

200838004A

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

薬剤性肺障害の発現状況の 国際比較に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 久保 惠 嗣

平成21(2009)年3月

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

薬剤性肺障害の発現状況の 国際比較に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 久保 恵 嗣

平成21(2009)年3月

目 次

班員名簿

I. 総括研究報告	1
II. 分担研究報告	
薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究	19
久保 惠嗣	
高頻度の肺障害に関する日本人の人類遺伝学的考察	
日本列島の成立と人類の移動の視点から見た日本人の多様性	23
吾妻安良太	
血清KL-6ならびにその亜分子モニタリングの意義に関する研究	29
河野 修興	
薬剤性肺障害における遺伝子学的検討、HLAの解析	37
太田 正穂	
日本人の薬剤性肺障害の遺伝学的研究	42
萩原 弘一	
III. 研究成果の刊行物一覧表	57

薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究班員名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	久保 惠嗣	信州大学医学部内科学第一講座	教 授
研究分担者	吾妻 安良太	日本医科大学内科学講座呼吸器・感染・腫瘍内科部門	教 授
	河野 修興	広島大学医歯薬学総合研究科分子内科学（第二内科）	教 授
	太田 正穂	信州大学医学部法医学教室	講 師
	萩原 弘一	埼玉医科大学呼吸器内科	教 授

總括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

総括研究報告書
薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究

研究代表者 久保 恵嗣
信州大学医学部内科学第一講座 教授

研究要旨

1. 久保

昨年度に施行したゲフィチニブに引き続き、今年度は抗癌薬としてプレオマイシン、TS-1、分子標的薬としてイマチニブ、さらに、新規抗リウマチ薬に注目し、メトトレキサート (MTX)、レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブに関して薬剤性 (間質) 肺炎の発生頻度を、学術論文および公的な報告書を検索し、国際比較をおこなった。その結果、プレオマイシンおよびレフルノミドに関しては、わが国での発生頻度が欧米に比し明らかに高い可能性が示唆された。しかし、これら以外の薬物に関しては今後さらに検討を要すると思われた。

2. 吾妻

わが国で発症頻度が高いと懸念される薬剤性肺障害に代表される、肺の被障害性について、日本人の遺伝的素因との関連が示唆されている。日本人の歴史的背景を考察し、人類の歴史的移動と日本列島の地理的隔絶に関する知見から、日本人の希少性あるいは多様性に関する検討を試みた。その結果、日本人は決して少数民族の反映の結果ではなく、淘汰されずに共存反映した多様な遺伝背景が温存された結果、現在の日本人に到達した可能性が示唆された。

3. 河野

ゲフィチニブ治療を受けた非小細胞肺癌症例ならびにARDS症例で血清KL-6ならびにその重分子値をモニタリングし、その測定意義を後ろ向きに検討することを目的に検討した。EGFR遺伝子変異を認める症例に加え、EGFR遺伝子変異を認めない症例でも治療前血清KL-6値が低値を示す症例は、ゲフィチニブ治療による治療利益が見込める可能性が示唆された。ARDS症例において、ARDS診断時のみならず経時的にKL-6値をモニタリングすることでDICの合併を早期に予測できる可能性が示唆された。

4. 太田

薬剤性肺障害誘発に関与する遺伝学的要因の検索のためHLA (Human Leukocyto Antigen)、薬剤代謝酵素 (CYP3A, CYP2C19) および薬物の体内動態に関与するABC (ATP binding cassette) トランスポーターファミリーの一員であるMDR1 (multidrug drug resistance) 遺伝子多型について解析した。解析には、薬剤投与により薬剤性肺障害を誘発した患者群 (9人) と薬剤障害が認められなかったコントロール群

(10人) から得たDNAを用いた。その結果HLAでは、患者群にHLA-A*0206アリル頻度が有意に高く(55.6% vs 0%, $p=0.011$)見られた。代謝酵素であるCYP2C19では636(G/A, exon4)と681(G/A, exon5)の変異に基づいた遺伝子型においてコントロール群で*3アリルの上昇(50% vs 0%, $p=0.033$)が見られた。MDR1遺伝子であるABCB1のプロモーター領域とABCG2の421位(C/A, Q141K)における多型については、両群のアリル頻度で有意差は見られなかった。今回の解析では、試料収集が困難なことから用いた試料数は少なかったが、HLAと代謝酵素の多型に患者群とコントロール群に有意な相違が認められた。特に、HLA-A*0206アリル頻度は一般健常日本人では8.99%であるが、患者群では27.78%と高い値を示している。今後更に症例数を増やした検討が必要と考えられる。

5. 萩原

ゲフィチニブ、エルロチニブによる薬剤性肺障害のように、日本人に高頻度で見られ、海外での頻度がごく低い薬剤性肺障害は、日本人に高頻度で存在する遺伝因子が原因となっている可能性が高い。近年の高密度SNPアレイを用いると、全ゲノムレベルでSNP解析が可能であり、日本人の薬剤性肺障害に想定されるhigh-riskで高頻度(ゲフィチニブの薬剤性肺障害の頻度より5%以上と推定される)なアレルは100例程度の患者サンプルから同定可能と推定される。本研究は、このような遺伝学的解析のためのサンプルを収集し、解析の一部を開始することを目的としている。本年は約20例の薬剤性肺障害サンプルの収集が終了した。さらにデータ保存用のwebページを開設した。

研究分担者

吾妻 安良太 (日本医科大学内科学講座呼吸器・感染・腫瘍内科部門教授)、
河野 修典 (広島大学医歯薬学総合研究科分子内科学(第二内科)教授)、
太田 正穂 (信州大学医学部法医学教室 講師)
萩原 弘一 (埼玉医科大学呼吸器内科教授)。

A. 研究目的

薬剤性肺障害、特に薬剤性肺炎の発生がわが国において欧米に比し多いのではないかの仮説を明らかにする事が最も重要な目的である。この事が明らかになった場合、遺伝的に規定されているのかをどうかを明らかにし、合わせて、他のアジア諸国、特に韓国、台湾と比較することにより日本人のみの現象かどうか考察し、また、特発性肺線維症(IPF)の急性増悪の発生頻度についても国際比較することを目的とする。さらに、薬剤性肺炎の発症予測マーカーとしての血清KL-6の意義についても検討する。

この命題を解明するために、各分担者は以下の目的で研究をおこなった。

1. 久保

本研究の目的は、薬剤性肺障害の発生頻度を、本邦、欧米、日本人以外のアジア人、特に韓国、台湾、と比較する事により、発症頻度に対する人種差の有無を明らかにする事である。もし発生頻度に差があるとすれば、どのような薬剤かを薬剤性肺炎発症の作用機序、などから考察することである。

2. 吾妻

1) 近年、日本人に発生した薬剤性肺障害の頻度を検証し、2) 人類遺伝学的研究が進められて

きたミトコンドリアDNA(mtDNA)を用いた母系遺伝形式ならびにY染色体を用いた父系遺伝解析の結果、明らかにされつつある人類移動の奇跡から日本人の祖先を文献的に考察し、日本人の希少性、多様性について解析することにより、薬剤性肺障害の頻度に関する国際比較のための考察に資する。

3. 河野

薬剤性肺障害を惹起しやすいゲフィチニブの使用前後において、血清KL-6値の測定意義を明らかにすることが目的であるが、ゲフィチニブでの薬剤性肺炎の発症頻度が投与例の約4%程度であり、短期間に薬剤性肺障害の症例を集積することは困難である。そこで、致命的薬剤性肺障害と類似する病態を呈すると考えられる急性呼吸窮迫症候群(Acute respiratory distress syndrome: ARDS)患者におけるKL-6ならびにその亜分子のモニタリングの意義を検討することによって、薬剤性肺障害の病態の解明に迫る。

4. 太田

日本人における薬剤性肺障害が遺伝学的要因に影響されるか検討するために、ゲフィチニブなどの薬剤により肺障害を発症した患者群9人と無症状のコントロール群10人から得たDNAを用いて、遺伝子多型(HLA, CYP3A5, CYP2C19, ABCB1, ABCG2)を検査した。解析に用いたサンプル数は統計学的解析を行うには少なかったが、本解析結果から薬剤性肺障害に影響を及ぼす遺伝要因について検討した。

5. 萩原

(1)薬剤性肺障害に関与する遺伝因子が「common disease-common variant-common origin仮説」に従い日本人に広がった、(2)特発性肺線維症急性増悪に関与する遺伝因子も「common disease-common variant-common origin仮説」に従い日本人に広がった、という作業仮説のもと、両者が

同一である可能性、異なる可能性を共に考慮に入れながら、「ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析」を始めとする各種解析手法により、両者の遺伝因子を特定する。両者の遺伝因子が同一か否か、比較対照しながら平行して研究するために、材料となる臨床検体を収集し、そのデータバンクを作成することを目的とする。

B. 研究方法

1. 久保

昨年度におこなったゲフィチニブによる薬剤性肺障害としての急性肺障害や間質性肺炎(ILD)の発生頻度に関する研究と同様に、論文および報告書などを検索し発症頻度に関する国際比較、特に、韓国、台湾、欧米での成績とわが国での頻度を検討した。

(倫理面への配慮)

主として報告書や論文による検索であり、倫理面への配慮は必要ない、と考える。

2. 吾妻

1) わが国の薬剤性肺障害と欧米諸国における同一薬剤による肺障害の頻度比較を文献的資料、あるいは会社からの公表資料(web公開資料を含む)を元に考察した。

2) mtDNAならびにY染色体の遺伝形式の研究成果を文献的に考察し、日本人の人類遺伝学的背景について検討した。

(倫理面への配慮)

主として報告書や論文による検索であり、倫理面への配慮は必要ない、と考える。

3. 河野

1) ゲフィチニブ投与症例における血清KL-6ならびにその亜分子のモニタリングの有用性に関する検討
病理学的に非小細胞肺癌と診断された肺癌症例

を対象とした。具体的には、以下の基準、臨床病期：Ⅶ期、Ⅳ期または術後再発、前治療として、化学療法を1レジメン以上施行、年齢：20歳以上、上限なし、PS(ECOG)：0-3、測定可能病変を有する、主要臓器機能が保たれている、経過中に間質性肺炎を発症しなかった症例)を満した73症例である。

治療前後で経時的に血清KL-6値、SLAK値、CEA値、CYFRA値を測定し、その臨床的意義について検討を行った。さらに41症例のホルマリン固定後の肺癌組織につきEGFR遺伝子変異の有無についてPNA-LNA PCR clamp法を用いて検討した。

2) KL-6のモニタリングによるARDSにおける予後ならびにDICの予測

ARDS、56症例(男性36症例、女性20症例、年齢 65.8 ± 14.5 歳)を対象とし、ARDS診断時の血清中KL-6値、D-dimer値、LDH値、CRP値を測定し、DIC score、肺損傷スコア、APACHE IIスコアを同時に算出した。経時的に血清KL-6、凝固能をモニタリングし、経過中DICを合併したものはDIC合併群とした。生存者は最低60日間以上の経過観察を行った。血清KL-6値と予後、DICを含めた臨床病理学的因子の関係について検討した。(倫理面への配慮)

本研究の対象者は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に沿って作製され、当院のヒトゲノム研究倫理審査研究会で承認された文書によるインフォームド・コンセントが得られた症例とした。患者のプライバシーを厳守して研究を実施している。

3. 太田

対象は、薬剤による肺障害を起こした9例と無症状であった10例である。血液を採取し、下記の解析をおこなった。

① DNAの検出

自動DNA抽出器(Quick Gene, FUJIFILM Co.)を用いてDNAを得た。

② HLA-DNAタイピング

HLA-DNAタイピングは、LABType SSO試薬(One Lambda Inc.)にて、HLA-A*、-B*、-DRB1*、-DQB1*をLuminex法で検査した。

③ 薬物代謝酵素CYP2C19、CYP3A5の遺伝子タイピング

CYP2C19の遺伝子変異は、本来この酵素の基質薬物であるS-メフェトイン(S-Mep)の代謝能に影響を及ぼす重要な変異であるCYP2C19*3(G636A, exon4)とCYP2C*2(G681A, exon5)についてPCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism)法を用いて行った。CYP3A5遺伝子多型については、この酵素蛋白の欠損の原因であるCYP3A5*3(A6986G, intron4)とCYP3A5*6(G14690A, exon7)をPCR-RFLP法にて検査した。

④ 薬物排出に関与するABCトランスポーターMDR1遺伝子多型

ABCB1遺伝子プロモーター領域内にある4種類のSNPs(-1459G>A, -1517T>C, -129T>C, -41A>G)とエクソン内にある2種類のSNPs(G2677AT, exon21, C3535T, exon26)、およびABCG2遺伝子421C>AをTaqMan SNP genotyping assay kit(ABI)を用いてTaqMan Real Time PCRで判定した。

(倫理面への配慮)

信州大学医学部倫理委員会承認された研究である。課題名：薬剤性肺障害における遺伝子学的検討。承認日時および番号：平成20年4月8日、No.243。

5. 萩原

「びまん性肺疾患に関する調査研究班」、 「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」(以後「研究班」と称する)を中心とする多施設

共同研究

共同研究の内容：

1. 患者試料収集
2. 収集試料の「研究班」内での共同解析
3. 基本的解析結果の「研究班」内での共有

研究の進め方：

1. 「研究班」を中心に患者DNA試料の収集を行なう。

特発性肺線維症急性増悪：「研究班」を中心に呼びかける

薬剤性肺障害：「研究班」とともに、製薬会社に試料収集協力と呼びかける

2. DNA試料は試料収集責任者を中心に収集、管理する。
3. 「研究班」主任研究者、分担研究者、研究協力者より研究施行者を募る。研究施行者は同時に試料提供者（患者DNAを提供した施設の所属者）であることが望ましい。主任研究者が研究施行者を承認する。研究施行者全体を研究グループと称する。
4. 試料収集責任者は、研究グループで共有し利用する基本的なDNA情報（患者全ゲノムSNP情報、個人情報に消去した患者画像、簡単な病

歴）を収集し、研究グループ内にwebで公開する（研究グループ内のパスワード保護）。

5. 試料収集責任者は、研究施行者の要請に応じ、収集したDNA試料を研究施行者に配布する。
6. 研究施行者は、各自の戦略に基づき解析を行う。
7. 研究施行者は、研究結果を主体的に論文発表するとともに主任研究者に報告する。論文発表の際は、謝辞に「研究班」の研究であることを明記するとともに、可能な範囲で試料提供施設を記載する。

付記：薬剤性肺障害試料の収集について

薬剤性肺障害試料は、「研究班」内部での収集では不十分であり、広く全国に呼びかける必要がある。薬剤性肺障害発生情報は、製薬会社に早期の段階で入ることが多いため、製薬会社に協力を依頼する。

（倫理面への配慮）

各研究毎に、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文部省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）に従い、各施設の倫理審査研究会で承認を得ておこなった。

C. 研究結果

1. 久保

国内外で上市されている抗がん薬、分子標的治療薬、新規抗リウマチ薬につき、薬剤性肺障害、特に薬剤性（間質性）肺炎を中心にその発症頻度を分析した。

【抗がん薬】

1. プレオマイシン（プレオ[®]）

日本	165/1,613例 ¹⁾	10.2%
海外	27/295,800例 ¹⁾	0.01%
2. テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合（TS-1[®]）

日本	5/5,076例 ²⁾	0.1%
韓国	0/1,407例 ³⁾	0%
台湾	0/34例 ⁴⁾	0%

欧米 0/149例⁵⁾ 0%

【分子標的治療薬】

1. イマチニブ(グリベック[®]) 日本 10/728例⁶⁾ 1.37%
欧米 0/1,789例⁷⁾ 0%

【新規抗リウマチ薬】

1. メトトレキサート(MTX)(リウマトレックス[®])
日本 15/3,839例⁸⁾ 0.39%
欧米 127/5,565例⁹⁾ 2.28%

2. レフルノミド(アラバ[®]) 日本 89/6,731例¹⁰⁾ 1.3%
欧米 152/862,658例¹¹⁾ 0.018%

3. エタネルセプト(エンブレル[®])
日本 81/13,894例¹²⁾ 0.58%
欧米 5/1,620例¹²⁾ 0.31%

4. インフリキシマブ(レミケード[®])
日本 10/17,785例¹³⁾ 0.06%
欧米 20/315,022例¹³⁾ 0.006%

文献：

- 1) 日本化薬社内資料
- 2) 2/751例、TS-1単独投与による臨床試験(添付文書より)
2/3,808例、市販後の胃癌成績調査(癌と化学療法33:55-67, 2006; Gastric Cancer 8:6-11, 2005)
1/517例、胃癌術後補助化学療法比較試験(N Engl J Med 357:1810-1820, 2007)
- 3) 0/62例、TS-1単独投与による臨床試験(Oncologist 12:1810-1820, 2007)
0/1,345例、市販後の使用成績調査および特別調査(内部資料、未公開)
- 4) TS-1単独による臨床試験(内部資料、未公開)
- 5) 0/30例、TS-1単独による臨床試験(Eur J Cancer 39:1264-1270, 2003)
0/47例、TS-1単独による臨床試験(Brit J Cancer 88:648-653, 2003)
0/72例、TS-1+シスプラチン併用療法による臨床試験(Cancer 109:33-40, 2007)
- 6) 2007年5月31日までの市販後販売調査(特定使用成績)
- 7) 553例、慢性白血病(N Engl J Med 355:2408-2417, 2006)
147例、消化管間質性腫瘍(N Engl J Med 347:472-480, 2002)
942例、消化管間質性腫瘍(Eur J Cancer 42:2277-2285, 2006)
147例、消化管間質性腫瘍(J Clin Oncol 26:620-625, 2008)
- 8) リウマトレックス使用成績調査の安全性評価対象例(ワイズ社内部資料)
- 9) 9/168例、Seminars in Arthritis, Rheumatism 16:186-195, 1987
1/587例、J Rheumatol 20:639-644, 1993

2/460例、J Rheumatol 27:1864-1871, 2000

108/3,677例、Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 18:243-252, 2001

6/673例、Rheumatology 44:61-66, 2005

10) 全例調査による副作用発現状況(<http://safety.sanofi-aventis.co.jp/arava/aravad/index.html>)

11) 2/584例、サノフィ・アベンティス社内部資料

0/214例、Kalden JR, et al: Arthritis Rheum 48:1513-1520, 2003

150/861,860例、工藤翔二：日本人にとっての薬剤性肺障害(65:963-970, 2006)

12) エンブレル全例調査例(ワイス社内部資料)

13) 田辺三菱社内資料

2. 吾妻

日本人に高頻度に認められる薬剤性肺障害

2002年のゲフィチニブによる肺障害はわが国の3.98% (アストラゼネカ社コホート試験、n=4,473) に対してFDA 0.3% (n=23,000)の発表から10倍以上、2003年に起きたLeflunomideの肺障害は日本人1.81% (n=3867)に対して欧米での使用対象者からの推定頻度0.017% (n=861,860)と約100倍の肺障害が見込まれた。

また、ゲフィチニブと同様チロシキナーゼ抑制薬(TKI)であるエルロチニブはwebでの製薬企業の全例調査が経時的に更新されているが2008年8月時点、約4.0% (n=4304)の肺障害が報告され、欧米での非小細胞肺癌治療試験(BR.21, TALENT, TRIBUTE)における推定頻度0.2-0.4%を10倍以上上回っている。2007年、韓国でのエルロチニブ有害事象報告(Park K)は急性肺障害が2名(0.2%)に止まっている。

多発性骨髄腫の治療薬であるBortezomib (Velcade)は、日本人の間質性肺炎(ILD)報告9例(使用症例数52例)で17.3%に対し、他国の合計ILD報告12症例(使用症例数32,994例)で0.036%とされており、著しい頻度差がうかがわれる。

Bleomycinでは売上高から推定された投与患者数を比較するとILDの発症率0.66%対0.01%と、日本人のILDが著しく高頻度であることが類推さ

れた。

以上、複数の事例から、いずれの事例をとっても日本人の薬剤起因性ILD発症率は諸外国に比べて高い可能性を示唆する数字が提示されてきている。

特発性肺線維症の急性増悪に関する考察

一方、特発性肺線維症(IPF)の急性増悪(AE)について、近年米国胸部学会(ATC)からGlobal Consensusが呈示されたが、病態の概念に関する記述は、その多くがわが国からの報告に基づいており、人種間で頻度差のあることが示唆されている。米国で行われたIPFの診断と治療に関するアンケート調査が報告されているが、同一の和訳アンケートを日本呼吸器学会の代議員を対象に実施した結果、日米のIPF-AEの認識はいずれも100% vs 97%とほぼ全員が「あり」と答えているものの、致死性であるとの認識は「しばしば」と認識した日本人が80%であるのに対し、米国では53%が致死性と答えている。IPF-AEの致死性に対する認識にずれが生じていた。このことも日米間の頻度差を予感させる事実である。

日本人の構成に関わる人類遺伝学的考察

「我々日本人は他の国の人々に比べて、肺障害を起こしやすいのだろうか?」という疑問は上記

の事象から必然的に湧いてくる。欧米人との比較のみならず、他のアジア地域と比べても肺障害あるいはILDの報告は日本から多いことは、ゲフィチニブの事象から容易に類推されている。

現生人類（新人：ホモサピエンス）の移動は約13万年前のアフリカ起源説に始まり、北上してヨーロッパ大陸に到達したもの、中東を経由してユーラシア大陸へ至り、東端の日本へ到達した者達がいる。わが国は島国であり、大陸から少人数が渡り住んだ結果、大陸の民族の一部が増幅した可能性を推察した過去がある。ガラパゴス諸島に代表されるような離島環境は生物学的にbottle neck effect（瓶の首効果）あるいはfounder effect（創始者効果）と称され、稀少生物の繁殖に適した環境とも考えられている。薬剤性肺障害の頻度を論じる場合に日本人が高頻度であることを考えるには都合が良い。しかし、近年、mtDNA（ミトコンドリアDNA）の解析から日本人の母系祖先が複数かつ多様であることが示唆されている。D4 36%を最大のハプログループに15種類以上に及ぶハプログループが混在する。日本人の母系遺伝子は決して少数の背景ではない。わが国の遺伝背景を比較すると、世界中と比べても、決して稀少なハプログループに偏っているとは言い難い。また、複数のハプログループは系統樹の視点から、近縁とは限らず、時間的、空間的に遠く離れた母系ハプログループから日本へ到達した人類が認められている。

また、Y chromosome（Y染色体）の解析から父系起源についても、多様性が確認されており、特にハプロタイプC、D、O、Nが高率に認められる。

地理的変遷の考察

最終氷河期（ヴユルム氷河期）の最後に海水面が約200m上昇し、日本列島が大陸から隔離され

た時期は、約2万から1万5千年前とされている。一方、mtDNA研究の成果から人類の移動がアジア東端に到達した時期は約3から4万年前とされている。日本列島の隔離以前に人類は現在の日本列島の位置に陸路で到達していたと理解される。離島環境下でのbottle neck effectではなく、すでにあるハプログループの存在が複数、日本の位置に存在していた可能性が示唆される。例えば、後期旧石器時代のシベリア起源とする北方系移動性狩猟採集文化（石刃文化、細石刃文化など）は2万年より以前に日本の位置で繁栄しており、Y chromosome 情報を経時的に追跡すると、Q、C3がすでに存在していた。しかし、日本列島の成立以降も縄文文化草創期の担い手としてD2が、縄文時代早期の担い手としてC1、Nが、金属器時代に至るとO2、O3が日本列島へ流入してきた形跡が確認されている。いわゆる「渡来人」は農耕文明を携えて移住してきた形跡がある。現代日本人のY chromosome 分布を見ると、D2は北に多く、O2、O3は南に多い傾向がある。しかし、mtDNAハプログループの分布は日本全土で差が認められず、母系と父系の移動には大きな開きが認められる。こうしたmtDNAやY chromosomeハプログループ頻度分布の差がどのように疾患頻度分布に影響を与えているかは不明である。

3. 河野

1) ゲフィチニブ投与症例における血清KL-6ならびにその垂分子のモニタリングの有用性に関する検討

ゲフィチニブが投与され、経過中に薬剤性肺障害を合併しなかった73症例について、血清KL-6値ならびにSLAK値モニタリングの意義について検討した。患者背景と治療前の血清KL-6値はいずれの臨床病理学的因子とも相関を認めなかった。治療効果に関与する臨床病理学的因子としては、

これまでに報告されている性別、喫煙歴、PSなどのほかに治療前の血清KL-6値が高い患者群では、ゲフィチニブ治療に対して反応性が乏しく、かつ予後不良であった。一方、血清SLAK値、CEA値、CYFRA値は治療効果と相関を認めなかった。

ゲフィチニブ治療前の血清KL-6値が高い患者群は、Progression-free survival (PFS)ならびにOverall survival (OS)ともに有意に予後不良であり、独立した予後不良因子であった。血清SLAK値、CEA値、CYFRA値については、生存期間に有意差を認めなかった。

EGFR遺伝子変異を検討しえた41症例中、25例にEGFR遺伝子変異を認め、変異のある症例では、PFSの延長を認めたが、OSの延長を認めなかった。さらに、EGFR遺伝子変異を認める症例においては、血清KL-6値とPFSならびにOSの相関を認めなかったが、EGFR遺伝子変異を認めない症例においては、血清KL-6値が高い患者群は、PFSならびにOSともに有意に予後不良であった。

2) KL-6のモニタリングによるARDSにおける予後ならびにDICの予測

解析したARDS 56症例中、発症原因となる基礎疾患は、肺炎などの直接損傷が39症例、敗血症などの間接損傷が17症例であった。DIC合併群と非合併群の背景因子を検討したところ、診断時の血清KL-6値、D-dimer値、血小板値、DICスコアは2群間で有意差を認めたが、PaO₂/FiO₂比、肺損傷スコア、CRP値、SIRSの診断基準、APACHE IIスコア、SOFAスコア、人工呼吸器の設定には有意差を認めなかった。DIC合併群は44%しか生存しなかったのに対して、DIC非合併群は90%が生じた。また、診断時血清KL-6値は、DIC合併群ではDIC非合併群と比較して、高値を示す傾向を認め (601±563 U/ml vs 376±328 U/ml; P=0.018)、死亡群では生存群と比較して、高値を示す傾向を認めた (621±522 U/ml vs 287±219

U/ml; P<0.001)。

血清KL-6値をモニタリングしたところ、診断1週間及び2週間後で、DIC合併群とDIC非合併群の差はさらに顕著になった。また、多変量解析により、血清KL-6値ならびに血小板数は独立したDIC合併の予測因子であった。

診断時血清KL-6値による将来のDIC合併予測の可能性について検討したところ、感度88.9%、特異度55.3%であった。なお、カットオフ値はROC曲線を用いて、300U/mlに設定した。診断時血清KL-6値が高値を認める症例は、経過中に33症例中16症例(48%)がDICを合併したのに対して、そうでない症例は23症例中2症例(9%)がDICを合併したのみであった。

4. 太田

① HLAタイピング

HLAタイピングでは、薬剤性肺障害発症を患者群、非発症をコントロール群におけるHLAアレル判定結果では、各群のアレル保有率がdominant modelにて χ^2 検定を行うと、HLA-A*0206アレルが統計学的有意に増加していた(55.6% vs 0%, p=0.011, Fisherの補正)。他のアレルに有意差は認められなかった。HLA-A*0206は、HLA-A*02のサブタイプであり、日本人におけるアレル頻度は8.99%である。最も高頻度に見られるサブタイプはA*0201で10.71%を示す。今回の解析はサンプル数が少ないが、患者群におけるA*0206アレル頻度は27.78%で一般健常日本人のアレル頻度と比べても有意に高い値(p=0.021 Yatesの補正)を示している。

② 薬物代謝酵素CYP2C19, CYP3A5の遺伝子タイピング

CYP2C19遺伝子は、染色体上10q24にあり、9つのエクソンから構成されている。この遺伝子のなかには多くのSNPsが報告されているが、その

なかでもエクソン4の636位のguanineからadenineの変異CYP2C19*3(G636A)とエクソン5の681位にあるguanineからadenineの変異CYP2C*2(G681A)は、stop codonとsplicing defectを生じ、mutant型*3/*3,*2/*2,*2/*3型では酵素欠損者となる。今回、コントロール群では、エクソン4にmutant(*3アレル:adenine)が多かった(50% vs 0%, p=0.033)。また、コントロール群では酵素欠損者が4人見られたが、患者群では0人であった。因みに日本人では、約23%が酵素欠損者である。酵素非欠損者は、薬剤の代謝能が高いことから、薬剤の血中濃度が高度となると推測される。患者群が総て酵素非欠損者であるのと、薬剤性肺障害の発症には何らかの関連性が示唆された。

③ ABCトランスポーターMDR1遺伝子タイピング

プロモーター領域内にある4種類のSNPs(-1459G>A,-1517T>C,-129T>C,-41A>G)とエクソン内にある2種類のSNPs(G2677AT,exon21,C3535T,exon26)および、ABCG2遺伝子421C>Aのタイピング結果では、症例が少なく有意な結果は得られなかった。

④ 薬物排出に関与するABCトランスポーターMDR1遺伝子多型

肺障害群およびコントロール群でABCB1,ABCG2遺伝子多型において肺障害発症との相関は認められなかった。

5. 荻原

1. 本研究、および厚生労働省びまん性肺疾患調査研究班を中心とした薬剤性肺障害患者サンプル収集ネットワークが稼働を始めた。
2. 2008年12月1日現在、薬剤性肺障害約20例が収集済み、1例がSNP解析終了、10例が解析提出済みである。
3. 薬剤性肺障害患者データを本研究共同研究者

と交換するためのweb server(パスワード保護)が稼働を始めた。http://www.wjrrmj-v.sharestage.com/

D. 考察

1. 久保

プレオマイシンは日本および欧米での発症頻度が、各々、10.2%および0.01%と日本国内で明らかに高頻度であった。これは、工藤(日胸65:963,2006)が国内0.66%、海外0.01%と報告した頻度に比し、日本でより高頻度であるが、いずれにしてもプレオマイシンの肺障害の頻度がわが国で多いと言えるであろう。TS-1[®]に関しては、日本0.1%、欧米0%、さらに、韓国0%、台湾0%と集計した。台湾と欧米での成績は例数が各々34例、149例と少数であり、今後のさらなる検討を要する。

主に慢性骨髄性白血病(CML)に有効である分子標的薬イマチニブでは、わが国1.37%、欧米0%であった。欧米での対象症例が1,789例であることより、わが国での発症頻度が高いと言えるかもしれない。工藤(日胸65:963,2006)は、多発性骨髄腫に有効とされる分子標的薬ボルテゾミブ(ベルケイド[®])の発症頻度を国内6.47%(9/139例)、海外0.036%(12/32,994例)と報告している。今後、抗がん作用を有する分子標的薬の使用が増加するので、わが国と海外での頻度を注視していく必要がある。

新規抗リウマチ薬は、MTXおよびレフルノミドは核酸合成阻害薬で免疫抑制薬に分類され、さらに、エタネルセプトおよびインフリキシマブはTNF α 阻害薬で生物学的製剤である。MTXに関しては、我々の成績では、欧米での2.28%に比し、わが国では0.39%であった。工藤(日胸65:963,2006)は対象症例数を提示していないが、わが国では0.25%、欧米でも0.3%程度であり国内外で

差はないと報告している。すでに非常に多くの症例で使用されている薬物であり、有意差はないと結論するのが妥当かもしれない。レフルノミドはわが国では1.3%、欧米では0.018%とわが国でかなりの高頻度であった。エタネルセプトおよびインフリキシマブに関しては、インフリキシマブでわが国で欧米より10倍の高頻度であったが、特に有意な差異ではないと考えるのが妥当であろう。

2. 吾妻

mtDNAでは男でも女でも母系系列のみが反映する。Y chromosomeでは父系系列が反映するが、男の遺伝子解析しか可能ではなく、女性の父系がどこから来ているか、定かではない。近接の祖先が何人か？ということは別として、自分のルーツがどこから来たかをうかがい知ることができる。しかし、疾患を規定するあるいは関連する遺伝子は相同染色体上に座しているものと考えられるため、母系によって継承された感受性遺伝子は特定のmtDNAハプログループに集積する可能性はあるが、Y chromosomeは同一染色体上にある遺伝子は直接関与する場合を除いて、疾患との関連を解説することは困難と考える。

現在述べられることは、日本人の祖先がけっして稀少民族の末裔として繁栄したのではなく、時間を越えて、空間的に隔たった地域から極東の日本列島に移り住んできて現在に至っているということである。薬剤性肺障害の頻度やIPFの急性増悪に代表されるような「肺の脆弱性」は稀少な民族の拡大というよりは、これまでの日本列島が脆弱性の淘汰がなされない環境であった、と考えることはできないだろうか。

史実をひもといては、大陸では種族間抗争の結果、抹殺されるか辺境地へ追いやられた種族があったが、わが国の多様な種族はハプログループの数を見ても、「共存」を営んできた民族であること

が示唆される。また、自然環境を考えても感染症などの疫病による淘汰が大陸に比べて著しくなかった可能性を、検証することが必要である。

グローバル時代に至り、自然環境、民族文化の異なる地域との交流にさらされている現在、薬剤性肺障害の頻度差は日本人が肺の脆弱性を高頻度を持つ民族であることを疑わせる。

一方、有害事象の取り扱いも著しく敏感な国民である可能性を想起する。すなわち、リスク回避の敏感な民族が繁栄した結果、現在の日本人を形成している可能性である。このことは医薬品のみならず、食の安全、大気環境の安全などあらゆる分野にうかがい知ることができる。また、それを巧妙に実現してきた人種でもある。ただし、ワクチン接種の事例ようにリスク回避の信念が裏目に出た場合も少なくはない。

これらのことを踏まえて、1) 日本人の薬剤性肺障害の実態を追跡し、国際比較する。2) 対処法の開発につなげること。3) グローバル時代に諸外国との間にとるべき姿勢を模索すること。これらのことは、PMSとして国内は始められているが、同一の調査が諸外国でも実施されることの必要性をグローバル製薬企業に義務づけるなど、今後、国際基準の制定が必要であり、発展すべき課題である。

3. 河野

ゲフィチニブが投与された73症例の検討では、ゲフィチニブ治療前血清KL-6値が高値を示す症例はゲフィチニブ治療に対して反応性が乏しくかつ予後不良であることがわかった。一方で、肺腺癌特異性を高めたKL-6の亜分子であるSLAK値は、ゲフィチニブに対する治療効果と全く相関を認めなかった。肺腺癌特異性を高めたKL-6の亜分子である血清中SLAK値は、ゲフィチニブに対する耐性機序と全く相関を認めなかった。現在ま

でKL-6がクラスター分類されるMUC1はEGFRと結合すること、MUC1の発現がEGFR依存性のシグナル伝達を促進することがわかっている。KL-6がGefitinibの治療の耐性あるいは抵抗性に関係することを示唆する今回の結果は、EGFRリガンド (amphiregulin, TGF- α など) の質的变化がゲフィチニブの耐性機序にかかわることを示唆する私達の報告を裏づけるものと思われる。

EGFR遺伝子変異によるサブグループ解析を行ったところ、EGFR遺伝子変異を認めない症例 (Wild type) では、血清KL-6と予後が相関したのに対して、EGFR遺伝子変異を認める症例では、全く相関を認めないことが分かった。EGFR遺伝子変異は、ゲフィチニブ治療に対して部分奏効 (partial response; PR) 患者群を予測するのに有用であるとされているが、腫瘍部から直接組織を採取することが必要であり、多くの患者においては検査に必要な最低限の量の腫瘍組織の採取が難しい、検査に時間、労力、費用がかかるなどの理由でゲフィチニブ治療の決定に汎用されているとは言えないのが現状である。一方で、血清KL-6値の測定は、低侵襲、低コストの迅速検査であり、汎用性があると思われる。従来、ゲフィチニブ治療前血清KL-6値が高値を示す症例の中にもゲフィチニブに対する劇的な治療効果を認める症例が存在することが指摘されていたが、今回の検討結果よりEGFR遺伝子変異を認める症例については、血清KL-6値に関わらずゲフィチニブの治療適応となる可能性が示唆された。一方で、昨年EGFR遺伝子変異を認めない症例ではゲフィチニブの投与が敬遠される傾向があるが、このような症例の中にも血清KL-6値が低値を示す症例ではゲフィチニブによる治療効果が得られる可能性が考えられ、臨床上重要であると思われる。

以上より、その詳細なメカニズムについては今後の検討課題であるが、KL-6分子がゲフィチニ

ブ治療の耐性あるいは抵抗性に関係しているのではないかと考えている。今後は、中国・四国地方の4大学 (広島大学・島根大学・愛媛大学・高知大学) を中心とした血清KL-6値モニタリングとEGFR遺伝子変異検査を組み合わせた前向き試験を行い、強いエビデンスを作る必要があると思われる。また、本研究とは別途に行っている“間質性肺炎・薬剤性肺障害の臨床像とゲノム解析の日欧比較研究”において、間質性肺炎・薬剤性肺障害の人種的な差異を規定すると考えられる分子を同定しており、これらの分子も検証する予定である。

ARDS症例において、診断時のみならず経時的にKL-6値をモニタリングすることでDICの合併を早期に予測できる可能性が示唆された。凝固異常と炎症は密接に関係していることから、ARDSにおけるDICの合併は、ARDSの病態増悪につながると考えられる。DICの診断基準を満たさないARDS症例でもその約半分に血小板の減少が経過中に認められ、DICの有無にかかわらず多数の症例において剖検により肺に微小血栓が認められることが報告されている。血清KL-6値のモニタリングにより、早期にDIC合併を予測することが可能になれば、ARDSの治療成績が改善するものと思われる。

5. 太田

① HLAタイピング

HLAと薬剤感受性に関しては、tiopronin (肝機能改善薬) やticlopidine (抗血小板剤) による肝障害とHLA-A*3303との相関が報告されている^{3,4)}。また、アメリカFDAの報告 (2007年12月14日) によるとcarbamazepine (てんかん治療薬) の服用により、Stevens-Johnson症候群を引き起こす遺伝的要因としてHLA-B*1502⁵⁾ の関与を示している。この薬剤副作用の危険率は民族的相違が見ら

れ、白人では1~6人/10,000人で、アジア人では10~60人/10,000人である。今回の薬剤性肺障害を発症する患者群にはA*02のサブタイプであるA*0201でなくA*0206アリルが多く見られたのは、HLAアリの構造的相違が薬剤との関わりに寄与している可能性も考えられる。因みにA*0201とA*0206はHLA分子の中で、一個所9番目のアミノ酸がPhenylalanineとTyrosineで異なっている。

② 薬物代謝酵素CYP2C19, CYP3A5の遺伝子タイプ

CYP3A5遺伝子は7番染色体上の存在するCY3Aのサブファミリーで、肝臓に発現している。この遺伝子の一塩基変異によりスプライシング異常を起こし、酵素蛋白の欠損を招く多型CYP3A5*3(A6986G, intron4)とCYP3A5*6(G14690A, exon7)について調べた結果を表4に示す。CYP3A5はGがmutantでアリル*3を示し、*1がwild typeである。また、*6はwild typeを示す。CYP3A5が、*3/*3の人は酵素欠損者であり、CYP3A分子の発現が見られず、ある種の薬剤は代謝されにくいと考えられる。それに対して、*1アリル保有者は、CYP3Aにより代謝された薬剤のクリアランスが高く、薬剤による毒性から逃れられる可能性が高いと考えられる。尚、一般日本人では*3/*3は60%、*6/*6は0%と報告されている。今回の解析結果をみると、*3/*3はコントロール群で5人見られたのに対し、患者群では2人であった。

③ ABCトランスポーターMDR1遺伝子タイプ

薬物輸送に関与するABCトランスポーターABCB1とABCG2は最近、薬剤性障害と関連することが報告されている。ABCB1多型はDocetaxel(ドセタキセル)によるアンドロジェン非依存性前立腺癌患者への薬剤障害が、ABCG2多型はゲフィチニブ(ゲヒチニブ)経口投与による下痢障害とを

引き起こすとの報告がある。

⑤ 薬物排出に関するABCトランスポーターMDR1遺伝子多型

今回特に有意差はなく、今後の検討を要する。

①、②、③および④での検討を通じて、HLA、一部の薬物代謝酵素、薬物トランスポーターの遺伝子多型と薬剤性肺障害発症との関連を調べ、統計学的有意差を示す遺伝要因が認められた。しかし、解析のサンプル数の少なさと診断基準の規格に曖昧さから、この統計解析が検出力、効果量で十分な威力を発揮しているかは疑問である。今後、更に検体数を増やして解析をする必要があると考える。

6. 荻原

全ゲノムSNP解析アレイと全ゲノム関連解析アルゴリズムの進歩により、日本人における薬剤性肺障害の発生機序に関する遺伝的研究が施行可能となりつつある。本研究は、その土台を形作るものである。今後鋭意サンプル収集に努めて行きたい。

E. 結論

1. 久保

今回調査した、プレオマイシン、TS-1、イマチニブ、メトトレキサート、レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブに関しては、プレオマイシンおよびレフルノミドがわが国で間質性肺炎の発生頻度が有意に高いと言えよう。これら以外に関しては今後さらに検討する必要がある。

2. 吾妻

1) 日本人の薬剤性肺障害の実態把握ならびに人類遺伝学的背景の考察から、「肺の脆弱性」が温存されてきた多様な民族である可能性が示唆され

た。

2) 薬剤性肺障害の国際比較を通して、日本人の本質を考察することが必要と考えられた。個人の視点からは脆弱性を守る方策が必要である。しかし、淘汰を免れてきた民族が肺障害の危機にさらされている近年、子孫のために対処すべき方策を模索することが、最も難題であると感じた。

3. 河野

ゲフィチニブ投与開始前に、EGFR遺伝子変異検索と血清KL-6値測定を行うことにより、ゲフィチニブ治療により、ゲフィチニブによる治療効果が得られる症例を選択できる可能性が示唆された。ARDS症例において、血清KL-6値のモニタリングにより、早期にDIC合併を予測することが可能になれば、ARDSの治療成績が改善するものと思われる。

4. 太田

HLAでは、患者群にHLA-A*0206アリル頻度が有意に高く(55.6% vs 0%, $p=0.011$)見られた。代謝酵素であるCYP2C19では636(G/A, exon4)と681(G/A, exon5)の変異に基づいた遺伝子型においてコントロール群で*3アリルの上昇(50% vs 0%, $p=0.033$)が見られた。MDR1遺伝子であるABCB1のプロモーター領域とABCG2の421位(C/A, Q141K)における多型については、両群のアリル頻度で有意差は見られなかった。今回の解析では、試料収集が困難なことから用いた試料数は少なかったが、HLAと代謝酵素の多型に患者群とコントロール群に有意な相違が認められた。特に、HLA-A*0206アリル頻度は一般健常日本人では8.99%であるが、患者群では27.78%と高い値を示している。今後更に症例数を増やした検討が必要と考えられる。

5. 荻原

本研究は今年度より開始した研究であるが、本研究および厚生労働省びまん性肺疾患調査研究班を中心に順調に検体収集ネットワークが形成されつつある。今後さらに参加、賛同施設を増やし、100例以上を目標に検体収集、解析を行いたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

(久保)

1. 論文発表

久保恵嗣: 薬剤性肺障害、薬剤性肺炎、工藤翔二(監・編): 呼吸器疾患診療マニュアル、日本医師会雑誌、第137巻・特別号(2)、pp.S285-S287、日本医師会、2008。

久保恵嗣: 薬剤性肺障害。別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.8 呼吸器症候群(第2版)(5) -その他の呼吸器疾患を含めて-、pp.443-447、日本臨床社、2008。

久保恵嗣: 薬剤性肺炎。医学と薬学 59:724-730、2008。

久保恵嗣: 重篤副作用疾患別対応マニュアルの公表を受けて 間質性肺炎、急性肺損傷・急性呼吸窮迫症候群およびNSAIDsによる喘息発作のマニュアルについて。臨床薬理 39: 27S-28S、2008。

久保恵嗣: 薬剤性肺障害の評価・治療についてのガイドライン。日本呼吸器学会雑誌 46: 9、2008。

(吾妻)

Azuma A, Hagiwara K, and Kudoh S: Basis of Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis in Japanese Patients. Am J Respir Crit Care Med 177: 1397-1398, 2008。

Azuma A, Usuki J. Novel therapy for idiopathic

pulmonary fibrosis - How to evaluate the efficacy? *Respir Med CME* 1, 75-81, 2008.

(河野)

- 1) Nakashima T, Yokoyama A, Onari Y, Shoda H, Haruta Y, Hattori N, Naka T, Kohno N. Suppressor of cytokine signaling 1 inhibits pulmonary inflammation and fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 121:1269-76, 2008.
- 2) Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Tanaka S, Nishino R, Yoshioka K, Ohshimo S, Fujitaka K, Ohnishi H, Hamada H, Arihiro K, Kohno N. Usefulness monitoring of circulating KL-6 in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with ゲフィチニブ therapy. *Int J Cancer* 122:2612-20, 2008.
- 3) Nakashima T, Yokoyama A, Ohnishi H, Hamada H, Ishikawa N, Haruta Y, Hattori N, Tanigawa K, Kohno N. Circulating KL-6/MUC1 as an independent predictor for disseminated intravascular coagulation in acute respiratory distress syndrome. *J Intern Med* 263:432-9, 2008.
- 4) 石川暢久, 河野修興. 間質性肺炎のマーカー・KL-6. *日本胸部臨床* 67: S26-30, 2008
- 5) 服部登, 河野修興. 間質性肺炎の血清マーカー. *呼吸器科*: 297-302, 2008
- 6) 服部登, 河野修興. バイオマーカーの有用性と問題点. *呼吸器科*14: 104-108, 2008.
- 7) 石川暢久, 河野修興. 薬剤性肺障害. *リウマチ科*40: 363-370, 2008.
- 8) 石川暢久, 河野修興. 腫瘍マーカーのバイオマーカーとしての臨床的意義. *医学のあゆみ「肺癌UPDATE」* 224: 1159-1163, 2008.
- 9) 服部登, 河野修興. BALの臨床応用, 「気管

支肺胞洗浄「BAL」の手引き」. 日本呼吸器学会, びまん性肺疾患学術部会. 克誠堂出版. 東京. 5-7, 2008.

(太田)

1. Hanaoka M, Droma Y, Ota M, Ito M, Katsuyama Y, Kubo K. Polymorphisms of human vascular endothelial growth factor gene in high-altitude pulmonary oedema susceptible subjects. *Respirology* 14:46-52, 2009.
2. Droma Y, Ota M, Hanaoka M, Katsuyama Y, Basnyat B, Neupane P, Ariyal A, Pandit A, Shama D, Ito M, Kubo K. Two hypoxia sensor genes and their association with symptoms of acute mountain sickness in Sherpas. *Aviat Space Environ Med.* 79: 1056-1060, 2008.
3. Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Hatayama O, Sato E, Katsuyama Y, Fujimoto K, Ota M. The Association of Transforming Growth Factor Beta 1 Gene Polymorphisms with the Emphysema Phenotype of COPD in Japanese. *Intern Med*, 47:1387-9134, 2008
4. Droma Y, Hanaoka M, Basnyat B, Arjyal A, Neupane P, Pandit A, Sharma D, Ito M, Miwa N, Katsuyama Y, Ota M, Kubo K. Adaptation to high altitude in sherpas: association with the insertion/deletion polymorphism in the Angiotensin-converting enzyme gene. *Wilderness Environ Med.* 19: 22-29, 2008.
5. Hanaoka M, Yu X, Urushihata K, Ota M, Fujimoto K, Kubo K. Leptin and Leptin Receptor Gene Polymorphisms in Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Chest.* 133:79-85.