

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、以下のように製薬会社に協力を依頼する。

1. 薬剤性肺障害発生時、製薬会社担当者は主治医に協力文書(添付)を渡し、本計画への協力を依頼する。
2. 主治医は、試料収集責任者に連絡を取り、試料を送付する。

●製薬会社より薬剤性肺障害患者発生施設に配布している依頼書

平成20年7月10日

各施設担当医各位

厚生労働省

薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究

主任研究者 久保恵嗣 信州大学教授

厚生労働省

びまん性肺疾患に関する調査研究班

主任研究者 杉山幸比古 自治医科大学教授

厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」  
薬剤性肺障害研究へのご協力をお願い  
(薬剤性肺障害患者末梢血検体収集)

近年、イレッサ(Gefitinib)、タルセバ(Erlotinib)、アラバ(Leflunomide)、さらにベルケイド(Bortezomib)などの薬剤による肺障害[間質性肺疾患(ILD: Interstitial Lung Disease)]が注目を集めています。これらの薬剤性肺障害の発生頻度は、日本人では投与患者の約5%程度ですが、海外ではほとんど認められないことが明らかになりつつあります。日本人に薬剤性肺障害が頻発する理由は日本人に特有の遺伝因子が原因であるという仮説に基づき、厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」では薬剤性肺障害に関する遺伝因子の検索を行っています。

現在、上記の目的で、薬剤性肺障害発現症例の末梢DNAサンプルを収集しています。貴施設に薬剤性肺障害発現症例がおられましたら、本研究にご協力いただきたくお願い申し上げます。

本研究にご協力いただける場合、検体収集責任者(埼玉医科大学 呼吸器内科 教授 萩原 弘一)に電話、FAX、またはE-mailでご連絡ください。折り返し、本研究の概要、ヒトゲノム解析研究倫理指針に沿った検体収集手順を説明させていただきます。

◆検体収集責任者

萩原 弘一(埼玉医科大学 呼吸器内科 教授)

〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

Tel 049-276-1319 FAX 049-287-1635

E-mail hagiwark@saitama-med.ac.jp

日々の診療でお忙しいと存じますが、本研究へのご協力を何卒よろしくお願い申し上げます。

【研究組織、手順の概略】

本研究では、貴施設の検体を使用してヒトゲノム・遺伝子解析研究を行います。そのため、倫理指針に準拠し、以下の研究組織を設定し、以下の手順にて解析を行います。

[研究組織]

研究施設：貴施設(貴施設患者検体の解析の部分は、貴施設が研究の主体となります)

研究の形態：多施設共同研究

検体保存場所：埼玉医科大学(共同研究施設)

[手順]

1. 埼玉医科大学倫理委員会承認書類(別途送付致します)を用いて患者同意を取得します。これは、患者さんの「ヒトゲノム・遺伝子解析研究」協力意思確認のためのものです。本同意をもって「ヒトゲノム・遺伝子解析研究」を承認するか否かは、各施設倫理委員会の判断を仰ぐことになります。この場合、迅速審査も可能です(指針第2の9(5))。
2. 末梢血 20 ml をヘパリン採血。検体は、この時点でヒトゲノム・遺伝子解析研究への協力同意の取れたA群資料となります(指針第4の13(3))。
3. 検体を埼玉医科大学にクール宅急便にて搬送(着払い)後、埼玉医科大学にて保存します。リンパ球不死亡の患者同意のある検体では、患者リンパ球を不死亡して保存します。この時点では遺伝子解析研究は行わず、施設倫理委員会の承認、または前述の迅速審査の結果を待ちます。施設倫理委員会の審査結果では、同意の再取得などが必要になるかもしれません。
4. 施設倫理委員会承認を確認します。
5. 遺伝子解析を開始します。

薬剤性肺障害患者検体は貴重な検体です。薬剤性肺障害の予防、治療の手がかりを得るため、ぜひ収集にご協力ください。

●びまん性肺疾患に関する調査研究班に配布した依頼書

分担研究者 殿  
研究協力者 殿

「びまん性肺疾患に関する調査研究班」

主任研究者：杉山幸比古

「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」

主任研究者：久保恵嗣

特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害試料収集のお願い

「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」では、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害の原因となる

遺伝因子を同定するために、両病態患者の末梢血、または組織DNAの収集を行ないます。ご協力をお願い致します。

1. まずは、倫理委員会申請書雛型(添付)を用い、各施設倫理委員会の倫理審査を受けてください。

2. 倫理審査終了後、患者が発生したら、同意取得の上、20 mlの末梢血をヘパリン採血で採取し、4℃のクール宅急便で下記(試料収集責任者)にご送付ください(着払)。

試料収集責任者

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

埼玉医科大学呼吸器内科 萩原弘一

TEL 049-276-1319 FAX 049-276-1635

3. 収集されたDNAの解析研究に参加をご希望される方は、主任研究者(杉山または久保)にお申し出ください。主任研究者の承認の上、DNAを配布し、webへのパスワードをお渡しします。

(付記)PMXの対象患者は、本研究の良い対象となる患者さんです。本研究への参加もご考慮ください。

【倫理委員会承認前の試料収集も可能です(厚労省確認済み)】

特に薬剤性肺障害などは、発生施設で倫理委員会承認が取れていない場合があると考えられます。この場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、以下の手順で試料を収集致します。

1. 他施設の倫理委員会で承認された書類で、患者、または患者家族の同意を取得します。この時点で試料はA群試料となります。

倫理指針 第6 16-(19)-ア

A群試料等：試料等の提供時に、ヒトゲノム・遺伝子解析研究における利用が利用目的として提供者に明示され、当該目的に利用することに対して同意が与えられている試料等をいう。

2. 20 mlの末梢血をヘパリン採血で採取し、4℃のクール宅急便で下記(試料収集責任者)にご送付ください(着払)。ここでは保存のみを行ない、解析は開始しません。

試料収集責任者

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

埼玉医科大学呼吸器内科 萩原弘一

TEL 049-276-1319 FAX 049-276-1635

3. 倫理委員会に迅速審査を依頼し、その承認をもって解析を行います。

第4 13-(3)細則 研究を行う機関の長及び研究責任者は、A群試料等が提供された時点における同意が、当該試料を利用して新たに行おうとするヒトゲノム・遺伝子解析研究の研究目的と同じ研究目的に対して与えられたものであることを確認することとする。

第2 9-(5)倫理審査委員会は、その決定により、委員長があらかじめ指名した委員又はその下部組織による迅速審査手続を設けることができる。

【迅速審査に関する細則】

共同研究であって、既に主たる研究を行う機関において倫理審査委員会の承認を受けた研究計画を、機関特有の問題がなく、他の共同研究機関が実施しようとする場合の研究計画の審査

●研究参加希望施設の倫理委員会提出用研究計画書  
ひな形

実施計画書

1 課題

特発性肺線維症急性増悪と薬剤性肺障害の遺伝学的比較研究

2 研究等の目的

特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害の疾患関連遺伝子同定

3 実施施設

〇〇〇〇 〇〇〇〇 検体収集、解析(貴施設の名前と研究責任者名を書いてください)

自治医科大学	杉山幸比古	検体収集、解析
東北大学病院	貫和敏博	検体収集、解析
埼玉医科大学	萩原弘一	検体収集、解析
日本医科大学	吾妻安良太	検体収集、解析

4 対象疾患

特発性肺線維症、家族性肺線維症、特発性肺線維症急性増悪または薬剤性肺障害

5 実施計画

5-1 実施期間

2008年8月から2013年7月まで

5-2 解析人数

特発性肺線維症100例、特発性肺線維症急性増悪100例、家族性肺線維症40例、急性薬剤性肺障害患者100例、正常対照患者200例の計540例。このうち正常対象患者200例のデータは、既存の健常日本人データを使用する予定である。

5-3 対象疾患

(1)特発性肺線維症、(2)家族性肺線維症、(3)特発性肺線維症急性増悪、(4)薬剤性肺障害を収集対象とする。すなわち、特発性肺線維症急性増悪の基礎となる特発性肺線維症、および家族性肺線維症も合わせて検体収集、解析を行う。これは、(1)特発性肺線維症急性増悪の診断確定が難しい場合がしばしばあり、また、肺線維症患者のかなりの部分で急性増悪が見られるため、肺線維症のみの時点での検体採取が適切と考えられる、(2)急性増悪のない特発性肺線維症、家族性肺線維症と特発性肺線維症急性増悪を比較することが、同定した遺伝子が特発性肺線維症急性増悪に関連したものであることを確認するために不可欠、の二つの理由による。

5-4 患者材料

患者末梢血リンパ球、不死化末梢血リンパ球、および病理組織(臓器は問わない)。患者からの同意が得られた場合、末梢血リンパ球をEpstein-Barrウイルスで不死化し、本研究のためDNA、RNAを継続的に採取できるよう保存。

5-5 採取場所

## 本研究に参加する各施設

### 5-6 同意取得の手順

各施設倫理委員会承認取得前、取得後の二つに分けて記載する。以下の手順は、本研究が対象とする疾患が急速に進行することを考え、各施設倫理委員会承認前でもヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従って検体収集を可能とするため、厚生労働省厚生科学課と協議の上、設定したものである。

A：各施設倫理委員会承認取得前

I) 本研究に関し、既に倫理委員会承認のされている施設の説明書・同意書を用いて患者同意を取得する(埼玉医科大学の書類を添付)。この同意をもって患者採血を行う。患者試料は、この時点で「ヒトゲノム・遺伝子解析研究における利用を含む同意が与えられている試料(A群試料)」となる(ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針4-13-(3))。

II) 患者試料を検体収集責任施設(埼玉医科大学)に輸送。保存。

III) 患者説明書、同意書を各施設倫理委員会に提出し、倫理委員会の承認をもって遺伝子解析を開始する。

B：各施設倫理委員会承認取得後

I) 各施設倫理委員会承認の説明書・同意書を用いて患者同意を取得する。

II) 患者試料を検体収集責任施設(埼玉医科大学)に輸送。保存。

III) 遺伝子解析を開始する。

検体収集責任施設は、遺伝子解析の開始とともに、氏名、IDなど個人同定につながる情報を削除した患者胸部X線写真、CT写真を収集する。診断の妥当性、病型の再分類などを後から確認可能とし、より正確な解析を可能とするためである。

### 5-7 遺伝子解析の具体的手順

解析場所：本研究実施機関内で、最も解析に適する技術を有している施設にて行う。共同研究施設内で十分な解析が行えない場合、秘密保持契約を締結した上で、企業に受託して解析を行う場合もある。いずれの場合も、後述のように匿名化が行われているため、患者情報保護上の問題はない。患者DNA、不死化細胞株は研究実施機関内でのみ使用し、本研究実施機関外への譲渡は行わない。

解析方法：患者末梢血リンパ球の不死化の同意が得られた場合、EBウイルスを使用して患者末梢血B細胞を不死化し、細胞株とする。DNAは細胞株から抽出する。その他の検体の場合、通常の方法を用いて染色体DNAを患者材料から直接抽出する。DNA中の単塩基多型(SNP)部位(3,000,000以下)を高密度単塩基多型同定アレイを用いて検索する。データ解析には既存の全ての遺伝子解析アルゴリズムを使用する可能性があるが、主としてホモ接合ハプロタイプ法、全ゲノム関連解析法を使用する。また、疾患遺伝子である可能性が高いと考えられる遺伝子の各個解析も別途行う。本研究で、詳細な塩基配列決定による遺伝子探索を行う対象とする遺伝子は以下のものである。(1)SNP検索にて同定した疾患遺伝子の存在候補領域にある遺伝子、(2)他の研究者の発表から、研究対象疾患の疾患遺伝子候補と考えられた遺伝子。

実験データ解析：実験データは共同研究施設内で共有、複数の解析を行うことでデータの有効利用を図る。共同研究機関外へのデータ譲渡は行わない。後述のように匿名化が行われているため、データを共有しても患者情報保護の上での問題はない。

収集症例数の妥当性：特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害は海外では少なく、日本人に高頻度で見られることより、疾患遺伝子の相対危険度は高いと予想される。現在の全ゲノム関連解析法では、相対危険度の高い(例えば相対危険度8)疾患遺伝子では約100例のサンプルが必要と考えられるため、各疾患100例で設定した。家族性肺線維症では家族集積という情報があり、ホモ接合ハプロタイプ法が有効に働くと考えられるため、同法で解析可能な50例に設定した。正常対照症例数は、既存の200例の健常日本人データが使用できると考えられるため、200例に設定した。

### 5-8 実施場所

研究実施施設(上記)に記載の各施設

## 6 実際に際しての倫理的配慮について

### 6-1 研究等の対象とする個人の人権への対策

解析を開始する前に、検体や診療情報から住所、氏名などを削り、代わりに新しく符号をつけて匿名化する(符号化)。匿名化は連結可能匿名化とし、

対応表は参加各施設の個人情報管理責任者が管理する。これは、本研究で対象とする肺線維症、薬剤性肺障害の分類が未だ流動的であるため、将来の再解析や患者への情報還元などが必要となる可能性があるためである。学会、論文、その他の方法での研究結果の公表の際には、全く個人が同定できないよう配慮する。また、不参加による被験者の不利益がないよう配慮する。実験、解析施行者は、氏名を削ったサンプルを解析するため、個人を同定できない。患者胸部X線写真、CT写真は氏名、IDなど、個人同定につながる情報を削除して収集する。

#### 6-2 被験者に理解を求め同意を得る方法：

被験者各人、または被験者の親族(被験者死亡の場合)、または被験者本人および被験者の親族(被験者が未成年の場合)に書面で説明し、各人の署名入りの同意書を保管する。

##### 6-2-1 説明の具体的内容

別紙のように説明する。

6-2-2 被験者が未成年者の場合、成年者でも十分な判断力のない場合、又は病名に対する配慮が必要な場合などにおける対処方法。

A 未成年者で本人、および親権者の合意の得られない場合、B 成年者でも十分な判断力のない場合、C 成年者で意識がなく、配偶者または直系親族の合意の得られない場合、の3者は研究の対象としない。

6-3 研究等によって被験者に生じうる危険と不快に対する配慮

- 1)採血は可能な限り一般の採血と併せて行い、採血時の痛みの軽減を図る。
- 2)検体採取時には患者の状態に細心の注意を払う。

6-4 研究等によって生ずる個人への利益・不利益

疾患関連遺伝子が発見された場合、研究の成果は、疾患の原因の究明、治療法の開発に直接結びつく可能性があり、その結果、患者と同じ病気に苦しむ人の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになる可能性がある。疾患関連遺伝子に基づいた治療法の開発は患者自身のみならず、患者子孫の利益となる可能性がある。しかしながら、その遺伝子

の疾患発生・進展における関与の仕方によっては、遺伝子の同定が患者の不利益になる可能性がある。だが、本研究が対象とする病態では、有効な治療法が確立されておらず、疾患の原因に迫ろうとする本研究は、患者の被る不利益よりも患者の得る利益の方が遥かに大きなものとなると考えられる。また、本研究ではヘテロ接合が10%以上存在する単塩基多様性(SNP)部位を検索の対象とするため、偶然他の特定遺伝子の機能欠損を指摘することになる可能性は極めて低い。また、これらの情報は6-1の項に述べた手法を用いて管理されるため、個人の不利益にはつながらない。患者検体は患者末梢血、または剖検材料を用いて行なうため、患者の健康に対する危険性はない。

#### 7 医学上の貢献の予測

本研究は、現時点で原因の明らかにされていない病態に関与する関連遺伝子を明らかにしようとするものであり、研究が成功した場合には、同病態の理解、治療法の開発に多大の貢献をすると考えられる。

#### 8 遺伝子解析の結果の個人への還元方法

患者、患者家族、陰性対照検体提供者には、それぞれの求めに応じ、解析の途中経過、最終結果を知らせる。その場合、説明は各施設の研究責任者を通じて行う。ただし研究期間(解析結果保持期間)を過ぎた場合は結果を保管できない場合がある。

#### 9 研究結果の公表

学会や学術雑誌およびデータベース上で発表する。

#### 10 知的財産権

遺伝子解析の結果として特許権などの知的財産権が生じた場合、その権利は国や民間企業には所属せず、特許申請者に帰属する。また、検体の提供者には所属しない。その特許権により経済的利益が生じた場合も同様である。

#### 11 遺伝子解析終了時の検体廃棄

研究期間(2013年7月まで)終了時にはDNA検体、不死化リンパ球は焼却処理することにより破棄する。

## 12 遺伝子解析の費用負担

全て研究費負担とする

## 13 遺伝カウンセリングの体制

患者、患者家族、および正常対照サンプル提供者より遺伝カウンセリングの要請があった場合は、各施設の研究責任者が患者が適切な遺伝カウンセリングを受けられるよう手配する。遺伝カウンセリングは各施設の遺伝カウンセリングの体制にしたがって行う。遺伝カウンセリングを行う場合は、各施設の遺伝カウンセリング用カルテ管理規則に従い、カルテを厳重に管理する。

## 14 付記

本研究ではEBウイルスで不死化した細胞株を使用する。この細胞は、自然状態において個体に成育する能力を欠き、平成16年2月19日施行の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」で規制されている「生物」には該当しない(施行細則第一条第二項)。よって、同法の適応を受けるものではない。

### 【患者への説明同意書】

(説明文書)

ヒト遺伝子研究の説明と協力をお願い(末梢血検体)

#### 《遺伝子とは》

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気に罹りやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。ほとんど全ての生物では、遺伝子の本体は「DNA」という物質です。「DNA」は、A、T、G、Cという四つの塩基の連続した鎖です。塩基がいくつもつながって遺伝子になります。

一つの細胞の中には約3万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていますが、細胞の一つ一つにすべての遺

伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、遺伝子は精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は、分裂を繰り返してふえ、一個一個の細胞が、「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

#### 《遺伝子と病気》

ほとんどすべての病気は、その人の生まれながらの体質(遺伝素因)と病原体、生活習慣などの影響(環境因子)の組み合わせで起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや動脈硬化などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

#### 《遺伝子解析研究への協力について》

この研究では、疾患の発症に関係があるかもしれない遺伝子や、何らかの理由で関係を疑われている遺伝子について、その構造や機能を解析し、実際に関係があるかどうかを調べます。

まず、研究の内容を含め、同意していただくための説明を行います。この説明を十分理解し、研究に協力して血液等を提供しても良いと考えられた場合には、「ヒト遺伝子研究への協力についての意思の確認書」に署名することにより、同意したということをはっきり示すようお願いいたします。

#### 《研究に協力するかどうかを考えるために》

(I)研究に協力するかどうかは任意です。取り消しも自由です

研究協力するかどうかは自由意志で決めてください。強制いたしません。協力されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供いたします。

一旦同意された場合でも、いつでも取り消すことができますので、説明担当者にご連絡下さい。その場合は採取した血液や遺伝子解析の結果は廃棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられ

ることはありません。ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合など、血液や遺伝子を調べた結果を廃棄できないことがあります。

(2)研究の実施計画は、以下の通りです

研究題目： 特発性肺線維症急性増悪と薬剤性肺障害の遺伝学的比較研究

研究機関名：〇〇〇〇(貴施設の名前を書いてください)

自治医科大学

東北大学

埼玉医科大学

日本医科大学

なお、これに加えて、厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」および「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」研究分担者および研究協力者の所属施設がいくつか加わる可能性があります。また、特発性肺線維症急性増悪と急性薬剤性肺障害検体収集の協力を、ひろく呼びかける予定ですが、それらの検体提供施設は全て研究協力施設となります。

研究責任者氏名：〇〇〇〇(貴施設の責任者の名前を書いてください)

対象とする疾患名：(1)特発性肺線維症、(2)家族性肺線維症、(3)特発性肺線維症急性増悪、(4)薬剤性肺障害

調べる遺伝子あるいは遺伝子群の名称：(1)特発性肺線維症急性増悪、(2)薬剤性肺障害、これら2疾患を引き起こす可能性があるため、本研究の施行により考えられた遺伝子、および、解析時点で他研究者の発表などにより、当該疾患を引き起こす可能性があると考えられた遺伝子。

調べる組織：患者より採取した末梢血および病理解剖によって保存された組織。

解析結果保持期間：5年間(2008年8月より2013年7月まで)

バンク事業への参加：公的バンクへの参加はない。

問い合わせ先：〇〇〇〇〇〇(貴施設の住所を書いてください)

電話番号：〇〇〇〇〇〇(電話番号を書いてください)

本説明書作成日：2008年7月4日

研究目的：

この研究の目的は、現在いまだ同定されていない特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の疾患関連遺伝子を同定することです。両疾患を同時に研究する理由は、両者とも他国の人々と比較して日本人に高頻度で発生し、びまん性肺胞障害を主徴とする疾患であることより、同一、または密接に関連した遺伝因子がその発症に関与している可能性が考えられるためです。疾患に関連する遺伝子を同定することで、特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の原因が明らかとなり、将来、より正確な診断やより有効な治療ができるようになりますと期待されま

研究方法：

あなたの末梢血を20 mlほど採取し、そこから白血球を分離してDNAを抽出します。あなたの同意が得られる場合、さらにリンパ球を何回も分裂させてDNAを採取できるよう、EBウイルスというウイルスで不死化します。これは、採取したリンパ球に対して行うので、あなたの健康に影響は生じません。再度のDNA抽出が必要になる場合は、この不死化リンパ球から抽出します。末梢血から直接抽出したDNAは、いろいろな原因で分解して利用不能になることがあるため、不死化リンパ球にして保存するのです。不死化リンパ球は解析結果保持期間終了時に焼却処分されます。不死化リンパ球は(4)で述べるように匿名化してから作成し、末梢血DNAと同様、厳重に管理されるので、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。よって、あなたの不利益になることはありません。この研究で調べる対象は、DNAの中の単塩基多型といわれる部分で、これを手がかりに特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の責任遺伝子の位置を推定していきます。本研究は多施設共同研究であるため、他の施設で実験を行った方が良い場合は検体を他の施設に運

搬して検索します。現時点では埼玉医科大学で検体保存を行ないますが、将来研究組織内の別の研究機関に保存場所が移る可能性があります。検体運搬時には(4)にあるように、検体を匿名化してから運搬いたしますので、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。なお、特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の病型分類は現在流動的であり、病型の正確な同定・確認や将来の再分類に備えて胸部レントゲン写真、胸部CT写真の一部を同時に収集いたします。この場合も、氏名やID番号など個人同定につながる情報はコンピュータで消去して収集するため、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。

研究計画などを見たいとき：

希望があれば、この研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合にはそれを用意し、説明いたします。

### (3) 検体を提供した人にとっての利益および不利益

本遺伝子解析研究の結果、疾患関連遺伝子が同定された場合、本人、家族または血縁者がその結果を知ることが有益であると判断され、倫理委員会も同様に考えた場合に限り、診療を担当する医師や研究担当者から本人や血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。本研究では、すべての情報は特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害に関与する遺伝子を同定することにのみ使用されるため、ご本人やご家族が不利益を被る可能性はないと考えられます。

研究の成果は、疾患の原因の究明、治療法の開発に直接結びつくものです。その結果、将来、同じ病気に苦しむ方々の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになるかもしれません。

本研究では、誰の遺伝子を解析した結果であるか分からないように、(4)に述べる匿名化を行って、個人情報を厳重に管理しています。しかし遺伝子解析の結果によっては、就職・結婚・保険への加入などに関して、現時点では予測できないような不利益が生じる可能性がないとはいえません。思いがけず遺伝子解析により血縁関係がないと判定されることもあります。

### (4) 個人情報他には決して漏らしません

個人の情報を保護することは、刑法で定められた医師の義務です。遺伝情報は最も厳重に管理されます。遺伝カウンセリングを行った場合、そのカルテは他のカルテと異なった独立の鍵のかかる場所に保管され、持ち出しは禁止されています。

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるため、他人に漏れないよう、慎重に取扱います。解析を開始する前に、あなたの検体や診療情報から住所、氏名などを削り、代わりに新しく符号を付けます(匿名化)。あなたとこの符号とを結びつける対応表は、各施設の個人情報管理責任者が管理します。こうすることによって、あなたの遺伝子の解析を行なう者には符号しか分からず、誰の検体を解析しているのか分からなくなります。

### (5) 遺伝子解析の結果の伝え方

本研究は、多くの方々の協力を得て、疾患関連遺伝子を同定しようとするものです。希望があれば解析の途中経過、最終結果をお知らせいたします。解析結果保持期間内に申し出てください。それ以後は結果を保管できない場合があります。

同じ遺伝子を受け継いでいるかもしれない血縁者への連絡については、了解のもとに担当医または担当研究者が行うことも可能です。

なお、ご家族が結果を知らないでいたいと最初あるいは途中から表明した場合、遺伝子解析の結果はお伝えしません。

### (6) 研究結果の公表

ご協力によって得られた研究の成果は、個人が誰であるかわからないようにした上で、学会や学術雑誌およびデータベース上で公に発表されることがあります。

### (7) 知的財産権が生じたとき

遺伝子解析の結果として特許権などの知的財産権が生じる可能性があります。その権利は国や民間企業には所属することはなく、特許出願者に帰属します。また、検体の提供者には属しません。また、その特許権により経済的利益が生じる可能性がありますが、検体の提供者はこれについても権利がありません。

(8) 遺伝子解析が終わった検体がどう扱われるか

研究期間中(2013年7月まで)保存され、以後破棄されます。

(9) 遺伝子解析の費用は誰が払うのか

遺伝子解析は研究費によって行われますので、その費用をあなたが払う必要はありません。しかし、遺伝子解析の結果により、新たな検査や治療が必要となったときは、一般診療と同様の個人負担となります。

(10) 遺伝カウンセリングの体制

病気のことや遺伝子解析に関して、不安に思ったり、相談したいことがある場合は、担当医へ何なりとご相談下さい。担当医は総括責任者とともに、研究に関するより詳しい説明や遺伝カウンセリングなどの手配を致します。

(倫理面への配慮)

既述のように倫理委員会の審査を受けて施行するため、倫理上の問題はないと考えられる。

## C. 研究結果

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.wjrmnj-v.sharestage.com/>

## D. 考察

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いきたい。

## E. 結論

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

- 1) Inoue A, Kobayashi K, Usui K, Maemondo M, Okinaga S, Mikami I, Ando M, Yamazaki K, Saijo Y, Genma A, Miyazawa H, Tanaka T, Ikebuchi K, Nukiwa T, Morita S and Hagiwara K. First-line gefitinib for patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring epidermal growth factor receptor mutations without indication for chemotherapy. J Clin Oncol in press.
- 2) Ishihara Y, Hagiwara K, Zen K, Huqun, Hosokawa Y and Natsuhara A. A case of Pulmonary Alveolar Microlithiasis with an intra-genetic deletion in SLC34A2 detected by a genome-wide SNP study. Thorax in press.
- 3) Azuma A, Hagiwara K. and Kudoh S. Basis of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis in Japanese patients. Am J Respir Crit Care Med 2008; 177:1397-8.
- 4) Miyazawa H, Tanaka T, Nagai Y, Matsuoka M, Sutani A, Udagawa K, Zhang J, Hirama T, Murayama Y, Koyama N, Ikebuchi K, Nagata M, Kanazawa M, Nukiwa T, Takenoshita S, Kobayashi K and Hagiwara K. Peptide nucleic acid-locked nucleic acid polymerase chain reaction clamp-based detection test for gefitinib-refractory T790M epidermal growth factor receptor mutation. Cancer Sci 2008; 99:595-600,.
- 5) Koyama N, Zhang J, Huqun, Miyazawa H, Tanaka T, Su X and Hagiwara K. Identification of IGF1R as an effector of the tumor suppressor activity of SEMA3B. Oncogene 2008; 27:6581-9.
- 6) Miyanaga A, Gemma A, Ando M, Kosaihiro S, Noro R, Minegishi Y, Kataoka K, Nara M, Okano T, Miyazawa H, Tanaka T, Yoshimura A, Kobayashi

K, Iwanami H, Hagiwara K, Tsuboi E and Kudoh S. E-cadherin expression and epidermal growth factor receptor mutation status predict outcome in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Oncol Rep* 2008; 19:377-83.

7) Koyama N, Nagata M, Hagiwara K and Kanazawa M. Survival of a patient with pulmonary *Cunninghamella bertholletiae* infection without surgical intervention. *Respirology* 2008; 13:309-11.

8) Soma T, Takaku Y, Kobayashi T, Hagiwara K, Kanazawa M, Uematsu K and Nagata M. Inhibitory effect of budesonide alone and in combination with formoterol on IL-5 and RANTES production from mononuclear cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146 Suppl 1:22-7.

9) Kobayashi T, Takaku Y, Yokote A, Miyazawa H, Soma T, Hagiwara K, Kanazawa M and Nagata M. Interferon-beta augments eosinophil adhesion-inducing activity of endothelial cells. *Eur Respir J* 2008; 32:1540-7.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

[取得済み特許]

1. 特許第4216266(2008.11.14登録)萩原弘一 長井良昭 宮澤 仁志 高感度な既知変異遺伝子検出方法, およびEGFR変異遺伝子検出方法.

非小細胞肺癌の約30%に見られるEGFR遺伝子変異を, 肺癌診療で確定診断のために採取される細胞診レベルの標本の一部を用いて検出する手法を提供. 点突然変異, 小欠失の高感度検出法として他遺伝子にも適応可能な手法として特許取得. 三菱メディエンスへ技術移転. 実用化済. 臨床検査として年間施行件数10,000件余.

2. 特許第4059517(2008.3.12登録)萩原弘一 ホモ接合指紋法による同祖領域判定方法, 同祖領域判定装置, 及び遺伝子スクリーニング方法.

少数例の患者全ゲノムSNPデータから, 劣性遺伝子を効率的に同定する手法を提供. 肺胞微石症責任遺伝子の同定に成功(業績論文11). トミーデジタルバイオロジーに技術移転. 東北化学薬品にライセンスング.

[指定国移行済み特許]

1. 11/988812(2008.1.14移行:米国)Koichi HAGIWARA HOMEOLOGOUS REGION DETERMINING METHOD BY HOMOJUNCTION FINGERPRINT METHOD, HOMEOLOGOUS REGION JUDGING DEVICE, AND GENE SCREENING METHOD.

上記特許2. の指定国移行.

[PCT出願済み特許申請]

1. PCT/JP2007/062368 公開番号WO 2008/018240 萩原弘一 ホモ接合ハプロタイプ法(科学技術振興機構:JST特許出願支援制度対象).

患者全ゲノムSNPデータから, 優性・劣性遺伝子双方を効率的に同定する手法を提供. Marfan症候群家系で有効性を確認(業績論文10). 全ゲノム関連解析用にアルゴリズムを拡張(論文執筆中). トミーデジタルバイオロジーに技術移転. 東北化学薬品にライセンスング.

[国内申請中]

1. 特願2008-052399(2008.3.3申請)萩原弘一 平間崇 急性呼吸器感染症起炎病原体の鑑別方法.

肺炎患者から採取された喀痰より迅速に起炎菌を同定する手法. 1000例以上に施行し, 有効性を検討. 起炎菌同定率70%(論文執筆中). リクルート社の仲介でライセンスング先を検討中. 本特許内容に関し, 平間はBeyerの2008年Respiratory tract infection symposium Young investigator's awardを受賞.

2. 特願2007-157402(2007.6.14申請)松岡優 池淵研二 坂本直子 萩原弘一 田中知明 HCV遺伝子型判定方法, 並びに, これに用いるLNAプローブ及びキット.

HCV遺伝子型の新しい判定手法(共同出願)

3. 特願2006-311855(2006.11.17申請)神田将和 岩佐泰靖 萩原弘一 岡崎康司 逆ホモ接合マッピング法による同祖領域の抽出方法および遺伝子スクリーニング方法.

取得済み特許2. の拡張法(共同出願).

【平成22年度】

IPF急性増悪の遺伝子解析(萩原弘一)

## 特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害に関与する 日本人特異的遺伝素因に関する研究

埼玉医科大学 呼吸器内科

萩原弘一

特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害は、高率に致死経過を取る重篤な病態である。びまん性肺疾患調査研究班を中心とした近年の研究により、両者の発症頻度には民族差があり、日本人では他民族と比較して高率に両病態が認められると推定されている。民族差が認められる疾患には遺伝因子が関与している可能性が高く、遺伝因子の解明により疾患原因の解明、治療法、予防法の開発が可能となるため、遺伝因子解明の必要性は高い。

本部会の目的は、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害に関与する遺伝因子解明である。

現在行なわれている全ゲノム関連解析を中心とする遺伝因子解明手法は、診断の確実な症例を多数集積することを前提としている。しかしながら、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害を、類似の病態を有する非特異的肺線維症急性増悪、急性心不全、重症肺炎などと明確に分類することは必ずしも容易ではない。症例を集積するとともに、(1)びまん性肺疾患調査研究班で毎年精密化される疾患概念を取り入れ、集積症例の臨床診断を常に見直しながらか解明対象患者集団を絞り込む、(2)類縁病態患者が混入する可能性を考慮に入れた遺伝解析手法を使用する、という2点を満足した研究でなければ遺伝因子の解明は覚束ない。本部会では(1)画像を含めた臨床情報と共に患者DNAを収集する、(2)少数例、高バックグラウンド集団に使用できる解析手法を開発する、の2つを柱として研究を進めている。

### 背景

近年、日本人肺の脆弱性が指摘されている(Azuma A, Hagiwara K, Kudoh S. *Am J Respir Crit Care Med.* 177:1397, 2008). (1)薬剤性肺障害が他国(西洋や他のアジア人)より高頻度で見られ、高率に致死経過をたどること(Azuma and Kudo, *JMAJ* 50:1-7, 2007:表1), (2)肺線維症を有する患者で他国より高頻度に急性増悪が起こり、高い致死率を示すと推定されること(Azuma et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 177:1397, 2008)が典型例である。これ以外にも(3)皮膚筋炎に伴うびまん性肺胞障害(DAD)型の急性間質性肺炎は海外では非常に少ない(Kameda et al. *J Rheumatol* 34:1719, 2005及び亀田私信). (4)肺線維症合併肺手術後の肺線維症急性増悪は海外にはあまり見られない(工藤私信)などがある。日本人は、特定の条件下で、びまん性肺胞障害(DAD)を起こしやすいようだ。

病態に明確な民族差がある場合、民族特異的な遺伝因子があると考えられる。好例は「下戸の遺伝子」(ALDH2の変異遺伝子:アルコール代謝機能が低下する)である。「酒が飲めない人」は東洋人に限られる。「下戸の遺伝子」は中国で生じ、地域で広がったものだからである(Goeddel et al. *Hum Genet* 88:344, 1992). 日本には弥生時代に渡来人がもたらした。日本に入って2000年程度という新しい遺伝子だが、現日本人に高率に見いだされる(Shibuya et al. *Am J Hum Genet* 43:741, 1988). 特殊な状況(「下戸の遺伝子」ではアルコール摂取)のみで明確になる遺伝子は通常の生活では選択を受けないため、集団内に広がりやすい。

特発性肺線維症急性増悪は、近年海外でもその存在が認められてきているが、明確な頻度は不明である。日本の特発性肺線維症患者の約1/3は急性増悪で死亡すると推定されている。

薬剤性肺障害の頻度に関しては、特定の薬剤に明

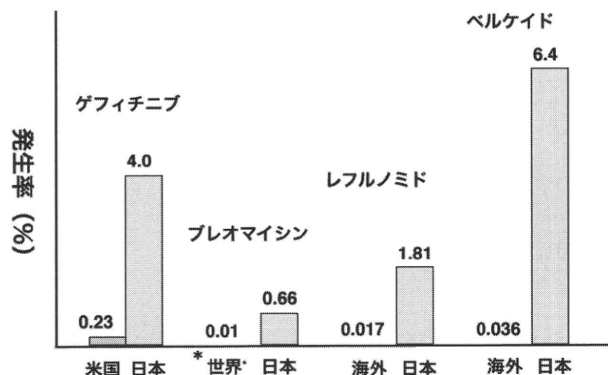


図1 日本人に高頻度で薬剤性肺障害が見られる疾患

確な民族差が認められることが確認されている。図1に日本人に薬剤性肺障害が高頻度で認められる疾患に関して図示する。

薬剤性肺障害や特発性肺線維症急性増悪に関与する遺伝因子は多数あると想定されるが、その中でも特に強く関与する遺伝因子を1つ想定する(下戸におけるALDH2のように)と、民族差を説明しやすい。その遺伝因子が過去の日本で生じたと仮定すると、日本は島国であるため、日本でのみ高率に見られる疾患が生じる。肺の防御力を弱める遺伝因子なら、薬剤性肺障害や特発性肺線維症急性増悪等の共通の原因にもなりうるだろう。

この考察を支持するものとして、集団の中で良く見られる疾患でも、一人の先祖から生じ集団内に広がった遺伝因子が関与しているという「common disease-common variant-common origin 仮説」がある。呼吸器では $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症、嚢胞性線維症がこの仮説に当てはまる。近年、この仮説は広く多因子疾患に当てはまることが分かって来た。現在施行されている疾患遺伝子解析の多くは、この仮説に基づいて開発された全ゲノム関連解析(genome-wide association study:GWAS)を用いて行なわれている。呼吸器でも「ドイツのサルコイドーシスに関与する遺伝子(Hoffman et al. Nat Genet 40:1103, 2008)」「ヨーロッパの肺癌に関与する異常ニコチン受容体遺伝子(Thorgeirsson et al. Nature 452:638, 2008)」が見つかっている。

萩原は、肺胞微石症責任遺伝子の同定(Huqun et al. Am J Respir Crit Care Med 175:263, 2007)以来、疾患遺伝子解析を行っている。その過程で、効率的な疾患遺伝子解析手法であるホモ接合ハプロタイプ法

を開発(Miyazawa et al. Am J Hum Genet 80:1090, 2007)し、さらに発展型である「ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析」を開発した(文部科学省特定領域研究「ゲノム」合同班会議発表)。

本研究では、(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。

現在行なわれている全ゲノム関連解析を中心とする遺伝因子解明手法は、診断の確実な症例を多数集積することを前提としている。しかしながら、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害を、類似の病態を有する非特異的肺線維症急性増悪、急性心不全、重症肺炎などと明確に分類することは必ずしも容易ではない。症例を集積するとともに、(1)びまん性肺疾患調査研究班で毎年精密化される疾患概念を取り入れ、集積症例の臨床診断を常に見直ししながら解析対象患者集団を絞り込む、(2)類縁病態患者が混入する可能性を考慮に入れた遺伝解析手法を使用する、という2点を満足した研究でなければ遺伝因子の解明は覚束ない。本部会では(1)画像を含めた臨床情報と共に患者DNAを収集する、(2)少数例、高バックグラウンド集団に使用できる解析手法を開発する、の2つを柱として研究を進めている。

## 結 果

(1)画像を含めた臨床情報と共に患者DNA収集する  
図2のような手順で検体を収集している。

2011年1月現在、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害患者DNAを325例(収集中)、うち画像、臨床情報の収集が153例(収集中)、Affymetrix社SNP 6.0による解析終了症例89例、解析中症例50例と、順調に収集が続いている(図3)。500例-1000例の収集を予定している。

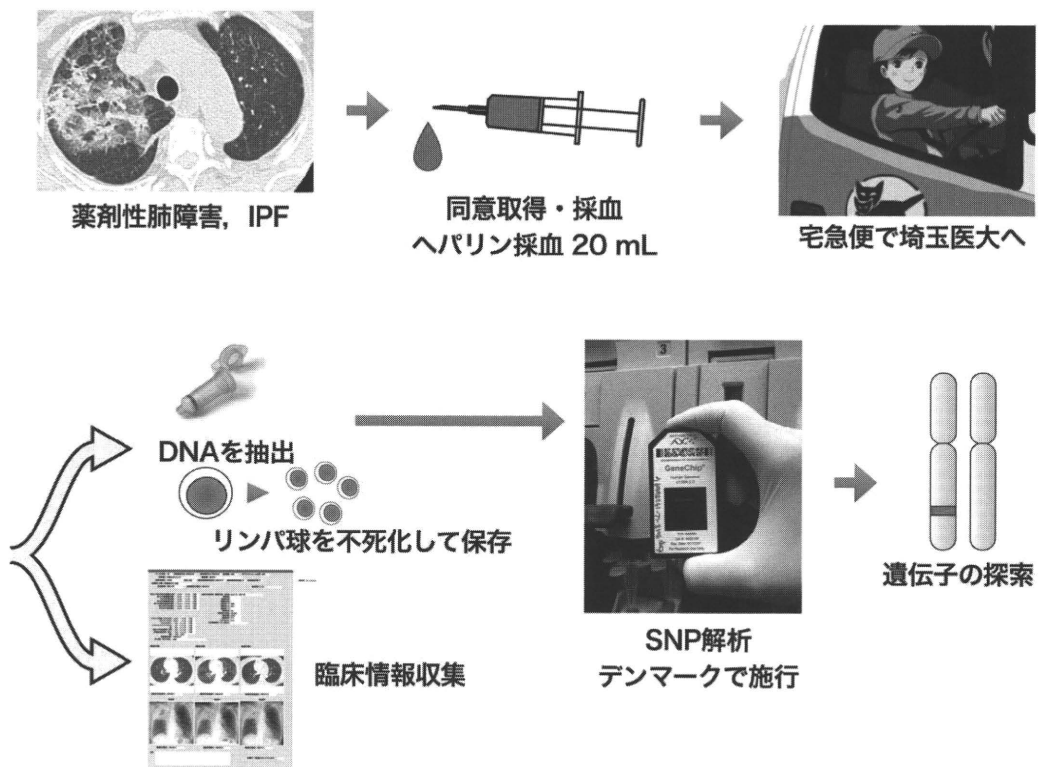


図2 検体収集手順

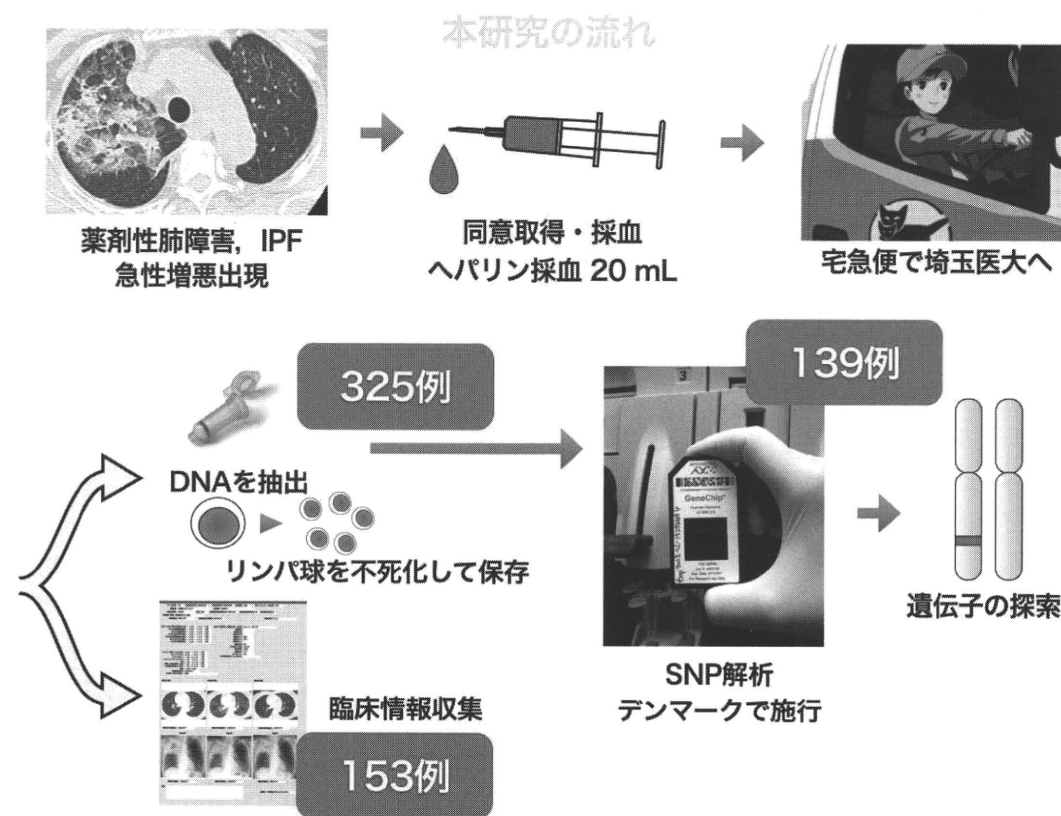


図3 検体収集状況

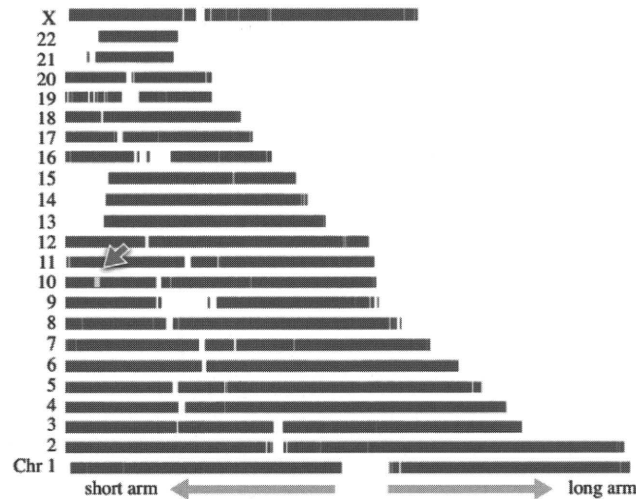


図4 定量ホモ接合マッピング法による筋萎縮性側索硬化症原因遺伝子OPTNの同定(Nature 2010;465:223-6)

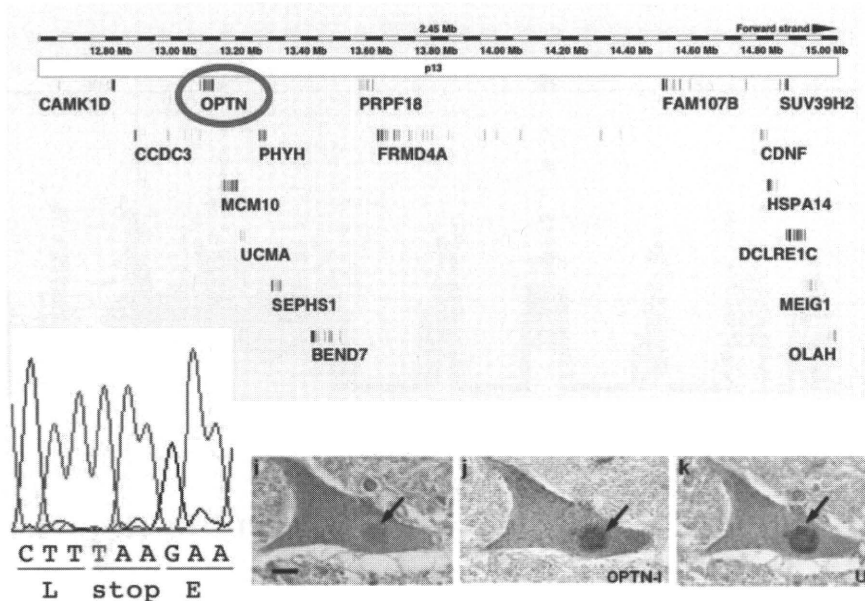


図5 OPTN 遺伝子変異と異常遺伝子の神経細胞封入体への co-localization(Nature 2010;465:223-6)

(2)少数例，高バックグラウンド集団に使用できる解析手法を開発する

我々は以下の手法を開発，発表した．ホモ接合ハプロタイプ法(HH法：Am J Hum Genet 2007;80:1090-102)，定量ホモ接合マッピング法(BMC Bioinformatics 2010;15 Suppl 7:S5.)，ホモ接合ハプロタイプ法の上に構築したホモ接合マッピング法上のqHM法(HM on HH法)．それぞれの実施例を示す．

それぞれ，既にデータが利用可能な他疾患(筋萎縮性側索硬化症， COPD)で実際に使用し，期待通りの結果が得られることを確認した(Nature

2010;465:223-6， および投稿中)．特にHM on HH法では，一般集団中に潜在する劣性遺伝子を90%のバックグラウンドの存在下で，60名の患者から検出できる能力が得られている(原稿執筆中)．

### 考 察

このように本学会では，特発性肺線維症急性増悪，薬剤性肺障害の遺伝解析の基盤を構築し終わり，検体収集が順調に進行している．大量の臨床データ，DNA情報のため，それらのデータベース構築にや

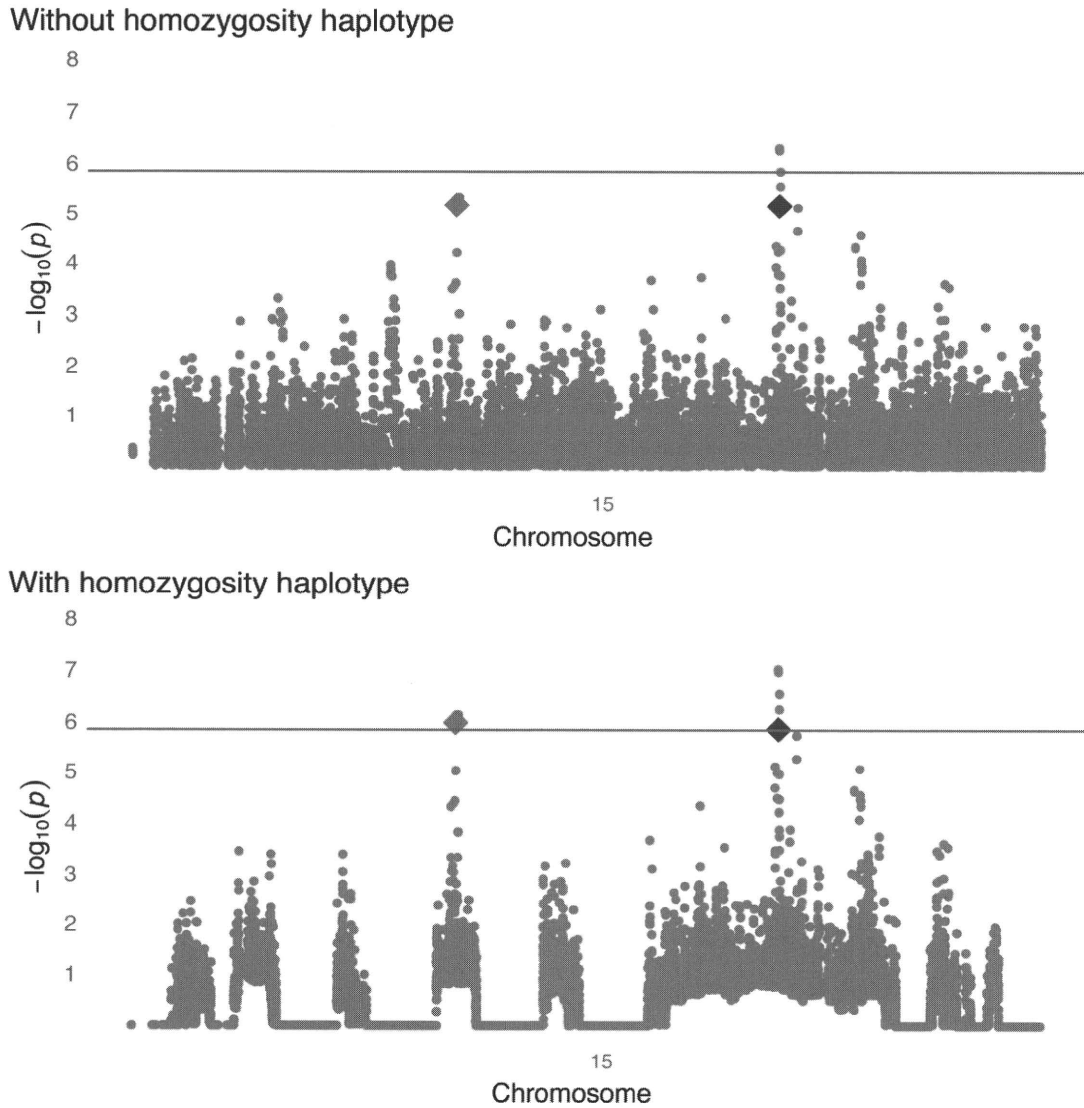


図6 Homozygosity haplotype法によるCOPDの感受性遺伝子の同定(Submitted). 58例の症例から、既報のCHRNA3, IREB2を含む複数の感受性遺伝子を同定できた

や時間がかかると思われるが2011年度初頭からHM on HH法による解析を開始できると考えている。

発表論文

- 1) Yamaguchi T, Soma T, Takaku Y, et al. Salbutamol modulates the balance of Th1 and Th2 cytokines by mononuclear cells from allergic asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152 Suppl 1:32-40.
- 2) Tanaka T, Matsuoka M, Sutani A, et al. Frequency of and variables associated with the EGFR mutation and its subtypes. *Int J Cancer* 2010;126:651-5.
- 3) Takaku Y, Nakagome K, Kobayashi T, et al. Changes

- in airway inflammation and hyperresponsiveness after inhaled corticosteroid cessation in allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152 Suppl 1:41-6.
- 4) Sadakata R, Hatamochi A, Kodama K, et al. Ehlers-Danlos syndrome type IV, vascular type, which demonstrated a novel point mutation in the COL3A1 gene. *Intern Med* 2010;49:1797-800.
- 5) Nakada H, Nakagome K, Takaku Y, et al. [Questionnaire for determining relationship between nasal and asthma symptoms]. *Arerugi* 2010;59:688-98.
- 6) Maruyama H, Morino H, Ito H, et al. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2010;465:223-6.

- 7) Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010;362:2380-8.
- 8) Tachibana T, Hagiwara K, Johkoh T. Pulmonary alveolar microlithiasis: review and management. *Curr Opin Pulm Med* 2009;15:486-90.
- 9) Morita S, Okamoto I, Kobayashi K, et al. Combined survival analysis of prospective clinical trials of gefitinib for non-small cell lung cancer with EGFR mutations. *Clin Cancer Res* 2009;15:4493-8.
- 10) Mori M, Takaku Y, Kobayashi T, et al. Eosinophil superoxide anion generation induced by adhesion molecules and leukotriene D4. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149 Suppl 1:31-8.
- 11) Kikuchi S, Kikuchi I, Takaku Y, et al. Neutrophilic inflammation and CXC chemokines in patients with refractory asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149 Suppl 1:87-93.
- 12) Ishihara Y, Hagiwara K, Zen K, et al. A case of pulmonary alveolar microlithiasis with an intragenetic deletion in SLC34A2 detected by a genome-wide SNP study. *Thorax* 2009;64:365-7.
- 13) Inoue A, Kobayashi K, Usui K, et al. First-line gefitinib for patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring epidermal growth factor receptor mutations without indication for chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009;27:1394-400.
- 14) Soma T, Takaku Y, Kobayashi T, et al. Inhibitory effect of budesonide alone and in combination with formoterol on IL-5 and RANTES production from mononuclear cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;146 Suppl 1:22-7.
- 15) Miyazawa H, Tanaka T, Nagai Y, et al. Peptide nucleic acid-locked nucleic acid polymerase chain reaction clamp-based detection test for gefitinib-refractory T790M epidermal growth factor receptor mutation. *Cancer Sci* 2008;99:595-600.
- 16) Miyanaga A, Gemma A, Ando M, et al. E-cadherin expression and epidermal growth factor receptor mutation status predict outcome in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Oncol Rep* 2008;19:377-83.
- 17) Koyama N, Zhang J, Huqun, et al. Identification of IGFBP-6 as an effector of the tumor suppressor activity of SEMA3B. *Oncogene* 2008;27:6581-9.
- 18) Koyama N, Nagata M, Hagiwara K, et al. Survival of a patient with pulmonary *Cunninghamella bertholletiae* infection without surgical intervention. *Respirology* 2008;13:309-11.
- 19) Kobayashi T, Takaku Y, Yokote A, et al. Interferon-beta augments eosinophil adhesion-inducing activity of endothelial cells. *Eur Respir J* 2008;32:1540-7.
- 20) Azuma A, Hagiwara K, Kudoh S. Basis of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis in Japanese patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:1397-8; author reply 1398.
- 21) Tanaka T, Nagai Y, Miyazawa H, et al. Reliability of the peptide nucleic acid-locked nucleic acid polymerase chain reaction clamp-based test for epidermal growth factor receptor mutations integrated into the clinical practice for non-small cell lung cancers. *Cancer Sci* 2007;98:246-52.
- 22) Sato N, Sutani A, Oya H, et al. [Prognostic significance of neutrophil elastase inhibitor in patients with acute lung injury and interstitial pneumonia]. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2007;45:237-42.
- 23) Miyazawa H, Kato M, Awata T, et al. Homozygosity haplotype allows a genomewide search for the autosomal segments shared among patients. *Am J Hum Genet* 2007;80:1090-102.
- 24) Kobayashi T, Takaku Y, Kikuchi I, et al. Eosinophils do not enhance the trans-basement-membrane migration of neutrophils. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143 Suppl 1:38-43.
- 25) Kikuchi I, Kikuchi S, Kobayashi T, et al. Theophylline attenuates the neutrophil-dependent augmentation of eosinophil trans-basement membrane migration. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143 Suppl 1:44-9.
- 26) Huqun, Izumi S, Miyazawa H, et al. Mutations in the SLC34A2 gene are associated with pulmonary alveolar microlithiasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:263-8.

### (3) 新しい治療法の検討

#### i) ピルフェニドン

## ピルフェニドン有効症例検討会のまとめ

自治医科大学 呼吸器内科<sup>1)</sup>

徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部 呼吸器・膠原病学分野<sup>2)</sup>

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 呼吸器センター内科<sup>3)</sup>

国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 呼吸不全・難治性肺疾患研究部<sup>4)</sup>

公立陶生病院 呼吸器・アレルギー内科<sup>5)</sup>

神奈川県立循環器呼吸器病センター 呼吸器内科<sup>6)</sup>

東邦大学医療センター大森病院 呼吸器内科<sup>7)</sup>

坂東 政司<sup>1)</sup> 杉山幸比古<sup>1)</sup> 西岡 安彦<sup>2)</sup> 岸 一馬<sup>3)</sup>

井上 義一<sup>4)</sup> 谷口 博之<sup>5)</sup> 小倉 高志<sup>6)</sup> 本間 栄<sup>7)</sup>

今回、本調査研究班の第2回班会議総会において、IPFに対しピルフェニドンによる治療を行い、研究分担者・協力者が有効と判断した症例の検討会を実施したので、その内容について報告する。平均年齢は65.6歳で、性別は男性8例、女性2例であった。治療開始直前のFVCは平均2490 mL、%FVCは平均77.8%、%DLcoは平均44.3%であった。6分間歩行試験での最低SpO<sub>2</sub>は9例で90%未満であった。IPFの重症度は、I度5例、III度3例、IV度2例であった。治療効果については、体動時の呼吸困難が8例で改善し、FVCの10%以上の改善を6例、DLcoの15%以上の改善を3例認めた。6分間歩行試験での最低SpO<sub>2</sub>の改善は8例で認めた。重篤な副作用は認めなかった。

今後も引き続きピルフェニドン有効例の臨床的検討を通じて、本薬剤の患者選択基準、適切な評価指標および長期効果などについて明らかとする必要があるものと考えられた。

特発性肺線維症 (IPF) は慢性経過で肺の線維化が進行し、不可逆的な蜂巣肺形成をきたす予後不良な疾患である<sup>1)</sup>。ピルフェニドンは抗線維化作用を有することから、IPFに対する新規治療薬として開発が進められ、わが国で行われた第III相臨床試験<sup>2)</sup>において、肺活量 (VC) 低下の抑制および無増悪率低下の抑制を認めたことから、2008年10月に世界で初めて製造販売承認され、現在臨床使用可能となった。しかし、臨床試験での対象患者は比較的軽症・中等症のIPF患者に限定されており、現時点では75歳以上の高齢者や重症IPFでの有効性および長期効果についてはまだ不明な点も多い。今後は実地医療での使用成績を集積し、多施設共同で本剤の有用性を再検証することが必要であると思われる。そこで今回、本調査研究班の第2回班会議総会において、IPFに対しピルフェニドンによる治療を実施し、研究分担者・協力者が有効と判断した9症例の検討会を行ったので、臨床試験で有効性を示した自験例1

例<sup>3)</sup>を追加し10例の有効例について総括する。

### 症例のまとめ

#### 1) ピルフェニドン投与前の患者背景

IPFの診断は病理組織診断例が5例、臨床診断例が5例であった。平均年齢は65.6歳(54歳～75歳)で、75歳以上は1例のみであった。性別では男性8例、女性2例であった。体動時の呼吸困難はMRCグレード1が2例、2が5例、3が3例で、グレード0および4の症例はなかった。治療開始直前のFVCは平均2490 mL (1400 – 3250 mL)、%FVCは平均77.8% (58.0 – 105%)で、%FVCが65%以上の症例が9例(70%以上は7例)であった。%DLcoは平均44.3% (24.1 – 57%)で、50%以上の症例は3例のみであった。6分間歩行試験での最低SpO<sub>2</sub>は1例を除き全例で90%未満であった。IPFの重症度は、I度5例、III度3例、IV度2例であったが、I度の5例中4例は6分間歩行

試験でSpO<sub>2</sub>は90%未満に低下した症例であった。海外重症度分類では、中等症4例、重症6例であった。初診時からピルフェニドン治療開始までの期間は1年未満が5例で、1年以上の経過観察後に投与されたのが5例であったが、ピルフェニドン投与までは全例無治療であった。

## 2) ピルフェニドンによる効果

1例でNAC吸入が併用された以外9例はピルフェニドン単独治療(在宅酸素療法は2例で導入)であった。投与開始からの観察期間は、自験例での38ヶ月を除くと平均13.7ヶ月(6ヶ月-20ヶ月)であった。自覚症状(体動時の呼吸困難)改善は8例で認められ、肺機能検査では、FVCの10%以上の改善を6例(5%以上の改善は8例)、DLcoの15%以上の改善を3例(7.5%以上の改善は7例)認めた。6分間歩行試験での最低SpO<sub>2</sub>の改善は8例で認められた。KL-6は4例で低下したが、2例で上昇を認めた。SP-Dは測定された8例中6例で低下した。副作用では2例で軽度の消化器症状、3例で軽度の光線過敏症を認めたが、重篤な副作用は認めなかった。

## 考 察

ピルフェニドンは、抗線維化薬として位置づけられる薬剤である。その作用機序として、炎症性サイトカインや活性酸素種の抑制とともに、線維化形成にかかわるPDGFやTGF-βなどの増殖因子の発現抑制、線維芽細胞の増殖抑制およびコラーゲン産生抑制などが知られている。IPFに対するピルフェニドンの臨床的有用性については、わが国における第III相臨床試験<sup>2)</sup>(対象：安静時SpO<sub>2</sub>と労作時SpO<sub>2</sub>最低値の差 $\geq$ 5%、労作時SpO<sub>2</sub>最低値 $\geq$ 85%)において軽症から中等症のIPF患者においてVCの低下抑制および無増悪率の低下抑制をもたらしたことから、治癒・改善にいたらないまでも悪化を阻止するという面で、IPF患者に大きな臨床的有用性があるものと考えられている。海老名ら<sup>4)</sup>は、ピルフェニドンの効果的な治療介入時期を明らかとする目的でわが国の第III相試験結果を治療開始前の%VCを10%毎に層別解析し、VCの変化量を検討した結果、「%VCが60%未満」を除くいずれの層においてもピルフェニドン群のVC変化量の平均値はプラセボ群と比べ高く、またMedian %VC $\geq$ 76.5%、Median

VC $\geq$ 2.4Lの患者層でKL-6やSP-Dの変化率や6分間歩行試験時のSpO<sub>2</sub>最低値にプラセボ群と差を認めたと報告している。また吾妻<sup>3)</sup>は、治療開始前の%VCに労作時SpO<sub>2</sub>値を組み合わせた場合には、%VC $\geq$ 70%かつ労作時SpO<sub>2</sub><90%の患者層で最もVCの低下を抑制していたことを指摘している。さらに田口<sup>6)</sup>は海外のIPF重症度分類に照らし合わせ層別に予後解析を行ったところ、Mild群(%FVC<65%、労作時SpO<sub>2</sub><88%、DLco<50%の3項目に1つも合致しない群)で無増悪生存期間の有意な延長を認めたと報告している。以上の結果からは、IPF治療におけるピルフェニドンの介入時期はより軽症の早期段階から治療を開始するほど高い効果が期待できる可能性が示唆される。今回の有効例の検討においても、治療開始前の平均%VCは77.8%で、6分間歩行試験でのSpO<sub>2</sub>は1例を除き全例90%以下に低下したことから、VCの低下抑制効果が期待できる患者群であったものと考えられる。さらに今回の症例検討で注目すべき点としては、FVCやDLcoが治療開始前よりも改善する症例を認めたことやIPF重症度がIV度であっても有効性を認めた症例も含まれており、ピルフェニドンが著効するIPFのサブグループが存在する可能性も示唆され、今後のさらなる症例集積が重要であるものと考えられた。

以上より、今後も引き続きピルフェニドン有効例の臨床的検討を通じて、本薬剤の患者選択基準、適切な評価指標および長期効果などについて明らかとする必要があるものと考えられる。

## 文 献

- 1) American Thoracic Society : Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). Am J Respir Crit Care Med 161: 646-664, 2000
- 2) Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, et al : Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Respir J :2010; 35; 821-829.
- 3) 坂東政司 : IPFの治療の現況 4)ピルフェニドン有効例. 特発性肺線維症 医薬ジャーナル p172, 2010.
- 4) Ebina M, Kimura H, Ohta Y, et al : Enhanced

effects of pirfenidone on the early phase of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). European Respiratory Society Annual Congress in Vienna, Austria, 2009.9.14.

5) Azuma A : What phenotype IPF getting benefit of pirfenidone in Japan. European Respiratory Society

Annual Congress in Barcelona, Spain, Session 214, 2010.9.20.

6) 田口善夫 : 海外重症度分類によるピレスパ第Ⅲ相臨床試験重症度別解析結果. ピレスパ錠発売1周年記念学術講演会, 東京, 2010年1月23日