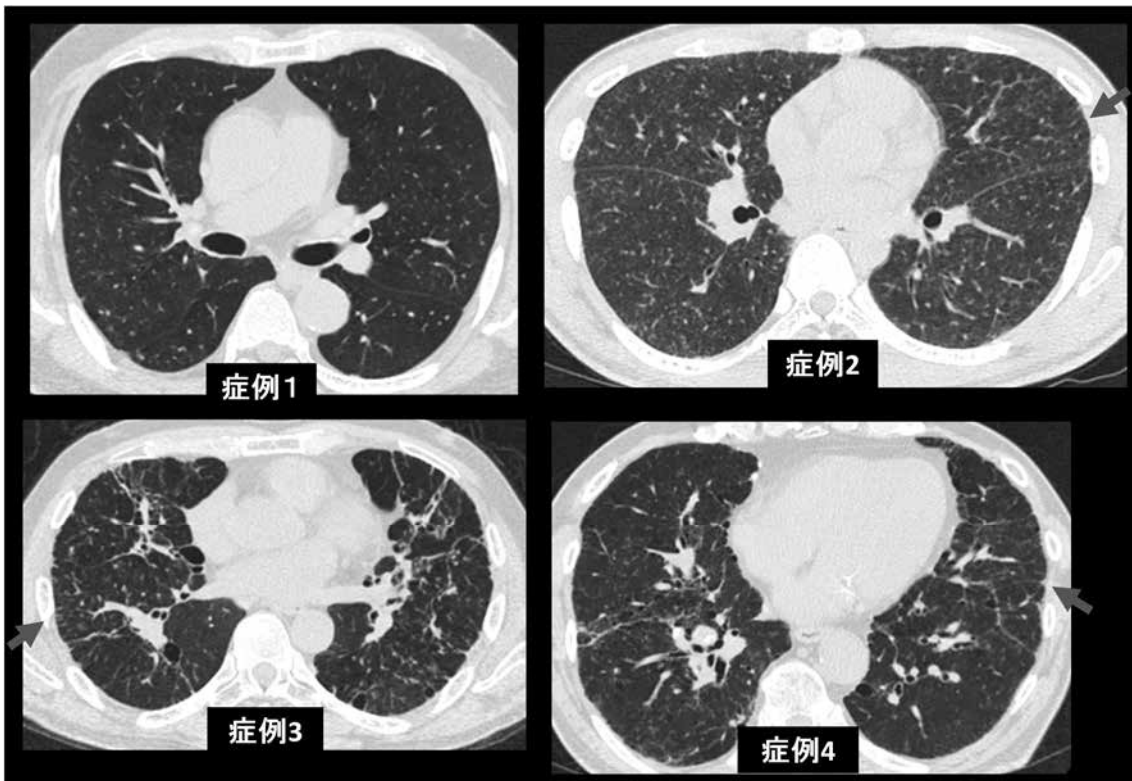


図 32. 胸部 CT 画像 広義の間質肥厚

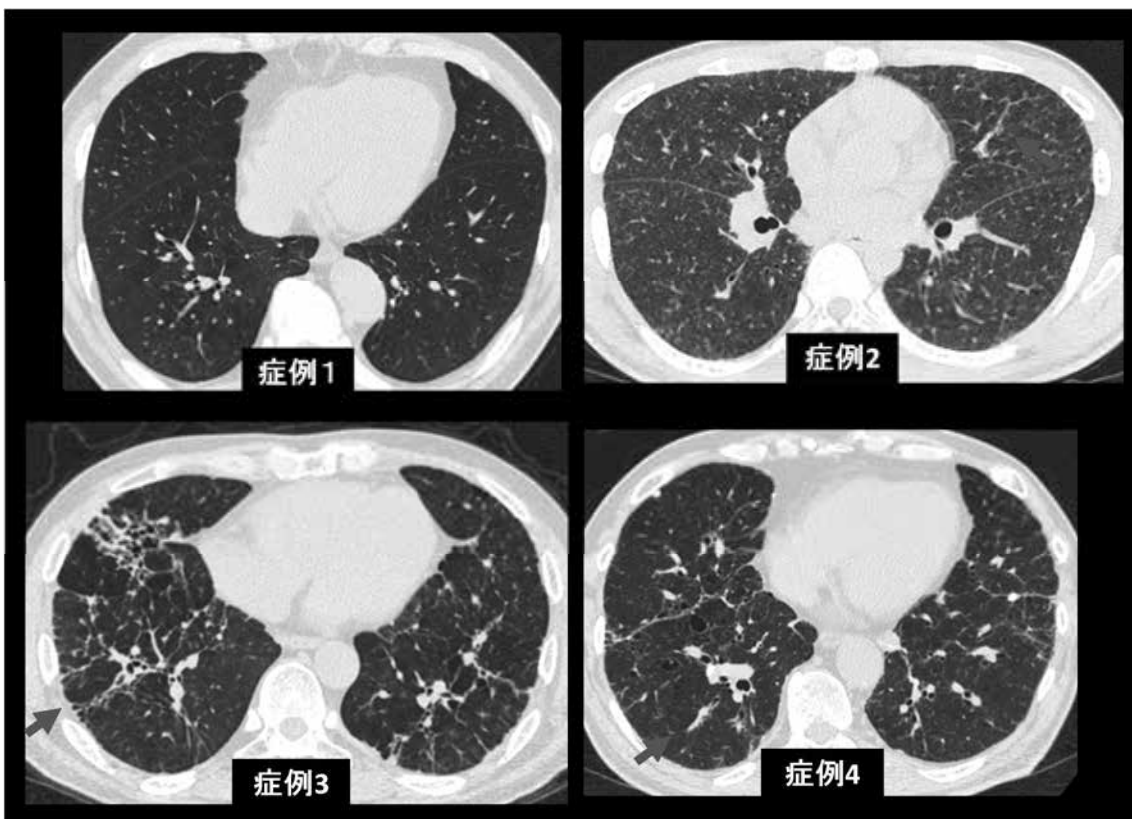


図 33. 胸部 CT 画像 軽度の気管支血管束肥厚



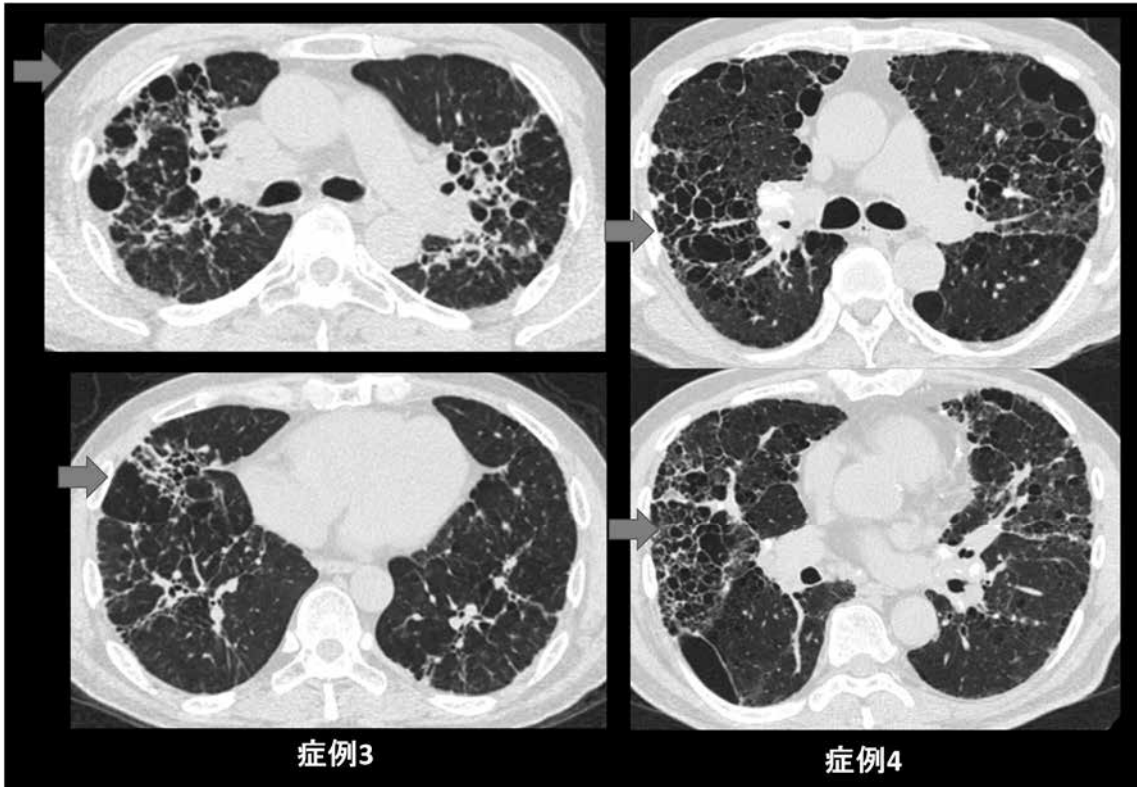


图 34. 胸部 CT 画像 囊胞变化

## リンパ球の機能検査

大槻 剛巳、西村 泰光

本研究班においては「職場における化学物質」として、ベリリウム (Be) を主たる対象としている。ベリリウムによる疾病としては、以下にしめす”Managing Health Effects of Beryllium Exposure” に詳細が記載されているが、1970～80年代に研究者は、慢性ベリリウム症 (Chronic Beryllium Disease: CBD) の症例の循環血液中や肺のリンパ球が *in vitro* で Be の存在によって増殖することを学び、この事は Be Lymphocyte Proliferation Test (BeLPT)として、Be ばく露者の Be 感受性のスクリーニングや、職場での Be へのばく露のサーベイランスに使用されていると記載されている。この試験は、肺胞洗浄液 (BAL) あるいは末梢血のリンパ球を *In vitro* で Be 塩と混合培養するチャレンジである。



### Managing Health Effects of Beryllium Exposure

Committee on Beryllium Alloy Exposures, Committee on Toxicology, National Research Council

ISBN: 0-309-12533-2, 138 pages, 8 1/2 x 11, (2008)

This free PDF was downloaded from:

<http://www.nap.edu/catalog/12464.html>

また Be の刺激に伴って Be 特異的 T 細胞から産生されるサイトカインではインターフェロン  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) とインターロイキン 2 (IL-2) が重要としている。

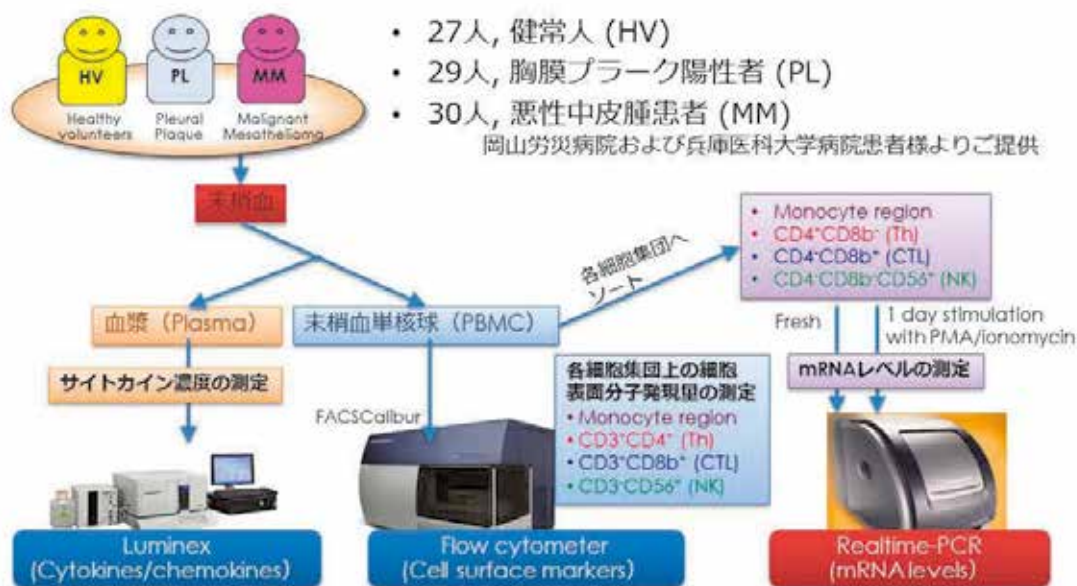
しかしながら、CBD を予測するにあたって、真の陽性結果の境界値は？ 作業者の監視として BeLPT の有用性は？ 陽性作業者にどのようなフォローアップテストをすべきか？ 陽性作業者が CBD に進展していく過程は？ そして、BeLPT が異なる研究室によって差異がでることにより標準化の方法があるか？ などの疑問もまた記されている。この最後の設問については、この研究班の中で、独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所の研究協力者のグループによって、検討が行われる。

これまでの研究成果から、Be 感作 (Be sensitivity: BeS) については、HLA-DPB1 が重要で Glu 69 の位置が重要と考えられている。

このような背景の中で、我々は Be ばく露に対する新しい免疫学的視点と観察によって、Be ばく露者の CBD 発症予防などにつながるサーベイランス指標の構築を目指す研究を分担することとした。

我々は従来、アスベストばく露者に対して、免疫学的な機能指標の解析を行ってきた。一例として、健常人と胸膜プラーク陽性者（アスベストばく露者）と、悪性中皮腫症例（アスベストばく露あり、かつ、担癌）での免疫学的な広範な機能調査解析の例を下図に示す。

## 方法：末梢血を用いた広範な免疫機能指標の測定



この系の中では、末梢血を約 20ml 採血し、解析した実績を有している。

解析は血漿成分からも裏的（29 種類）のサイトカイン測定、単核球については、ヘルパー T 細胞、細胞傷害性 T 細胞、NK 細胞および単球系に分離して、それぞれの膜表面発現分子（特に抗腫瘍免疫に関連する分子群）の測定、さらに分離した細胞、および、その細胞を PMA と ionomycin にて一晩刺激する系で、それぞれの回収した細胞から、これも抗腫瘍免疫などに関連する遺伝子の発現度合いを測定する系で実施した。

その結果、以下の図に示すようにそれぞれの群を他の 2 群と分別可能なスコアを得ることが可能であった。これらのスコアは図にも示すように鑑別診断として、あるいはアスベストばく露のハイリスクグループの人々に対して、採血によってばく露あるいは中皮腫発症のスクリーニングデバイスとして使用できる可能性があり、ROC 曲線でもそれぞれの判別として良好な結果であった。

これは腫瘍マーカーというよりもリスクのある人々に対する経時的なばく露度合いや発がんの一次スクリーニング的な指標と捉えることが可能で、Be についても可能な範囲で進めることで、Be ばく露の可能性のある作業員に対しての BeLPT 以外の免疫学的スクリーニング方法の開発につながると考えている。

## M-score : 中皮腫に特徴的なスコア式

### Malignant mesothelioma score

重回帰分析による悪性中皮腫関連因子の同定と予測式 (M-score) の算出

- HV and PL = 1, MM = 2

Input:

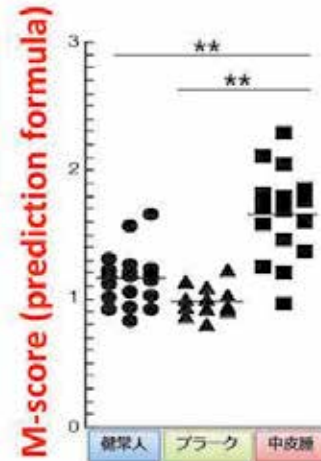
1. Cell surface markers with significant differences
2. mRNAs with significant differences (Log)
3. Plasma cytokines with significant difference and maximum mean of over 10 pg/ml

IFNa2: Plasma IFN- $\alpha$ 2 level

Ths\_TNF-a: TNF- $\alpha$  mRNA in stimulated Th cells

MCP1: Plasma MCP-1 level

$$\text{M-score} = \text{MK1} + \text{MK2} \times [\text{IFNa2}] + \text{MK3} \times [\text{Ths\_TNFa}] + \text{MK4} \times [\text{MCP1}]$$



## A-score : 石綿曝露に特徴的なスコア式

### Asbestos exposure score

重回帰分析によるアスベスト曝露関連因子の同定と予測式 (A-score) の算出

- HV = 1, PL and MM = 2

Input:

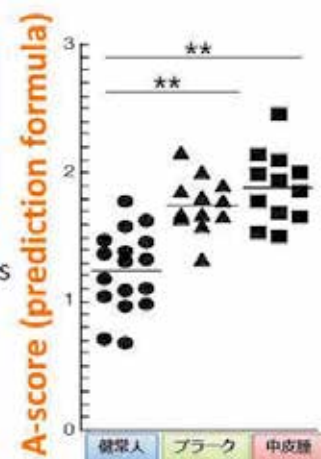
1. Cell surface markers with significant differences
2. mRNAs with significant differences (Log)
3. Plasma cytokines with significant difference and maximum mean of over 10 pg/ml

CXCR3MFI\_CTL: Cell surface CXCR3 of CTLs

CTLs\_GranzymeB: Granzyme B mRNA in stimulated CTLs

CTL\_IL18R1: IL-18R1 mRNA in fresh CTLs

$$\text{A-score} = \text{KA1} - \text{KA2} \times [\text{CXCR3MFI\_CTL}] + \text{KA3} \times [\text{CTLs\_GranzymeB}] - \text{KA4} \times [\text{CTL\_IL18R1}]$$



40

# P-score : 石綿曝露非担癌者に特徴的なスコア式

## Plaque-positive no tumor score

重回帰分析による石綿曝露非担癌因子の同定と予測式 (P-score) の算出

- HV and MM = 1, PL = 2

Input:

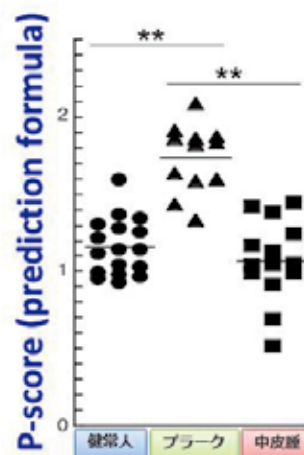
1. Cell surface markers with significant differences
2. mRNAs with significant differences (Log)
3. Plasma cytokines with significant difference and maximum mean of over 10 pg/ml

Ths\_TNFa: TNF-a mRNA in stimulated Th cells

CXCR3MFI\_NK: Cell surface CXCR3 of NK cells

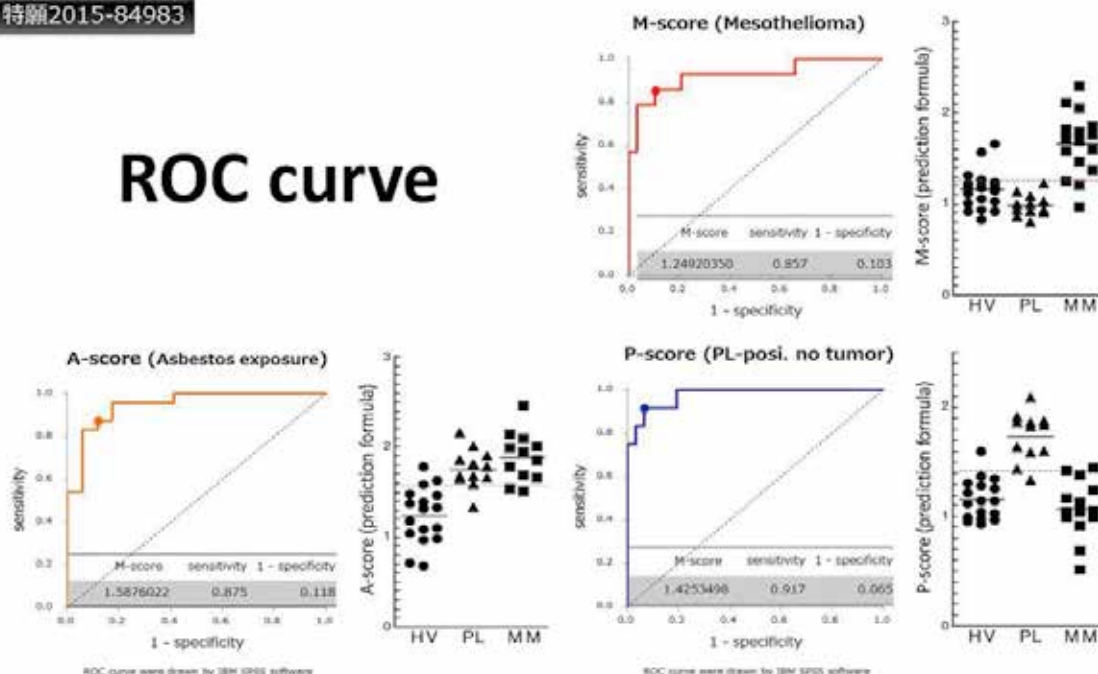
GITR\_Th: Cell surface GITR of Th cells

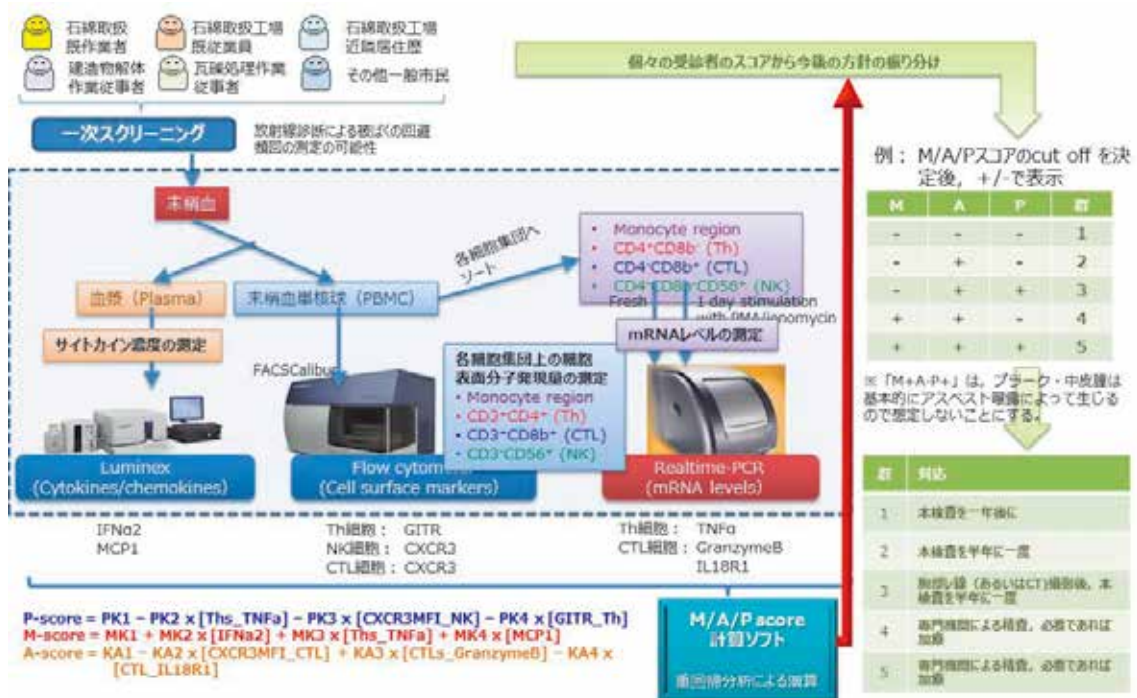
$$P\text{-score} = PK1 - PK2 \times [Ths\_TNFa] - PK3 \times [CXCR3MFI\_NK] - PK4 \times [GITR\_Th]$$



特願2015-84983

## ROC curve





これらの背景の中で平成 28 年度の班研究として、既に旭労災病院において診断を受けている CBD の症例について解析することとした。

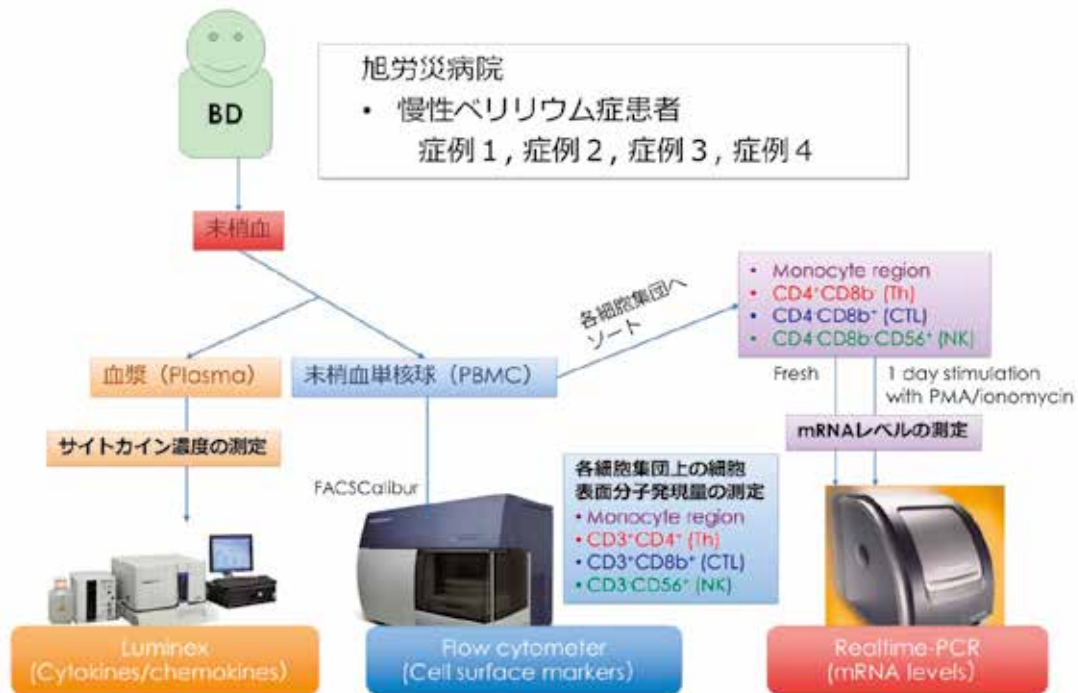
川崎医科大学・同附属病院倫理委員会に申請の上、承認を得て実施した。

## 進捗状況

旭労災病院の慢性ペリリウム症患者 3 症例の末梢血単核球 (PBMC) の細胞表面タンパク質の発現量・発現頻度の解析を完了した。また PBMC より Th, CTL, NK, 単核球の細胞分画にソートし、一部は PMA/ionomycin 刺激下 1 日培養し、後日免疫関連遺伝子群の mRNA レベルを解析するため細胞を凍結保存した。また血漿についても凍結保存し、血中サイトカイン・ケモカイン濃度測定に備えた。

上図に示すように、これまでアスベストばく露者で実施したことと同様の処理方法にて検討した。

## 包括的免疫機能解析, 作業フロー全体図

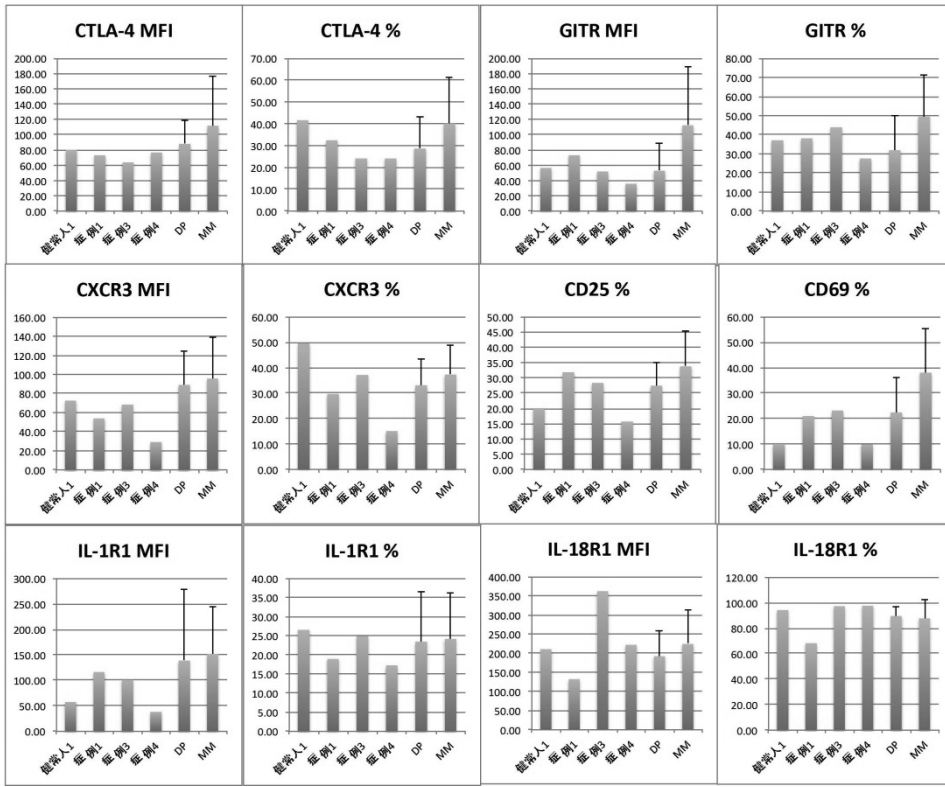


報告書作成時点において、もう 1 例の CBD 症例からの検体が届く予定になっていることと、サイトカイン測定ならびに遺伝子発現測定については、検体が集積された後に、まとめて測定する必要があるので、今回の報告書に記す解析からは省くこととさせていただきます。

以下の図に、CD4<sup>+</sup>T 細胞（ヘルパー T 細胞）、CD8<sup>+</sup>T 細胞細胞（細胞傷害性 T 細胞）、NK 細胞（今回の解析では CD56<sup>+</sup>を NK 細胞として分離収集している）、および単球（Monocyte：単球については、フローサイトメトリーの FSC/SSC [FSC（前方散乱光 forward scatter）は細胞の大きさを表し、SSC（側方散乱光 side scatter）は細胞の内部構造の複雑さを表します。細胞内の核や顆粒を反映する] によって他のリンパ球と明白に分離できる細胞集団）における膜表面発現分子について解析した。

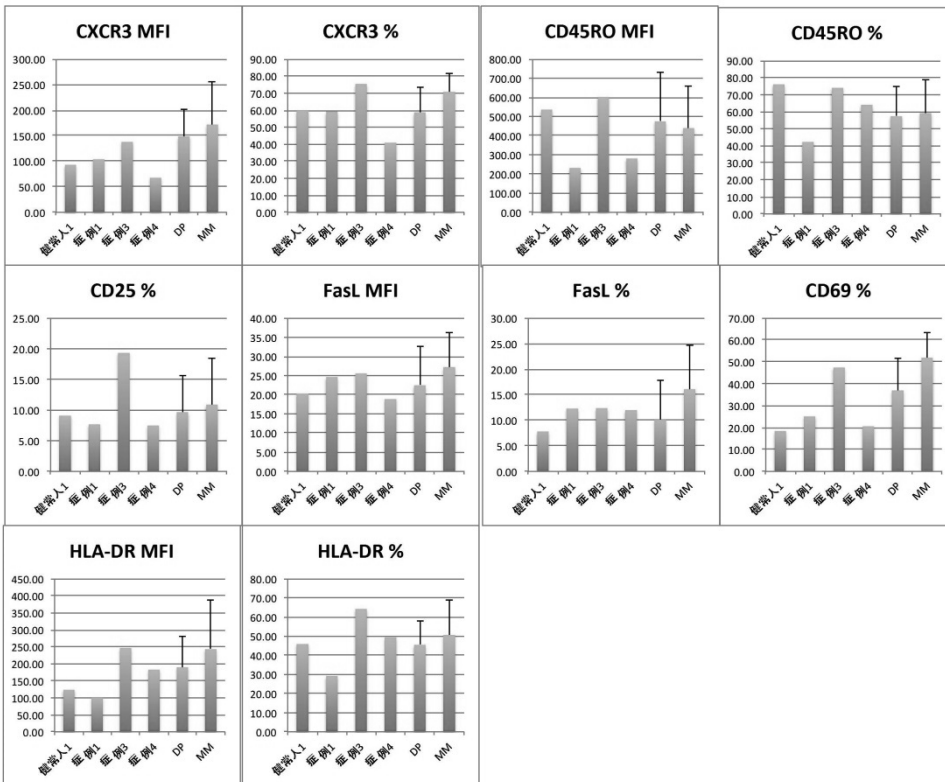
それぞれの細胞集団における解析した膜表面分子について、陽性細胞における MFI（Mean Fluorescent Intensity）およびカットオフ値からの陽性細胞数の割合（%）について、これまでのびまん性胸膜肥厚（アスベストばく露者:DP）および悪性中皮腫症例（MM）の平均値と、また今回の検体での健常人および CBD 症例 3 例までの結果を示す。

# CD4<sup>+</sup> T



5

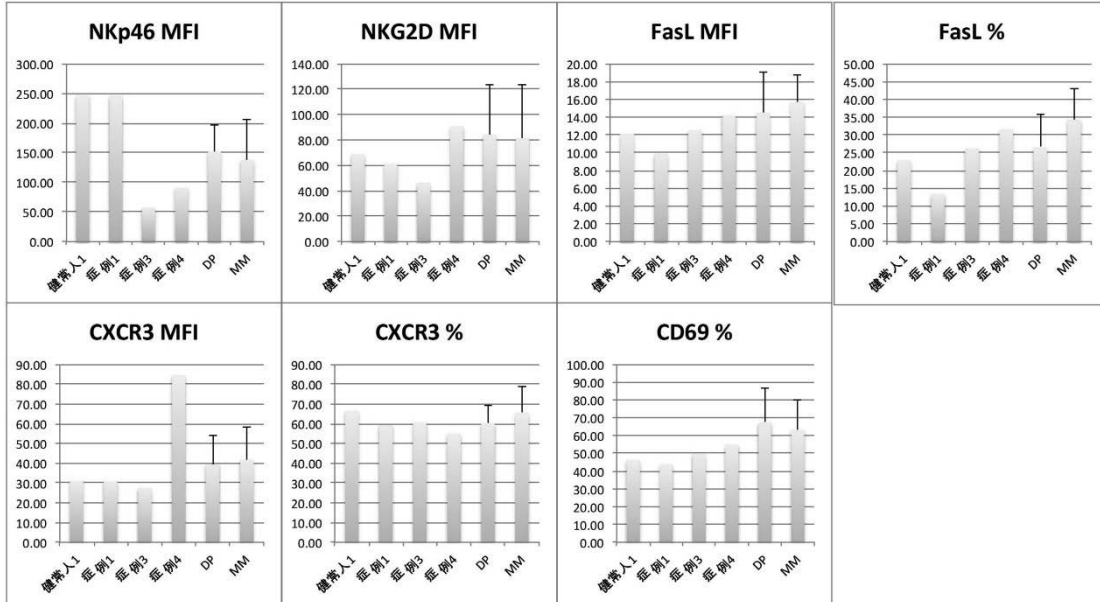
# CD8<sup>+</sup> T



6

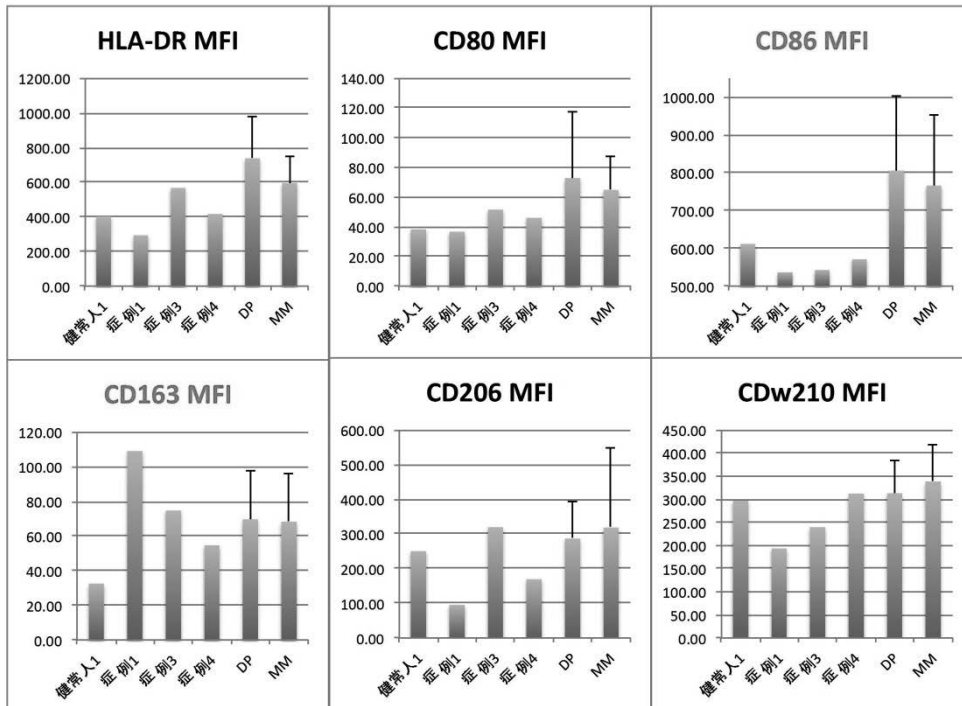


## CD56<sup>+</sup> NK



7

## Monocyte

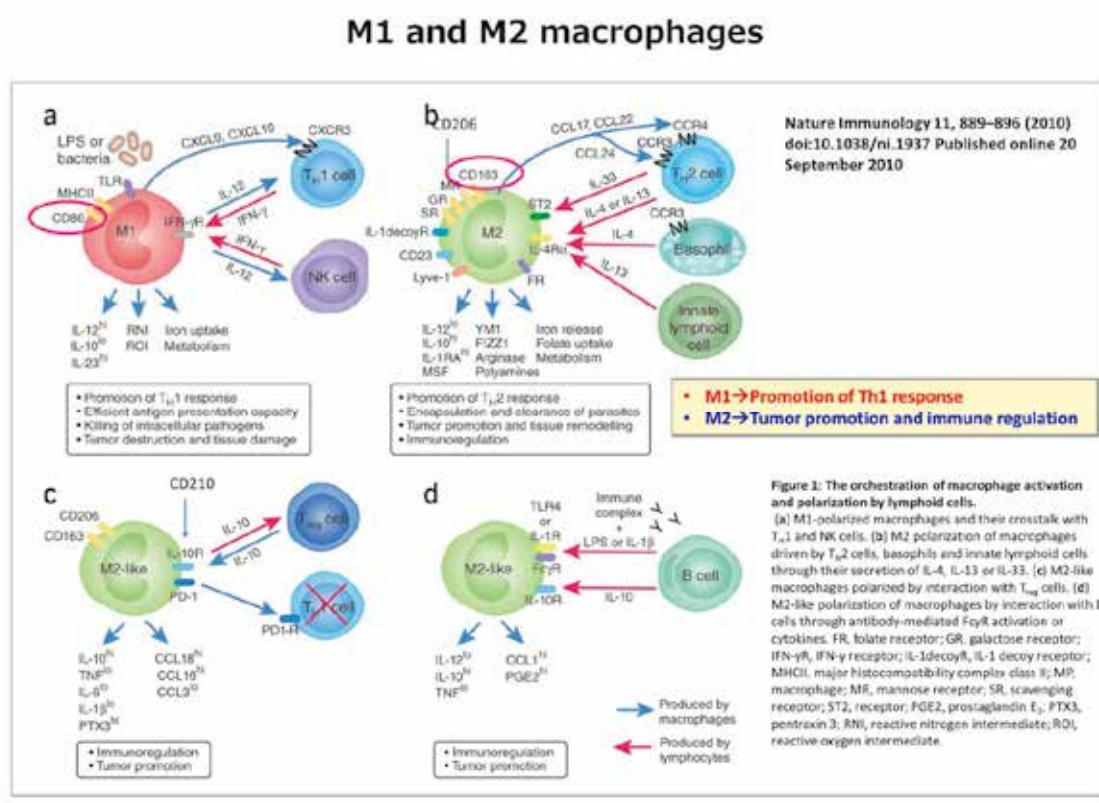


8

これらの結果で示された中で、興味深い点は、CBD、3例に共通する所見として、単球上の低いCD86発現量と高いCD163発現量を確認した。3症例のCD86/CD163比は健康人1例に比べ明瞭に低く、無関係な疾患症例であるびまん性胸膜肥厚13例および悪性中皮腫10例と比べても低い傾向を示した。CD86とCD163はそれぞれM1マクロファージ・M2マクロファージの指標分子である。

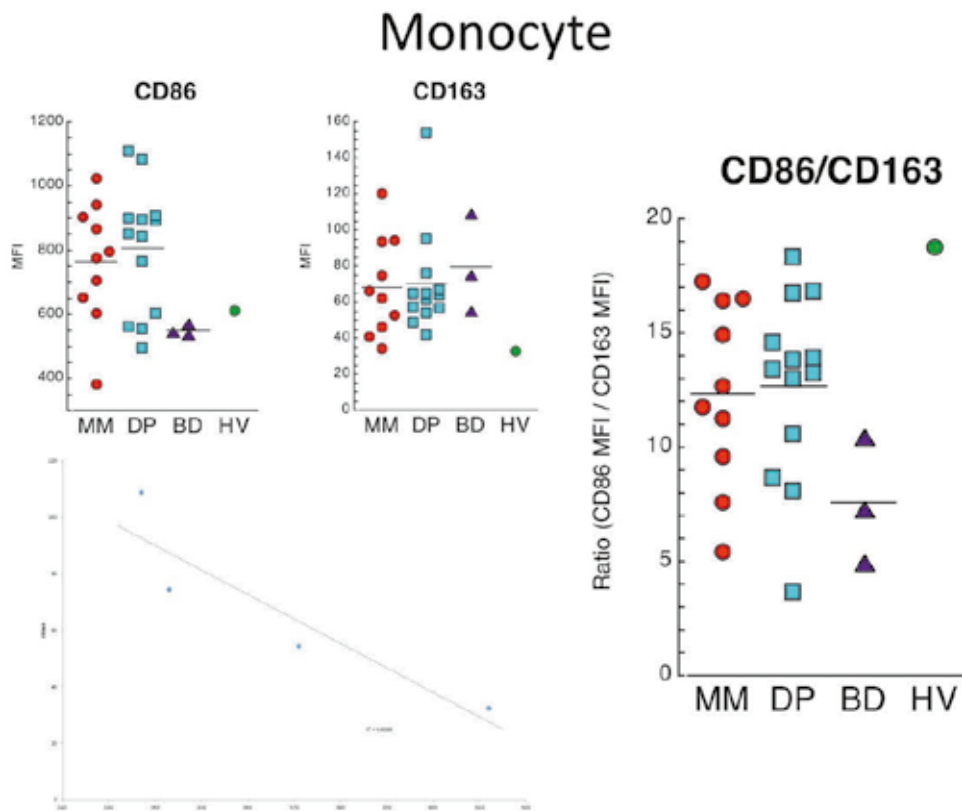
M1マクロファージとM2マクロファージについては文献からの図を以下に示すが、M1マクロファージは炎症応答を惹起し、細菌やウイルス感染に対する宿主防御に中心的な役割を担っている。一方で、M2マクロファージは抗炎症応答、寄生虫感染、組織再生、線維化および腫瘍の転移や浸潤に関与していると考えられている。

このことから、CBDにおいても症例において単球（この細胞群が、組織に移動して組織特有のマクロファージになる）の変化が生じており、M2マクロファージが優位となってくる傾向と捉えることができるかも知れない。



この傾向を明らかにする目的で、少数例の解析であるが単球群におけるCD86のMFIとCD163のMFIの比を求めてみると、CBD症例（図中には、BDと記載）では明らかに

この比が減少、即ち、M2 マクロファージ優位となっていることが示唆された。



10

慢性ベリリウム症における抗原提示細胞における機能変化を捉えている可能性が示唆される。

今後、今回の CBD 症例のサイトカイン、遺伝子発現を検討する中で標的分子/遺伝子を同定していくことが重要になる。

さらに、平成 29 年度後半に予定されている Be ばく露作業者のスクリーニング採血の中で、時間と検体数に見合う実務的に実施可能な手法にて、Be ばく露の新たな免疫学的指標（リンパ球の機能解析）の構築に向けて調整を続けたい。

労災疾病臨床研究事業

**職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と  
健康管理の有効性に関する研究**

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

平成 29 年 3 月 31 日発行

発行：研究代表者 岸本 卓巳

〒702-8055 岡山市南区築港緑町 1-10-25  
独立行政法人 労働者健康安全機構 岡山労災病院