

図3

ファージ内の貯留を、液体クロマトグラフィー質量分析で調べた。これらの PC の多くは、野生型と比較して Bach2 欠損肺胞マクロファージ内で貯留が少なかった。また、酸化した PC のいくつかは、Bach2 欠損マクロファージ内により多く貯留していた。以上のような PC や酸化 PC の処理能力の異常もまた、Bach2 欠損マクロファージでのサーファクタント処理能力の異常を示している (図3)。

#### 4. Bach2 遺伝子欠損マウスでは GM-CS-PU.1 経路は保たれている

GM-CSF 刺激とその下流にある PU.1 の発現上昇は、肺胞マクロファージの成熟に必要な不可欠である。GM-CSF の発現や、GM-CSFR<sup>a</sup>、GM-CSFR<sup>b/c</sup>、および PU.1 の mRNA レベルは Bach2 欠損肺胞マクロファージでは低下しなかった。また、PU.1 は免疫染色でも確認し、野生型と同等に発現していることが確認できた。

ヒトの肺胞蛋白症の多くは、抗 GM-CSF 抗体が原因である。Blimp-1 は形質細胞のマスタレギュレーターであり、Blimp-1 遺伝子欠損マウスでは抗体が分泌されない。Blimp-1 遺伝子欠損マウスと Bach2 遺伝子欠損マウスを交配さ

せて得た、抗体が分泌されない Bach2/Blimp-1 2 重欠損マウスは Bach2 遺伝子欠損マウスと同様に肺胞蛋白症を発症した。一方、Blimp-1 欠損マウスは肺胞蛋白症を発症しなかった。この結果より、Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症には抗 GM-CSF 抗体など自己抗体は関与しないことが分かった。以上の結果から、Bach2 欠損肺胞マクロファージの機能異常は、GM-CSF-PU.1 経路に依存していないと言える。

#### 5. Bach2 欠損肺胞マクロファージでは免疫細胞遊走関連遺伝子の発現が上昇する

Bach2 下流の遺伝子発現を明らかにするために、肺胞マクロファージを用いて、マイクロアレイ解析を行った。Gene Ontology (GO) 解析では、Bach2 欠損マウスで ‘化学走化性

(chemotaxis)’ の項目が上昇傾向にあった。肺胞マクロファージの定量 PCR でも、単球の遊走因子である Ccl2 (chemokine (C-C motif) ligand 2)/MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1)、好酸球の遊走因子である Ccl24/Eotaxin-2、および好中球の遊走因子である Cxcl1 (chemokine (C-X-C motif) ligand 1)/KC (keratinocyte-derived chemokine) の

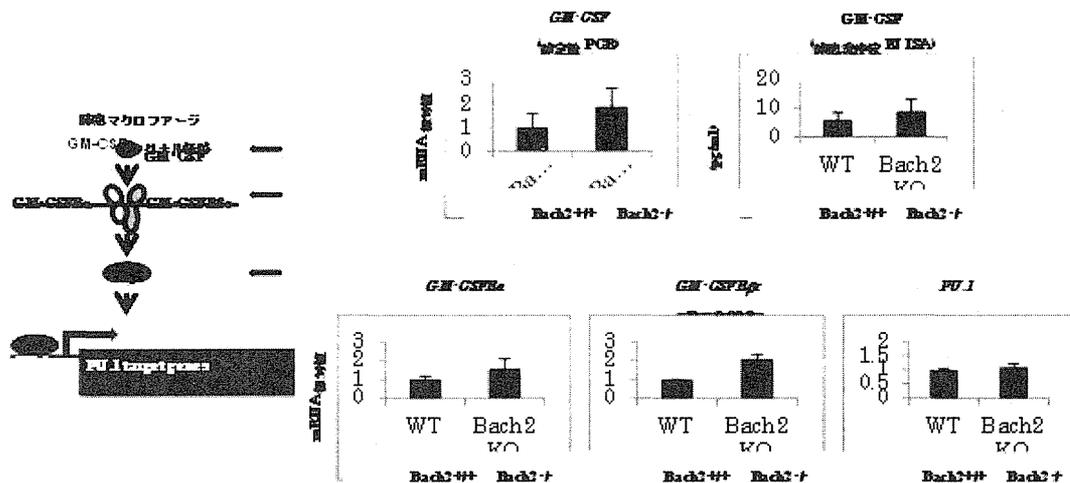


図 4

mRNA レベルが上昇傾向にあることが確認できた。また、肺胞洗浄液を用いたサイトカインアレイでも *Ccl2/MCP-1* および *Cxcl1/KC* の発現が上昇していた。これらの結果より、*Bach2* 遺伝子欠損マウスでの肺胞マクロファージおよび顆粒球の増加は、*Bach2* 欠損肺胞マクロファージにおける、これら免疫細胞動態調節 (immune cell trafficking) に関わる遺伝子の発現変化が関与していると考えられた。

また、肺胞マクロファージのマイクロアレイ解析や肺胞洗浄液のサイトカインアレイの結果から、*Bach2* 欠損マウスで発現が上昇していたサイトカインを抽出した。これらサイトカインの存在下で、サーファクタント分泌能をもつ細胞株(NCI-H441)を培養すると SP-A の分泌が上昇した。この結果から、*Bach2* 欠損マウス肺におけるサーファクタント貯留の原因は、マクロファージ側にあると言える (図4)。

## 6. *Bach2* 欠損肺胞マクロファージで M2 マクロファージ関連遺伝子の発現が上昇する

活性化マクロファージには、侵入微生物に対する炎症応答を活性化する働きを持つ古典的活

性化 (classically activated) の M1 マクロファージと、炎症応答を抑え、疣贅の貪食や組織の修復、傷害の治癒を促す働きを持つ代替的活性化 (alternatively activated) の M2 マクロファージが知られている。このマクロファージ分極化 (polarization) に関わる遺伝子の発現を比較した。M1 マクロファージに関わる遺伝子発現は一定の傾向を認めず、上昇しているものも減少しているものもあった。それに対し、M2 マクロファージに関わる遺伝子は全般的に上昇傾向を示し、定量 PCR でも、これら代表的な遺伝子の mRNA レベルは上昇していた。

以上の結果より *Bach2* 遺伝子欠損肺胞マクロファージは M2 マクロファージ分化傾向にあると言える。

*Irf4* は M2 マクロファージ分極を司る遺伝子である。B 細胞において、*Bach2* は *Blimp-1* の転写を抑制し、一方で、*Blimp-1* と *Irf4* は相互に活性化する。*Bach2* 遺伝子欠損肺胞マクロファージでは、*Blimp-1* の mRNA レベルは低下し、一方で、*Irf4* の mRNA レベルは上昇していた。この結果は、*Bach2* が *Blimp-1* 非依存的に *Irf4* の発現を制御していることを示している。

## 7. Bach2 欠損肺胞マクロファージでも M2 マクロファージ関連遺伝子の発現が一部上昇する

Bach2 が欠損したことによる M1/M2 分極に対する影響を、腹腔マクロファージでも確認した。Bach2 欠損マウスの腹腔内ではマクロファージや好酸球の増加を認め、免疫細胞の遊走能亢進を示唆していた。腹腔マクロファージを単離して LPS 刺激により M1 マクロファージへ、IL-4 刺激により M2 マクロファージへ分極させた。野生型は Bach2 欠損腹腔マクロファージと比較して、LPS 及び IL-4 刺激によって IL-6 の発現が強く誘導された。一方、M2 マクロファージ関連遺伝子である Chi3l3(Ym1)の発現は、IL-4 刺激に対して Bach2 欠損肺胞マクロファージにおいてより強く誘導された。他の M2 マクロファージ関連遺伝子である Arg1 や Fizz1 の発現に差はなかった。以上の結果から、Bach2 は腹腔マクロファージにおいても M2 マクロファージ分極の一部を制御していると言える。

M2 マクロファージ分極において、IL-4 刺激の下流での STAT6 のリン酸化が関与している。骨髓由来のマクロファージを用いて、IL-4 刺激後の STAT6 のリン酸化状態を野生型と Bach2 欠損マクロファージで比較したところ、Bach2 欠損マクロファージにおいて STAT6 のリン酸化が強く見られ、M2 マクロファージへ分極しやすいことを示唆していた。また、Bach2 欠損肺胞マクロファージにおいては IL-4 レセプターの遺伝子発現も上昇しており、STAT6 のリン酸化亢進に寄与している可能性がある。

## 8. 血液細胞における Bach2 の発現は、肺の恒常性維持に必須である

Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症は、肺胞マクロファージが原因であることを立証するために、骨髓移植実験を行った。初めに、野生型マウス骨髓が Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症の発症を抑えるかを検証す

るため、まだ肺胞サーファクトが貯留していないと思われる 8 週齢の Bach2 欠損マウスに野生型骨髓を移植した。骨髓移植後の末梢血の解析では、ほとんどの細胞が野生型由来の細胞に置換されていた。移植 2 ヶ月後には、野生型骨髓を移植した Bach2 遺伝子欠損マウスはほぼ正常であったが、Bach2 欠損骨髓を移植した Bach2 遺伝子欠損マウスは努力性の呼吸をしていた。肺の組織所見では、野生型骨髓を移植したマウスは肺胞サーファクタントの貯留も炎症細胞の増加も認めなかったが、Bach2 欠損骨髓を移植したものは、無処理の Bach2 遺伝子欠損マウスと同様の病的変化を認めた。よって、肺胞蛋白症の発症は、血液細胞で Bach2 が欠損したことが原因だと考えられた (図 5)。

次に、野生型骨髓が Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症を改善することを検証するため、既に肺胞サーファクタントおよび炎症細胞が貯留していると思われる 16 週齢以上の Bach2 欠損マウスに野生型骨髓を移植した。16 週齢以上になると全身状態が悪いため、照射は 5 Gy のみとしたため、末梢血の解析では、一部の細胞だけが野生型由来の細胞に置換されていた。移植前は努力性の呼吸をしていたが、移植後には徐々に呼吸状態の改善を認めた。移植前後の胸部 CT では、びまん性の網状影と肺胞サーファクタントの貯留と思われる浸潤影が明らかに改善していった。肺の組織所見では、軽度の炎症細胞の増加は認めるが、肺胞サーファクタントの貯留は著明に減少していた。以上の結果より、すでに肺胞蛋白症を発症した Bach2 欠損マウスでも、野生型骨髓を移植することにより、改善させることに成功した。Bach2 欠損肺胞マクロファージに機能異常があることと合わせると、Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症の発症は肺胞マクロファージが原因であり、Bach2 は、肺における正常な肺胞マクロファージの成熟と、恒常性の維持に必須であることが分かった。

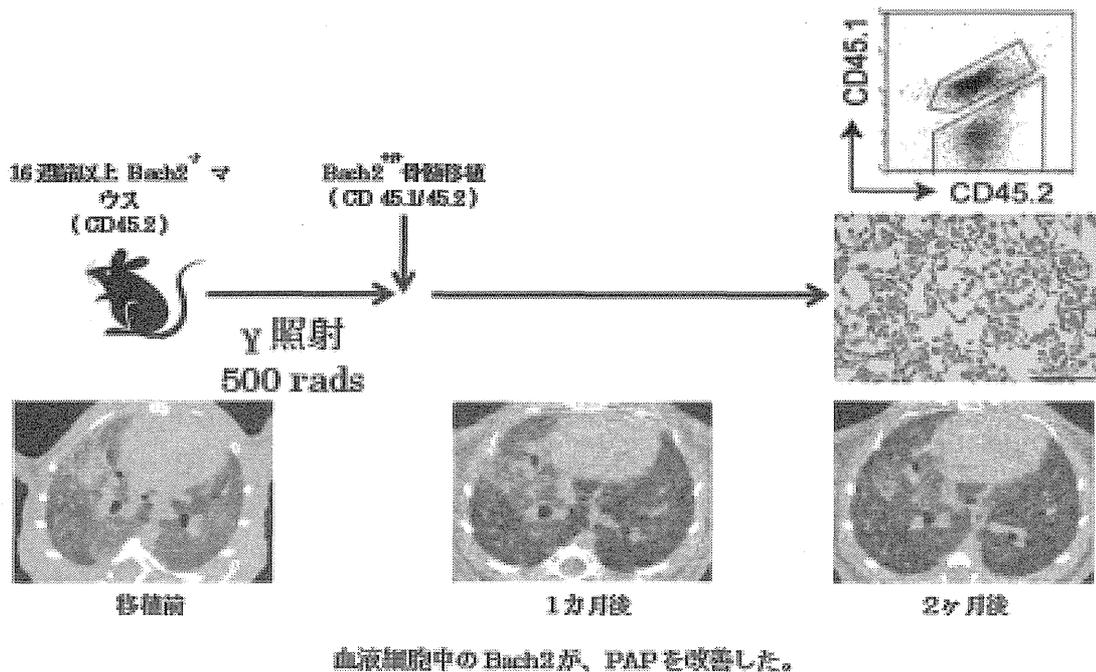


図5

### C. 考察

組織マクロファージは単一の性質を示す集団ではなく、局在や刺激によって様々な機能を示すヘテロな集団である。肺泡マクロファージはサーファクタントの恒常性を維持すると共に、肺において重要な免疫機能を有しているが、その分化や機能を制御する因子やメカニズムは明らかとなっていない部分が多い。今回の研究では、転写因子  $Bach2$  がサーファクタントの恒常性維持と肺泡マクロファージの機能の成熟に必須であることを示した。

$Bach2$  欠損マウスが肺泡蛋白症を発症した要因として、いくつかの要素が挙げられる。

1つ目は、脂質の代謝に関わる遺伝子の発現が異常となり、肺泡マクロファージ内にコレステロールが貯留することである。 $Bach2$  欠損肺泡マクロファージ内には脂質がより多く貯留しており、コレステロールの取り込みが亢進してPCの処理に異常を認めた。コレステロールの代

謝や排出に関与する遺伝子の発現に変化が見られたことが、これら機能異常の原因であると考えられる。

2つ目に、 $Bach2$  が欠損した肺泡マクロファージから分泌されるサイトカインによって、サーファクタントの分泌自体が増加している可能性が、細胞株を用いた実験より示された。

3つ目に、 $Bach2$  欠損肺泡マクロファージでは細胞遊走因子の発現が上昇しており、好中球や好酸球などの免疫細胞の過剰な遊走に関与していると考えられた。

4つ目に、 $Bach2$  欠損マクロファージが M2 マクロファージの性質を帯びていることにも注目した。IL-4 および IL-13 は M2 マクロファージ分化を促すが、これら因子のトランスジェニックマウスは肺泡蛋白症様の組織を呈する。したがって、 $Bach2$  遺伝子欠損マウスにおいても過剰な M2 応答が肺泡蛋白症の発症の病因である可能性がある。

以上、複数の要因が Bach2 欠損マウスにおける肺胞蛋白症の発症に関与していると考えられる。

また、Bach2 欠損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とは、血液細胞において Bach2 が欠損することが肺胞蛋白症の原因であり、骨髄移植は有効な治療法の一つであることを示している。

Bach2 欠損マウスは、ヒトにおける血液疾患と肺胞蛋白症の関連を示唆するモデルマウスと言え、より詳細な研究と考察が今後の臨床の場で生かされることに期待する。

#### 参考文献

1. Trapnell, B.C., J.A. Whitsett, and K. Nakata. 2003. Pulmonary alveolar proteinosis. *N. Engl. J. Med.* 349:2527-2539.
  2. Chawla, A., W.A. Boisvert, C.H. Lee, B.A. Laffitte, Y. Barak, S.B. Joseph, D. Liao, L. Nagy, P.A. Edwards, L.K. Curtiss, et al. 2001. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis. *Mol. Cell.* 7:161-171.
  3. Shibata, Y., P.Y. Berclaz, Z.C. Chronos, M. Yoshida, J.A. Whitsett, and B.C. Trapnell. 2001. GM-CSF regulates alveolar macrophage differentiation and innate immunity in the lung through PU.1. *Immunity.* 15:557-567.
  4. Satoh, T., H. Kidoya, H. Naito, M. Yamamoto, N. Takemura, K. Nakagawa, Y. Yoshioka, E. Morii, N. Takakura, O. Takeuchi, and S. Akira. Critical role of Trib1 in differentiation of tissue-resident M2-like macrophages. *Nature.* 495:524-528. 2013.
  5. Cordonnier, C., J. Fleury-Feith, E. Escudier, K. Atassi, and J.F. Bernaudin. 1994. Secondary alveolar proteinosis is a reversible cause of respiratory failure in leukemic patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:788-794.
- 本研究は下記において学会発表、および論文発表をおこなった。
- #### D. 研究発表
1. 論文発表
    1. Hisata S, ..., Ebina M. Development of pulmonary alveolar proteinosis following exposure to dust after the Great East Japan Earthquake. *Respir Investig.* 2013 212-6.
    2. Tazawa R, ..., Ebina M, Akira M, Ichihata T, Tatsumi K, Yamaguchi E, Nakata K. Duration of benefit in patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis after inhaled GM-CSF therapy. *Chest.* 2013 Oct 24. doi: 10.1378/chest.13-0603. PMID: 24158247
    3. Nakamura A, Shibuya R, ..., Ebina M, Nukiwa T, Igarashi K. Transcription repression of BACH2 is required for pulmonary surfactant homeostasis and alveolar macrophage function. *J. Exp. Med.* 2013, 210(11):2191-204.
  2. 学会発表
    1. 海老名雅仁、渋谷里紗、ほか Requirement of Bach2 for pulmonary homeostasis through functional development of alveolar macrophages and a new prospect of Bach1 in complementing of Bach. 第42回日本免疫学会学術集会、2013.12.11-13 千葉

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

遺伝性間質性肺疾患の診断に関する研究

研究分担者 長 和俊 北海道大学病院周産母子センター

研究要旨

遺伝性間質性肺疾患の診断システムを構築し、前年度から行っている遺伝子検査を含む診断支援を継続した。本年度新たに SP-C 異常症 2 例、ABCA3 異常症 1 例、*FOXF1* 遺伝子異常による ACD/MPV 1 例を診断した。稀で難治である遺伝性間質性肺疾患に対して適切な治療法の選択が可能となるよう診断支援の継続が必要である。

A. 研究目的

本研究の目的は、小児期に発症した原因不明の肺疾患から遺伝性間質性肺疾患(hereditary interstitial lung disease, HILD)症例を抽出し、確定診断へ導き有効な治療法を提案するための診断支援システムを構築すること、および日本における HILD の頻度と特徴を明らかにすることである。

B. 研究方法

電子メールとメーリングリストを利用して HILD の診断支援システムの周知を行い、HILD を疑う症例の集積を開始した。また、日本未熟児新生児学会の稀有疾患（病態）前方視的サーベイランス事業に登録し、前方視的サーベイランスを開始した。紹介された症例に関して、診断に有用な検査、検査結果の解釈、鑑別診断に関する情報を提供し、本研究への参加に対する同意が得られた場合に遺伝子解析を含む検査を施行した。

(倫理面への配慮)

研究実施に係る試料は連結可能匿名化を行い個人識別情報管理者が管理し、被験者の秘密保

護に十分配慮する。試料等を関連機関に送付する場合、また、研究の結果を公表する際は、被験者を特定できる情報を含まないようにする。研究の目的以外に、研究で得られた被験者の試料等を使用しない。

C. 研究結果

1 年間で新たに 26 例が研究に参加した。*SFTPC* 遺伝子解析にて 2 例にヘテロ接合性変異を認め SP-C 異常症と診断した。*ABCA3* 遺伝子解析にて肺胞蛋白症の 1 例を *ABCA3* 異常症と診断した。*SFTPB* 遺伝子解析と SP-B 解析を SP-B 欠損症の可能性のある症例に行ったが、全例において異常は認められず、SP-B 欠損症が否定された。肺胞マクロファージの異常による肺胞蛋白症の可能性を考え GM-CSF 刺激による STAT-5 リン酸化の解析を行った症例はなかった。*FOXF1* 遺伝子解析を治療抵抗性の肺高血圧症 5 例に行い、ACD/MPV の 1 例に遺伝子変異を認めた。

D. 考察

診断システムへの紹介症例が増加し、前年度より多い 4 例の HILD を診断した。間質性肺疾

患5例の80%の原因を特定し、本研究の診断システムは効率よくHILDを抽出したと考えられた。日本のHILDの特徴として、SP-C異常症が新生児においても比較的多い可能性があること、ABCA3異常症が諸外国に比べ少なく非常に稀であること、SP-B欠損症の報告例がなく極めて稀であることが挙げられた。またACD/MPVがHILDの主要な原因であることが確認された。

診断の確定により、適切な治療法選択のための助言、肺移植が有効である根拠の提示が可能となった。稀で難治な疾患群であるHILDに対して適切な治療法の選択が可能となるよう診断支援の継続が必要である

## E. 結論

HILDの診断システムを構築した。本年度内でHILD4例を新たに診断した。日本においてSP-C異常症とACD/MPVはHILDの主要な原因であり、SP-B欠損症は極めて稀である。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Takuma Akimoto, Kazutoshi Cho, Itaru Hayasaka, Keita Morioka, Yosuke Kaneshi, Itsuko Furuta, Masafumi Yamada, Tadashi Ariga, Hisanori Minakami.: Hereditary interstitial lung diseases manifesting in early childhood in Japan. *Pediatric Research* (投稿中)

### 2. 学会発表

## A. 国際学会

1. Takuma Akimoto, Kazutoshi Cho, Itaru Hayasaka, Keita Morioka, Yosuke Kaneshi, Masafumi Yamada, Tadashi

Ariga, Hisanori Minakami :Diagnostic support including genetic testing for hereditary interstitial lung disease in Japan. Hot Topics in Neonatology 2013, Dec 8, 2013, Washington D.C., USA

## B. 国内学会

1. 秋元琢真、早坂 格、森岡圭太、兼次洋介、長 和俊 : 新生児遺伝性間質性肺疾患の診断支援. 第12回肺サーファクタント分子病態研究会、2013年6月22日・札幌
2. 秋元琢真、早坂 格、森岡圭太、兼次洋介、長 和俊 : 「先天性間質性肺疾患」の診断支援：新生児希有疾患（病態）前方視的サーベイランス事業中間報告、第58回日本未熟児新生児学会学術集会、2013年11月30日・金沢

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

オスラー病の遺伝子解析

研究分担者 森崎裕子 国立循環器病研究センター研究所 分子生物学部室長

研究要旨

我々は、2005年より臨床的に遺伝性出血性毛細血管拡張症（HHT）と診断された患者の遺伝子解析を施行しているが、昨年度に引き続き、今年度は2013年12月までにさらに38家系85例を追加解析し、合わせて121家系232例について解析を終了した。その結果、*ENG*変異(HHT1)66家系(55%)106例、*ACVRL1*変異(HHT2)32家系(26%)48例、*SMAD4*遺伝子変異2家系(1.7%)4例、その他2家系(1.7%)2例 計102家系(84%)161例において、原因遺伝子変異を同定した。

このうち、臨床所見の得られた遺伝子変異陽性者154名について、遺伝子型と臨床型との関連を解析した。*ENG*変異(HHT1)例と*ACVRL1*変異(HHT2)例の比較においては、HHT1においては肺AVF、脳AVMの合併が有意に多く、HHT2では、肝AVMの合併が有意に多かった。また、変異陽性者の約75%では内臓病変や重度貧血など治療を要する合併症を認めた。患者家族の解析において、57名の変異陽性者中9名(うち成人4名)は、HHTではないと考えられてフォローされておらず、うち1例においては、精査により合併症の発見に至っている。

臨床診断の難しい場合もある一方、変異陽性者のほとんどは最終的には何らかの臨床症状を呈していることを考慮すると、効果的な患者管理のためにも、遺伝子診断は有用であると考えられた。

A. 研究目的

遺伝性出血性末梢血管拡張症（HHT）は、先天性動静脈奇形による皮膚・粘膜および内臓の多発性末梢血管拡張とそこからの出血を特徴とする常染色体優性遺伝性疾患であり、責任遺伝子として、これまでに、*ENG*(Endoglin)、*ACVRL1*(ALK1)、*SMAD4*が知られており、それぞれHHT1、HHT2、JP-HHTとして分類されている。病型ごとの分布は地域により異なり、北欧や北米ではHHT1が多いが、地中海地域ではHHT2が比較的多いとされている。昨年度までの解析により、本邦においては、HHT1

が患者の3分の2を占めていることを示したが、今年度さらに解析症例数を増やし、本邦におけるHHT患者の全体像をとらえることを目的とした。さらに、原因遺伝子による臨床症状の違い（Genotype-Phenotype Correlation）については、いくつかの先行研究があるが、それについても再検討を行った。また、原因遺伝子の同定されない症例について、新たな原因遺伝子の探索を行った。以上により、今後のHHT患者およびその家族の管理における遺伝子解析の有用性について検討した。

## B. 研究方法

今年度の解析対象:2012.11月~2013.12月の間に、臨床所見より HHT (確定・疑い) と診断され、関連機関あるいは本班研究分担研究者より国立循環器病研究センターに遺伝子解析を依頼された患者 85 名(うち発端者 38 名、患者家族 47 名)。

解析方法:

### 1) 遺伝子解析

末梢血リンパ球より抽出したゲノム DNA を用いた遺伝子解析を行った。

まず、*ENG*, *ACVRL1* 遺伝子の全 exon について、exon -intron 境界を含むゲノム領域について PCR 法にて増幅し、直接シーケンス法にて変異解析を行った。これにて変異の同定できなかった症例については、同遺伝子の MLPA 解析および *SMAD4* 遺伝子の追加解析を行った。この時点で、遺伝子変異の同定されなかった症例のうち、エクソーム解析の同意の得られた 18 名について次世代シーケンサー (HiSeq1000) を用いたエクソーム解析を行った。なお、家族例については、発端者で同定された変異についてのみ解析を行った。

### 2) 遺伝子型・臨床型 相関解析

本班研究分担研究者および研究協力者より得られた臨床情報 (匿名化済み) に基づき、変異陽性者について、遺伝子型・臨床型の相関解析を行った。

### (倫理面への配慮)

本研究における患者検体を用いた遺伝子解析については、既に国立循環器病センター倫理委員会の承認を得ており、施設および国などの指針を遵守し、書面によりインフォームドコンセントを受けて研究を実施するなど、倫理面への配慮を十分に行った。また、解析はすべて連結可能匿名化の上で行われた。

## C. 研究結果

### 1) 遺伝子解析

今年度の新規 HHT 発端者 38 例について変異解析をおこない、20 例(53%)で *ENG* 変異、11 例(29%)で *ACVRL1* 変異、1 例(2.6%)で *BMPR2* 変異を同定した。全体の変異同定率は 84%(32/38)であった。これまでの解析全体としては、*ENG* 変異 66 家系 (55%) 106 例、*ACVRL1* 変異 32 家系 (26%) 48 例、*SMAD4* 遺伝子変異 2 家系 (1.7%) 4 例、*BMPR2* 遺伝子変異 2 家系(1.7%)2 例 計 102 家系 (84%) 161 例において、原因遺伝子変異が同定された。前年度までの解析と同様、本邦では、*ENG* 変異が約 3 分の 2 を占めており、北欧や北米と同じ傾向を認めた。

エクソーム解析をおこなった 18 例については、新規遺伝子である *BMP9 (GDF2)* および *TGF-β* シグナル伝達系を中心とした 227 候補遺伝子について解析を行ったが、原因と考えられる変異は同定できなかった。

### 2) 遺伝子型/臨床型 ; HHT1 vs HHT2

遺伝子変異の同定された患者のうち、臨床情報の得られた HHT1 患者(*ENG* 変異 102 例)と HHT2 患者(*ACVRL1* 変異 46 例)について臨床症状の比較検討を行った。診断基準である、鼻出血、毛細血管拡張症 telangiectasia (TA)、内臓 AVM (肺、脳、肝、消化管) のうち、何らかの症状を認めたのは、HHT1 で 96.1%、HHT2 で 91.3%であり、16 才以上の症例に限定した場合は、HHT1 で 98.7%(76/77)、HHT2 で 95.3% (41/43)であり、成人例では 3 例を除く 117 例で何らかの所見を認めた。また、内臓 AVM を認めたのは HHT1 で 75.5%、HHT2 で 71.7%であった。

内臓 AVM を部位別に検討したところ (精査症例のみ)、肺 AVM の合併率は、HHT1 で 84%、HHT2 で 35%、脳 AVM の合併率は、HHT1 で

26%、HHT2で7%と、いずれもHHT1で有意に高かった( $p=3 \times 10^{-7}$  および  $p=0.040$ )。一方、肝AVMの合併率は、HHT1で18%、HHT2で79%であり、HHT2で有意に高かった( $p=3 \times 10^{-7}$ )

### 3) その他

15才以下でTAを認めたのは28例中5例(18%)のみであり、最年少例は8才であった。一方、鼻出血は15才以下では19例(68%)、PAVFは15例(54%)に認め、TAより早期に認められる傾向があった。

HHT1/HHT2家族の解析では、57名中9名(うち成人4名)は、HHTではないと考えられ、フォローされていなかった。

## D. 考察

鼻出血、毛細血管拡張症 telangiectasia (TA)、内臓AVMのうち、TAが認められるのは比較的年長になってからであり、鼻出血の程度によっては、HHTの保因者と考えられていない場合もありうる。精査例では内臓AVMの合併が小児期より認められる場合も多いことから、適切な患者管理のためには、遺伝子診断が有効であると考えられた。

## E. 結論

本邦におけるHHT原因遺伝子の分布は、北欧や北米と同様に、*ENG*変異によるものが約3分の2を占めていた。

また、HHT1とHHT2の比較では、遺伝子変異の変異型および臨床的合併症において、有意な違いを認めた。

保因者における遺伝子診断は適切な患者管理のためにも有効である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Komiyama M, Ishiguro T, Yamada O,

Morisaki H, Morisaki T: Hereditary hemorrhagic telangiectasia in Japanese patients. *J Hum Genet* (in press)

2. 森崎裕子, 森崎隆幸: 「肺高血圧症の遺伝子解析」; 肺高血圧症の臨床(中西宣文 編). 大阪, 医薬ジャーナル, 2013, p 53-62

3. 森崎裕子, 森崎隆幸, 特発性/遺伝性肺動脈性高血圧症の遺伝子解析. *Cardiac Practice*. 24(1): p. 31-36. (2013)

## 2. 学会発表

1. Morisaki H., Komiyama M., Yamada O., Osuga K. and Morisaki T. ; “ Mutation analysis of TGF  $\beta$  pathway genes in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia patients in Japan: Genotype -phenotype correlations in 119 cases” in *European Human Genetics Conference 2013*, Paris,;2013.6.8-11.

2. Morisaki H., Komiyama M., Yamada O., Osuga K. and Morisaki T. : “ Mutation analysis of TGF-beta pathway genes in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia patients in Japan: Genotype -phenotype correlations in 119 cases” in *10th HHT Scientific Conference, Cork*,;2013.6.12-15.

## 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

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

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—

研究分担者 田澤立之 新潟大学医歯学総合病院准教授

伊藤祐子<sup>1</sup>、橋本淳史<sup>1</sup>、田中崇裕<sup>1</sup>、中垣和英<sup>2</sup>、中田 光<sup>1</sup>

1) 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター 2) 日本獣医生命科学大学

研究要旨

【背景】肺胞蛋白症の新規治療としてGM-CSFの吸入治療については、本邦の多施設第Ⅱ相臨床研究で安全性と有効性が示唆されている。また治療終了後も、GM-CSF吸入治療の効果が半数以上の患者で維持され、治療前の%VCが再発の予測因子となりうることが本研究で示唆された。しかし、本症が稀少疾患であるため製薬企業による開発は採算がとれず、吸入薬として承認されている製剤は海外にもまだない。GM-CSF吸入製剤の開発には、動物吸入実験による前臨床試験が必要であるが、ヒトGM-CSFは種特異性が高く、マウス等の齧歯類では生理活性を示さない。そこで、本研究ではヒトに近いカニクイザルでのGM-CSF吸入実験の方法を検討する。【方法】新潟大学および委託施設の動物倫理委員会の審査承認を得て、カニクイザルで、GM-CSF製剤を気管内に3日間マイクロスプレーカニューレで投与し、投与終了翌日と1週間後の細径気管支鏡による気管支肺胞洗浄液採取で評価した。【結果・考察】投与後、全身状況に変化はなく、投与終了翌日の気管支肺胞洗浄液および血漿中から、GM-CSF活性を検出し、末梢血白血球数の増加および気管支肺胞洗浄液中の総細胞数の増加をみとめた。これらよりGM-CSF製剤の気管内スプレー投与により生理学的変化を、血液学的検査や細径気管支鏡での気管支肺胞洗浄液で評価できることが示唆された。

A. 研究目的

2004年～2008年のわが国での多施設第2相臨床研究によって、肺胞蛋白症治療薬としてのGM-CSF吸入製剤の安全性と有効性が示唆されている。一方で吸入治療の予後は明確でない。GM-CSF吸入治療後のaPAPの再発の危険因子を明らかにするために、GM-CSF吸入治療を受けた35例の患者で、治療終了後30カ月間にわたって追加治療の有無と6カ月ごとの重症度を調べ（図1）、臨床検査所見と比較解析した。観

察期間中、23例は追加治療なく経過し（FR群）、12例は追加治療を要した（AT群）。AT群中、3例は、GM-CSF吸入後、改善みられず、引き続いて全肺洗浄が行われた。残る9例は、観察期間中に再増悪をみて追加治療を受けている（図2）両群間で、治療前の年齢、性別、徴候、酸素化指標、血清GM-CSF抗体価に有意差はなかったが、治療前%VCがFR群で有意に高かった（図3）。

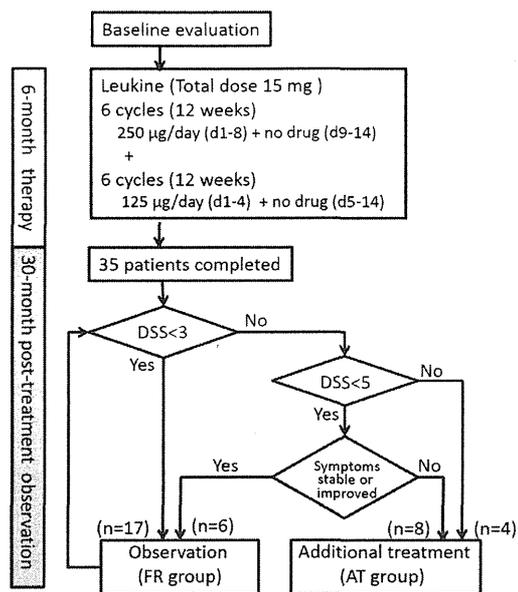


図1. GM-CSF吸入治療後の30か月間の予後観察

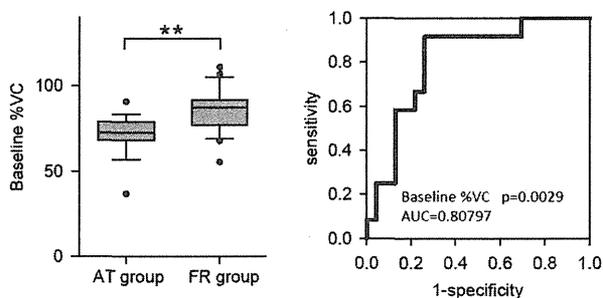


図3. 治療前肺活量と追加治療との関連とROC曲線

FR群では、治療後改善した重症度が観察期間終了時まで維持された。追加治療までの期間のKaplan-Meier分析では、%VC高値群(%VC > 80.5)と%VC低値群で有意差がみられた( $p < 0.0005$ )。これらの結果は、吸入治療開始前のPaO<sub>2</sub>や奏効性での層別解析でも、同じ結果がみられた(図4)。GM-CSF吸入治療の効果が半数以上の患者で維持され、治療前の%VCが再発の予測因子となりうることを示唆された。

しかし、わが国ではGM-CSF製剤は未承認薬であり、注射剤として承認市販されている米国

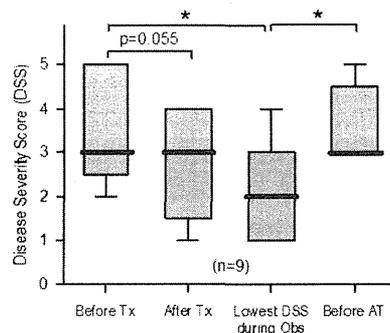


図2. GM-CSF吸入治療後3か月以上経て追加治療をうけた9例の重症度の推移。

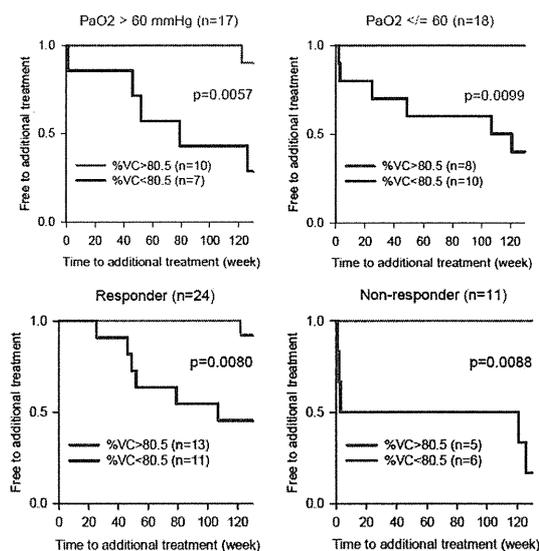


図4. 治療前肺活量と追加治療の層別解析

でも、吸入薬としては承認されていない。またGM-CSF吸入薬開発に関しては、規制当局から、IND申請や薬事戦略相談の際に、注射とは異なる投与経路であるので、動物とくに non-human primates を用いた吸入毒性試験が治験導入のまえには必要である、との見解が示されている。GM-CSFは種特異性が高く、ヒトGM-CSFは、マウスなどのげっ歯類動物では生理活性を示さない。したがって、吸入毒性試験については、ヒトに近いサル類を用いる必要がある。

吸入薬に関しては、効率の問題も残る。通常

の自発呼吸下での吸入では、呼気とともに排出される薬剤は相当量にのぼり、用量のすべてが、気道内に取り込まれるわけではない。本邦の多施設第Ⅱ相臨床研究では、ジェットネブライザーを用いたが、その効率は、同じネブライザーでの抗生物質投与などの検討を元に約 10-15%程度と推定されたが実際の気道系への沈着量は不明である。今回の検討では、気道内への投与を確実にけるマイクロスプレーを用いて検討することとした。

## B. 研究方法

動物実験に当たっては、カニクイザルの飼養専門施設（イナリサーチ社）で獣医師の指導のもとで行った。

### 投与方法

確実な投与量の確保のため、まず Pencentury 社のマイクロスプレーを、気管内に挿入して噴霧投与する方法をとった。この方法では気管内に 0.5mL の液量までは安全に投与できることを確認した。

マイクロスプレーで確実に投与をするため、0.5mL に溶解可能な最大量の 0.day1、4、11 に評価を行った。

単回投与実験では、0.5mg/body、0.05mg/body、0.005mg/body の 3 投与群とした。

### 評価方法

全身状況の観察、血中 GM-CSF 濃度測定、血液学的検査、血液生化学的検査、投与終了時の気管支肺胞洗浄液所見で評価した。血中 GM-CSF は ELISA で測定した。気管支肺胞洗浄液が有用であれば、カニクイザルは大型哺乳類動物であり、必要個体例数を減らすために、病理組織学的検索に代わるものとなりうる。特に長期毒性試験での評価に有用と期待される。

血液検査：全例を対象に大腿静脈よりポリプロピレン製シリンジおよび 22 ゲージ注射針で約 5mL を採血し、解析をおこなった。

気管支肺胞洗浄液採取：細径気管支ファイバースコープ BF typeXP60（オリンパス社）を使い、とりつけた CCD カメラによるが画像をビデオ装置によりモニターで観察しながら施行した。

麻酔：塩酸メドミジン 20  $\mu$ g/kg 及びミダゾラム 0.3 mg/kg を筋肉内投与して鎮静させた後、ケタミン 5 mg/kg を筋肉内投与した。動物を仰臥位で四肢を伸ばした状態で保定し、呼吸数、体温、心拍数を目視又は触診にてモニターした。終了後、投与時と同様に、アチパメゾール 0.3 mL を筋肉内投与して覚醒させた。

気管支肺胞洗浄液（BALF）採取：モニターで観察しながら中葉枝へ進め、楔状固定し、1 回 5mL の温生理食塩水を注入・吸引を 6 回繰り返した。

BALF の細胞の解析：6 回に分けて採取した BALF 液は最初の 1 回分を細菌検査に提出し、2～6 回目に採取した BALF 液を合わせて細胞数算定を行った。

### （倫理面への配慮）

以上の動物実験については、専門飼養施設イナリサーチ社の動物実験審査委員会ならびに新潟大学動物実験委員会に実験計画書を提出して審査を受け、指摘事項を修正して、承認を受けた。実施にあたっては、飼養施設の獣医師が立ち会い、実験操作が苦痛の軽減に配慮して倫理的に行われていることを確認した。

## C. 研究結果

### 3 日間連続スプレー投与による吸入予備実験

・全身状態：吸入前後で、食事摂取量などの一般状況に大きな変化なく、体温に有意差はみられなかった。体重の減少は、コントロール群、GM-CSF 吸入群の双方にみられた。

・GM-CSF 活性：GM-CSF 投与群では、BALF 中、血漿中のいずれにおいても、day 4 で、GM-CSF 活性を確認できたが、アルブミン投与

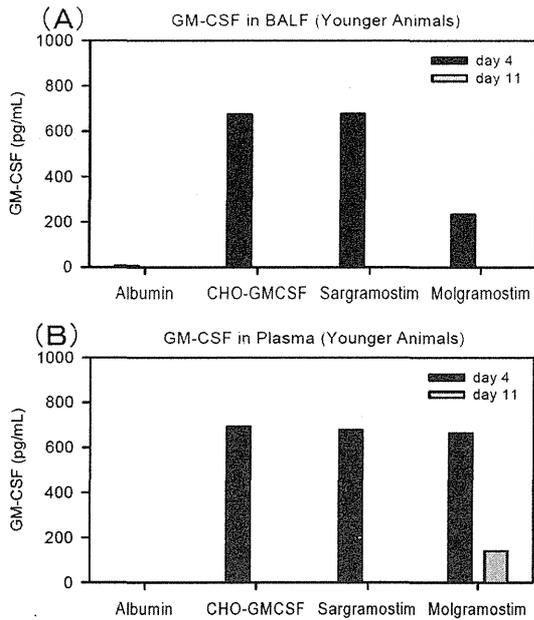


図5. GM-CSFスプレー3日間投与(day1-3)後のBALF中(A)と血漿中(B)のGM-CSF濃度

群では、検出限界以下であった(図5)。

・BALF 所見への影響：GM-CSF 投与群と対照群で採取量に有意差はみられなかった。有意の一般細菌あるいは真菌は検出されなかった。総細胞数、細胞密度とも、GM-CSF 吸入群で高値の傾向があった。また細胞分画では、好酸球の上昇の傾向がみられたが、対照(アルブミン投与)群でも上昇がみられた(図6、7)。

・末梢血血算への影響：GM-CSF 投与群では、対照群と比較して、Day 4(投与終了翌日)で白血球数が増加し、Day 11(投与終了8日目)では回復する傾向がみられた。白血球の内、好中球、単球、好酸球等は Day 4 で増加し、Day 11 で回復する傾向がみられた。

・血液生化学所見への影響：いずれの GM-CSF 群においても、対照群と比較して、Day 4 では CRP 高値がみられ、Day 11 には回復する傾向がみられた。GM-CSF はサイトカインの一種であることから、この高値は GM-CSF の作用と考えられた。

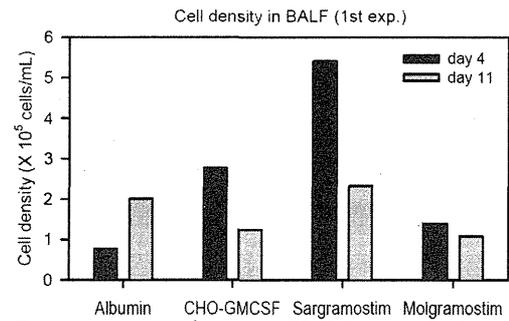


図6. GM-CSFスプレー3日間投与(day1-3)後のBALF中の細胞密度

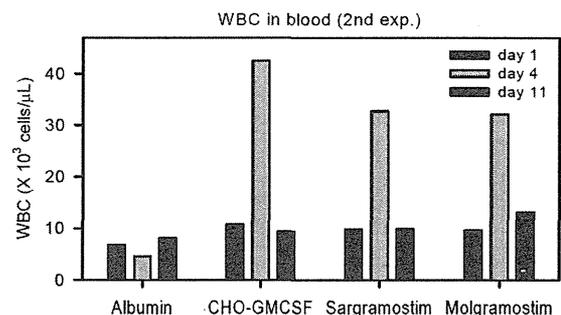


図7. GM-CSFスプレー3日間投与(day1-3)後の血中の白血球数

#### スプレー単回投与での血中 GM-CSF 濃度の推移

マイクロスプレーによる気管内単回投与を、0.5mg/body、0.05mg/body、0.005mg/body の3群で行ったところ、最小用量での 0.005mg/body でも検出限界(3pg/mL)を越える濃度がみられ、用量に依存して血中濃度の上昇がみられた(図8)。

#### D. 考察

本研究で、ヒト GM-CSF 製剤をマイクロスプレーカニューレでカニクイザルに経気道的に投与することで、①血中での GM-CSF 濃度を確認できること、②動物での末梢血中白血球上昇等の全身的な生理学的効果を確認できること、③細径気管支ファイバースコープを用いた気管支

肺胞洗浄液（BALF）採取により、局所でのGM-CSFの検出が可能であること、④BALF中の細胞数上昇等の、GM-CSF投与による局所での生理学的効果を確認できること、⑤一定以上の投与量であれば単回投与での薬物血中濃度推移曲線を描けること、が示唆された。

肺胞蛋白症のGM-CSF吸入治療の臨床研究で用いられている吸入装置は、ジェットネブライザーであるが、吸入液の相当量が肺内に沈着せずに空気中へ放出され、吸入効率の評価が難しい。まず気道内に投与する用量が確実に決められる、マイクロスプレーによる投与で実験を進めた。マイクロスプレーでサル気道内へ安全に噴霧できる最大液量は0.5mLである。また今回使用したGM-CSF製剤の溶解可能な最高濃度は1mg/mLであった。そこで、最大用量を0.5mg/bodyとして実験をおこなった。今回の検討で、血液およびBALFでの検討により、全身性および肺局所での生理学的な効果を確認でき、さらに血中GM-CSFも確認できた。引き続き、先行研究でのネブライザーの吸入効率（抗生物質のトブラマイシンのジェットネブライザーでの投与でのシンチグラフィでの評価では、80mg投与して11.8mgが沈着と評価されたとする報告がある）を参考に、ネブライザーでの動物実験を進めている。

### E. 結論

マイクロスプレーによるカニクイザルへのGM-CSF製剤の気管内投与により、末梢血中の白血球増加等の全身性の生理学的変化が確認でき、さらに本動物での細径気管支鏡での気管支肺胞洗浄液（BALF）採取により肺局所での生理学的変化の評価も可能であることが示された。また血中、BALF中のGM-CSFも検出可能であり、薬物動態推移曲線を得られる可能性が示唆された。

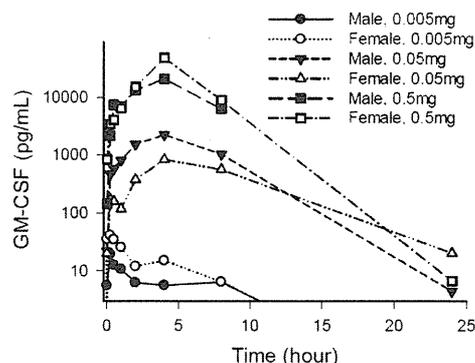


図8. GM-CSFスプレー単回投与後の血中のGM-CSF濃度の推移

### F. 健康危険情報

上記のGM-CSF吸入治療を完遂した35例の肺胞蛋白症例の治療終了後30カ月間の観察期間中に、重篤な遅発性有害事象はみられなかった。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Tazawa R, Inoue Y, Arai T, Takada T, Kasahara Y, Hojo M, Ohkouchi S, Tsuchihashi Y, Yokoba M, Eda R, Nakayama H, Ishii H, Nei T, Morimoto K, Nasuhara Y, Ebina M, Akira M, Ichiwata T, Tatsumi K, Yamaguchi E, Nakata K. Duration of benefit in patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis after inhaled GM-CSF therapy. Chest in press.

2. Hisata S, Moriyama H, Tazawa R, Ohkouchi S, Ichinose M, Ebina M. Development of pulmonary alveolar proteinosis following exposure to dust after the Great East Japan Earthquake. Respir Investig. 51(4):212-6, 2013.

3. Nei T, Urano S, Itoh Y, Kitamura N, Hashimoto A, Tanaka T, Motoi N, Kaneko C, Tazawa R, Nakagaki K, Arai T, Inoue Y, Nakata K. Light chain ( $\kappa/\lambda$ ) ratio of GM-CSF autoantibodies is associated with disease severity in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. Clin Immunol. 2013 in press.
2. 学会発表
- A. 国際学会
1. Tazawa R, Arai T, Kasahara Y, Hojo M, Ohkouchi S, Eda R, Yokoba M, Tsuchihashi Y, Nei T, Nakayama H, Ishii H, Morimoto K, Nasuhara Y, Takada T, Ebina M, Yamaguchi E, Inoue Y, Nakata K. Vital Capacity And Recurrence After Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) Inhalation Therapy For Pulmonary Alveolar Proteinosis. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5.
  2. Inoue Y, Arai T, Nakata T, Yamaguchi E, Ichiwata T, Ebina M, Tazawa R, Ishii H, Setoguchi Y, Kitaichi M, Akira M, Tatsumi K, Nasuhara Y, Cho K, Tsuchihashi Y, Uchida K, Takada T, Nakayama H, Tomii K, Sugimoto C, Kohashi Y, Ohkouchi S, Kasahara Y, Morimoto K, Nakatani Y, Tsuyuguchi K, Japan PAP Study Group. Longitudinal Cohort Of Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5.
3. Nakata K, Nei T, Urano S, Tazawa R, Azuma B. IgM Type GM-CSF Autoantibody Is Etiologically Bystander But Involved In Development Of IgG Type Autoantibody In Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. Alveolar Proteinosis. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5. Nakata K, Nei T, Urano S, Tazawa R, Azuma B. IgM Type GM-CSF Autoantibody Is Etiologically Bystander But Involved In Development Of IgG Type Autoantibody In Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. Alveolar Proteinosis. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5.
  4. Ishii H, Nakata K, Tazawa R, Inoue Y, Japan Rare Lung Disease Consortium. Characteristics Of Negative GM-CSF Autoantibody Pulmonary Alveolar Proteinosis (NA-PAP) In Japan. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5.
  5. Nakata K, Nei T, Motoi N, Urano S, Tazawa R, Nakagaki K, Suzuki M, Takizawa J. A Mechanism For Acceleration of GM-CSF Autoantibody Production In Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. American Thoracic society International conference 2013, Philadelphia, 2013.5.
- B. 国内学会
1. 田澤立之, 新井徹, 笠原靖紀, 放生雅章, 大河内眞也, 江田良輔, 横場正典, 土橋佳子,

中山秀章, 石井晴之, 森本浩之輔, 南須原康行, 高田俊範, 海老名雅仁, 山口悦郎, 井上義一, 中田光. 肺胞蛋白症の GM-CSF 吸入治療の予後と肺活量. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013.04.

#### 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

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

研究分担者 石井晴之 杏林大学医学部第一内科学 講師

研究要旨

続発性肺胞蛋白症は予後不良であり、治療としては基礎疾患のコントロールが重要とされる。しかし呼吸不全の改善を目的として肺洗浄が施行される症例もあるが効果は明らかではなかった。本研究にて14例の肺洗浄を施行した続発性肺胞蛋白症の臨床経過をretrospectiveに評価した。14例の洗浄方法の内訳は全肺洗浄も区域洗浄も共に7例ずつであった。肺洗浄後の呼吸不全の改善をみとめた症例を有効としたが、有効例は14例中わずか3例のみであった。また無効であった11例のうち9例は洗浄後6ヶ月以内に死亡しており、洗浄後の感染症合併や呼吸不全の悪化が大きな問題となっていた。続発性肺胞蛋白症診断後の生存期間を未洗浄群35例と比較しても2年生存率19.6%と著しく予後不良であった。本研究はretrospectiveな評価であり、肺洗浄の基準や対象者の全身状態に差異はあったが、続発性肺胞蛋白症における肺洗浄は有用性に乏しく慎重に検討すべき治療と考えられた。

A. 研究目的

続発性肺胞蛋白症(secondary pulmonary alveolar proteinosis: sPAP)は予後不良な疾患である。基礎疾患のコントロールが重要とされるが、呼吸不全が進行する症例では自己免疫性肺胞蛋白症と同様に肺洗浄による呼吸不全の改善を試みることもある。しかし基礎疾患による感染症合併リスクが高い症例も多く、肺洗浄の有効性は明らかではない。本研究はsPAPにおける肺洗浄の有効性を評価することを目的とした。

B. 研究方法

病理組織学的に肺胞蛋白症の所見をみとめ、血清抗GM-CSF自己抗体陰性かつ基礎疾患を有する症例をsPAPと定義した。新潟大学生命科学医療センターにて血清抗GM-CSF自己抗体陰性を確認された症例の主治医施設に直接連

絡および訪問しretrospectiveに調査研究を行った。sPAP診断後に肺洗浄を施行された14例を対象に洗浄後の臨床経過を中心に、sPAPにおける肺洗浄の有効性・予後について検討した。

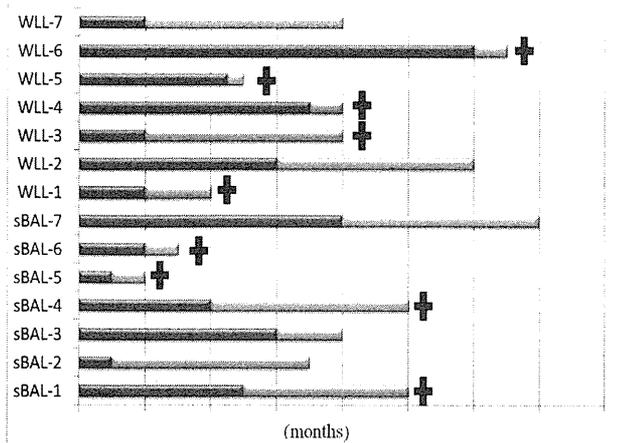
(倫理面への配慮)

本研究は「ヘルシンキ宣言」および「臨床研究に関する倫理指針（平成20年7月31日全部改正）」を遵守して実施され、杏林大学医学部倫理委員会(H23-085-01)にて承認されている。

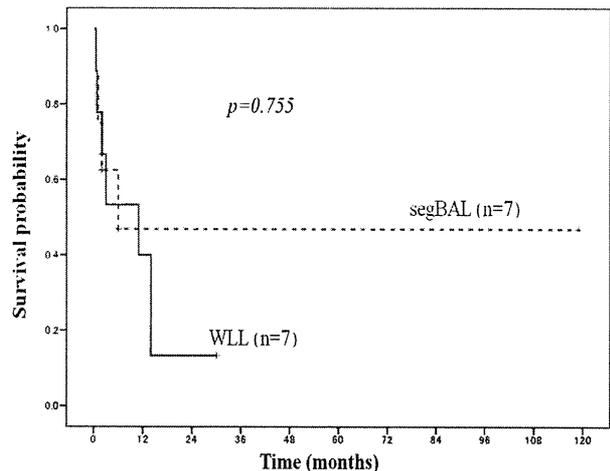
C. 研究結果

sPAP診断後に呼吸不全や画像所見の改善をみとめ主治医が有効であったと判断した症例は14例中3例(21%)のみであった。洗浄方法別では全身麻酔下での全肺洗浄7例と気管支鏡による区域洗浄7例であったが、有効性はそれぞれ1例(14%)、2例(28%)であった。さらに無効で

＜図1＞肺洗浄前および洗浄後6ヶ月以内の予後  
 ■ 洗浄前 □ 洗浄後



＜図2＞洗浄方法における生存曲線の比較



あった 11 症例において、9 例(81%)が洗浄後 6 ヶ月以内に死亡していた。全 14 例の診断から洗浄前までの期間、そして洗浄後 6 ヶ月までの期間を 図 1 に示す。洗浄後 1 ヶ月以内に死亡している症例も少なくない。これらの症例の肺洗浄後の生存曲線を 図 2 に示す。全肺洗浄も区域洗浄も洗浄後 6 ヶ月までに著しく予後不良な結果で洗浄法での有意な差はなかった( $p=0.75$ )。

また肺洗浄施行した 14 例と肺洗浄施行していない 35 例との sPAP 診断後の生存期間中央値は、前者が 15 ヶ月 (6.1-23.8) で後者が 26 ヶ月 (4.8-47.2) と有意差はついていないが肺洗浄例の予後不良な傾向はみられた。それぞれの 2 年生存率は肺洗浄群で 19.6%、未洗浄群で 52.4%であった。洗浄後 6 ヶ月以内の死亡例は、呼吸不全の悪化や感染症合併が多数の症例でみとめられた。

#### D. 考察

sPAP の治療は非常に難しい。基礎疾患の治療コントロールが重要とされるが、呼吸不全を合併している症例では、基礎疾患の治療を十分に行うことができない場合が大半である。そのため呼吸不全のコントロールを目的に肺洗浄を試みる症例も散見される。自己免疫性肺胞蛋白症

(autoimmune pulmonary alveolar

proteinosis:aPAP)では呼吸不全以外に全身状態に影響を及ぼす危険因子は少なく肺洗浄は以前から主体となる治療として行われてきた。しかし sPAP における肺洗浄の有効性は明らかにされていない。

本研究において sPAP での基礎疾患はすべて血液疾患を呈していた。血液疾患自体の感染症合併や出血性リスクもあり、洗浄後の予後不良の原因として感染症合併 (肺炎や敗血症) が大きな問題であった。また洗浄施行の時期は症例により様々であるが、それでも肺洗浄群では sPAP 診断後の予後不良な経過は変わらない。

本研究は retrospective chart study であり、肺洗浄の時期、洗浄時の全身状態、洗浄時の呼吸不全、洗浄方法など統一された内容ではないため一概には比較評価できないのは事実である。しかし aPAP でも現時点では肺洗浄の導入時期、洗浄方法などは施設間もしくは主治医により決定される内容が異なっている。そのため今回の sPAP における洗浄の有効性は明確な評価でないにせよ、現時点では有効性は乏しく積極的に行う治療法ではないと思われる。

しかし有効であった症例も 3 例みられ、今後は肺洗浄の導入基準や基礎疾患の病状を十分に

把握して検討していかなければならない。

療マニュアル. P57-77, 文光堂、東京、2013

## E. 結論

sPAP における肺洗浄の有効性は乏しい。洗浄後の呼吸不全悪化や感染症合併のリスクがあり、積極的には行う治療法とは考えにくい。しかし症例によっては呼吸不全のコントロールにより基礎疾患の治療を進められる場合など検討する治療のひとつとして今後さらなる検討をしていく必要がある。

## F. 健康危険情報

本研究で用いる試料は、既存の診療上で記載および保管されているものなので被験者の健康被害を起すものはない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 石井晴之. 続発性肺胞蛋白症の予後解析. 呼吸器内科 23(4):342-349, 2013
2. Saraya T, Fujino T, Suzuki A, Shimura C, Kawachi R, Takei H, Ishii H, Fujiwara M, Oka T, Fujioka Y, Takizawa H, Goto H. Hodgkin lymphoma with rapidly destructive, cavity-forming lung disease. J Clin Oncol. Apr 20, 2013:e211-e214.
3. Handa T, Nakatsue T, Baba M, Takada T, Nakata K, Ishii H. Clinical features of three cases with pulmonary alveolar proteinosis secondary to myelodysplastic syndrome developed during the course of Behcet's disease. Respir Invest 2013, doi: 10.1016/j.resinv.2013.05.005
4. 石井晴之. 間質性肺炎とその急性増悪. 滝澤始, Acute on Chronic で切った呼吸器診

## 2. 学会発表

### A. 国際学会

1. Ishii H, Tazawa R, Inoue Y, Nakata K. Clinical characteristics of secondary pulmonary alveolar proteinosis complicated with myelodysplastic syndrome in Japan. 18<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology: oral session: Yokohama, 2013/11/13
2. Ishii H, Nakata K, Tazawa R, Inoue Y. Characteristics of negative GM-CSF autoantibody pulmonary alveolar proteinosis (NA-PAP) in Japan. American Thoracic Society 2013 International Conference; Poster session: Philadelphia, May 20, 2013.

### B. 国内学会

1. 石井晴之. 続発性肺胞蛋白症の臨床的特徴—全国調査結果と更なる課題—. 日本肺サーファクタント・界面医学会第49回学術集会. 東京、2013/11/16

## 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