

201324073A

厚生労働省難治性疾患克服研究事業

『難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、
オスラー病）』に関する調査研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 井 上 義 一

平成 26 年 5 月

厚生労働省難治性疾患克服研究事業

『難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、
オスラー病）』に関する調査研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 井 上 義 一

平成 26 年 5 月

平成 25 年度 厚生労働省難治性疾患克服研究事業

『難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、オスラー病）』に関する調査研究班

目 次

研究班組織（平成 25 年度）	1
I. 総括研究報告書	井上 義一 3
II. 分担研究報告書	
1. 難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、オスラー病）に関する調査研究	中田 光 26
2. 遺伝性出血性末梢血管拡張症（オスラー病）における肺動静脈奇形と肝動静脈奇形に関する研究	塩谷 隆信 32
3. 肺胞蛋白症の全肺洗浄方法の改良に関する研究	山口 悦郎 39
4. 遺伝性間質性肺疾患/先天性間質性肺疾患（HILD）に関する研究	瀬戸口靖弘 41
5. 洗浄肺を上にした側臥位で全肺洗浄法を行った自己免疫性肺胞症の 2 例	一和多俊男 45
6. 転写因子 Bach2 の肺胞恒常性維持の役割とその欠損による肺胞蛋白症様病態	海老名雅仁 他 51
7. 遺伝性間質性肺疾患の診断に関する研究	長 和俊 59
8. オスラー病の遺伝子解析	森崎 裕子 61
9. 肺胞蛋白症の GM-CSF 吸入治療に関する研究 —治療後の予後の解析と吸入治療薬開発の前臨床試験に関する検討—	田澤 立之 他 64
10. 続発性肺胞蛋白症における肺洗浄の有効性に関する研究	石井 晴之 71
11. 全肺洗浄における麻酔法の確立に関する研究	内田 寛治 74
12. 蛋白アレイ法を用いた自己免疫性肺胞蛋白症の自己抗体解析に関する研究	木田 博 78
13. Hermansky-Pudlak 症候群の肺線維化病変に関する研究 —Hermansky-Pudlak 症候群と特発性肺線維症(IPF/UIP)の肺病変の外科的肺生検と剖検検体での比較的検討—	北市 正則 81
14. 肺胞蛋白症吸入 GM-CSF 療法の HRCT による評価に関する研究	審良 正則 85

15. 自己免疫性肺胞蛋白症の全身麻酔下全肺洗浄における 体位変換による血液ガス所見の変化……………	新井	徹	87
---	----	---	----

III. 研究報告書

1. 自己免疫性肺胞蛋白症における分泌型 IgA タイプ GM-CSF 自己抗体の同定 ……………	中田	光 他	91
2. 次世代シーケンサーを用いた GM-CSF 自己抗体可変部 CDR2、CDR3 領域の解析 ……………	中田	光 他	95
3. 肺洗浄時の肺胞洗浄液中物質移行を予測する数理モデルに関する研究…	中田	光 他	101
4. シアリル化糖鎖修飾がサイトカインの生物活性に及ぼす影響について…	中田	光 他	104
5. 遺伝性出血性末梢血管拡張症（オスラー病）における肺動静脈奇形に関する研究 ……………	塩谷	隆信 他	109
6. 全肺洗浄時に洗浄肺上とする体位と気管内チューブカフ圧自動調整の意義 ……………	山口	悦郎	113
7. 全肺洗浄時の回収液濁度測定の意義 ……………	山口	悦郎	115
8. Surfactant protein C(SP-C)遺伝子変異を有する間質性肺炎の特徴 遺伝性間質性肺疾患/先天性間質性肺疾患（HILD）に関する研究 ……	瀬戸口	靖弘	117
9. 洗浄肺を上にした側臥位で全肺洗浄法を行った自己免疫性肺胞症の2例 — 全肺洗浄方法指針試案の作成 — ……………	一和多	俊男	123
10. Runx1 欠損マウスにおける抗 GM-CSF 抗体陰性 肺胞蛋白症類似病変に関する研究……………	海老名	雅仁 他	128
11. 遺伝性間質性肺疾患の診断に関する研究……………	長	和俊 他	131
12. 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子受容体 α 鎖変異による 成人発症先天性肺胞蛋白症 ……………	田澤	立之 他	134
13. 続発性肺胞蛋白症が骨髄異形成症候群の予後に与える影響に関する研究 ……………	石井	晴之 他	137
14. 全肺洗浄における麻酔法の確立に関する研究 ……………	内田	寛治 他	141
15. 蛋白アレイ法を用いた自己免疫性肺胞蛋白症の自己抗体解析に関する研究 ……………	木田	博 他	143
16. Hermansky-Pudlak 症候群の肺線維化病変に関する研究 —Hermansky-Pudlak 症候群と特発性肺線維症(IPF/UIP)の 肺病変の外科的肺生検と剖検検体での比較検討—……………	北市	正則 他	146
17. GM-CSF 吸入試験における HRCT 画像の解析（第1報） ……………	審良	正則 他	149
18. 自己免疫性肺胞蛋白症の全身麻酔下全肺洗浄における 体位変換による血液ガス所見の変化 ……………	新井	徹 他	151

19. 肺胞蛋白症と診断された自己抗体陰性の症例についての解析	巽 浩一郎 他	154
20. 生体肺移植を行った遺伝性肺胞蛋白症の臨床経過と剖検所見	森本浩之輔 他	158
21. 波長分散型電子線マイクロアナライザーを用いた自己免疫性肺胞蛋白症の元素分析	高田 俊範 他	161
22. IVR 診療に紹介される肺動静脈奇形患者におけるオスラー病保有と 奇異性脳塞栓症の頻度に関する研究	大須賀慶悟	163
23. 東日本大震災後に自己免疫性肺胞蛋白症と診断された 4 例	大河内眞也 他	166
24. PPFЕ～IPF、CPFE との比較を交えて	林 宏紀 他	170
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表		171

『難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、
オスラー病）』に関する調査研究班（平成25年度）

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	井上義一	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、 臨床研究センター、呼吸不全・難治性肺疾患研究部	部長
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・センター長
	塩谷隆信	秋田大学大学院医学系研究科保健学専攻	教授
	山口悦郎	愛知医科大学医学部内科学講座、 呼吸器・アレルギー内科	教授
	瀬戸口靖弘	東京医科大学、呼吸器内科	教授
	一和多俊男	東京医科大学八王子医療センター、呼吸器内科	教授
	海老名雅仁	東北薬科大学病院	呼吸器センター長 (兼)難治性呼吸器疾患研究部長
	長 和俊	北海道大学病院	診療教授
	森崎裕子	国立循環器病研究センター分子生物学部室長・ 臨床遺伝	室長
	田澤立之	新潟大学医歯学総合病院、生命科学医療センター	准教授
	石井晴之	杏林大学医学部附属病院、呼吸器内科学	講師
	内田寛治	東京大学医学部、麻酔科	助教
	木田 博	大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー 内科学講座・呼吸器内科学	助教
	北市正則	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、 臨床検査科	部長、臨床研究センター室長
	審良正則	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、放射線科	部長、臨床研究センター室長
新井 徹	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、内科	医長、臨床研究センター室長	
研究協力者	萩原弘一	埼玉医科大学、呼吸器内科	教授
	巽浩一郎	千葉大学医学部、呼吸器内科	教授
	吾妻安良太	日本医科大学内科学講座、呼吸器・感染・腫瘍部門	教授
	藤本圭作	信州大学医学部保健学専攻	教授
	井上博雅	鹿児島大学大学院医歯学総合研究所呼吸器内科	教授
	富井啓介	神戸市立医療センター中央市民病院、呼吸器内科	部長
	南須原康行	北海道大学病院、医療安全管理部	准教授

大阪府立総合医療センター、脳神経外科
 研究協力者

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究協力者	小宮山雅樹	大阪市立総合医療センター、脳神経外科	部長、兼、脳血管内治療科部長
	森本浩之輔	長崎大学病院、感染症内科（熱研内科）	准教授
	高田俊範	新潟大学大学院、医歯学総合研究科	准教授
	中山秀章	東京医科大学病院、呼吸器内科	准教授
	大須賀慶吾	大阪大学大学院医学系研究科、放射線医学講座	講師
	大河内真也	東北大学大学院医学系研究科、呼吸器病態分野	助教
	西田武生	地方独立行政法人 堺市立病院機構 市立堺病院、 脳神経外科	副院長

総括研究報告書

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
総括研究報告書

『難治性稀少肺疾患（肺胞蛋白症、先天性間質性肺疾患、オスラー病）に
関する調査研究』班
（課題番号 H24－難治等（難治）－一般－035）

研究代表者 井上義一

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長

研究要旨

肺胞蛋白症 (PAP)

- (1) PAP 診断と治療指針の検証と確認、情報発信。
- (2) PAP 予後調査による難治化要因解明。5 年以上経過を追えた 100 例の全国調査。特に、環境（職歴）と関連が示唆された。
- (3) 新たな PAP 非侵襲的診断法の実用化。保存血清による CYFRA、KL-6、SP-D、他網羅的サイトカイン、自己抗体等の血清バイオマーカー測定。自己抗体の基礎的解析。
- (4) 自己免疫性 PAP に対する GM-CSF 吸入療法実用化に向けた準備。治験実施に向けた基盤整備。
- (5) 全肺洗浄法の標準化と検証、アンケートと麻酔科と呼吸器内科合同ワークショップを開催した。
- (6) 続発性 PAP の疫学調査、標準的診断治療法の確立。血液内科と合同症例検討会の開催。
- (7) 自己免疫性 PAP、網羅的遺伝子解析の準備。GWAS を進めるため検体収集等の基盤整備。
- (8) 抗 GM-CSF 自己抗体以外の自己抗体開発と基礎的研究実施。
- (9) PAP 勉強会開催（大阪）とホームページの更新。

遺伝性出血性末梢血管拡張症、オスラー病 (HHT)

- (1) HHT の遺伝子疫学、責任遺伝子に関する研究を実施。
- (2) HHT 診療拠点病院システムの整備。
- (3) HHT 勉強会開催、HHT 患者会設立と支援を実施。

遺伝性/先天性間質性肺疾患 (HILD)

- (1) 診療照会システム、登録システム樹立。
- (2) HILD、成人発症先天性 PAP の解析(SP-C 遺伝子、GM-CSFR 遺伝子他)。

研究分担者氏名(所属機関名・職名)

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・センター長)、塩谷隆信(秋田大学大学院医学系研究科保健学専攻教授)、山口悦郎(愛知医科大学医学部内科学講座、呼吸器・アレルギー内科教授)、瀬戸口靖弘(東京医科大学、呼吸器内科教授)、一和多俊男(東京医科大学八王子医療センター、呼吸器内科教授)、海老名雅仁(東北薬科大学病院、呼吸器センター長)、長和俊(北海道大学病院、周産母子センター、診療教授)、森崎裕子(国立

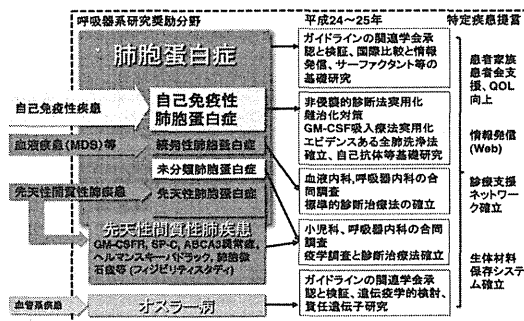
循環器病研究センター分子生物学部・臨床遺伝、室長)、田澤立之(新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター、准教授)、石井晴之(杏林大学医学部附属病院呼吸器内科学講師)、内田寛治(東京大学医学部、麻酔科、助教)、木田博(大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー内科学講座、助教)、北市正則(国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床検査科長・臨床研究センター研究室長)、審良正則(国立病院機構近畿中央胸部疾患センター放射線科長・臨床研究センター研

研究室長)、新井徹(国立病院機構近畿中央胸部疾患センター呼吸器医長・臨床研究センター研究室長)

A. 研究目的

本研究班は、平成 24 年から、肺胞蛋白症 (PAP)、遺伝性出血性末梢血管拡張症(オスラー病: HHT)、さらに遺伝性 (先天性) 間質性肺疾患 (HILD) を研究対象とする。病態解明、継続的な疫学調査、標準的診断治療法の開発、成果の実用化、ガイドライン検証等を目的として実施している。図 1 に研究の流れを示す。

図 1 本研究の流れ



PAP

抗 GM-CSF 自己抗体を用いた新しい PAP の診断と分類 (自己免疫性 PAP、続発性 PAP、先天性 PAP、未分類 PAP) を用いて、疫学調査、病態解明、新たな治療法の開発を行ってきた。平成 25 年の目的は以下の通り。

- (1) 指針の改訂、学会発表、承認、検証、情報発信。
- (2) PAP 予後調査による難治化要因解明。
- (3) 新たな PAP 非侵襲的診断法の実用化。
- (4) 自己免疫性 PAP に対する GM-CSF 吸入療法の実用化。
- (5) 全肺洗浄法の標準化と検証、麻酔科合同ワークショップ開催。

(6) 続発性 PAP の疫学調査、血液内科との合同ワークショップ開催。

(7) 自己免疫性 PAP、網羅的遺伝子解析の基盤整備。

(8) 他のバイオマーカー、自己抗体開発。

(9) 患者 (会) 支援、情報発信。

HHT

(1) HHT に合併する肺動静脈奇形(PAVM)の診療実態の全国調査。

(2) 秋田大学医学部呼吸器内科での HHT の治療成績から HHT 合併 PAVM の治療の現状を明らかにする。

(3) CT 検診を用い日本における PAVM の有病率に関して疫学調査を行なう。

(4) HHT における肝動静脈奇形の臨床的特徴を血管造影等から明らかにする。

(5) 患者支援、情報発信、勉強会の開催。

HILD

小児科領域では、検査が限られ、びまん性肺疾患は、早期に診断される事は少なく、成人発症例も報告されるようになった。

Surfactant protein C(SP-C)遺伝子や ATP-binding cassette transporter A3(ABC-A3)遺伝子、GM-CSF 受容体遺伝子等の変異症例について、先天性/遺伝性 PAP 詳細が明らかでない症例も総称して遺伝性間質性肺炎 (HILD) としてまとめて議論される事が多い。疾患概念、診断基準等を早急に確立し、診断支援システムを確立し臨床像を明らかにする。

B. 研究方法

PAP

(1) PAP 診断と治療指針：指針の改定、学会

- (日本呼吸器学会、アジア太平洋呼吸器学会等)での発表。日本語短縮版を学会誌に投稿する準備開始。(井上、新井、北市、審良、中田、他 PAP 関係全員)。
- (2) PAP 予後調査による難治化要因解明。アンケート方式で5年以上経過を追えた100例の全国調査。(井上、新井、中田、他 PAP 関係全員)。特に、環境遺伝性要因との関連検討(井上、山口、中田、田澤)。
 - (3) PAP 非侵襲的診断法の実用化。保存血清による CYFRA、KL-6、SP-D、他網羅的サイトカイン、自己抗体等の血清バイオマーカー測定。(井上、新井、中田、高田)。
 - (4) 自己免疫性 PAP に対する GM-CSF 吸入療法の実用化。治験実施に向けた基盤整備(田澤、中田)。
 - (5) 全肺洗浄法の標準化と検証、ワークショップ開催。全国調査と麻酔科と呼吸器内科合同ワークショップ開催。(一和多、内田、新井、井上、山口)。
 - (6) 続発性 PAP 調査：2001 年から 2013 年まで病理組織学的に PAP 所見が得られ、血清抗 GM-CSF 自己抗体陰性を確認した 31 例を対象に後ろ向き調査を行う。MDS の予後評価には WHO スコア(WPSS)を用いる(石井、中田、井上)。血液内科との合同症例検討会実施(石井)。
 - (7) 自己免疫性肺胞蛋白症における抗 GM-CSF 抗体以外の自己抗体検索：GM-CSF 自己抗体が過剰に産生される機序の解明を目的として患者 5 名、健常者 5 名の末梢血 B 細胞を用いた解析を行う(濱野、木田)。
 - (8) 自己免疫性 PAP における分泌型 IgA タイプ GM-CSF 自己抗体の同定を行う(中田、浦野、田澤他)。
 - (9) 自己免疫性 PAP、網羅的遺伝子解析準備。GWAS を進めるための検体収集等の基盤を整備する(山口、井上、中田)。
 - (10) 抗 GM-CSF 自己抗体、他の自己抗体開発、基礎研究：①次世代シーケンサーを用いた GM-CSF 自己抗体可変部 CDR2、CDR3 領域の解析 ②肺洗浄時の肺胞洗浄液中物質移行を予測する数理モデル ③シアリル化糖鎖修飾がサイトカインの生物活性に及ぼす影響 ④自己免疫性肺胞蛋白症における血中及び BALF 中の GM-CSF 自己抗体の stoichiometry (中田、内田、木田、井上、山口)。
 - (11) 自己免疫性 PAP の肺組織 (VATS、TBLB) で元素分析を行い、同定される元素から吸入粉じんが病態に及ぼす影響を調べる(森山、高田)。
 - (12) 成人発症遺伝性肺胞蛋白症と GM-CSF 受容体 α 鎖変異の検討：発端者 50 歳代の主婦。GM-CSF 抗体陰性。の肺胞蛋白症と診断。遺伝子解析を実施(田澤、伊藤、石井、田中、中田)。
 - (13) 既報の我が国での GM-CSF 吸入試験における HRCT 画像を収集して放射線科医による詳細な解析を実施(杜倉、審良、新井、田澤、中田、井上)。
 - (14) 恒例となった患者、家族と PAP 勉強会を開催する(山口、一和多、中田、井上)。
 - (15) ホームページの更新(井上)。
 - (16) 患者用リーフレット作製(井上、山口、

一和多、高田、新井、他)。

(17)生体肺移植後の遺伝性肺胞蛋白症症例の剖検報告(高木、森本、土橋他)。

(18)Bach2 KO マウスを用いて転写因子 Bach2 の肺胞蛋白症様病態への関与を解析(海老名、中村、他)。

HHT

(1) 日本呼吸器学会の指導医および専門医 4,409 名に対し、HHT に合併する PAVM 全国アンケート調査実施。平成 21 年 7 月から平成 22 年 7 月の 1 年間に経験した PAVM および HHT に合併する PAVM に関して第一次調査、更に 338 名に関して二次調査(塩谷、森崎、小宮山、巽)。

(2) 秋田大学医学部附属病院における HHT 合併 PAVM に関する治療成績を報告(塩谷)。

(3) 低線量 CT 検診で撮影されたフィルムを用いて PAVM の有病率を検討した。2001 年から 2007 年の間に茨城県北部の検診団体での肺癌検診(低線量 CT)初回受診の 21,235 人(平均年齢 60.6 歳)を対象とし後方視的に検討(塩谷、森崎、小宮山、巽)。

(4) 臨床的に遺伝性出血性毛細血管拡張症(HHT)と診断あるいは診断の疑われた患者について遺伝子解析施行(森崎)。

(5) 肺動静脈奇形例治療 Transcardiac Retrograde Transvenous Embolization について報告(小宮山)。

(6) 第二回 HHT 勉強会(患者会)を関東地区で開催(塩谷、森崎、小宮山、巽。H25)。

HILD

(1) 成人発症先天性 PAP の解析(SP-C 遺伝子、

GM-CSFR 遺伝子他):成人発症間質性肺炎 100 例、小児発症間質性肺炎 45 例の解析と SP-C 遺伝子と ABC-A3 遺伝子の Direct sequence(瀬戸口、長、他)。

(2) 先天性 PAP と HILD、全国新生児科、小児科へのアンケート調査、(長、瀬戸口、井上、中田)と、診療照会システム、登録システムの検討(新生児希有疾患(病態)前方視的サーベイランス)(長、瀬戸口、井上、中田)。

(3) 学会との連携の予定(長、瀬戸口、井上、中田)。日本呼吸器学会、小児呼吸器学会等との連携の確立。

(4) 通常型間質性肺炎(UIP)パターンが特徴である、Hermansky-Pudlak syndronme(HPS)と特発性肺線維症(IPF)の肺病理所見を検討(北市、新井、審良、井上)。

(5) 先天性/遺伝性特発性肺線維症(cIPF)、pleuroparenchymal fibroelastosis (PPFE)、を気腫合併線維化(CPFE)の患者例を用いて比較(吾妻、林)。

(倫理面への配慮)

(1) 疫学研究は、疫学研究に関する倫理指針を遵守し各施設で倫理委員会の承認の下行う。調査結果、患者検体は匿名化し保存する。データの管理は匿名化番号を用いて行い、個人情報を保護する。

(2) 患者検体採取保存に際して、書面による同意を得て実施する。包括的同意を得て過去に保存された検体を用いる場合、ホームページへの掲示等、施設倫理委員会

の指示に従う。

- (3) 遺伝子解析実施に関して、担当施設の倫理委員会の承認、書面による同意を得て「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して実施する。

C. 研究結果（方法の番号の順に以下結果を列挙する）

- (1) PAP 診断と治療指針：平成 24 年改訂した {肺胞蛋白症の診断、治療、管理の指針の改定 (Ver.6.2)} は引き続き使用し、診断基準の英語訳を作製し、ヨーロッパ肺胞蛋白書ネットワーク (EuroPAP) で発表、平成 25 年 11 月アジア太平洋呼吸器学会 (APSR 横浜) にて中国、韓国、ドイツ、日本、イギリスの PAP 研究者と合同会議を実施した (APSR びまん性肺疾患学術部会プロジェクトとして実施)。日本語短縮版の投稿準備を開始するも、平成 26 年から厚労科研費再編成の指示があり。ガイドライン作製は、ガイドライン作製班へ引き継ぐ予定 (井上、新井、北市、審良、中田、他 PAP 関係全員)。
- (2) PAP 予後調査による難治化要因説明。APAP 98 名を対象に臨床的データと予後について後ろ向きに検討比較した。15 名が死亡していた。予後に喫煙の影響は明らかで無かったが、粉塵吸入歴のある患者では吸入歴のない患者に比べて予後不良。職場環境を変えた症例では変えなかった症例に比べて予後は良好であった。2012 年 ERS にて発表 (井上、他全員)。
- (3) PAP 非侵襲的診断法の実用化。血清中

CYFRA の測定が、KL-6、SP-D と同様病勢を反映していることを明らかにした。他網羅的サイトカイン、自己抗体等の血清バイオマーカーを測定した。(新井、井上、北市、審良)。

- (4) 自己免疫性 PAP に対する GM-CSF 吸入療法の実用化。(臨床試験の結果は既に AJRCCM に発表)。薬剤開発は他研究費を用いて前臨床試験実施中。将来の治験実施に向けて本研究班は治験受け皿の基盤整備を行った。
- (5) 全肺洗浄法の標準化と検証、ワークショップ開催。平成 25 年 1 月 26 日東京にて麻酔科、呼吸器内科合同の全肺洗浄合同ワークショップ開催。全国アンケートに基づき標準的全肺洗浄について討議。その後もワークショップで討議。学会誌への投稿準備中。(一和多、内田、新井、井上、山口)。
- (6) 続発性 PAP 調査：骨髄異形成症候群 (MDS)/SPAP 診断時の年齢は 51(27-77)歳、男/女(19/12)、呼吸器症状を 42%にみとめていた。血清 KL-6、SP-D、SP-A 値は上昇、%DLco 中央値は 44%であったが、Mild MDS、Severe MDS の 2 群間では有意差なかった。SPAP 診断後は Mild MDS でも 2 年生存率 46.2%と Severe MDS と有意差なく予後不良で、SPAP 悪化や肺炎合併が死亡に大きく関与していた。MDS の病型や予後予測因子(WPSS)に関わらず、SPAP の合併自体が予後不良因子であることを明らかにした。SPAP は MDS 診療にとって重要な合併症であることを認識

すべきである（石井、富井、中田、井上、他）。平成 26 年 3 月 1 日（予定）東京にて血液内科と合同続発性 PAP 検討会開催した。

- (7) 自己免疫性肺胞蛋白症における抗 GM-CSF 抗体以外の自己抗体検索:
GM-CSF 自己抗体が過剰に産生される機序の解明を目的として患者 5 名、健常者 5 名の末梢血 B 細胞を用いた次世代シーケンス解析を行った。IgM 型と IgG 型の Allele Usage が一致しないことが明らかとなった。また、IgG 型自己抗体の CDR2 領域の樹形図解析の結果、患者群でのみクラスターが形成されていることが確認された。患者のリンパ臓器において体細胞突然変異による高親和性クローン出現と class switch が亢進していると考えられた。IgM と IgG 型クローンが独立して分化し、IgG 型は特にクローンの選択を受けていることが明らかとなった（濱野、木田）。
- (8) 自己免疫性 PAP における分泌型 IgA タイプ GM-CSF 自己抗体の同定: 2 量体 IgA（分泌型 IgA、SIgA）は粘膜免疫の主役である。自己免疫性肺 PAP 患者の血清および BALF 中の GM-CSF 自己抗体を GM-CSF coupled affinity chromatography を用いて精製。免疫沈降法により、抗 IgA 抗体にも抗 secretory component 抗体にも反応するフラクションがあり、GM-CSF 自己抗体に分泌型 IgA のアイソタイプを持つものがあることを示唆。精製自己抗体を二次元電気泳動したところ、分泌型

IgA のスポットを同定することができた。健常者 16 名の血清には、分泌型 IgA 型自己抗体は検出されず、本抗体は自己免疫性肺胞蛋白症に特異的であると思われた。また、患者血清中の分泌型 IgA 型自己抗体濃度は、IgG 型自己抗体濃度と相関していた ($r^2=0.705$, $p<0.0001$)。分泌型 IgA 型自己抗体が中和能を持ち、病態形成に関与している事が示唆された（中田、浦野、田澤）。（中田、浦野、田澤、他）。

- (9) 自己免疫性 PAP、網羅的遺伝子解析準備: GWAS を進めるため、愛知医科大学、新潟大学、近畿中央胸部疾患センターを中心とした、遺伝子収集の基盤整備を開始した。平成 25 年 12 月 40 例の遺伝子が収集された。順次倫理委員会の承認中。エクソンシーケンスも予定。GWAS を進めるための検体収集等の基盤を整備されつつある（山口、井上、中田）。
- (10) 抗 GM-CSF 自己抗体、他の自己抗体開発、基礎研究: ①次世代シーケンサーを用いた GM-CSF 自己抗体可変部 CDR2、CDR3 領域の解析 ②肺洗浄時の肺胞洗浄液中物質移行を予測する数理モデル ③シアリル化糖鎖修飾がサイトカインの生物活性に及ぼす影響 ④自己免疫性肺胞蛋白症における血中及び BALF 中の GM-CSF 自己抗体の stoichiometry（中田、内田、木田、井上、山口）: ①患者 5 人、健常者 5 人の末梢血から GM-CSF 自己抗体産生細胞の cDNA を得て H 鎖可変部の PCR 産物を次世代シーケンスにより、12 万クロンの配列を解析した。患

者も健常者も低親和性の IgM 型自己抗体を産生する B 細胞が同頻度にあるが、IgG 型自己抗体を産生する B 細胞は患者に増加していることが見出された。IgM 型と IgG 型自己抗体 H 鎖の germline Allele Usage が一致しないことから、2 者のクローンは異なる起源の B 細胞から分化していると思われる。②全肺洗浄において、血中から肺洗浄液中に物質が移行するときの数学モデルを作製した。数理モデルは、肺毛細血管と肺胞腔の物質移動速度は浸透圧の原理に基づきそれぞれに存在する物質の濃度差に比例するものとして、この移動について時間を関数とする微分方程式を勘案、係数を変動させてシミュレーションし、実測値に合致するときのサーファクタントから洗浄液および血中から洗浄液への移行係数を求めた。次に、アルブミン、尿素など 8 種類の物質の濃度を排液ごとに測定し、同様にそれぞれの移行係数を求めた。この結果、おおよそ 10kDa 以上大きな物質の移行は方程式に従っており、蛋白質等の大きな物質の血中から肺胞への移行は主として浸透圧の原理に従うものと思われた。

④自己免疫性 PAP 27 例において血清中及び BALF 中の GM-CSF 自己抗体濃度の全 IgG に対する割合を調べた。血清中及び BALF 中の免疫複合体を酸で解離させ、GM-CSF 濃度を測定。BALF 中の複合体 GM-CSF 濃度は、血清中の複合体 GM-CSF 濃度の 20 倍以上あることが判明。患者血中の GM-CSF 自己抗体は、肺毛細血管か

ら肺胞内へと移動するが、肺胞内では、II 型上皮が産生する GM-CSF と複合体を形成すると思われた (伊藤、中田)。

- (11) 自己免疫性 PAP の肺組織 (VATS、TBLB) で元素分析を行い、同定される元素から吸入粉じんが病態に及ぼす影響を調べる (森山、高田)。: 自己免疫性 PAP 10 例。ホルマリン固定したパラフィンブロック肺組織から厚さ $3\mu\text{m}$ の連続切片 3 枚を作成し肺胞領域と細気管支周囲から元素分析を行った。検出された元素を 1 枚目、3 枚目の病理組織と対比して 2 次元解析により沈着元素、沈着部位を明らかにした。
- (12) 成人発症遺伝性肺胞蛋白症と GM-CSF 受容体 α 鎖変異の検討: 発端者 50 歳代の主婦。GM-CSF 抗体陰性。の肺胞蛋白症と診断。遺伝子解析を実施した (田澤、伊藤、石井、田中、中田)。
- (13) 既報の我が国での GM-CSF 吸入試験における HRCT 画像を収集して放射線科医による詳細な解析を実施 (杜倉、審良、新井、田澤、中田、井上)。
- (14) 患者、家族との PAP 勉強会 (山口、一和多、中田、井上): 平成 25 年 7 月 7 日大阪にて第 5 回 PAP 勉強会開催。70 人程度の参加。
- (15) 患者用、医療従事者用ホームページを更新した (井上): 公式ホームページによる情報発信: 医療従事者用 (<http://www.pap-support.jp/>)、一般利用者向け (<http://www.pap-guide.jp/>) ホームページを作成し、概要について英語版も作

成し、ヨーロッパ研究グループと相互リンク。

(16)患者用リーフレット作製（井上、山口、一和多、高田、新井、他）：患者用リーフレットを作製し、各施設に配布、外来に置いていただいた（本稿末に添付）。

(17)生体肺移植後の遺伝性肺胞蛋白症症例の剖検報告（高木、森本、土橋他）：35歳咳嗽と発熱で発症した肺胞蛋白症と診断された。抗 GM-CSF 抗体陰性と判明したが、全肺洗浄や試験的 GM-CSF 吸入を実施、呼吸不全が悪化し、2008年4月生体肺移植を施行。遺伝子検索で CSF2RB の変異による GM-CSFR β 鎖の欠損と判明し、2010年には左肺優位の肺胞蛋白症の再発を認めた。全肺洗浄を繰り返したが、侵襲性肺アスペルギルス症を発症したこともあり、全身状態、呼吸状態ともに徐々に悪化し、2013年5月永眠された。剖検でも左肺に特に強い肺胞蛋白症を認めた（森本、土橋、既報告例の剖検報告）。

(18)Bach2 KO マウスを用いて転写因子 Bach2 の肺胞蛋白症様病態への関与の解析（海老名、中村、他）。:Bach2 KO マウスにおいて、GM-CSF 経路が正常であるにも関わらず肺胞サーファクタントが肺胞に貯留し、肺胞蛋白症様の病態を示すことを発見。Bach2 KO(AM)では脂質の取り込み能亢進と、コレステロール輸送・脂質代謝を司る遺伝子の発現変化を認め、これらが肺胞サーファクタントの異常貯留の原因と考えられた。また、Bach2 KO AM においては、Chemotaxis 関連遺伝子や M2

マクロファージ関連遺伝子の発現亢進が見られた。以上の結果より、Bach2 は AM の機能の成熟に必要であり、過剰な細胞遊走や M2 マクロファージへの分極を抑え、肺胞の恒常性を維持していると考えられた。さらに興味深いことに、Bach2 KO マウスの肺病変は野生型マウスの骨髄を移植することにより改善した。このことから、Bach2 KO マウスは、血液疾患と肺胞蛋白症の関連を示唆するモデルマウス（続発性 PAP のモデル）になると考えられる。

HHT

(1) 日本呼吸器学会の指導医および専門医 4,409 名に対し、HHT に合併する PAVM 全国アンケート調査実施：（塩谷、森崎、小宮山、巽）。(1)全国アンケート調査：(第一次調査結果)2062 名から回答（回答率 46.8%）を得た。症例あり 338 名、なし 1724 名、症例数 522 例、HHT 合併 85 例（合併率 16.3%）、PAVM 単発 315 例（60.3%）、多発 162 例（31.0%）、家族性 PAVM43 例。治療は経皮カテーテル塞栓術(コイル 179 例(34.3%)、バルーン 3 例、その他 4 例)、外科手術 74 例（14.2%）、経過観察 203 例（38.9%）であった。(第二次調査結果) 第一次調査において回答があった 338 名に対して第二次アンケート調査を行なった結果、184 名（回答率 54.4%）から回答を得た。その結果、日本においては、PAVM 症例のうち約 25%が HHT に合併していた。HHT 合併 PAVM で

- は性差はみられないが、HHT 非合併 PAVM では女性が多かった。HHT 合併 PAVM では約 80%で鼻出血が合併していた。PAVM に起因するほとんどの奇異性膿瘍は脳に発生した。
- (2) HHT 合併 PAVM は多発例が多く、その分布は HHT、HHT 非合併ともに下葉に多く分布していた。PAVM の治療に関してはコイル塞栓術が行われているが、約 20%では外科的切除が行われていた。
- (3) 秋田大学医学部附属病院における HHT 合併 PAVM に関する治療成績を報告 (塩谷)：秋田大学医学部附属病院における HHT 合併 PAVM に関する治療成績を報告する。秋田大学医学部附属病院において HHT 合併 PAVM に対し治療を行った 10 症例 (平均年齢 44.4 歳、男性 6 例、女性 4 例)について検討を行なった。HHT の診断は Curaçao 基準により行い、PAVM の塞栓術の適応は流入動脈の直径 3mm 以上あるいは PAVM の直径 20mm 以上とした。PAVM は 10 例中 9 例が多発例であり、平均 3.5 箇所あった。PAVM は 10 治療中 6 治療で残存するも、全例で息切れや PaO₂、AaDO₂、右左シャント率が改善し、良好な治療効果が得られた。治療群を PAVM 完全塞栓術群(G1 群: 4 例)と PAVM 残存塞栓術群 (G2 群: 6 例)に分けて検討した。結果、G1 群と G2 群において PaO₂、AaDO₂、右左シャントの改善率に差はなかったが、G2 群において脳膿瘍などの合併症頻度が高く死亡例も存在し、多発 PAVM あるいはびまん性 PAVM 例の予後の悪いことが示唆された (塩谷他)。
- (4) 低線量 CT 検診で撮影されたフィルムを用いて PAVM の有病率を検討：(塩谷、森崎、小宮山、巽)：日本における PAVM の有病率の検討肺癌検診を低線量 CT により行なった初回受診の 21,235 人(平均年齢 60.6 歳)中、PAVM が 8 例(男性 1 例、女性 7 例)に発見された。以上の合併率から、日本における PAVM の年齢調整した有病率は、38 対 10 万人 (95%信頼区間：18-76 人)と推定された。
- (5) 臨床的に遺伝性出血性毛細血管拡張症 (HHT) と診断あるいは診断の疑われた患者について遺伝子解析施行 (森崎)：前回報告以降、さらに家族を含む 13 家系 28 例の解析を行い、10 家系 19 例で遺伝子変異陽性の結果を得た。これまでの結果と併せて、ENG 変異 64 家系 (65%) 103 例、ACVRL1 変異 30 家系 (31%) 46 例、SMAD4 遺伝子変異 2 家系 (2%) 4 例、その他の変異 2 例 (2%)、計 98 家系 (86%) 155 例において、変異を同定した。全体としては、HHT が疑われた発端者 115 例の 85%、臨床診断にて HHT と診断された 105 例の 93%で原因遺伝子変異が同定されている。また、発端者で遺伝子変異が同定された患者家族において、非発症と考えられる保因者が 9 例 (ENG6 例、ACVRL13 例) おり、うち 2 例は成人例であったが、ともに詳しい検査はされておらず、未発症保因者に対するスクリーニング体制の確立が必要と考えられ

た（森崎）。

- (6) 肺動静脈奇形で Transcardiac Retrograde Transvenous Embolization は有用である（小宮山、Cardiovasc Intervent Radiol, 2013）。
- (7) 第二回 HHT 勉強会（患者会）：第2回 HHT 患者会（勉強会）（会長村上匡寛）が、平成25年11月10日（日）に東京都立産業センター浜松町館において開催された（12:00～17:00）。当日は、秋田大学大学院医学系研究科保健学専攻塩谷隆信（総説）。大阪市立総合医療センター脳神経センター小宮山雅樹先生（脳病変）、国立循環器病研究センター研究所分子生物学部森崎裕子先生（遺伝子診断）、日本赤十字社大森赤十字病院呼吸器内科部長吉村邦彦先生（呼吸器疾患）、自治医科大学医学部耳鼻咽喉科教授市村恵一先生（鼻出血）。市立堺病院脳神経外科西田武生先生（米国の患者会）が、それぞれの領域に関する基調講義を行い、その後、患者会との交流会を行なった（塩谷、小宮山、森崎西田他）。（塩谷、森崎、小宮山、巽）。

HILD

- (1) 2010年から遺伝性間質性肺疾患

(hereditary interstitial lung disease, HILD) に対して遺伝子検査を含む診断支援を開始した。genomic DNA あるいは c-DNA を用いた SP-C および ABCA3 遺伝子解析、気管支肺胞洗浄液あるいは気道吸引液を用いた SP-B および SP-C 蛋白解析、末梢血単球を用いた GM-CSF-R の抗原検査および GM-CSF 刺激による STAT-5

リン酸化解析を実施。2011年の日本未熟児新生児学会希有疾患サーベイランス制度登録以降から診断支援症例が増加し、2013年度は7症例の診断支援を行った。これまでの3年半で45症例に対して診断支援を行い、SP-C 異常症4例、ABCA3 異常症1例、FOXF1 遺伝子異常による Alveolar Capillary Dysplasia 1例が同定されているが、SP-B 欠損症、GM-CSF 受容体異常症の診断例はなかった（長、早坂、秋元）。先天性 PAP と HILD、全国新生児科、小児科へのアンケート調査、（長、瀬戸口、井上、中田）と、診療照会システム、登録システムの検討（新生児希有疾患（病態）前方視的サーベイランス）（長、瀬戸口、井上、中田）。

- (2) 学会との連携の予定（長、瀬戸口、井上、中田）。日本呼吸器学会、小児呼吸器学会等との連携の確立。
- (3) 通常型間質性肺炎 (UIP) パターンが特徴である、Hermansky-Pudlak syndrome (HPS) と特発性肺線維症 (IPF) の肺病理所見を検討（北市、新井、審良、井上）：HPS3 例、IPF4 例について外科的肺生検と剖検の肺病理所見について検討した。蜂巢肺形成 (honeycomb change, HC) は慢性経過の線維化病変で囲まれた呼吸細気管支レベルの含気腔開大と定義した。HPS3 例では外科的肺生検で HC(-)、fibroblast focus (FF)(+)、alveolar lining cells with foamy cytoplasm (+) であり、剖検肺で両側肺底部に優勢な HC 形成(-)であった。IPF4 例では外科的肺生検で HC(+),

fibroblast focus(FF)(+), alveolar lining cells with foamy cytoplasm (-)であり、剖検肺で両側肺底部に優勢な HC 形成(+)であった。2 つの病態では外科的肺生検での蜂巢肺形成所見と剖検肺での両側肺底部に優勢な蜂巢肺形成の所見で有意な違いを認め(p=0.028)、両疾患での慢性経過の肺線維化病変の形成機序は異なると考えた。特発性肺線維症(IPF/UIP)では既存の弾性線維網の融解消失の傾向が優勢であるのに対して、HPS では無気肺硬化型の線維化病変が主体であると考えた(北市、新井、井上、杉本)。

- (4) 先天性/遺伝性特発性肺線維症(cIPF)、pleuroparenchymal fibroelastosis (PPFE)、を気腫合併線維化(CPFE)を患者例を用いて比較(吾妻、林): PPFE~cIPF, CPFE との比較では、対象とした definite PPFE は 12 例であった。cIPF、CPFE と比較して、有意に BMI 低値、%VC 低値を示したが、%DLco は保たれていた。また、KL-6、SP-A に関しては、基準値内~軽度上昇に留まった。PPFE は、病初期は緩徐な変化として推移するが、経過中、急速な体重減少が進行胸郭可動域制限を伴う VC 低下、2 型呼吸不全を呈する予後不良な疾患として認識される。また、間質性肺炎のマーカーとして頻用される KL-6 は軽度上昇に留まる事が多く、病勢を反映しない。

D. 考察

PAP

我が国では継続的に世界トップレベルの PAP の研究が実施され世界のレベルを牽引している。自己抗体産生のメカニズム、組織(血清)バンク等を用いた網羅的自己抗体、網羅的遺伝子解析により、近日中に更に新たな治療法が開発される事が期待される。また患者、患者会支援を行い、共に厚労省、海外にアピールをし、患者との勉強会も有用である。

また本研究班の特徴として、呼吸器内科だけでなく、小児科、新生児科、麻酔科、脳神経外科、循環器科、血液内科と連携し、全身疾患として PAP に取り組んでいる。また先天性 PAP から遺伝性/先天性 PAP の研究体制へと、肺のサーファクタントの恒常性、免疫学的研究から肺線維症、間質性肺炎のメカニズムにも研究が広がってきた。今後の展開が期待される。

HHT

日本においては、PAVM 症例のうち約 25% が HHT に合併しているがその病状が明らかになった。PAVM に起因するほとんどの奇異性膿瘍は脳に発症するが、脳以外にも生じる。

HHT 合併 PAVM は多発例が多く、その分布は HHT、HHT 非合併ともに下葉に多く分布した。PAVM の治療に関してはコイル塞栓術が行われているが、約 20%では外科的切除が行われていた。PAVM の無症状時の治療適応に関しては、著者らの検討では PAVM サイズと流入血管は強い相関をもっており、これまで報告された PAVM 2cm と流入動脈径 3mm とはほぼ同義であり、どちらを用いてもよいと考えられた。HHT 合併 PAVM では多発例が

多いことが最大の特徴である(1症例あたり、平均3.5)。可能であれば、繰り返し塞栓術を行なうことにより、できるだけPAVMを塞栓することが大切であると考えられた。オスラー病においては、塞栓を行なったPAVMの再灌流の発生、塞栓術後の血流分布の変化による新たなPAVMの出現がみられることから、塞栓術後の慎重な経過観察が重要であることが示唆された。

日本におけるPAVMの有病率に関しては、対象の21,235人中PAVMが8例(男性1例、女性7例)に発見され、日本におけるPAVMの有病率は、38対10万人(95%信頼区間:18-76人)と推定された。

HHT合併HAVMに関して、血管造影フィルムから後方視的に検討。その結果、HHT合併HAVMは、肝臓内末梢血管拡張像から肝動脈-肝静脈-門脈間の大シャント血管まで非常に多岐に渡り、オスラー病が進行すると、大きな門脈-肝静脈シャントが顕性化するようになることが示唆された。

HILD

遺伝子検査については、現在、東京医科大学と北海道大学医学部周産期センターで行っているが、いずれも研究レベルでの作業となっており、今後、検査費用や検査精度の観点から他の稀少疾患を含めたnational centerのような施設を設置することも念頭に置くべきと考える。

E. 結論

平成25年での本研究班の予定研究各プロ

ジェクトは常に国際的観点に立ったレベルで研究を実施し患者とともに歩んでいる。今後も患者の立場に立った、世界的レベルの研究を継続、完遂、発信し、その結果、患者と家族のQOLが改善し、疾患の克服を目指す。我々の研究は、政策医療に貢献し国民に還元している。今後も継続的な研究の継続が必要である。

F. 健康危険情報

特記すべき危険情報無し。

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表 18件

原著論文による発表0件

それ以外(レビュー等)の発表5件

そのうち主なもの

論文発表

PAP

1. 井上義一. 肺胞蛋白症. 別冊・医学のあゆみ呼吸器疾患 state of arts Ver. 6. 280-283, 2013
2. 杉本親寿, 井上義一. 肺胞タンパク症の診断治療の進歩. 化学療法の領域. 29:70-77, 2013
3. 新井徹, 井上義一. 肺胞蛋白症. 今日の診療のためにガイドライン外来診療 2013. 泉孝英編. P430-432, 2013.

HHT

1. 塩谷隆信. 肺動静脈瘻(肺動静脈奇形).