

## 36. 喀痰中 IL-17A 濃度と嚥下機能検査の比較による高齢者肺炎の再発予測の検討

○峠岡 康幸（安芸太田病院）

松元 岳（安芸太田病院）

**【研究目的】**肺炎は高齢者の死亡原因の第一位を占める疾患であり、75 歳以上の高齢者肺炎の多くは誤嚥性肺炎（嚥下性肺炎ともいう）であるとされる。不顕性の誤嚥では慢性に反復する誤嚥により下気道の炎症が持続していると理解されている。嚥下造影検査を行うことで誤嚥性肺炎を起こしやすい、高リスク患者を事前に予測することができる。そのことから、嚥下機能の評価には嚥下造影が有用であるものの、検査に時間がかかること、手技に一定の技術が必要であること、検査後に低いながら肺炎のリスクがある等の理由により全例に対して施行することは難しい。もしも、嚥下造影の検査結果を反映するような、患者への負担が軽く、肺炎合併のリスクも低く、かつ容易に検査が可能な代替の検査指標があるとすれば、肺炎を起こしやすい症例を事前に予測することが可能となる。我々は過去に、高齢者誤嚥性肺炎患者では血清中 IL-17A 値が肺炎を合併していない症例と比較して、有意に上昇していることを論文で報告した(Respiration 2013;86:367)。IL-17A は白血球、とくに好中球への遊走作用があることから、肺炎の病変形成に関与していると考えられるが、血清中 IL-17A 値は肺炎治療後には速やかに数値が低下するために、血清中 IL-17A の評価は肺炎発症前の誤嚥リスクを予測することはできなかった。しかし、我々は誤嚥を繰り返しているような高齢者の下気道では肺炎を合併していなくても下気道では IL-17A が産生されている可能性があるかもしれないと考えた。そこで喀痰中 IL-17A 濃度と嚥下機能を比較すること、IL-17A が好中球の遊走を促すときに関与するとされる、好中球細胞表面の接着分子、CD18、CD11b の発現レベルとを比べることで、その後の肺炎再燃リスクとの関連を検討する事を本研究の目的とした。即ち、高齢者に反復する不顕性誤嚥が存在した場合、下気道炎症が惹起され IL-17A が産生されるのではないかと仮説を立てることで、誘発喀痰中 IL-17A 濃度が不顕性誤嚥による下気道炎症の指標となるかどうかを検討することを目的として嚥下造影所見との関係について比較した。

**【研究計画】**2017 年 9 月 1 日から 2018 年 8 月 31 日までの 1 年間に安芸太田病院で嚥下造影検査を受けていただいた 70 歳以上の高齢者 58 例のうち、本人の同意を得て誘発喀痰検査を施行した 31 例(平均年齢 76.6 歳, 男性 19 例, 女性 12 例)を今回の対象症例とした。生理的食塩水(大塚製薬)と 10%食塩水(大塚製薬)を混和して 3%の滅菌食塩水を作成した。この 3%食塩水を超音波ネブライザーで 10 分間吸入し、その間に採取した喀痰を集め、滅菌ガーゼを通してデブリスを除去したものを誘発喀痰とした。誘発喀痰は液性成分と細胞成分に分けて分析をおこなった。まず細胞成分については喀痰細胞数を計測盤を用いて、喀痰の細胞分類はスライドグラスにスメアとして塗布したのちにキットを用いて染色をおこない(Differential Quick Stain kit)、顕微鏡で計測した。またフローサイトメータを用いて、喀痰好中球上に発現する CD11b と CD18 の発現強度を、コントロール抗体で染色した蛍光度との割合を比較することで相対的蛍光度として数値化して比較し

た。続いて誘発喀痰の液体成分についても検討をおこなった。誘発喀痰中 IL-17A 濃度について ELISA kit (abcam human IL-17A ELISA-kit) を用いて測定した。過去の文献をもちいて (Dysphasia,1996;11:93),嚥下造影結果を数値化して表現することで個々の症例の誘発喀痰 IL-17A 濃度、CD11b、CD18 の蛍光度、喀痰細胞数、細胞分類結果などと比較を行った。その後の経過を追跡して、肺炎の発症の有無で2群に分類して比較検討をおこなった。さらに対象症例を高年齢者肺炎の既往歴が過去にあったかどうかの有無で 2 群に分類し、年齢、性差、基礎疾患、嚥下造影結果、誘発喀痰 IL-17A 濃度について比較検討した。得られたデータの統計学的解析は Fisher's exact test, Mann-Whitney U test を行った。p 値 0.05 未満をもって統計学的有意差がありとした。倫理面への配慮:対象となる症例には口頭と文章をもって、本人あるいは家人の同意を得ることとする。研究に先立ち病院内倫理委員会での認可を得る。倫理面では十分に配慮を行い、研究への同意の有無で患者の治療内容に影響が出ることは絶対でない。得られた個人情報 は秘密を保持し研究の解析にのみ使用する事とする。

【実地内容・結果】対象症例の背景(表1:以下):70 歳以後での肺炎の既往歴の有無で 2 群に分類した。肺炎の既往歴を有する群では脳血管障害の既往歴が高率であった。

|           | 全例         | 肺炎の既往歴     |            | p 値    |
|-----------|------------|------------|------------|--------|
|           |            | あり         | なし         |        |
| 全例数       | 91         | 30         | 11         |        |
| 年齢        | 74.6 ± 8.1 | 76.1 ± 6.9 | 73.4 ± 6.3 | n.s.   |
| 男女比 (女/男) | 19/12      | 13/7       | 6/5        | n.s.   |
| 基礎疾患      |            |            |            |        |
| 脳血管障害     | 16 (22.2%) | 6 (33.3%)  | 2 (18.2%)  | p=0.05 |
| 糖尿病       | 6 (9.4%)   | 4 (26.7%)  | 2 (18.2%)  | n.s.   |
| 高血圧       | 4 (12.9%)  | 3 (15.0%)  | 1 (9.1%)   | n.s.   |
| COPD      | 3 (9.7%)   | 2 (10.0%)  | 1 (9.1%)   | n.s.   |

n.s.: not significant (mean ± S.D.)

嚥下造影スコア(Penetration-Aspiration Scale: PAS)\* を用いて、個々の嚥下造影結果を 1-8 点に分類して評価した(表2:以下)。

| PAS (点数) | 定義                              |
|----------|---------------------------------|
| 1        | 喉頭に入らない                         |
| 2        | 喉頭侵入があるが、声門に達せずに排出される           |
| 3        | 喉頭侵入があるが、声門に達せず、排出もされない         |
| 4        | 声門に達する喉頭侵入があるが、排出される            |
| 5        | 声門に達する喉頭侵入があり、排出されない            |
| 6        | 声門下まで食物が入り(誤嚥)、喉頭または声門下からも排出される |
| 7        | 声門下まで食物が入り、嚥下しても気道からも排出されない     |
| 8        | 声門下まで食物が入り、排出しようとする動作がみられない     |

(\*Dysphasia 1996; 11; 93)

IL-17A 濃度と嚥下造影スコアとの比較(表3:以下):肺炎の既往を有する群では嚥下造影スコア高値で、かつ喀痰 IL-17A 値高値であった。誘発喀痰中 IL-17A 濃度は嚥下障害スコアと弱い相関関係を認めた ( $r=0.36$ ,  $p<0.05$ )。(表 3)には記載はしていないが、喀痰好中球上の CD18 および CD11b の発現については、肺炎の既往歴のあり・なしの2群間で比較すると、CD18 の発現強度は2群間で差をみとめなかったが、CD11b の発現強度は有意差を認めた ( $p<0.05$ )。

|                                    | 全例       | 既往の肺炎                 |          | p 値           |
|------------------------------------|----------|-----------------------|----------|---------------|
|                                    |          | あり                    | なし       |               |
| 症例数                                | 31       | 20                    | 11       |               |
| 嚥下造影スコア<br>(平均±1SD)                | 3.6±1.6  | 4.0±1.6               | 2.2±0.9  | $p<0.05$      |
| 誘発IL-17A (pg/mL)                   | 5.6±1.2  | 5.0±1.6               | 3.0±1.5  | $p<0.05$      |
| 誘発IL-17A (10 <sup>4</sup> /mL)     | 6.3±1.3  | 6.6±1.2               | 5.7±1.4  | n.s.          |
| マクロファージ(%)                         | 63.5±6.9 | 63.1±2.1              | 70.6±3.8 | n.s.          |
| 好中球(%)                             | 24.6±6.5 | 23.1±6.6              | 23.3±6.7 | n.s.          |
| リンパ球(%)                            | 4.1±6.1  | 6.2±6.2               | 3.8±6.2  | n.s.          |
| 好酸球(%)                             | 0.3±6.2  | 0.6±6.3               | 0.9±6.1  | n.s.          |
| (OPR: penetration-oxidation scale) |          | n.s.: not significant |          | (mean ± S.D.) |

IL-17A 濃度と嚥下造影スコアとその後の肺炎発症の有無について(表 4:次ページ):肺炎を合併した群では嚥下造影スコア高値、喀痰 IL-17A 値高値、誘発喀痰細胞数増加を認めた。

|                                    | 全例       | 肺炎の発症                 |          | p 値           |
|------------------------------------|----------|-----------------------|----------|---------------|
|                                    |          | あり                    | なし       |               |
| 症例数                                | 31       | 4                     | 27       |               |
| 嚥下造影スコア<br>(平均±1SD)                | 3.6±1.6  | 4.6±0.9               | 3.1±0.8  | $p<0.05$      |
| 誘発IL-17A (pg/mL)                   | 5.6±1.2  | 6.1±2.3               | 5.2±1.7  | $p<0.05$      |
| 誘発IL-17A (10 <sup>4</sup> /mL)     | 6.3±1.3  | 7.5±0.7               | 5.9±2.4  | $p<0.05$      |
| マクロファージ(%)                         | 63.5±6.9 | 67.3±1.1              | 70.4±1.2 | n.s.          |
| 好中球(%)                             | 24.6±6.5 | 23.5±6.9              | 22.4±6.3 | n.s.          |
| リンパ球(%)                            | 4.1±6.1  | 6.0±6.1               | 6.3±6.1  | n.s.          |
| 好酸球(%)                             | 0.3±6.2  | 0.7±6.4               | 0.9±6.3  | n.s.          |
| (OPR: penetration-oxidation scale) |          | n.s.: not significant |          | (mean ± S.D.) |

(表4)IL-17A 濃度と嚥下造影スコアとその後の肺炎発症の有無について

【考察と今後の課題】今回の結果より誘発喀痰中 IL-17A 濃度は嚥下障害スコアと弱い相関関係を認めた。嚥下造影検査後の経過観察期間に肺炎を発症した症例は IL-17A 濃度高値、嚥下障害を有する例で高率であった。今回の検討から誘発喀痰中 IL-17A 濃度を測定することで高齢者嚥下性肺炎の発症リスクを予測できる可能性が示唆された。また誘発喀痰 IL-17A 濃度上昇の原因と

して誤嚥による下気道炎症が関与している可能性が示唆されたが、機序までは今回の結果からは明らかではない。さらに今回の結果解釈には制限がある。即ち、肺炎症例全例が医療介護関連肺炎に該当したこと、症例数が少ないことから、高齢者肺炎全般に当てはめて考えることは難しいことが挙げられる。また COPD など気道炎症に IL-17A の関与が知られている疾患を合併する症例ではその影響を考慮する必要もある。申請者は過去に嚥下性肺炎患者の血清と末梢血液を用いた研究で、嚥下性肺炎では血清 IL-17A 濃度が上昇すること、好中球表面の接着分子である、CD11b, CD18 が関与する事を報告した (Respiration. 86:367-375, 2013)。IL-17A はこれまでに好中球の遊走に関与し動物モデルを含めて肺炎の病態形成に重要な役割を果たす事が知られている。誤嚥により下気道炎症が持続的に顕性化することなく誤嚥を有する高齢者で存在しているので、喀痰を評価することで誤嚥の存在を推測し将来の肺炎発症リスクを予測することが可能となる。ELISA で IL-17A を測定することは一般の病院でも技術的には可能であるので、嚥下造影を行う事による肉体的負荷をかけることなく、肺炎再発リスク予測の一手段となる可能性がある。さらには肺炎における IL-17A の関与の知見の集積があれば、IL-17A の活性を中和する薬剤は既に市場にあるので重症高齢者肺炎で抗生剤のみでは治療困難な症例について新規肺炎治療薬となる可能性も将来には期待しえるかもしれない。今後は症例数を増やし、観察期間を延長することで肺炎による死亡リスクと誘発喀痰 IL-17A 濃度との関連を検討する予定である。

**業績:**現在今回の結果をまとめて英文論文作製準備中である。

峠岡康幸:高齢者肺炎の予後因子としての喀痰中 IL-17A 濃度と嚥下機能検査について(2019年度日本呼吸器学会総会で発表予定である)

#### 経費使途明細

##### ・入金

| 項目               | 金額        |
|------------------|-----------|
| 入金(大同生命厚生事業団助成金) | 300,000 円 |
| 利子               | 1 円       |
| 入金の合計            | 300,001 円 |

##### ・支出

| 項目                       | 品目(数)                       | 金額               |
|--------------------------|-----------------------------|------------------|
| <b>試薬・薬品:</b>            |                             |                  |
|                          | IL-17 ELISA kit (1 キット)     | 87,210 円         |
|                          | KSK DPBS(緩衝液)(500ml x 1 本)  | 1,620 円          |
|                          | PBS(緩衝液)(500ml x 3 本)       | 16,005 円         |
|                          | 抗 CD18 抗体(1個)               | 36,936 円         |
|                          | 抗 CD11b 抗体(1個)              | 84,132 円         |
|                          | 生理的食塩水(1箱)                  | 4,860 円          |
|                          | 10%塩化ナトリウム液(1箱)             | 6,264 円          |
| <b>実験消耗品:</b>            |                             |                  |
|                          | 10 $\mu$ l ピペットチップ(1箱)      | 5,335 円          |
|                          | 200 $\mu$ l ピペットチップ(1箱)     | 4,959 円          |
|                          | 1000 $\mu$ l ピペットチップ(1箱)    | 3,899 円          |
|                          | 細胞染色液(QuickStainKit)(1 セット) | 27,000 円         |
|                          | スライドガラス(2箱)                 | 2,592 円          |
|                          | 細胞染色用の湿潤箱(2 個)              | 19,656 円         |
| <b>支払いにかかる銀行への振込手数料:</b> |                             |                  |
|                          | 銀行振込手数料                     | 540 円            |
|                          | カードによる振込手数料                 | 648 円            |
| <b>計</b>                 |                             | <b>301,656 円</b> |