

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：83106

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461156

研究課題名(和文) オンラインによる元素分析受付システムの確立

研究課題名(英文) Establishment of a Web-Based Inquiry System for Elemental Analysis of Lung Tissue

研究代表者

森山 寛史 (Moriyama, Hiroshi)

独立行政法人国立病院機構西新潟中央病院(臨床研究部)・統括診療部・呼吸器内科医師

研究者番号：60463981

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：職業や災害に伴いヒトは肺内に様々な異物を吸入します。肺内に粉じんとして沈着すると特徴的な生体反応をおこします。診断のために肺組織を調べることがあります。この際の病理標本から、沈着した粉じんを元素レベルで分析する方法が、肺組織の元素分析です。限られた研究機関でしかできない解析ですが、インターネット上に元素分析照会用ホームページを立ち上げて、分析依頼を受付けるシステムを構築しました。特別な設備をもたない一般病院からの依頼も可能です。3年間に45件の問い合わせがあり、41症例の元素分析を行いました。原因不明の肺疾患や職業・災害などでおこる肺疾患の原因究明・鑑別診断に役立つと思います。

研究成果の概要(英文)：Workers develop occupational lung diseases by inhalation to various substances. Elemental analysis serves well to detect the inhaled substances in the lung specimen, but it is currently performed in limited facilities. We introduced a web-based inquiry system for elemental analysis of lung tissue in 2014. We had 45 online inquiries about elemental analysis of lung tissue from 2014 to 2016. We accepted 41 out of 45 inquiries and subjected their lung specimens to elemental analysis. Eight cases were finally diagnosed as hard metal lung disease, and three cases, aluminum lung. A web-based inquiry system for elemental analysis of lung tissue was useful to accept inquiries about the analyses. It was convenient for users with easy access to this technique and smooth processing of lung specimens to make the accurate diagnosis of occupational lung diseases.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：元素分析 オンライン 職業性肺疾患 パラフィンブロック 一般病院

1. 研究開始当初の背景

職業や地震・災害によって吸入した粉じんにより、様々な肺疾患を発症する。2001年9月11日に発生したワールドトレードセンターの悲劇では、大量に発生した強アルカリ性の粒状物質は気道障害をおこし、救助にあたった消防士に長期にわたり、深刻な呼吸機能障害をもたらしている (NEJM, 2010)。肺に沈着した物質を肺組織切片上において元素レベルで同定することで、原因不明の肺疾患の診断・治療に役立つ可能性がある。我々は1990年から肺組織の元素分析を開始して、超硬合金肺など職業性肺疾患の原因究明に役立ててきた (AJRCCM, 2007)。2011年1月からインターネット上で元素分析を24時間受け付けるシステムを開設 (キーワード: 元素分析、新潟) して、国内外の肺組織の元素分析を開始していた。2011年3月11日の東日本大震災以後、このシステムから直接、被災地の複数の基幹病院の呼吸器科医から震災関連肺病変の元素分析を依頼された。いずれも震災後に発症した呼吸器疾患であり、実際に3例の元素分析を行った。震災に伴う粉じんと呼吸器疾患の関係を明らかにすることで、実際の臨床に役立てて頂いた (第52回日本呼吸器学会総会震災シンポジウム、Respir Invest, 2012、Respir Invest, 2013)。この経験から日常の呼吸器疾患の解明においても元素分析が役立つのではないかと考えた。今までは限られた研究施設や大学病院からの依頼で元素分析を行うことが多かった。しかしながら潜在的な需要があり、特殊な設備を持たない国内外の一般医療施設からでも依頼可能な元素分析の受け付けシステムを確立して、元素の解析を通して、呼吸器疾患の臨床診断能力の向上および治療・予防の向上に寄与できる可能性があるのではないかと考えた (Respir Investig, 2014)。

2. 研究の目的

本研究は、**吸入した物質を元素レベルで分析するという観点から、原因不明の肺組織病変に元素分析を行うことで、粉じん吸入に伴う肺病変の発症機序を明らかにするとともに、炎症性肺疾患の診断技術の向上に役立てたい。**さらに、**特殊な設備をもたない全国の一般病院から、吸入物による肺病変が疑われた際に、肺組織の元素分析が可能となるシステムを確立して、より正確な職業性肺疾患の鑑別が可能となることを目的とする。**

3. 研究の方法

震災や災害に関連して発症した呼吸器疾患や原因不明で診断に苦慮している肺病変についてオンラインで元素分析の依頼を受け付ける。インターネット上の「元素分析依頼照会用フォーム」アドレス: <https://sksp.jp/nীগата-u/in2/inquiry> に依頼要件を記載して送信して頂く。(英文対応可能であり、原則24時間受け付け、キ

ーワード:新潟、元素分析で検索可能である)

病歴 (曝露歴、被災状況) を確認して、元素分析担当者から依頼医に返信を送り、依頼施設から目的とする肺組織のパラフィンブロック検体を送って頂く。パラフィンブロックから厚さ3 μ mの薄切連続組織切片3枚を作成して、2枚目の切片を元素分析用の高純度ガラスカーボンに貼付する。前後の連続切片は、hematoxylin-eosin染色を行い、病理標本として、目的とする元素分析の領域を確定するために用いる。

元素分析には、波長分散型電子線マイクロアナライザー EPMA-1610 (島津製作所) を用いる。EPMA-1610は高輝度電子銃により極めて細い電子線を試料に照射して、試料から発生する元素固有の特性X線を波長の長さの違いにより検出する装置である。0.1 μ mレベルの分析が可能であり、試料の形状にとらわれず、各元素から発生する特性X線を検出して半定量が可能である。また**2次元解析が可能であり**、肺組織切片上に各元素の存在部位を明瞭に描出することで、肺病理組織と各元素の関係を明らかにすることができる。

元素分析結果を各依頼施設に報告する。

依頼先の臨床医には分析結果と病歴をあわせて、臨床情報を再度検討して頂く。

4. 研究成果

2014年~2017年の3年間で元素分析照会用フォームを通して45件の元素分析の問い合わせがあり、実際に41症例 (分析領域として98箇所) の元素分析を行った。元素分析を依頼される背景には、粉じん吸入など明らかな職業歴があり、病理組織で特徴的な肺病変を認めている症例のほかに、病因を推定することが困難な症例も含まれている。臨床所見と病理組織の乖離から、吸入による何らかの変化を解明することを目的に元素分析を依頼される症例もあった。全て日本国内からの依頼であった。

元素分析依頼 (地方別の依頼症例数)

北海道地方	3例
東北地方	3例
関東地方	9例
中部地方	5例
近畿地方	12例
中国・四国地方	2例
九州地方	7例
合計	41例

西日本からの分析依頼が多く (計21例) あり、半数以上を占めていた。依頼施設別では、一般病院26例、大学病院15例で、一般病院からの依頼が多かった。元素分析の依頼医は主に呼吸器科医36例、呼吸器外科医2例、病理医3例であった。分析依頼標本の内訳は

元素分析用の標本採取法

胸腔鏡下肺生検	29 例
経気管支肺生検	7 例
開胸肺生検	4 例
CT 肺生検	1 例

(気管支肺胞洗浄液 2 例 同時依頼)

経気管支肺生検 1 例と胸腔鏡下肺生検 1 例の計 2 例で、気管支肺胞洗浄液のサイトスピン検体から作製したセルブロック標本の分析も同時に行った。

年齢: 21 ~ 80 歳、男女比 35 : 6 であった。

職業歴では

金属研磨・加工・溶接等	24 例
製造業	9 例
印刷・塗装業	2 例
その他	6 例

金属研磨・加工・溶接等にはアルミニウム関連 4 例が含まれている。

製造業は多岐にわたり、断熱材、磁石、動物飼料、ウレタンマット、リーマー、セラミック、自動車ブレーキ、仏具、テフロン製造加工を行っていた。

元素分析は分析用の標本とその連続切片の病理組織を対比しながら、分析部位として 2 ~ 3 か所の領域を選択して、EPMA-1610 で同じ領域の元素分析を行った。

1 症例あたり検出された元素数は 8 ~ 16 で、Si シリコン、Al アルミニウム、S 硫黄、K カリウム、Fe 鉄、Ca カルシウム、P リン、O 酸素など、ほぼすべての症例で検出される元素のほか、人体に必須ではない元素が検出された症例もあった。正常肺では認めないまれな元素として、In インジウム、Ag 銀、Au 金、Nb ニオブ、Zr ジルコニウム、F フッ素、Cu 銅、Sc スカンジウム、Ga ガリウムが検出された症例もあり、職業・環境を通して、吸入された物質と肺組織との関連が明らかとなった症例もあった。

41 症例で検出された元素

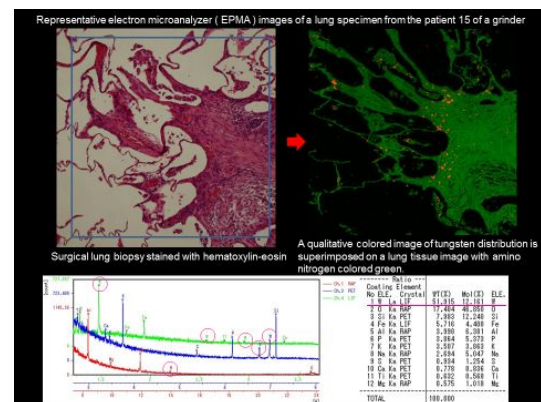
元素	元素記号	検出症例数
Silicon	Si	41
Aluminum	Al	41
Sulfur	S	41
Potassium	K	41
Iron	Fe	40
Calcium	Ca	40
Phosphorus	P	40
Oxygen	O	39
Magnesium	Mg	37
Titanium	Ti	34
Sodium	Na	33
Chlorine	Cl	17
Chromium	Cr	13
Tungsten	W	8 (図 1)
Manganese	Mn	7
Nickel	Ni	7
Zinc	Zn	5
Copper	Cu	2

Zirconium	Zr	2
Cobalt	Co	2
Tin	Sn	1
Vanadium	V	1
Silver	Ag	1
Gold	Au	1 (図 2)
Indium	In	1
fluorine	F	1 (図 3)
Gallium	Ga	1
Scandium	Sc	1
tantalum	Ta	1
niobium	Nb	1

元素分析結果の代表的症例 (図 1 ~ 3)

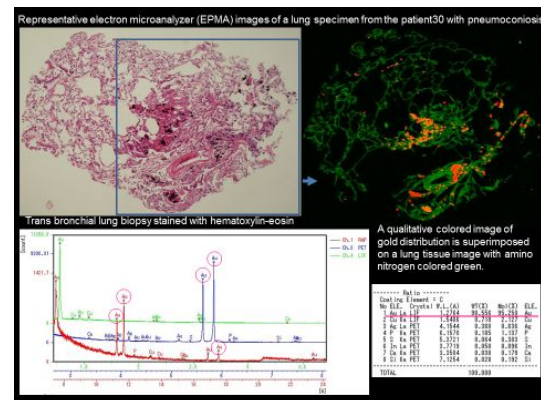
左上図: 病理組織図、右上図: 2 次元元素分析図 (組織に必ず含まれる窒素 N を緑色で描出して、その上に黄色から赤色の目的とする元素が描出されている)

(図 1) 元素分析症例 1
超硬合金研磨加工業症例の肺組織中のタングステン W (右上図の黄色部位)



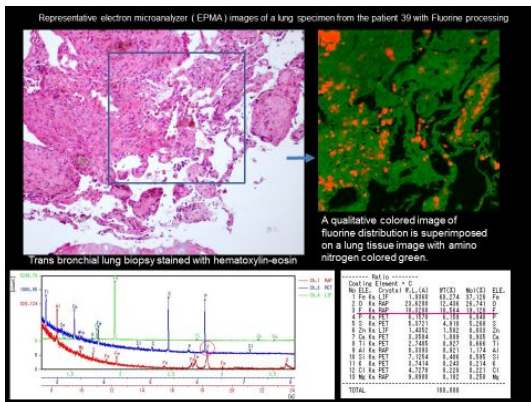
左下図: タングステンの波長に一致した特性 X 線のピークを認める。

(図 2) 元素分析症例 2
製造業症例 (金加工) の肺組織中の金 Au (右上図の黄色部位)



左下図: 金の波長に一致した特性 X 線のピークを認める。

(図3) 元素分析症例3
テフロン加工業者の肺組織中のフッ素F
(右上図の黄色部位)



左下図：フッ素の波長に一致した特性X線のピークを認める。

オンラインによる元素分析受付システムを利用して依頼を受けて分析を行った41症例のうち、Wタンゲステン、Coコバルト、Taタンタルなどの超硬合金構成成分を認めて9例が超硬合金肺と診断された。超硬合金肺の病理組織では、巨細胞の出現を認める特徴的な巨細胞性間質性肺炎（Giant cell interstitial pneumonia: GIP）パターンをとることが多い。本研究では、GIPパターンは、超硬合金肺9例中6例で認めた。一方で病理組織がGIPパターンをとりながら、超硬合金成分が一切証明されない症例も4例あった。このような症例があることも念頭に、GIPパターンの病理組織を呈する症例が全て超硬合金肺とは限らないことに注意が必要である。超硬合金肺との鑑別を行う上で、元素分析のはたす役割は重要であると考えられる。

元素分析で診断された職業性肺疾患

超硬合金肺 9例
GIPパターン 6例
非GIPパターン 3例
アルミニウム肺 3例
その他のじん肺 16例

本研究により元素分析照会用フォームを用いてオンラインによる肺組織の元素分析を行うシステムを確立することができた。今後も元素分析を原因不明の肺疾患、職業性肺疾患、災害に伴う肺疾患などに応用することで、原因究明と疾患の鑑別に役立つと考える。

本研究にあたり、貴重な検体の元素分析のご依頼を頂いた全てのご施設の先生方に深謝を申し上げます。

(引用文献)

Aldrich TK, Gustave J, Hall CB, et al. Lung Function in Rescue Workers at the

World Trade Center after 7 Years. *N Engl J Med* 362: 1263-1272, 2010.

Moriyama H, Kobayashi M, Takada T, Shimizu T, Terada M, Narita J, Maruyama M et al. Two-dimensional analysis of elements and mononuclear cells in hard metal lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 176:70-7, 2007.

Ohkouchi S, Ebina M, Kamei K, Moriyama H, Tamai T, Shibuya R, Ichinose M, Nukiwa T. Fatal acute interstitial pneumonia in a worker making chips from wooden debris generated by the Great East Japan earthquake and tsunami. *Respir Investig* 50:129-134, 2012.

Hisata S, Moriyama H, Tazawa R, Ohkouchi S, Ichinose M, Ebina M. Development of pulmonary alveolar proteinosis following exposure to dust after the Great East Japan Earthquake. *Respir Investig* 51:212-216, 2013.

Takada T, Moriyama H, Suzuki E. Elemental analysis of occupational and environmental lung disease by electron probe microanalyzer with wavelength dispersive spectrometer. *Respir Investig* 52:5-13, 2014.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4件)

Y Iijima, M Bando, H Yamasawa, H Moriyama, T Takemura, T Niki, Y Sugiyama. A case of mixed dust pneumoconiosis with desquamative interstitial pneumonia-like reaction in an aluminum welder. (査読有) *Respir Med Case Rep* 20; 150-153, 2017.

H Tomioka, T Kaneda, E Katsuyama, M Kitaichi, H Moriyama, E Suzuki. Elemental analysis of occupational granulomatous lung disease by electron probe microanalyzer with wavelength dispersive spectrometer: Two case reports. (査読有) *Respir Med Case Rep* 18: 66-72, 2016.

H Terui, S Konno, K Kaga, Y Matsuno, K C. Hatanaka, H Kanno, H Moriyama, M Uo, M Nishimura. Two cases of hard metal lung disease showing gradual improvement in pulmonary function after avoiding dust exposure. (査読有) *J Occup Med Toxicol* 10: 29, 2015.

Tanaka J, Moriyama H, Terada M, Takada T, Suzuki E, Narita I, Kawabata Y, Yamaguchi T, Hebisawa A, Sakai F, Arakawa H. An observational study of giant cell

interstitial pneumonia and lung fibrosis in hard metal lung disease. BMJ Open (査読有) 27;4(3), 2014.

〔学会発表〕(計 4 件)

H Moriyama, M Kobayashi, A Aoki, K Asakawa, T Sakagami, T Koya, T Ohdaira, I Takada, T Kikuchi, Establishment of a web-based inquiry system for elemental analysis of lung tissue of occupational lung disease, ATS2017, 2017 年 5 月 22 日 Washington Convention Center, ワシントン DC (米国)

H Moriyama, M Kobayashi, K Asakawa, T Koya, H Kagamu, I Takada, I Narita, Y Inoue, K Nakata, Elemental analysis of autoimmune pulmonary proteinosis, ATS2015, 2015 年 5 月 19 日 Colorado Convention Center, デンバー (米国)

森山寛史、職業性肺疾患の元素分析、第 24 回産業衛生学会、産業医・産業看護全国協議会、職業性肺疾患研究会、(招請講演) 2014 年 9 月 27 日金沢市文化会館 (石川県金沢市)

森山寛史、肺組織の元素分析、順天堂大学第 259 回臨床病理検討会、2014 年 4 月 3 日順天堂大学 9 号館 (東京都文京区)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

なし

取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森山 寛史 (MORIYAMA, Hiroshi)

独立行政法人国立病院機構西新潟中央病院・統括診療部・呼吸器内科医師

研究者番号：60463981

(2) 研究分担者

高田 俊範 (TAKADA, Toshinori)

新潟大学医歯学総合病院・教授

研究者番号：40361919