

つくりだす多彩な肺病変. 永井書店. 総合臨床, 58(5) : 1293-1299, 2009

## 2. 学会発表

1. Murakami, K, Tamada T, Nara M, Muramatsu S, Kikuchi T, Kanehira M, Ebina M and Nukiwa T : TLR4 signaling as a potentiator in the airway submucosal gland secretion. European Respiratory Society Annual Congress, September 18-22, 2010, Barcelona, Spain
2. Murakami, K, Tamada T, Nara M, Kikuchi T, Ebina M and Nukiwa T : Toll-like receptor signaling as a potentiator in the airway submucosal gland secretion. ATS 2010 International Conference, May 14-19, 2010, New Orleans, LA
3. Tamada, T, Nara M, Kanatsuka H, Murakami K, Hida W and Nukiwa T : A Potentiating Effect of Endogenous Nitric Oxide in the Physiologic Secretion from Airway Submucosal Glands. European Respiratory Society Annual Congress, October 4-8, 2008, Berlin, Germany, 313-P3568
4. 東出直樹, 玉田 勉, 奈良正之, 五味和紀, 村上康司, 村松聡士, 中野 誠, 杉村宏一郎, 福本義弘, 下川宏明, 海老名雅仁, 貫和敏博 : 在宅酸素療法およびステロイド全身投与中に増悪した肺高血圧症に対してシルデナフィルが奏効したサルコイドーシスの1症例. 第30回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会, (浜松), 2010年10月1日
5. 村上康司, 玉田 勉, 奈良正之, 菊地利明, 海老名雅仁, 貫和敏博 : 気道粘膜下腺細胞における Toll 様受容体シグナリングによる分泌調節機序の検討. 第50回日本呼吸器学会総会, (京都), 2010年4月23日
6. 阿部恭子, 玉田 勉, 奈良正之, 五味和紀, 海老名雅仁, 貫和敏博 : 当科における骨サル

コイドーシス4例の臨床的検討. 第50回日本呼吸器学会総会, (京都), 2010年4月25日

7. 光石陽一郎, 玉田 勉, 奈良正之, 海老名雅仁, 貫和敏博 : 慢性咳嗽を呈するサルコイドーシス患者の臨床的特徴. 第29回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会, (宇都宮), 2009年10月22日
8. 阿部恭子, 玉田 勉, 奈良正之, 五味和紀, 海老名雅仁, 貫和敏博 : 当科における骨サルコイドーシス4例の臨床的検討. 第29回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会, (宇都宮), 2009年10月23日
9. 光石陽一郎, 玉田 勉, 奈良正之, 海老名雅仁, 貫和敏博 : サルコイドーシスと気管支喘息は合併しうるか? 第49回日本呼吸器学会総会, (東京), 2009年6月12日
10. 玉田 勉 : 『気管支粘膜下腺細胞の単離と分泌活動の機能解析について』. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 ワークショップ1 「基礎 : 構造細胞の分離と機能的解析」, (東京), 2008年11月27日, 9 : 50-11 : 30, 東京国際フォーラム 第9会場
11. 玉田 勉 : 『肺サルコイドーシスの現況』. 第28回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会, 教育セミナー2, (仙台), 2008年11月8日, 15 : 00-17 : 00, 仙台国際センター

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 気腫病変と線維化病変の病態形成に関する研究

研究分担者 海老名 雅 仁（平成22年度）

東北大学大学院医学系研究科内科病態学講座呼吸器病態学講分野准教授

### 研究要旨

COPD では中枢気道，末梢気道，肺野領域に構築変化をきたすが，肺動静脈およびリンパ管などの肺内脈管系の構築変化に関する情報はまだ限られている。病理解剖による病理診断で肺気腫と診断され肺炎や浮腫などの終末期変化に修飾されていない26症例（73.4±7.1歳）の肺組織に共通に認められた病変は，（1）気道壁および小葉間隔壁の線維化，（2）気腫病変の中心に内腔が閉塞した肺動脈が分布，（3）気腫病変周辺には正常な肺野からなる小葉が近接，などであった。さらに，喫煙者における肺気腫形成の必須の因子として最近報告された mTOR 抑制因子 Rtp801 の発現を，小葉中心性肺気腫患者肺と気腫合併肺線維症患者肺，および非喫煙者の間質性肺炎の肺組織における分布から比較検討した結果，Rtp801 の発現は肺野マクロファージ，気道上皮細胞，II型肺野上皮細胞に高発現していると同時に線維化病変周囲にも発現細胞の集簇を認めた。また非喫煙者肺間質性肺炎患者肺における線維化病変においても Rtp801 発現細胞の集簇を観察した。これらの結果は Rtp801 が喫煙にかかわらず線維化病変にも関与している可能性を示している。

### A. 研究目的

肺線維症における肺野毛細血管や小葉間隔壁のリンパ管構築変化，および難治性気管支喘息患者の気道リンパ管などの脈管系の構築変化に基づき，病理組織上肺気腫病変が顕著な剖検肺を対象として，その脈管系の病態，および肺野線維化との関連などを検討することにより，肺気腫病変の病態形成機序を考察することを目的とする。さらに喫煙者における肺気腫形成の必須の因子として Tudor RM らのグループが最近報告した mTOR 抑制因子 Rtp801 の発現を，肺気腫患者肺と気腫合併肺線維症患者肺，および非喫煙者の間質性肺炎組織標における免疫組織染色をもちいてその産生細胞の分布から比較検討し，気腫病変と線維化病変の病態形成の差を説明しうるものかを検証した。

### B. 研究方法

肺気腫病変の検討のためには，1998年から2007年までの10年間に石巻赤十字病院病理部病理解剖された全症例において，肺気腫病変が病理診断名として記載された症例39例の肺組織切片を対象とし，これらの病理組織切片をあらかじめ Hematoxylin-Eosin (HE) 染色と Elastica-Masson (EM) 染色で観察を行い，肺炎や浮腫などの終末期の変化が著しいものを除外した。その結果，本研究で免疫染色を施して詳細に観察した対象患者検体は26症例（平均年齢73.4±7.1歳，女性は2名のみ，肺癌合併症例は3例）であった。病理組織染色は，石巻赤十字病院病理部に保存されている上記剖検肺パラフィン標本から連続切片を薄切し，HE 染色，EM 染色，抗ヒト CD34 マウスモノクローナル抗体と抗ヒト podoplanin マウスモノク

ローナル抗体を用いた免疫組織染色を行った。免疫組織染色には背景として EM 染色を重ね、肺組織構築および線維化病変との関連が明瞭化した。

Rtp801 発現の検討のためには、前年度検討した剖検肺にて観察された肺気腫検体、気腫合併肺線維症（剖検肺）、特発性肺線維症患者肺（外科的肺生検および剖検肺）、非喫煙者膠原病関連肺（外科的肺生検）を薄切し、HE、EM 染色に加え、CD34 産生肺胞毛細血管内皮細胞、podoplanin 産生リンパ管内皮細胞を連続切片標本に対する免疫組織染色にて観察した。

### C. 研究結果

1. 観察対象とした26症例全例が病的にいわゆる小葉中心性肺気腫（centrilobular emphysema）に分類されるものであった。リンパ内皮細胞の免疫組織染色を観察すると、のう胞とよばれると気腫病変が小葉間隔壁を介して隣り合うことまた、リンパ管は過度に伸展しあるいは線維化した小葉間隔壁内において退縮傾向を示すことが観察された。また小葉間隔壁を介して隣接する小葉が気腔の拡大のみ認める病変もあることから、これらの気腫病変は肺内に均質に構成されるのではなく、小葉毎の病変形成をしていることが示唆される。これらの気腫病変内ののう胞内腔には、小葉を養っていたとみられる小肺動脈の断面が島状に分布している。それらの肺動脈周囲には膠原線維が増加し、またその内腔の多くは閉塞している。島状にみられるこれらの内腔が閉塞している小肺動脈は、より近位の肺動脈を含む組織から延長していると考えられるべきであろう。

2. COPD 患者肺に伴う気道周囲の線維化は喫煙によってもたらされていると考えられているが、小葉間隔壁に多く線維化病変が亢進していたことに注目した。これは肺気腫の病理上の定義から（usual interstitial pneumonia, UIP）のパターンと一致する。UIP の場合肺胞壁は残存し、むしろ肺胞毛細血管は拡張して増殖する。肺気腫に見られる

のはこの小葉間隔壁で囲まれた小葉内の肺胞壁が消失している。小葉間隔壁と気道周囲の線維化病変の程度をそれぞれ5段階で評価した。顕著な線維化を伴う病変は除外されているとされていることもあって、記載を免れてきた可能性もあろう。しかしこの小葉間隔壁を中心とした線維化は特発性肺線維症患者肺病変に見られる通常型間質性肺と類似する。

これらの結果から、明らかな線維化病変を含まないことが病理上の定義にもなっているものの、小葉間隔壁の線維化病変の程度は5段階中3段階以上の線維化病変をもつものが26例中10例、2段階の穏やかな線維化病変は8例に認め、得られた標本上まったく線維化が確認できなかったものは1例のみであった。のう胞近縁には、特発性肺線維症患者肺の蜂巢病変とはことなると肺胞虚脱もなく、また気腫病変におけるのう胞内に必ず確認される内腔が閉塞した小肺動脈の断片の存在が確認された。高齢者で線維化が認められないこともあり、小葉間隔壁の線維化程度と年齢との相関を検討した。その結果、両者の間には負の相関関係があることが示された。この結果は年齢が亢進するほどに線維化の程度は弱まり、気腫化が亢進する臨床病態と一致する。

一方気道周囲の線維化は1～2段階程度の穏やかな程度のもものがほぼ半数の17例であるが、4～5段階の亢進した症例も4例に認める。小葉間隔壁と気道周囲の線維化の関係につき検討した結果、同じ肺内の異なる部位における線維化の程度が正相関することが示された。

これらの結果は、小葉間隔壁の線維化も気道周囲の線維化も同じ喫煙による影響と考えると理解しやすい。

#### 1. Rtp801 免疫組織染色

##### 1) 肺気腫病変における分布

典型的な小葉中心性肺気腫の肺病変に DAB 染色で Rtp801 陽性細胞を茶色で示しているのう胞周辺にはまだ正常にちかい肺胞壁が観察されるが、のう胞の中心には内腔が閉塞した肺動脈があ

る。細胞内に炭粉を沈着している肺胞マクロファージとおそらくは残存している肺胞上皮細胞、およびわずかな血管内皮細胞が Rtp801 を強発現している。破壊される寸前までリンパ管周囲に集簇したか、特にリンパ管周囲に Rtp801 強発現敗亡マクロファージの集簇をみた。この傾向は気腫病変に伴う線維化病変でも観察される。

## 2) 気腫合併肺線維症 (CPFE) における分布：

気腫病変にはおかれ少なかれ線維化病変が伴っているが、むしろ線維化が亢進した気腫合併肺線維症において、気腫病変と線維化病変における Rtp801 の発現に差があるかどうか検討を行った。HRCT で気腫病変は主に上葉に、線維化病変は下肺を主に分布している典型的な重喫煙者の肺組織内は気腫病変と線維化病変が混在している。気腫によるのう胞内にはやはり途絶した肺動脈断端があり、その周囲には Rtp801 高発現肺胞マクロファージが集簇している。その周辺の肺胞壁は繊維化しており、fibrotic NSIP パターンを呈している。その線維化した肺胞壁に囲まれてやはり Rtp801 を強発現している肺胞マクロファージが肺胞腔内に、それに終末細気管支上皮細胞、II型肺胞上皮が分布する。すなわち、気腫病変と線維化病変において Rtp801 陽性細胞の構成や分布には違いを認めない。別の CPFE 患者肺でもやはり線維化病変に Rtp801 陽性細胞が線維化病変内に密に分布している。これらはいずれも数年前には喫煙をやめているものの喫煙者肺であることから、Rtp801 の発現が喫煙の影響によるものである可能性はある。

## 3) 非喫煙者の IPF/UIP および膠原病関連間質性肺炎患者肺における Rtp801 の発現

外科的肺生検で IPF/UIP と診断された喫煙者肺、30歳代非喫煙者の女性に認められた IPF/UIP (移植ドナーとして摘出肺) の標本を比較すると、むしろ非喫煙者の IPF/UIP に Rtp801 の発現が強く観察される。さらにいずれも非喫煙者の膠原病関連間質性肺炎と、ゼオライトによる間質性肺炎、および狭窄性細気管支炎を伴う間質性肺炎

の外科的肺生検を示す。いずれもこれらの肺組織に気腫病変は存在しない。しかし、これらの肺組織内にはいずれも Rtp801 発現細胞を密に分布する。

## D. 考 察

### 1. 気腫の病態に関する検討

肺気腫病変の多くは気道周囲と小葉間隔壁に様々な程度の線維化病変を併せ持ち、その程度が相関することが示された。これらの変化は特発性肺線維症でもよく観察されることであり、それぞれ同一の要因が、そしておそらくは喫煙による病態と考えれば理解しやすい。しかし、肺気腫病変は特発性肺線維症や線維性非特異性間質性肺炎 (fibrosing non-specific interstitial pneumonia, f-NSIP) と異なって、その病変の場を小葉の中心にもつ。それが最も頻繁に観察される小葉中心性肺気腫 (centrilobular emphysema) である。慢性の粉塵吸入による過敏性肺炎を考えると、その変化はやはり末梢気道の末端にあり線維化する。今回の病理的な検討から、肺気腫が小葉の内部から肺胞壁の破壊が始まり、最終的には小葉間隔壁に至ることが示唆された。それではなぜ肺気腫病変では呼吸細気管支近傍の肺胞が破壊されるのだろうか。

これを解く鍵はやはり気腫病変ののう胞内にかならず確認しうる内腔が閉塞した小肺動脈の断片ではないだろうか。末梢気道の閉塞はほとんど確認されず、むしろ多くの細気管支が拡張していることからするとこの変化はむしろ末梢血管内腔から始まっていることを示唆している。小葉内でも肺胞壁の破壊によるのう胞形成が一部分にのみ示されているものからすると、その小肺動脈の閉塞は末梢域に生じていると考えられる。少なくとも肺胞腔内の気流の変化は同様と考えられる同一小葉内部にあってもこのような差が出るとすればやはり末梢肺動脈の血管病変が気腫病変ののう胞を形成するものと考えざるを得ない。肺気腫病変を肺動脈病変から説明する研究報告は Tuder RM ら

のグループがすでに活発に報告している。中でも肺胞毛細血管を養う小肺動脈内皮細胞がVEGF産生能を失うことによって肺胞構造が破壊されるといふ彼らの説は、本研究の観察結果とよく一致して興味深い。しかし、そもそもなぜ血管に病変が生じるのかに関する機序はまだ解明されていない。そこに様々な肺気腫モデルで示されてきたような酸化ストレスの機序や種々の炎症性サイトカイン、あるいは末梢肺動脈血管のスパズムなどの機序が関与してくる可能性があるのではないだろうか。肺気腫の病態のより深層の本態を解明することによる新しい治療法、あるいは発症予防の開発は、おそらくタバコが消失する近未来においても需要は高まることが予想される。

## 2. RTP801の発現による検討

mTOR抑制因子として知られるRtp801は低酸素やDNA損傷によって誘導され、その強発現する細胞がアポトーシスにおちいることで酸化ストレス関連因子として知られていた。Tuder RMらのグループは、喫煙にさらしたマウスの肺にmTORを強発現する細胞が肺胞壁に増加し、やがて気腫病変を形成することを示した上でさらに、Rtp801ノックアウトマウスに喫煙をさらしても、野生型で示されたNF- $\kappa$ Bを介した炎症やアポトーシス、さらには気腫病変を生じないことを示した。彼らは先に、VEGFRの機能を失わせることによって肺気腫類似病態が形成されることを観察し、肺動脈の血管内皮細胞から産生されるVEGFが減少する結果、肺胞上皮細胞が維持されなくなって肺胞壁の破壊が生じることを示したが、このRtp801もまた喫煙によって血管内皮細胞に発現が亢進し、またHIF-1を介したVEGFの産生を抑制することによって、肺胞上皮細胞のアポトーシスを誘導する可能性を示している。この結果は、さきに示した肺気腫病変の中心部に途絶した小肺動脈が観察されること、および気腫病変の多くが小葉間隔壁によって区切られることを説明しうる。しかし、今回我々は、気腫合併肺線維症のみならず、特発性肺線維症患者肺、さらに

は喫煙歴のない膠原病関連間質性肺炎患者肺組織にまでRtp801の発現亢進を認めた。このことはRtp801が喫煙に限らず、さまざまな組織障害因子によって惹起され、それがNF- $\kappa$ Bによる炎症反応を引き起こし、それが肺胞壁の炎症を解して線維化病変まで引き起こす可能性を示唆している。

それではなぜ気腫病変と線維化病変が同時に同じ肺に起こりうるのか。結局、この2つの病態は常に付随して起こりうるものであることから、傷害の場の違いが推測される。Tuder RMらの仮説のように、おそらくは気腫病変において肺動脈内皮の障害が気腫病変の基礎となっていると考える。一方特発性肺線維症では、線維化病変は小葉間隔壁および胸膜直下に分布し、その小葉内部は毛細血管に富む。これは通常型間質性肺炎 (usual interstitial pneumonia, UIP) パターンと呼ばれ、血管病変から見ても気腫病変とは逆の反応形態である。ただ、気腫病変の多くに認められる小葉間を中心とした線維化病変の成り立ちを考えれば、おそらくこれらの肺病変では、肺動脈病変と同時に小葉末梢の線維化を伴う炎症が起きたことが考えられる。この小葉間隔壁には肺静脈と隣接して小葉間リンパ管が発達している。今回これらの小葉末梢部、すなわち小葉間隔壁周囲にはRtp801を産生する肺胞マクロファージに集簇を観察した。小葉間隔壁内のリンパ管はUIPにおいては、線維化病変によって破壊されるが、このRtp801産生肺胞マクロファージの集簇は、その原因とも結果とも考えられる。活性化したマクロファージが発現するTGF- $\beta$ 、PDGFは肺胞クリアランスの働きをもつリンパ管に吸収されるが、その周辺に線維化病変を及ぼし、リンパ管が破壊されてドレナージの低下はさらにその周囲にマクロファージを洗い出すことなく集簇を継続させる。

そしてもう1つの進行性の肺線維化病態である線維性非特異性間質性肺炎 (fibrotic non-specific interstitial pneumonia, f-NSIP) は、UIPとは異なって肺胞壁自体が線維化し、その結果肺胞壁の

毛細血管は消退する。肺気腫病変を見ていると、その周囲に正常肺構造が多く保たれていることを前年度報告したが、おそらく気腫合併肺線維症では、その残存した正常に近い肺組織の肺胞壁に線維化病態が亢進したものと考えられる。肺胞壁自体に線維化病変が起こる病態機序としては、最近報告されている血管内皮細胞からの線維芽細胞系への移行 (endothelial-mesenchymal transition) の可能性もあるだろうが、今後の課題として残されている。

## E. 結論

本研究における観察で、肺気腫病変の多くは気道周囲と小葉間隔壁に様々な程度の線維化病変を併せ持ち、その程度が相関することが示された。また気腫病変のう胞内にならず確認しうる内腔が閉塞した小肺動脈の断片の存在から、気腫性病変はむしろ末梢血管内腔閉塞から始まっていることを示唆していた。喫煙による気腫病変形成に必須であることが示された mTOR 阻害因子は、気腫合併肺線維症患者肺においてその線維化病変や喫煙歴のある特発性肺線維症患者肺のみならず、非喫煙者の IPF/UIP 患者肺、膠原病関連間質性肺炎、狭窄性細気管炎患者肺でもその強発現細胞が広く分布していることから、喫煙によらない線維化過程においても作用している可能性がある

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hashimoto S, Amaya F, Matsuyama H, Ueno H, Kikuchi S, Tanaka M, Watanabe Y, Ebina M, Ishizaka A, Tsukita S, Hashimoto S: Dysregulation of lung injury and repair in moesin-deficient mice treated with intratracheal bleomycin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, L566-574, 2008
2. Ebina M: Decreased distribution of airway lymphatics in individuals with fatal asthma.

*Proc Am Thorac Soc*, 6 : 327, 2009

3. Yamashita M, Iwama N, Date F, Chiba R, Ebina M, Miki H, Yamauchi K, Sawai T, Nose M, Sato S, Takahashi T, Ono M: Characterization of lymphangiogenesis in various stages of idiopathic diffuse alveolar damage. *Hum Pathol*, 40 : 542-551, 2009
4. Kikuchi T, Watanabe A, Gomi K, Sakakibara T, Nishimori K, Daito H, Fujimura S, Tazawa R, Inoue A, Ebina M, Tokue Y, Kaku M, Nukiwa T: Association between Mycobacterial Genotypes and Disease Progression in Mycobacterium avium Pulmonary Infection. *Thorax*, 64 : 901-907, 2009
5. Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, Ogura T, Azuma A, Suga M, Taguchi Y, Takahashi H, Nakata K, Sato A, Takeuchi M, Raghu G, Kudoh S, Nukiwa T: Pirfenidone Clinical Study Group in Japan. Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis: A phase III clinical trial in Japan. *Eur Respir J*, 35 : 821-829, 2010
6. Tanaka K, Ishihara T, Azuma A, Kudoh S, Ebina M, Nukiwa T, Sugiyama Y, Tasaka Y, Namba T, Ishihara T, Sato K, Mizushima Y, Mizushima T: Therapeutic effect of lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) on bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 298 : L348-360, 2010
7. Tazawa R, Trapnell BC, Inoue Y, Arai T, Takada T, Nasuhara Y, Hizawa N, Kasahara Y, Tatsumi K, Hojo M, Ishii H, Yokoba M, Tanaka N, Yamaguchi E, Eda R, Tsuchihashi Y, Morimoto K, Akira M, Terada M, Otsuka J, Ebina M, Kaneko C, Nukiwa T, Krischer JP, Akazawa K, Nakata K: Inhaled Granulocyte/Macrophage-Colony Stimulating Factor as Therapy of Pulmonary Alveolar Proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 181 : 1345-1354, 2010
8. Satoh H, Moriguchi T, Taguchi K, Takai J, Maher

- JM, Suzuki T, Winnard PT Jr, Raman V, Ebina M, Nukiwa T, Yamamoto M: Nrf2-deficiency creates a responsive microenvironment for metastasis to the lung. *Carcinogenesis*. *Carcinogenesis*, 31 : 1833-1843, 2010
9. Koyama S, Murakami K, Sakakibara T, Muramatsu S, Watanabe M, Miki M, Ebina M, Nukiwa T: Massive pleural effusion and bronchopleural fistula in Wegener's granulomatosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*, 27 : 76-79, 2010
  10. Tamada T, Nara M, Murakami K, Muramatsu S, Ebina M, Nukiwa T: Acute Eosinophilic pneumonia associated with the inhalation of phosgene gas under the presence of cigarette smoking. *Respir Med*, 2010 (in press)
  11. Ebina M, Shibata N, Ohta H, Hisata S, Tamada T, Ono M, Okaya K, Kondo T, Nukiwa T: The disappearance of subpleural and interlobular lymphatics in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lymphatic Research and Biology*, 8 : 199-207, 2010
  12. Hisata S, Kimura Y, Shibata N, Ono S, Kobayashi T, Chiba S, Ohta H, Nukiwa T, Ebina M: A normal range of KL-6/MUC1 independent elevated SP-D indicates a better prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulmonary Med*, 2011, 806014
  13. Ebina M, Taniguchi H, Miyasho T, Yamada S, Shibata N, Ohta H, Hisata S, Hirota N, Nishimura H, Ishizaka A, Maruyama I, Takashi K, Nukiwa T: Gradual increase of high mobility group protein B1 (HMGB1) in the lungs after the onset of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulmonary Med*, 2010, 916486
  14. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, Colby TV, Cordier J-F, Flaherty KR, Lasky JA, Lynch DA, Ryu JH, Swigris JJ, Wells AU, Ancochea J, Bouros D, Carvalho C, Costabel U, Ebina M, Hansell DM, Johkoh T, Kim DS, King TE, Jr., Kondoh Y, Myers J, Muller NL, Nicholson AG, Richeldi L, Selman M, Dudden RF, Griss BS, Protzko SL, Schunemann HJ: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence Based Guidelines for Diagnosis and Management: A Joint ATS/ERS/JRS/ALAT Statement. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010 (in press)
- ## 2. 学会発表
1. Tamai T, Ono M, Sato Y, Ohta H, Hirota N, Okouchi S, Tamada T, Nukiwa T, Ebina M: VASH-1, a Negative Feedback Regulator of Angiogenesis, Is Produced by Lung Myofibroblasts after Differentiation from Fibroblasts and Affects Their Own Proliferation. American Thoracic society International conference, San Diego, 2009.5.15-20
  2. Hirota N, Ohta H, Tamai T, Nukiwa T, Ebina M: Simultaneous Alterations of Gene Expressions in Different Cell Types of Alveolar Septa Induced by Transforming Growth Factor-beta 1 and Recovered by Cyclosporin A. American Thoracic society International conference, 2009, San Diego, 2009.5.15-20
  3. Ebina M, Ohta H, Miyasho T, Ohkouchi S, Hirota N, Nukiwa T: Diagnosis of Early Phase of Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Its Successful Treatment by a Neutrophil Elastase Inhibitor. American Thoracic society International conference 2009, San Diego, 2009. 5.15-20
  4. Ohta H, Ebina M, Hirota N, Nukiwa T: Pivotal Roles of Transforming Growth Factor-beta 1 in Barrier Dysfunction of Alveolar Walls in Lung Injury Prior to Fibrogenesis. American Thoracic society International conference 2009, San Diego, 2009.5.15-20

5. Ebina M, Kimura Y, Ohta H, Ohkouchi S, Hisata S, Hirota N, Tamada T, Nukiwa T (Clinical Study Group of Pirfenidone in Japan): Enhanced effects of pirfenidone on the early phase of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF); European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, 2009.9.13
6. Hirota N, Ohta H, Tamai T, Homma S, Nukiwa T, Ebina M: Profiling of gene expressions induced by TGF-1 and cyclosporine a in alveolar cells in vitro. European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, 2009.9.13
7. Ebina M: The curative effect of a neutrophil elastase inhibitor on acute aggravation of interstitial pneumonias. Luncheon Symposium 14th Congress of the APSR and 3rd Joint Congress of the APSR/ACCP, Seoul, 2009, 11.14-18
8. Hisata S, Ebina M: Elevation of serum surfactant protein D (SP-D) level predict the early stage of honeycomb lesions on HRCT. 14th Congress of the APSR and 3rd Joint Congress of the APSR/ACCP, Seoul, 2009.11.14-18
9. Ohta H, Ebina M: Pivotal roles of transforming growth factor-beta 1 in barrier dysfunction of alveolar walls in lung injury prior to fibrogenesis. 14th Congress of the APSR and 3rd Joint Congress of the APSR/ACCP, Seoul, 2009.11.14-18
10. Hisata S, Kimura Y, Chiba S, Abe K, Ohta H, Nukiwa T, Ebina M: Elevation of serum level of SP-D with normal range of KL-6 predicts a good prognosis of patients with honeycomb lesions on HRCT, ATS, New Orleans, 2010.5.14-19
11. Ohta H, Ebina M, Chiba S, Hisata S, Ohkouchi S, Nukiwa T: The occurrence of lung cancer in patients with interstitial pneumonias. ATS, New Orleans, 2010.5.14-19
12. Ebina M, Kimura Y, Ohta H, Hisata S, Tamada T, Nukiwa T, Clinical Study Group of Pirfenidone in Japan: Pirfenidone, a novel anti-fibrotic agent, provides higher benefit for idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) patients with better pulmonary function. ATS, New Orleans, 2010.5.14-19
13. Hisata S, Kimura Y, Ono S, Kobayashi M, Nukiwa T, Ebina M: High Level of serum SP-D with normal range of KL-6 predicts a good prognosis of patients with fibrosis changes on HRCT. European Respiratory Society 2010, Barcelona, 2010.9.22
14. 海老名雅仁: リウマチ治療における肺障害—間質性肺炎マーカー値と病態との関連—. 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会, 第18回国際リウマチシンポジウムランチョンセミナー, 2009.4.24
15. 海老名雅仁: シンポジウム4 社会のニーズに応える呼吸器学の展開—肺損傷から線維化へのパラダイムとその制御—座長. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 2008.6.16
16. 海老名雅仁: ランチョンセミナー1 間質性肺炎の急性増悪に対する好中球エラスターゼ阻害剤の治療効果. 第48回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 2008.6.16
17. 海老名雅仁: 社会のニーズに応える呼吸器学の展開—肺損傷から線維化へのパラダイムとその制御—座長. 第48回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム, 神戸, 2008.6.16
18. 海老名雅仁: 骨髄由来幹細胞による肺修復と肺線維症. 第48回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム, 神戸, 2008.6.16
19. 海老名雅仁: Natural history and acute exacerbation IPF and acute exacerbation. Sakura Lung Confrence, 東京, 2009.3.21
20. 海老名雅仁: 肺内脈管系から見た気腫化と線維化の病態. 第49回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム, 東京, 2009.6.12-14
21. 海老名雅仁: 間質性肺炎患者の臨床情報と病理情報から探る 血中 KL-6 の意義. 第50回



- 日本呼吸器学会学術講演会イブニングシンポジウム, 京都, 2010.4.24
22. 海老名雅仁: 進行性肺線維症の病態とpirfenidoneの抗線維化作用: 新治療薬ピレスパへの期待. 第90回日本呼吸器学会東北地方会, 山形, 2010.3.6
  23. 海老名雅仁, 宮庄 拓, 廣田 直, 玉田 勉, 大河内眞也, 貫和敏博: 特発性肺線維症の急性憎悪発症病態に基づく早期診断と早期治療. 第106回日本内科学会総会・講演会, 2009.4.10-12
  24. 海老名雅仁, 福岡正博, 工藤翔二, 安藤昌彦, 大江裕一郎, 中川和彦, 荒川浩明, 井上義一, 楠本昌彦, 桑野和善, 弦間昭彦, 酒井文和, 上甲 剛, 谷口博之, 福田 悠, 清原祥夫, 山崎直也, 横山俊二, 秋山晋一郎: タルセバ錠, 非小細胞肺癌, 特定使用成績調査(前例調査)中間結果報告(第1報). 第49回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2009.6.12-14
  25. 太田洋充, 廣田 直, 久田 修, 大河内眞也, 海老名雅仁, 貫和敏博: TGF- $\beta$ は肺障害後の線維化の過程で, 肺胞上皮と内皮細胞のバリアの低下を誘導する. 第49回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2009.6.12-14
  26. 玉井ときわ, 小野 学, 佐藤靖史, 太田洋充, 廣田 直, 大河内眞也, 久田 修, 玉田 勉, 貫和敏博, 海老名雅仁: 筋線維芽細胞分化に伴うVASH1の発現と細胞増殖に対する影響. 第49回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2009.6.12-14
  27. 久田 修, 玉田 勉, 海老名雅仁, 石井智徳, 貫和敏博: 季節性気管支喘息から急速に進行したChurg-Strauss症候群の1例. 第9回膠原病肺研究会, 仙台, 2009.7.11
  28. 久田 修, 福原達朗, 中村 敦, 海老名雅仁, 貫和敏博: 人口弁機能不全と肺のすりガラス影との関連を疑われた1例. 第89回日本呼吸器学会東北地方会, 第119回日本結核学会東北地方会, 2009.9.12
  29. 久田 修, 海老名雅仁: 著名な咳嗽を主訴にGGOを指摘された一症例. 第10回東京びまん性肺疾患研究会, 東京, 2009.10.3
  30. 久田 修, 海老名雅仁, 千葉茂樹, 阿部恭子, 木村雄一郎, 谷口博之, 太田洋充, 大河内眞也, 貫和敏博: 早期診断と生存期間の予測からみた血清バイオマーカーSP-DとKL-6の有用性と限界. 第80回間質性肺疾患研究会, 東京, 2009.11.6
  31. 太田洋充, 千葉茂樹, 久田 修, 大河内眞也, 海老名雅仁, 貫和敏博: 特発性間質性肺炎と肺癌の合併についての臨床的検討. 第50回日本呼吸器学会学術講演会ポスター合併症1, 京都, 2010.4
  32. 太田洋充, 千葉茂樹, 大河内眞也, 宮内栄一, 秋山聖子, 渡辺みか, 海老名雅仁, 貫和敏博: 神経膠腫に続発した胸腔原発血管腫の1例. 第49回日本肺癌学会東北支部会・第36回日本呼吸器内視鏡学会東北支部会, 仙台, 2010.7.31.
  33. 久田 修, 海老名雅仁, 貫和敏博: KL-6は胸部網状陰影の予後予測に有用である. 第1回びまん性肺疾患バイオマーカー研究会, 東京, 2010.8.20
  34. 久田 修, 阿部恭子, 玉田 勉, 福原達朗, 海老名雅仁, 貫和敏博: 抗原隔離後も進行したゼオライトによる肺障害の1例. 第12回東北びまん性肺疾患研究会, 仙台, 2010.11.20
- #### H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし

80%<sup>10)</sup>および S-LAM 患者の50%<sup>11)</sup>に腎血管筋脂肪腫が認められる。

## 2) 我が国の LAM 患者の現状

厚生労働省難治性疾患「呼吸不全に関する調査研究」による全国アンケート調査では、長さ264例のうち、39例が調査時に死亡していた。予測15年生存率は76%であるが、約7割の症例が気胸を経験し、在宅酸素療法を受けている患者も36%ある<sup>12)</sup> (久保恵嗣：肺リンパ管筋腫症に関する全国疫学調査—第2回目全国横断調査—。厚生労働科学研究費補助金，難治性疾患克服研究事業，呼吸不全に関する調査研究班，平成20年度研究報告書，117-125，2009)。

2009年10月，長年の患者団体や医師の運動の甲斐あって LAM が国の特定疾患治療研究事業」に追加認定された。これにより，患者は，保険診療の自己負担分の公費による払い戻しを受けることができるようになった。しかし，有効な治療があつてこそ，国の助成が活かされるのであり，一刻も早く有効とされる治療薬の実用化が待ち望まれている。

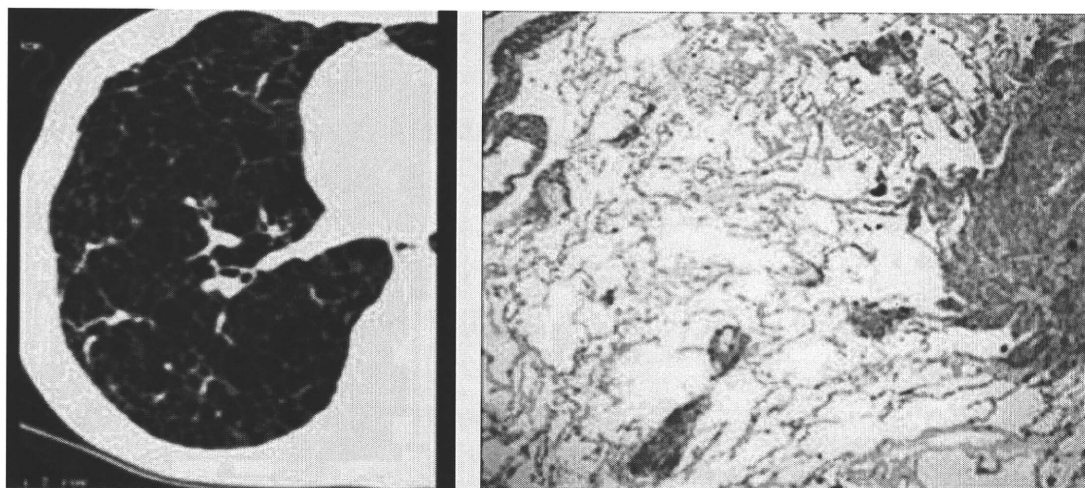
これまで，治療として主にエストロゲンのレベル低下または作用抑制を目的としたホルモン療法が50%の患者に行われているが，LAM に対して致命症である呼吸不全を積極的に改善させるとい

う科学的根拠はない。むしろ，LAM が低悪性度の腫瘍性疾患であることから，他の腫瘍性疾患のように化学療法剤が試されてこなかったのは，不思議なくらいである。20世紀の終わりから，今世紀の初頭にかけて LAM 細胞の増殖機構が解明され，mTOR inhibitor であるシロリムスが治療薬の候補に挙がった。

## 3) LAM の発症機序

TSC-LAM: 常染色体優性遺伝性疾患である結節性硬化症の肺病変として発症する TSC-LAM と遺伝性のない Sporadic LAM がある。原因は，癌抑制遺伝子 TSC-1 か TSC-2 の点変異により，増殖抑制が効かない LAM 細胞ができるためである。2090年代後半の研究から，LAM は癌抑制遺伝子であるハマルチン遺伝子 (TSC1) 座 (9q34) および第16染色体上のツベリン遺伝子 (TSC2) 座 (16p13.3) のどちらか一方における突然変異によって誘発されることがわかった。ツベリンおよびハマルチンは栄養取り込み，細胞サイズおよび増殖を調節する PI3K/PKB (Akt)/mTOR/S6K シグナリング経路の主要な構成要素であることが判明した (図2)。

発症機序に基づき，ツベリン・ハマルチンの下流にあるタンパクが LAM 細胞増殖抑制のターゲットとなりうるが，その中でもシロリムスなど



- HRCTではのう胞状の肺胞構造が見れる。
- 病理組織では、転移したLAM細胞の集塊があり、周辺組織の肺胞が破壊されている。

図1. LAM の肺病理組織像

## シロリムスによるリンパ脈管筋腫症の第Ⅲ相国際共同 臨床試験 MILES trial

研究分担者 中 田 光

新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター教授

### 研究要旨

リンパ脈管筋腫症（Lymphangiomyomatosis：LAM）は若年女性が罹患し進行性予後不良の難治性稀少疾患である（15年生存率68%）。米国で免疫抑制剤シロリムスのⅠ/Ⅱ相試験が行われ、呼吸機能が改善することが示唆され、2007年より1年間連日2mgの服用による肺一秒量の改善を主要評価項目として、日米加11施設が参加する第Ⅲ相国際共同臨床試験が開始された。米国フロリダにあるデータ技術コーディネイティングセンター（DTCC）が配信するEDCシステムにより、被験者は実薬と偽薬に割り振られ、各施設の責任医師はデータと有害事象を送信し、DTCCが解析する。我が国からは、新潟大学医歯学総合病院と近畿中央胸部疾患センターが参加した。2009年8月までに111例がエントリーされ、2010年8月に終了、最終解析が行われる。新潟大学と近畿中央胸部疾患センターでも2008年5月に開始され、2009年8月までに27例が登録された。有害事象は2010年2月までに新潟と近畿で299件確認されたが、入院を要するものが3件あり、いずれも試験薬を一時中止し、治療により回復した。試験は2010年9月に終了し、途中脱落者を除いて1年間の服薬を終了し、試験は2010年12月に解析結果が参加施設に報告された。主要評価項目服薬12ヶ月間の肺1秒量の変化は実薬群が1ml/月の増加、偽薬群が12ml/月の減少で、両群の有意差は $P<0.0001$ で有意性が検証された<sup>13)</sup>。

### A. 研究目的

本研究では、本邦の患者へのシロリムスの有効性と安全性を検証し、本邦における薬事承認を目指す。

#### 1. 研究目的補足

##### 1) リンパ脈管筋腫症の病態

リンパ脈管筋腫症（LAM）とは、主に若い女性が罹患するまれな進行性の嚢胞性肺疾患である<sup>1)</sup>。LAMには、神経皮膚症候群の1つであり、常染色体優勢遺伝の形質をとる結節性硬化症（TSC）に合併するTSC-LAMと<sup>2)</sup>、体細胞TSC遺

伝子の突然変異にともなう孤発性で非遺伝性のLAMがある（孤発性LAMまたはS-LAM）。後者は、肺、腎臓および体幹リンパ組織だけを侵す。どちらも一般的に進行性労作性呼吸困難が進展する。LAMには気胸（患者の約70%）や乳び胸症（約30%）が合併する。平滑筋様細胞による肺間質のびまん性浸潤および肺実質の嚢胞性破壊のため、月に $FEV_1$  6~9cc、 $FVC$  5ccの割合で肺機能が低下する<sup>3,4)</sup>。平滑筋様細胞の起源は明らかでないが、移植肺にも再発が認められることから、遠隔部位からの転移が少なくとも1つの発病機序であろう<sup>5-9)</sup>。TSC-LAM患者の約70~

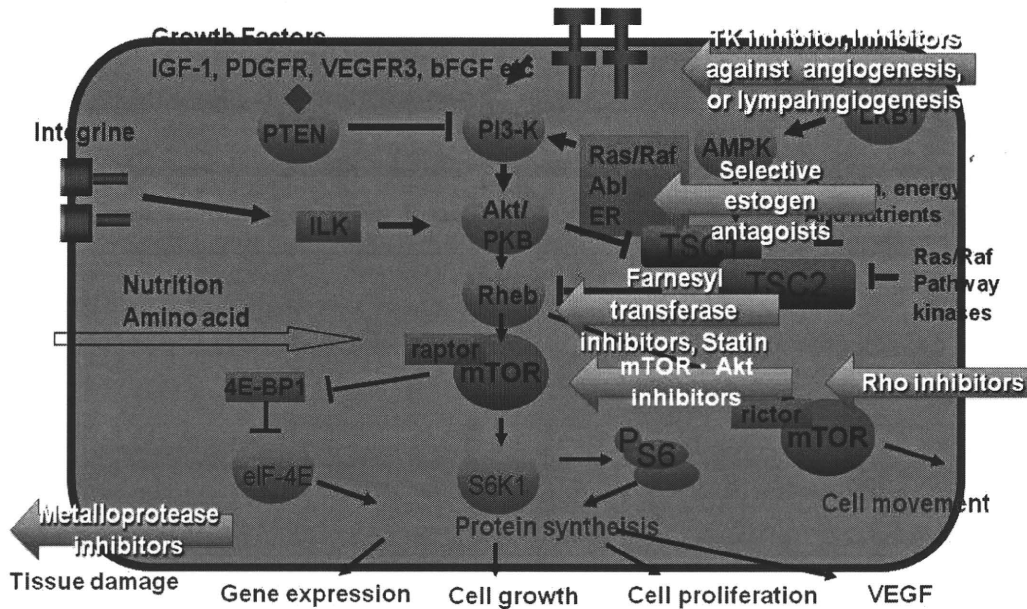


図2. LAM細胞におけるmTORタンパクのシグナル伝達経路：点変異を起こした癌抑制遺伝子TSC1/TSC2がコードしているツベリン・ハマルチンの異常によりmTORの制御が障害されている。黄色で示しているのが、治療標的の候補である。ツベリンおよびハマルチンは結合して複合体になり、Rhebと呼ばれる中間Gタンパク質を介して、Akt経路のキナーゼmTOR（哺乳動物におけるシロリムスの標的）の主要な調節因子として機能する。正常なツベリン/ハマルチン複合体は、Rhebを不活性非リン酸化状態（Rheb-GDP）に維持する。Aktによるツベリンリン酸化はツベリン/ハマルチン複合体のGAP活性を不活性化し、解離を引き起こす。その結果Rheb-GTPが増え、mTORを介してS6までの下流標的および開始因子抑制剤である4E結合タンパク質（4E-BP1）が活性化される。結節性硬化症やLAM患者に発生するツベリンまたはハマルチン欠如、または機能不全をもたらす遺伝子突然変異は、S6Kおよび4E-BP1の構造的活性化ならびに増殖調整機能欠如を誘発する。

のAkt経路シグナリング阻害剤が最も有望である。シロリムスはFK-506結合タンパク質12（FKBP-12）に結合し、mTORを阻害する。実際、シロリムスは結節性硬化症モデルバエに投与すると細胞の大きさの異常を元に戻したり、また、結節性硬化症モデルラットならびにマウスに投与すると癌の成長を遅らせることが明らかになっている。

#### 4) シンシナティで行われたI・II相試験（CAST Trial）

以上を根拠として、腹部血管筋脂肪腫を有するLAM患者を対象に2003～2006年にシロリムスのI・II相試験が行われた。シロリムスが6ヶ月以上投与された患者における腎血管筋脂肪腫は、6ヶ月で平均15%（n=9）、12ヶ月で35%（n=2）と、月平均で約2.5%退縮した。臨床試験開始時

に肺機能異常（FEV<sub>1</sub>が予測量の80%未満）があり、投与期間が6ヶ月以上であったLAM患者7例におけるFEV<sub>1</sub>は平均154±139cc改善し、FVCは平均561±307cc改善した（図3）。

全肺気量の有意変化を伴うことなく残気量が予測量で平均47%減少した。患者の約半数に口腔内潰瘍形成（用量減量または休薬日設定で対処）および約3分の1に治療を要する血清中脂質濃度上昇が認められた。短期入院（いずれも3日以内）4例のうち1例が飲食困難な口腔内潰瘍形成、1例がシロリムス投与中に治癒した市中肺炎、下痢症が2例あった。気管支炎および上気道感染数例でシロリムス投与を一時中断したが、日和見感染やシロリムス肺臓炎に一致するような肺浸潤影は認められていない。

- ・ シンシナティで行われたシロリムスによる I・II 相試験 (2003-2005年)
- ・ 11例で肺機能を評価
- ・ シロリムス投与中腫瘍の縮小。

- ・ いくつかの指標 (一秒量、努力肺活量、残気量、AMLのサイズ) はシロリムス中止後も改善が継続
- ・ シロリムスの危険と利益についてさらなる検討が必要。

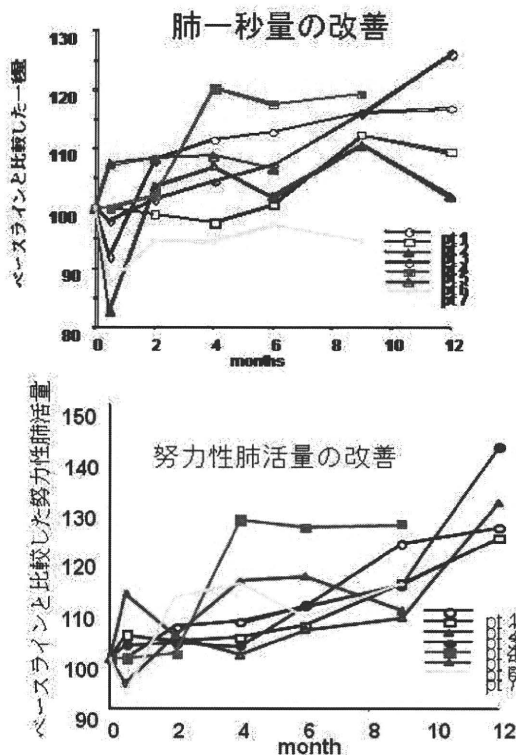


図3. シンシナティで行われた I・II 相試験

## B. 研究方法

### 1. MILES 試験の試験実施組織

シロリムス (rapamycin) は欧米を中心に世界で移植後の免疫抑制剤として認可され、汎用されているが、免疫抑制以外に抗腫瘍剤としても最近注目されている。LAM に対しても、上述したように抗腫瘍効果が期待できる。本試験は、第III相国際共同施設臨床試験である。日米加3ヶ国において120症例を治療登録する。試験の主任研究者は、シンシナティ大学 Medical Center Frank McCormack MD で、図6および表1に示す11施設が参加している。試験全体のプロジェクトマネージャーが各施設の臨床試験の立ち上げを支援し、文書整備、スタッフ教育、実施体制の審査を行っている。試験薬剤は、シンシナティ小児病院の中央薬剤部が白箱 (実薬と偽薬のセット) を管理し、各試験施設に発送している。シロリムスの血中濃度 (トラフ値) は、シンシナティ小児病院の中央検査部が各施設から送付された検体を中央で測定する。各施設はプロトコルに準じて試験

を実施し、データは全て WEB 上で入力し (図7)、フロリダにある Data Technology Coordinating Center (DTCC) がデータの収集と解析を行う。DTCC は、スタッフ教育のためのビデオを配信するほか、プロトコルや手順書などの配信、インターネットを利用した会議なども行っている。有害事象やプロトコルの齟齬など、試験全体の安全性や実施体制の審査は NIH にある Data Safty Monitoring Board (DSMB) が行っている。我が国の試験体制としては、新潟大学と近畿中央胸部疾患センターが独立して、試験を実施するが、そのプロジェクトマネジメント (たとえば、プロトコル変更の IRB 申請手続きや Site Initiation の手続き、データモニタリング、文書整備) はシミック株式会社がそれぞれと契約してサポートしている (図8)。

### 2. MILES 試験のプロトコルの概要

1) 症例選択: 以下の a~d を満たす患者を被験者として組み入れる。

a. 肺、腹部腫瘍、リンパ節または腎臓からの生検による、胸部または腹部由来の細胞が細胞診

### Multicenter International LAM Efficacy of Sirolimus Trial 医師主導の国際多施設共同臨床試験

- ★目的：リンパ脈管筋腫症患者を対象にシロリムスの有効性と安全性を調べる。
- ★第Ⅲ相並行群間二重盲験試験
- ★エントリー期間は2007～2009年、後観察を含めて全試験期間4年
- ★投薬1年、後観察1年
- ★目標症例数は120例（我が国の目標30例）中間解析 50例
- ★Data and Technology Coordinating Center (DTCC)  
フロリダにある。MILES trialの全データと有害事象はWeb上でここに集められる。
- ★データと安全性のモニタリング部門 (DSMB) NIHにある。実施計画書、同意説明書、モニタリング計画、及び登録前の訪問表を審査し、NIHと関係スポンサーにアドバイスし、評価項目を調べ、継続か終了か修正かをNIHに勧告する。
- ★主要評価項目：治療開始前後の呼吸機能検査で一秒量の改善



図 4

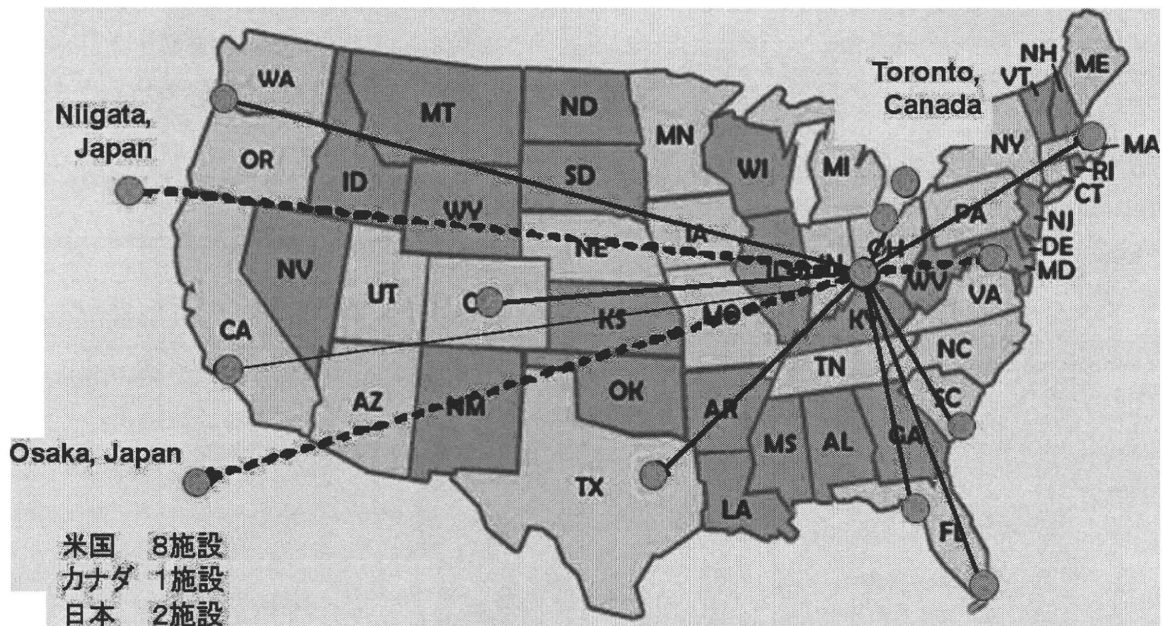


図 6. MILES Trial の実施施設

で紡錘形あるいは類上皮細胞があり、 $\alpha$ -SMA 陽性+HMB45 陽性、あるいは  $\alpha$ -SMA 陽性+ER か PR のいずれか1つでも陽性、かつ LAM

に一致する胸部 CT スキャンの所見。

b. LAM に一致する胸部 CT 所見があり、結節性硬化症の患者または血管筋脂肪腫の患者（以

表 1. 試験参加施設と試験実施のための体制

主任研究者：Frank McCormack, M.D., シンシナティ大学 Medical Center, プロジェクトマネージャー：Leslie Corby

• 臨床試験実施施設:

1. Oregon Health & Sciences University
2. National Jewish Medical & Research Center
3. Harvard/Brigham & Women's Hospital
4. University of Texas Health Center
5. Cleveland Clinic Foundation
6. Medical University of South Carolina
7. Cincinnati Children's Medical Center
8. University of Florida, Gainesville
9. 新潟大学医歯学総合病院
10. 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
  - Cincinnati Children's Medical Center 中央薬剤部
  - 11. National Institutes of Health
  - 12. University of Toronto
  - 薬剤の中央管理と送付
  - シロリムス血中濃度測定
  - Cincinnati Children's Medical Center 中央検査部
  - データマネジメントとスタッフ教育ビデオ配信・患者無作為割付

Data Technology Coordinating Center, Tampa, Florida

- 安全性の審査とデータモニタリング

Data Safty Monitoring Board, NIH

日本の臨床試験のプロジェクトマネジメントとモニタリング：シミック株式会社

上は施設の放射線科医によって CT, MRI で診断されているかまたは生検によって診断されている

こと)。

c. 胸部 CT の所見が LAM (2名の放射線科医によって確認されていること) と一致し, かつ 1 回でも血清 VEGF-D 値  $\geq 800$  pg/ml であること。

d. ベースライン来院時の気管支拡張薬投与後の予測 1 秒量が 70% 以下である患者 (LAM の診断基準が生検に基づく場合, 近畿中央胸部疾患センター病理部北市正則病理医による病理試料の審査を受ける (以前に審査を受けていない場合))。

2) 除外基準: 以下に示す患者は被験者には組み入れなかった。

a. アテローム性動脈硬化症にともなう心筋梗塞, 狭心症または脳卒中の既往歴のある患者。

b. 妊娠または授乳中または今後 2 年間に妊娠を計画している患者

c. 不適切な避妊<sup>2)</sup>をしている患者

d. 重大な血液異常または肝機能異常 (すなわち正常範囲上限の 3 倍を超えるトランスアミナーゼ, ヘマトクリット 30% 未満, 血小板  $80,000/\text{mm}^3$  未満, 好中球絶対数  $1,000/\text{mm}^3$  未満, 総白

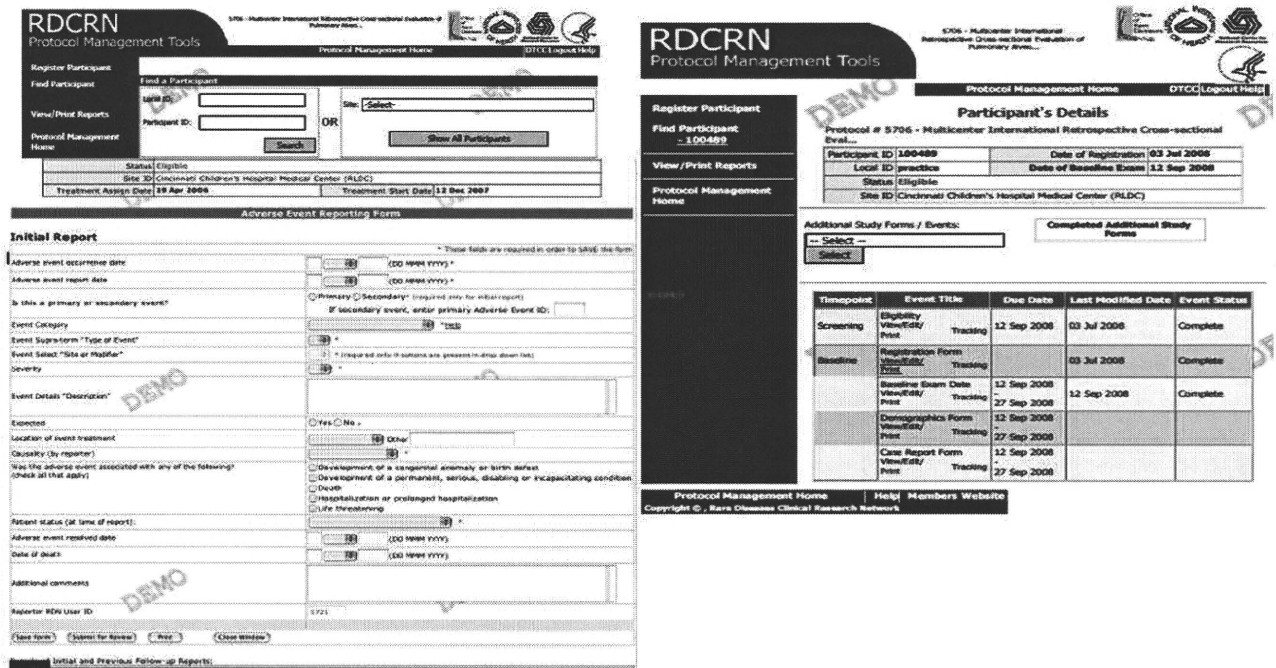


図 7. MILES Trial の EDC system

### 稀少疾患臨床研究ネットワーク: 稀少肺疾患コンソーシアム



シンシナティこども病院(米国、オハイオ、シンシナティ): 試験本部 プロトコール作成・変更 契約

データ技術コーディネーターセンター(米国、フロリダ、タンパ): 試験データの収集・解析 Web training

データセーフティモニタリングボード(米国、NIH): 試験データの安全性の監視

LAM財団: 患者のリクルート、交通費援助

米国、カナダ参加施設: 試験の実施、データ送信

米国Parexel: データモニタリング

新潟大学医歯学総合病院 生命科学医療センター・Hyclips (SMO): 試験の実施

NHO近畿中央胸部疾患センター・治験管理室: 試験の実施

J-LAMの会: 患者リクルート、情報発信

CIMIC(株): 国際共同研究CRO、データモニタリング、プロトコールマネジメント

RHC, USA (株): 試験薬の輸入

図8. MILES 試験参加施設の役割

血球数  $3,000/\text{mm}^3$  未満) の患者

- e. 試験薬投与開始時の感染合併のある患者
- f. 試験薬投与開始2ヶ月以内の手術(体腔内への侵襲または縫合を要する手術。生検を含む)をした患者
- g. 過去30日以内の臨床試験薬を使用した患者
- h. コントロールされていない高脂血症を有する患者
- i. 肺移植を受けたことがある、または肺移植リストにアクティブ(待機中)の場合
- j. 予定されている来院日に来院が不可能な患者  
クレアチニンが  $2.5 \text{ mg/dl}$  を超える患者
- k. 横隔膜機能に影響する乳び性腹水を有する患者(実施施設の臨床試験責任医師の意見に基づく)
- l. 肺機能に影響する胸水を有する患者(一般的に  $500 \text{ cc}$  を超えるもの)(臨床試験実施施設の臨床試験責任医師の意見に基づく)
- m. インフォームド・コンセントの文書に同意が得られない患者
- n. 肺機能検査が実施できない患者
- o. 過去2ヶ月以内の急性気胸を有する患者
- p. 過去2年間のがん既往歴を有する患者。ただ

し皮膚の扁平上皮癌または基底細胞癌を除く。

- q. エストロゲンを含む薬剤を使用する患者<sup>3)</sup>
- r. シロリムスにアレルギーを起こす患者

#### 3) 実施期間

1年間のシロリムス投与を行い、2年にわたり肺機能検査および6分間歩行試験を繰り返す。visitごとに、肺活量、肺気量およびDLcoを含む全肺機能検査を実施する。

2007年3月にシンシナティ小児病院でエントリーが始まり、2009年8月に登録終了するが、2010年8月に全エントリー被験者が1年間の服薬を終えたところで終了し、最終解析する。結果は同年10～11月に公表される。試験本部は2010年12月まで開いている。

#### 4) 来院スケジュール

最大FEV<sub>1</sub>値を含む肺活量測定値をベースライン値とする。以下に来院スケジュールを示す。

#### 5) 投薬と用量調節の方法

1日2錠(1錠にシロリムス1mgを含む)を投与する。患者にシロリムスの副作用を説明し、副作用と併用禁止薬が記載されている薬剤情報シートを渡す。シロリムス服用期間中は3週で、少なくとも3ヶ月おきにシロリムス血中濃度を血



液をシンシナティ小児病院に送ってモニタリングし、目標濃度 5～15 ng/ml が維持されていることを確認する。18ヶ月および24ヶ月時点でもシロリムス濃度を調べ、この期間にシロリムスを服用していないことを確認する。施設臨床試験医師および実施施設の全てのチームメンバーには、患者がどちらの試験薬の投与に割り付けられたかを知らせない。シロリムス群患者 1 例で用量調整を行う毎に、プラセボ群患者 1 例でも同様の調整を行う。3 週後およびそれ以降については1.5ヶ月ごとに、日和見感染、免疫抑制、発疹/過敏症、口腔内潰瘍、高脂血症、肺臓炎および血小板減少症といったシロリムス副作用の徴候および症状について注意深く監視する（電話連絡または来院で）。1 年目には3ヶ月毎（肺活量のみ9ヶ月目に測定）、2 年目には6ヶ月毎に肺機能検査を実施する。高脂血症については、American Heart Association ATPⅢガイドラインに従い、リスク因子に

基づき必要に応じた食事療法または薬物療法にて治療する。目標血漿中濃度を 5～15 ng/ml としたのは、確実な有効用量使用のためであり、この濃度は移植患者における一般治療範囲と見なされる。5～15 ng/ml 範囲外の場合には、DTCC が実施研究チームに被験者への試験薬用量の調整と、シロリムスレベルの再検査を用量調整後 1 週間（+/- 2 日）以内に実施するよう通知が本部より来る。

（倫理面への配慮）

本研究は GCP に準拠して実施されている。

\* 治験開始前に、プロトコールは、FDA, NIH の審査を受け改訂され、さらに新潟大学と近畿中央胸部疾患センター IRB の審査を受けた。

\* 本研究においては、患者名は、匿名番号化し、検体および情報全て番号をもって取り扱うようにする。番号と患者名の照合は、主治医のみが知りうるようにする。

表 2. 来院スケジュール

項目	Baseline 1	Baseline 2	3 週	3 ヶ月	6 ヶ月	9 ヶ月	12 ヶ月	18 ヶ月	24 ヶ月
Visit (来院番号)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
CRC から被験者への電話連絡	1, 6, 19, 32, 45, 65, 91, 108週後								
ベースライン以降のすべての Visit (来院) は患者が試験薬の服用を開始した日 (week 0) からカウントする。									
病歴調査および身体検査	X		X	X	X	X	X	X	X
肝・腎機能および血糖の血液検査	X	X	X	X	X	X	X	X	X
尿およびアルブミン/クレアチニン比の検査	X	X	X	X	X	X	X	X	
尿妊娠検査		X	X	X	X	X	X	X	X
空腹時脂質プロファイル検査		X	X	X	X	X	X	X	X
血算, 白血球分画	X		X	X	X	X	X	X	X
胸部レントゲン写真 (正面と側面)	X					X	X	X	X
定量胸部 CT	X								X
シロリムス血中濃度測定				X	X		X		X
6 分間歩行とオキシメトリー	X		X	X	X	X	X	X	X
精密肺機能検査 (スパイロメトリー, 肺活量, DLco)	X	X		X	X		X	X	X
簡易肺機能検査 (スパイロメトリー)					X				
セントジョーンズ呼吸アンケート (SGRQ)	X			X			X		X
SF36	X			X		X			X
FPI/GWB	X			X	X		X		X
呼吸困難, 疲労, ユーロ QOL のスケール	X		X	X	X	X	X	X	X
血清と血漿の保存	X				X	X	X	X	X

\*本試験の開始にあたり、試験は全担当医師は被験者本人に対し、試験内容を十分に説明し、本試験への参加について文書により被験者本人の自由意志による同意を取得する。また、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるとき、重篤な有害事象が発生したときには、速やかに被験者に情報を提供し、試験等に参加するか否かについて被験者の意志を再度確認するとともに、事前に治審査委員会の承認を得て同意文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。

### 説明項目

- ①臨床試験の目的および方法
  - ②予期される効果およびその内容
  - ③他の治療方法の有無およびその内容
  - ④臨床試験への参加に同意しない場合であっても不利益は受けないこと
  - ⑤臨床試験への参加に同意した場合でもいつでもこれを撤回できること
  - ⑥その他、人権の保護に関する配慮
  - ⑦薬剤および検査に関わる費用について
  - ⑧予期せぬ副作用に対する処置、健康被害が発生した場合の治療および補償について
  - ⑨臨床試験担当医師の氏名および連絡先
- \*治療にあたっては、従来の治療では回復困難であることを主治医と研究者全員で確認の上、主治医が患者に本治療の方法、研究的側面、検査の方法を説明の上、承諾を得る

## C. 研究結果

### 1. 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センターと近畿中央病院胸部疾患センターが SITE ACTIVE になるまでの道のり

1999年、特発性肺胞たんぱく症の気管支肺胞洗浄液中に高濃度の抗 GM-CSF 自己抗体の存在を発見し、そのことがきっかけで、中田とシンシナティ小児病院研究財団肺生物学分野の Bruce Trapnell 教授の共同研究が始まり、2003年に米国シンシナティに肺希少疾患コンソーシアム

(RLDC) が同教授らにより結成されると、我が国の代表として、中田と井上が選ばれた。ついで、2006年3月にシンシナティで行われた RLDC の総会において、LAM の国際共同多施設共同臨床試験 (MILES) の開始が決議され、日本のサイトとして新潟大学と近畿中央胸部疾患センターが指定された。帰国後、中田と井上は、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) を訪ね、MILES 試験を我が国でも治験申請できないかと相談した。オーファンドラッグ制度による我が国単独の治験申請薬事承認を目指し、シロリムスの製造販売元であるワイス(株)と交渉したが、日本ワイスは本件に決定権はなく、また、米国本社は日本における治験申請、薬事承認、販売の意志がないということだった。その後、シロリムスと同等の薬効が確認されているエヴェロリムスの製造販売元であるノバルティス社と交渉したが、結果は全く同じであった。そこで、PMDA と相談しつつ、2006年8月までに新潟と近畿の自主臨床試験として MILES 試験に参加することを決定し、主任研究者の Frank McCormack 医師に伝え、同医師が日本の MILES trial の治験届けを FDA に提出することが決まった。

新潟の医師4名、CRC1名、近畿の医師5名が参加してプロトコルの翻訳を開始、2006年9月まで翻訳を終了、ただちにバックトランスレートを実施し、本部と DTCC に送り、修正と承認を受けた。ついで、2006年12月より作業手順書 (Manual of Operations) の翻訳を開始し、2月末までにほぼ終了した。2007年5月に大阪で LAM 患者さん向けの第一回 MILES 試験説明会が開かれ、肺希少疾患コンソーシアム主催者の Bruce C Trapnell 教授、MILES trial 主任研究者 Frank McCormack 教授が来日して試験への参加を患者に呼びかけた。修正済みの日本版プロトコルは、2007年7月に近畿と新潟の IRB で承認された。同時に MILES 試験のスタッフの倫理教育、プロトコルトレーニングが開始された。ついで、プロジェクトマネジメントとモニタリング

を担当する CRO の契約交渉が始まり、入札の上、シミック株が契約することとなった。シミックの介入により、MOO など、書類の整備が進み、シンシナティにある試験本部のプロジェクトマネージャーの Site Initiation Visit の準備が進んだ。2007年11月1日に新潟、2日に近畿のプロジェクトマネージャー Mathew Hodgison による Site Initiation Visit が行われ、書類のチェック、スタッフの Training、薬剤管理の監査が実施された。ついで、11月25日から30日の間、主任研究者中田、分担研究者：井上、分担研究者：中山らは、シンシナティ小児病院本部を訪問し、試験手順についてトレーニングを受けた。2007年12月13日に主任研究者 Frank McCormack が来日し、試験本部およびワイス（薬剤提供元）との契約について話し合いがもたれた。また、大阪において第二回目の患者向け MILES 試験説明会、名古屋、

東京でも患者会で、試験への参加を呼びかけた。

米国では、LAM 患者会である LAM Foundation が MILES 試験に参加する被験者の旅費・宿泊費を援助しているが、これは、患者が交通費やホテルの領収書を LAM Foundation に送り、請求する仕組みになっている。我が国では、語学の問題や領収書を翻訳しなければならないなど、困難があるので、概算額を新潟と近畿が試験本部より入金してもらい、そのストックの中から、患者の請求に応じて支払うという方法を採用することとなった。このため、新潟大学本部、近畿中央病院事務がシンシナティ小児病院との間で契約文書を取り交わし、2008年2月に契約が成立した。

米国内の試験参加施設への試験薬の提供は、ワイスから実薬・偽薬を提供されたシンシナティ小児病院の薬剤部が、白箱を作製し、ラベリングして発送することになっている。しかし、同薬剤部

### 国際共同臨床研究の実績 日米加によるリンパ脈管筋腫症に対するラパマイシン療法 国際共同臨床試験を動かす仕組み サイトオープンまで

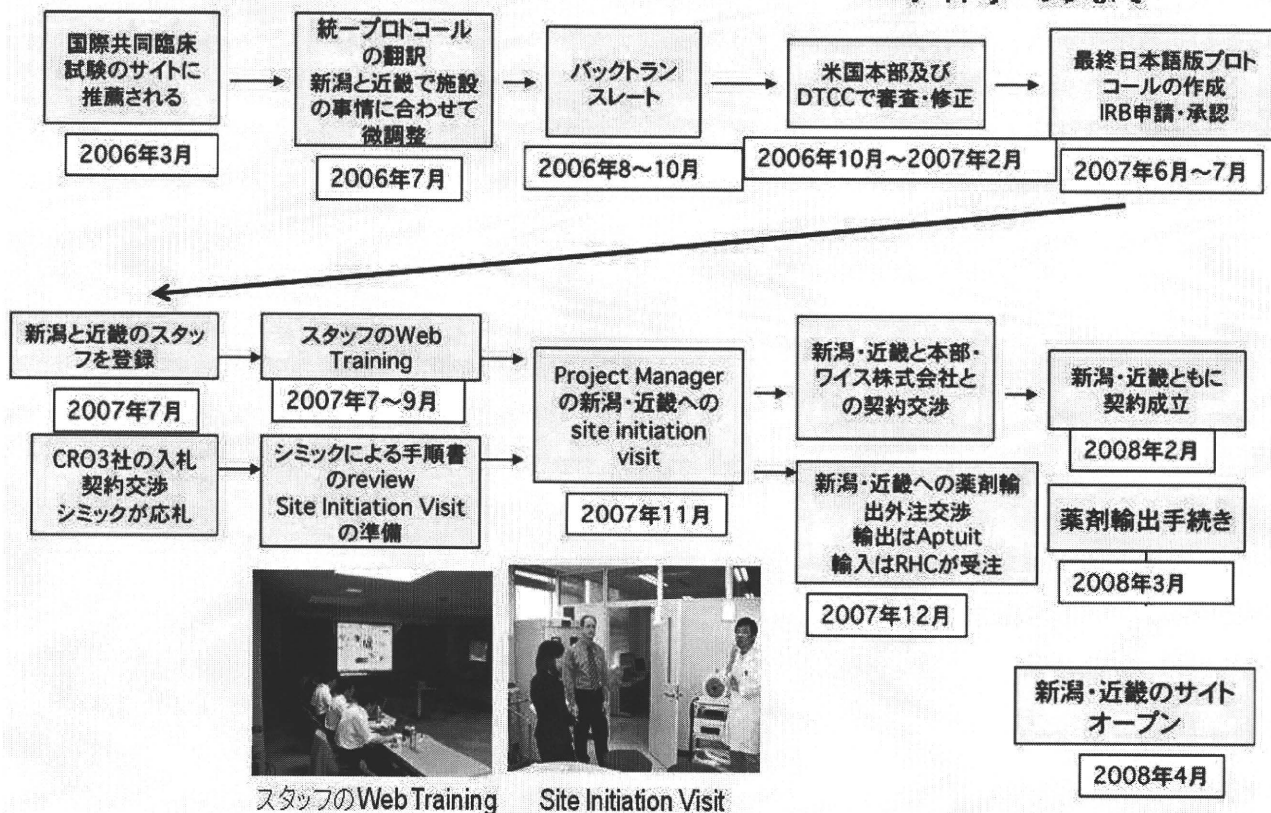


図9. 新潟大学と近畿中央胸部疾患センターが Site Active になるまでの長い道のり

は、日本とカナダへの薬剤輸出は、できないため、試験本部が輸出代行会社 (Aptuit) に輸出手続きを委託し、同社が成田までの輸送を担当することとなった。その交渉と契約は2007年12月に開始され、2008年3月に成立した。

こうして Site active になるための全ての要件はを満たし、新潟と近畿が同時に2009年4月29日に active site となった (図9)。

### 1) 試験の経過

2007年3月に MILES 試験は、シンシナティ小児病院メディカルセンターで第1例がエントリーされ、開始された。以後、2009年1月までに10施設が順次オープンした。我が国では試験に先立って、2007年12月末にホームページ上に MILES trial の被験者募集を開始し、患者向けのリーフレットも LAM 患者の診療を行っている主な病院に配布した。患者の主治医と頻繁に連絡を取り、試験参加を希望する患者からの連絡が増え、2008年5月に新潟が、6月に近畿が被験者を登録し、試験がスタートした。以来、順調に症例組み入れが進み、2009年8月10日の登録終了の時点で、新潟が6例、近畿が22例登録された (選択基準を満たした被験者はこのうち、5、22例)。日米加3カ国では、119例が組み入れられていることから、我が国の被験者数は、全体の4分の1を占める (表3)。

### 2) MILES 試験の有害事象

有害事象は、EDC により DTCC へ送信される。Grade III 以上の有害事象は、e-mail で試験本部に送信され、直ちに全施設に配信される。新潟と近畿の有害事象は、図10に示すとおりで、2008年5月から2010年2月まで299件が報告された。うち、入院を要した有害事象は、新潟と近畿で市中肺炎1例ずつ、近畿で気胸が1例であった。いずれも、試験薬投与を中止し、治療により回復した。その後、試験薬を再開した。また、近畿の grade III の頭痛症例 (日常生活に支障を来すような高度な頭痛) 2件 (同一症例) が報告された。長期の薬剤中止に至った症例はない。頻度の多い

表3. 各サイト組み入れ症例数最終

	Cumulative
Cincinnati Children's Hospital Medical Center	25
Cleveland Clinic Foundation (RLDC)	5
Harvard University & Brigham Women's Hospital (RLDC)	3
Medical University of South Carolina	11
National Jewish Medical & Research Center	2
Oregon Health and Science University	6
University of Florida Medical Center (RLDC)	6
NHO Kinki-Chuo Chest Medical Center	22
National Heart, Lung, and Blood Institute (National Institutes of Health)	19
Niigata University Medical & Dental Hospital	5
University of Texas Health Center	5
University of Toronto/Toronto General Hospital	9
Total	119

有害事象は、口内炎、感染、下痢、皮疹の順であった。

海外からの有害事象報告として、2009年2月にニューヨーク市のコロンビア大学病院において、試験の被験者が心膜炎から心タンポナーデ (grade IV) を発症していることが発見され、CCU に入院、穿刺排液術とステロイド投与を受け、回復した。この詳細は、DTCC より、全試験施設に配信され、新潟と近畿の IRB に報告された。また、全被験者に文書と電話により通知された。最も懸念されたシロリムス肺臓炎は、全施設を通じてこれまで報告されていない。

### 3) 最終解析結果

MILES 試験の参加施設の site activation の作業が遅れ、試験が開始されてから、2年経過して漸く11施設全てが site active となった。しかし、その後エントリー数が増え、登録締め切り時には、ほぼ目標症例数 (120例) を達成する111例が登録された。2010年9月初旬に投薬は終了し、10月にデータロック、11月に DTCC による解析が行われ、有効症例数全89例のうち、46名が実薬群、43名が偽薬群であり、その下に主要評価項目の FEV<sub>1</sub> slope が実薬群は +2 ml/月、偽薬群 -12 ± 2 ml/月と有効性が確認された (P<0.0001)。