

た、診療ガイドライン作製に向けた準備と前段階のコンセンサスの検討が、他研究班と協力し進められた。

〈新薬開発と診断バイオマーカー開発の支援の実施状況〉

抗 GM-CSF 吸入療法については前臨床試験が進められた（他研究費）。当班では sargramostim（酵母由来 GM-CSF）による臨床治験開始に向け患者数の調査、プロトコル作製に協力した

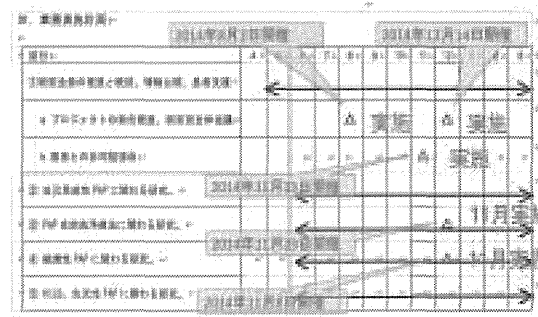
（医師主導治験に向けて）。更に、molgramostim（大腸菌由来 GM-CSF）を用いた欧州企業から国際共同企業治験の提案と参加依頼があった。研究班と関係者で相談し、sargramostim と molgramostim は糖鎖、アミノ酸が異なり両薬の開発は我が国の患者にとっても有益と判断した。また国際共同治験は必要患者数が少なく同時開発は可能と考えた。研究班の中で窓口を分担し、かつ守秘義務各種制限規定に配慮したうえで、sargramostim と molgramostim の開発を支援する事とした。また抗 GM-CSF 測定キットを診断薬として開発する準備を開始した。

以下に委託事業契約書の項目別の実施率と進捗度を示すが、抗 GM-CSF 吸入量開発と診断薬開発については予想以上の進捗と考えられた（実施率 150%、進捗度 150%）。今後が期待される。

① 研究全般の推進と統括、情報公開、患者支援(PAP、HILD)。

- a. プロジェクトの総合推進、研究統括と推進のため、研究班全体会議（スタートアップ会議、成果発表）開催（実施率 100%、進捗度 100%）。
- b. 患者支援、情報公開、研究成果の国民への

還元。(PAP、HILD)研究班ホームページ。患者との合同勉強会開催。診断、治療支援相談体制（実施率 100%、進捗度 100%）。



② 自己免疫性 PAP に関わる研究。

- a. PAP 症例データベースの再評価（実施率 100%、進捗度 100%）と難治重症例の抽出、調査。後方視的に疫学基本データの解析と重症、難治例（呼吸不全、肺線維化、感染症、肺外合併症）の抽出（実施率 50%、進捗度 50%）。データベースシステムの再評価（症例カード、管理方法）とコホート調査の準備（実施率 100%、進捗度 50%）。
- b. 呼吸不全合併例の寛解導入（全肺洗浄等）と維持療法について検討とコンセンサスの作製（実施率 80%、進捗度 50%）。
- c. 肺線維症/間質性肺炎合併例の調査と治療効果、安全性の後方視的検討レポート作成（実施率 80%、進捗度 60%）。
- d. 感染症早期発見と予防、治療に関する検討とコンセンサスの作成（実施率 80%、進捗度 50%）。
- e. その他の肺外合併症に対する検討とコンセンサスの作製（実施率 80%、進捗度 50%）。
- f. 後天的要因（環境、医原性等）に関する検討とコンセンサスの作製（実施率 80%、進捗度

50%)。

g. 遺伝因子に関する検討準備(実施率 60%、進捗度 50%)。

h. 新たな治療法開発 (GM-CSF 等) に向けた基盤整備(実施率 100%、進捗度 90%)。

i. 病態解明(実施率 100%、進捗度 100%)

③ PAP 全肺洗浄療法に関わる研究。

a. 集学的研究会 (麻酔科、呼吸器内科) の実施とコンセンサスの作製(実施率 100%、進捗度 100%)。

b. 洗浄効果予測理論式の作製と前方視的コホートでの検証(実施率 100%、進捗度 100%)。

④ 続発性 PAP に関わる研究(実施率 100%、進捗度 100%)。

a. 診療支援体制の継続的整備(実施率 100%、進捗度 10%)。

b. 集学的症例検討会の実施(実施率 100%、進捗度 100%)。

c. 重症難治化要因の検討とその診断、治療に関するコンセンサスの作成(実施率 10%、進捗度 10%)。

d. 病態解明(実施率 100%、進捗度 60%)。

⑤ HILD、先天性 PAP に関わる研究。

a. 診療支援体制の継続的整備(実施率 10%、進捗度 10%)。

b. 集学的症例検討会の実施(実施率 50%、進捗度 50%)。

c. 重症難治化要因の検討とその診断、治療に関するコンセンサスの作成(実施率 50%、進捗度 50%)。

d. 病態解明(実施率 100%、進捗度 60%)。

F. 結論

平成 26 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、超稀少疾患である肺胞蛋白症、遺伝性間質性肺疾患の診療支援体制を小児科、血液内科、麻酔科と共に形成している。政策医療、厚生医療に貢献し国民に大いに還元をしている。今後も継続的な研究の継続が必要である。

G. 健康危険情報

特記すべき危険情報無し。

H. 研究発表

学会等発表実績を参照

I. 参考資料 (研究班に関連した検討会、勉強会、学会シンポジウム等)

【麻酔科、呼吸器内科合同の全肺洗浄合同検討会プログラム】

第 2 回肺胞蛋白症全肺洗浄検討会 (呼吸器内科、麻酔科合同会議)

日 時;平成 26 年 11 月 23 日 (日) 18:00～21:00

場 所;公益財団法人国際文化会館 (東京)

参加施設 ;

新潟大学、愛知医科大学、国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、東京大学医学部麻酔科、東京医科大学八王子医療センター呼吸器内科、

Medical University, Tokyo, Japan)

Yoshikazu Inoue, M.D.

(Clinical Research Center, National Hospital

Organization Kinki-Chuo Chest Medical Center,

Osaka, Japan)

プログラム

- (1) New Insights into Childhood Interstitial Lung Diseases

Lisa R. Young, M.D.

Department of Pediatrics, Vanderbilt

University, USA

- (2) Children's Interstitial Lung Disease in Children (ChILD) : Results of a National Survey in Japan

Goro Koinuma, M.D.

The Department of Pediatrics, Keio

University, Tokyo, Japan

- (3) Diagnostic Support for Hereditary Interstitial Lung Diseases

Kazutoshi Cho, M.D. Perinatal Care Center,

Hokkaido University Hospital, Sapporo,

Japan

- (4) Clinical characteristics and molecular pathogenesis of hereditary interstitial lung disease

Yasuhiro Setoguchi, M.D. Division of

Respiratory Medicine, The First Department

of Internal Medicine, Tokyo Medical

University, Tokyo, Japan

シンポジウム終了後の演者、ボランティア通訳をお願いした佐藤先生(英国ブロンプトン病院)と。



Lisa R. Young 先生講演



分担 / 協力研究報告書

自己免疫性肺胞蛋白症の病態解明

橋本淳史、椎谷圭子、伊藤裕子、田澤立之、中田 光
新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター

研究要旨

我々に与えられた本研究班のプロジェクトは自己免疫性肺胞蛋白症の病態解明である。GM-CSF 自己抗体の重症化との関係を調べるために、軽鎖遺伝子配列を次世代シーケンスにより調べている。すでに 39 例の末梢血単核球を保存し、患者検体のデータベースを作成した。

A. 研究目的と必要性

難治性疾患等研究事業のうち、井上班は、ジャンル B に位置し、日本医療研究開発機構から予算がおり、委託型の研究費である。今年度、井上班長から指名されたテーマは、②自己免疫性 PAP に関する研究の中の病態解明である。もう一つのテーマである洗浄効果予測理論は、別紙で田中が発表するので参照されたい。

病態解明は、以下の 3 つの軸からなる。

プロジェクト 1

GM-CSF 自己抗体軽鎖の次世代シーケンスによる解析

プロジェクト 2

ヒト GM-CSF におけるシアル酸修飾の意義

プロジェクト 3

間葉系幹細胞との共培養による in vitro 自己抗体産生系の確立

プロジェクト 1 は、血清中の軽鎖比が重症度と逆相関していることから、重症化の分子機構を解明することが目的である。プロジェクト 2 は、患者の GM-CSF がどのような糖鎖構造を持つかを明らかにし、抗原の面から自己抗体産生機序の解明を行う。プロジェクト 3 は、in vitro の自己抗体産生系を作り、産生細胞の検出を行う。

B. 計画と方法

(1) 患者及び健常者サンプル

新潟大学医学部倫理委員会の承認を得て、健常者 5 名、自己免疫性肺胞蛋白症患者 39 例より文書同意を得て血液を採取した。

C. 研究結果

① プロジェクト 1 GM-CSF 自己抗体軽鎖の次世代シーケンスによる解析

患者 39 例について、呼吸機能、血ガス、自己抗体価、 κ/λ 比、avidity、中和能などを測定し、complete data として保存した(表 1)。

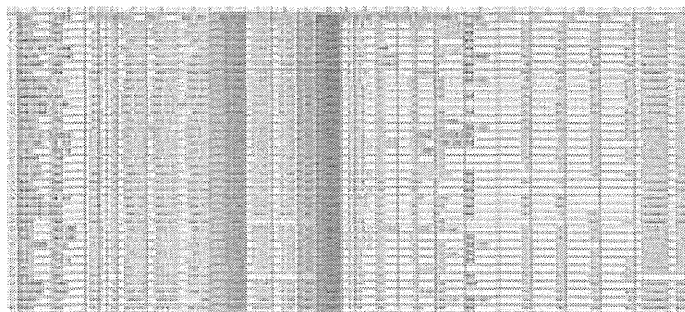


表 1 39 例の保存 PBMC データベース

以下の手順をへて、患者自己抗体産生 B 細胞をソートした。

患者または健常末梢血



比重遠心により PBMC 採取



Milteni B cell separation kit にて B 細胞分取



Anti-IgM BCR MACS beads で IgM clone 除去



Biotinylated GM-CSF と反応 avidin beads で自己抗体陽性 B 細胞を採取

以上の操作の後、軽鎖の次世代シーケンスのために精製した B 細胞から RNA を抽出し、次世代用 PCR 産物を得るために以下の操作を行う。

分取自己抗体陽性 B 細胞



Isogen にて total RNA 採取

DNA ase 処理



Ovation® RNA Oligo dT primer から SMART system を用いて cDNA を伸長、5' 側に共通配列を付加したのち、Ovation® RNA Amplification System V2 で cDNA 増殖



1) 次世代用プライマーを用いて k 鎖、λ 鎖別個に PCR amplicon を作製する。

2) realtime PCR で κ 鎖と λ 鎖の比を推定



次世代シーケンス

さらに以下のプロセスを経てシーケンスデータを解析する。

1. 患者 30 人、健常者 5 人の κ 鎖、λ 鎖を別個にシーケンス
2. 得られたシーケンスから IMG T ソフトウェアにより、productive sequence を選別
3. V region variability, CDR1, CDR2, CDR3 mutation の解析
4. 患者データベースを用いた重症度とシーケンスとの多変量解析

② プロジェクト 2 ヒト GM-CSF におけるシアル酸修飾の意義

ヒト由来 GM-CSF は、N 結合型糖鎖の遠位端にシアル酸をもつ複雑な糖鎖構造を持っている。ヒト由来に近い CHO 細胞由来の GM-CSF と大腸菌由来はカニクイザルに異なる GM-CSF F 抗体を産生させることから、GM-CSF のシアル酸修飾が細胞に与える critical な因子と考えている。シアル酸修飾により、ヒトは自己抗体産生を免れているのではないかと考え、患者の GM-CSF の糖鎖構造を研究することとした。

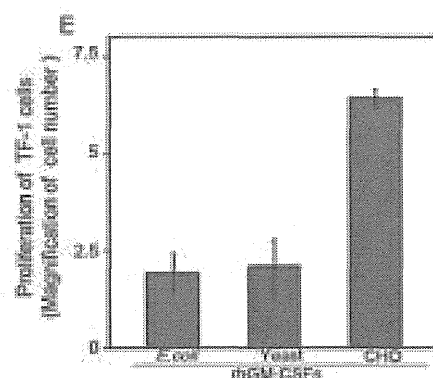


図1

現在、これらの手技の基礎検討を繰り返しており、方法が確定次第、次世代シーケンスに進みたい。

図1のように、CHO 細胞由来の GM-CSF は大腸菌由来、酵母由来 GM-CSF に比べて TF-1 細胞の増殖活性が強い。

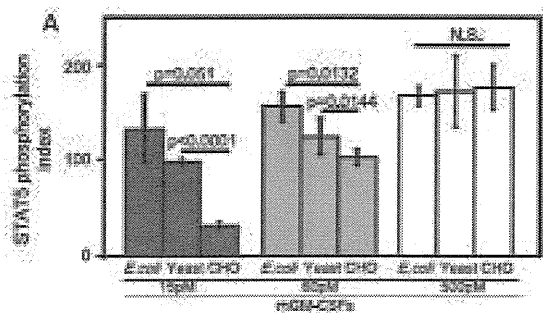


図2

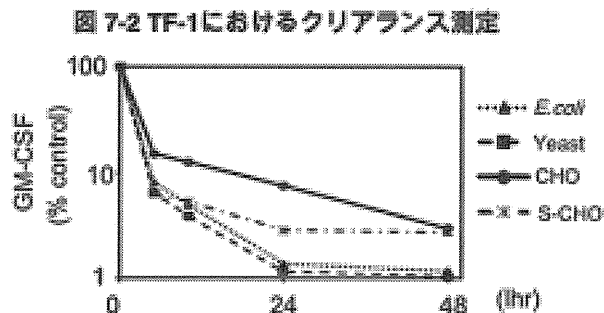


図3

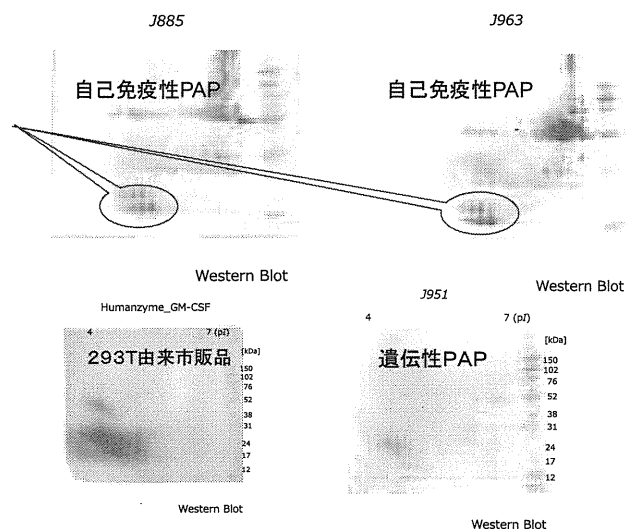


図4

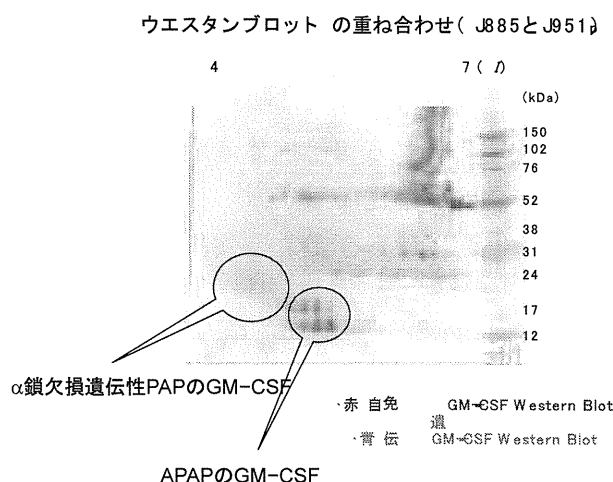


図5

ところが、全血の STAT5 リン酸化は図2のように CHO 細胞由来 GM-CSF が大腸菌由来、酵母由来 GM-CSF に比べて活性が低い。

この理由は、CHO 細胞由来の GM-CSF が細胞内にとりこまれにくいからだと思われる(図3)。

このように、GM-CSF の 27 番、37 番目に結合する糖鎖により、GM-CSF は速効型と遅効型の 2 種に分かれると思われる。これらの見分け方であるが、GM-CSF の二次元展開とウェスタンブロットによるスポットの検出を試みた。

図4のように、0.5L-1L の全肺洗浄液から精製した GM-CSF のスポットは、PI 4-5.5、分子量 15kD-28kD の範囲にあるが、自己免疫性 PAP の GM-CSF は、遺伝性 PAP、市販のヒト由来 GM-CSF に比べてアルカリ側、低分子側にシフトしていることが示唆された。これを確かめるために、二次元スポットのマージを行った。図5に示すように、APAP の GM-CSF は右下方へのシフトが確認された。

現在まで 5 人の APAP の BAL について確認したが、さらに 5 例の全肺洗浄液から GM-CSF を精製して、この現象を確認したい。

③ プロジェクト 3 間葉系幹細胞 (MSC) と
の共培養による in vitro 自己抗体産生系の
確立

患者・健常者末梢血 B 細胞から GM-CSF 自
己抗体を in vitro で産生させる系は、根井らが、
EBV を用いて確認した。ほとんどが、IgM 型
B 細胞であり、人工的な系であることは否めな
かった。一方、間葉系幹細胞は、T 細胞機能抑
制、B 細胞増殖抑制を起こすが B 細胞とプラズ
マの生存を助けることが知られている。EBV
による系とことなるのは、IgM 産生が見られな
いことである。この系ができれば、重症化・難
治化の機序の解明に役立つと期待される。

しかし、以下の 3 つの技術的な壁がある。

壁 1 共培養による自己抗体産生がわずかで、
ELISA の感度の問題がある。

壁 2 産生された IgG の非特異的反応をどのよ
うに抑えるか？

壁 3 MSC 自体が GM-CSF を産生するために
共培養した B 細胞が自己抗体を産生しても複合
体を形成し、細胞内に取り込まれてしまう。

現在、これらを克服すべく検討を重ねている。

D. 考察

ここにあげた 3 つのプロジェクトは、いづれ
も道半ばであるが、GM-CSF 自己抗体は何故
過剰産生されるのかという問題を解決するため
に、複数の方法論が重要と考え、突破をねら
っている。

G. 参考文献

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

記載すべきこと無し

2. 実用新案登録

記載すべきことなし

3. その他

記載すべきことなし

APAP-GWAS 試料収集状況と中間報告

山口悦郎 愛知医科大学呼吸器・アレルギー内科

研究要旨

自己免疫性肺胞蛋白症は抗原が確定している疾患であり、何らかの遺伝素因が背景にある可能性が高いと推定される。研究班の協力で、2013 年からゲノムワイド関連解析 (GWAS) を開始し、これまで共同研究施設の理化学研究所に患者 77 名の試料を送付した。それら比較的少数例の中間的解析で、APAP には遺伝素因が存在することが示唆された。今後、多数例の検討において、それを確定し、並行して、関連する可能性のある分子の、肺胞蛋白症における役割の解析も必要である。

A. 研究目的

自己免疫性肺胞蛋白症（APAP）では、産生される自己抗体の抗原が GM-CSF であることが確定している。稀な疾患であり、家族集積性は今のところ報告されていないが、特異な免疫応答を呈する点から、他の自己免疫性疾患同様に、発症に際して何らかの遺伝素因の存在は否定できない。APAP の診断は基本的には病理所見ないし BAL 所見および CT 所見と、血清中に自己抗体が存在することで確定し、診断面でありまいな要素は少なく、患者集団は均一であることは臨床研究を行う上で大きな利点である。また我々の研究班以外に世界で多数の APAP 患者群を集積しているグループはないと考えられ、研究の先進性の点で優位な立場にある。

B. 研究方法

山口が中心となり、理化学研究所呼吸器・アレルギー内科疾患チームの玉利真由美先生らとの共同研究で、2013 年 1 月から、APAP のゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行っている。今回その途中経過を報告する。

(倫理面への配慮)

本研究は本学倫理委員会で承認を得た後 (12-133)、各共同研究施設でも承認を得ている。

C. 研究結果

国内 13 施設から合計 77 試料を集積した。36 例の APAP 患者について GWAS を行い 7,805 例の対照と比較した結果、minor allele frequency $\geq 5\%$ の一塩基多型 (SNP) の中で、 $p < 1 \times 10^{-4}$ を示したものが 123 SNP あった。それらについて追加の 23 例でタイピングを行った結果、ゲノムワイド関連解析の有意水準である 10^{-8} レベルに達した SNP は認められなかった。しかしそれに近い p 値を示した SNP が 3 個見い出された。しかし、GWAS には test study に加えて、replication study が必須であり、今後さらに 100-200 例の症例集積が必要である。さらに可能ならば他民族での検討が望まれる。

D. 考案

比較的少数例の検討でも、APAP には遺伝素因が存在することが示唆された。今後、多数例の検討において、それを確定することが必須で

ある。並行して、関連する可能性のある分子の、肺胞蛋白症における役割の解析も必要である。

E. 結論

APAP 患者の GWAS 完遂のために、さらなる試料の集積が必要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 参考文献

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

不十分な全肺洗浄後に陰影が著明に改善した自己免疫性肺胞蛋白症の1例

山口悦郎 愛知医科大学呼吸器・アレルギー内科

研究要旨

46 歳男性の自己免疫性肺胞蛋白症例で、左肺を 2 回、明らかに不十分な全肺洗浄を行ったにもかかわらず、その後約 1 ヶ月の経過で著明に陰影と呼吸状態が改善した。機序として、自然軽快、血清抗体濃度の低下、肺局所の抗体濃度の低下、禁煙、FSC の吸入などが考えられる。今後類似症例の蓄積を踏まえ、共通要因の検討を行う必要がある。

A. 研究目的

全肺洗浄（WLL）は肺胞蛋白症（PAP）の標準的治療法である。患者自体が少なくまた全肺洗浄は国内では限られた施設で実施されているため、その至適方法は未だ検討課題である。その効果の機序は、肺胞内に貯留したサーファクタントの物理的除去が主体であると考えられている。しかし今回経験した症例から、実際の機序はさらに複雑な要素が含まれている可能性が示唆されたので報告する。

B. 研究方法および C. 結果

患者は 46 歳男性で、営業職。喘息に罹患しており、フェノテロールの不定期吸入を行っている。20 歳から 1 日 40 本の喫煙歴がある。

201X 年 11 月から労作時呼吸困難が出現し、12 月に他院での CT と BAL 所見から肺胞蛋白症と診断され、X+1 年 1 月に当科に転院した。身長 163cm、体重 78kg と肥満体。室内気で PaCO₂ 39.4 Torr、PaO₂ 59.3 Torr。VC 2.93 L (72.9%)、FEV₁/FVC 79.7%。KL-6 9171 U/ml、CEA 32.2 ng/ml。

洗浄経過

X+1 年 1 月 24 日 左 1 回目

FSC (fluticasone/salmeterol combination) 合剤(500 μ g)吸入下、右側臥位洗浄開始後、6 回目で麻酔科医が”肺が硬い”と報告。プロカテロールの吸入を 2 回施行したが状況は改善せず洗浄開始後 1 時間 13 分で中止となる。総注入量 2470 ml、総回収量 955 ml。

X+1 年 1 月 31 日 左 2 回目

FSC(500 μ g)に加えてツロブテロールテープ(2 mg)と 2 日前から prednisolone 30 mg/日を投与した。1 回目 900 ml 注入後回収液なく、その後再注入 2 回を試みるがまったく入らず。洗浄開始後 48 分で回収液なく中止となる。1 週間後の胸部 CT では、左肺の一部の陰影濃度が軽度低下した。

X+1 年 2 月 7 日 右 1 回目

前回と同じ前投薬。仰臥位で洗浄液注入時頭高位、回収時頭低位とした。5 回目注入後より気道内圧が上昇し、麻酔科医の判断により洗浄開始後 48 分で中止となる。

X+1 年 3 月 7 日 右 2 回目を予定

洗浄前日、胸部 CT で両肺のスリガラス陰影は著明に改善しており、室内気で病棟階段を登っても SpO₂ 96%であり日常生活に支障がないために WLL を中止した。

その後の経過

7月の胸部CTでも両肺のスリガラス陰影がさらに軽度改善し、患者は通常通り勤務している。なおその後測定した血清抗GM-CSF抗体濃度は、3回の不完全洗浄後に、洗浄前のおよそ2分の1に低下していた。また患者は入院時から禁煙し、FSCの吸入も継続した。

(倫理面への配慮)

本例は通常の診療範囲内の治療であり、特に倫理審査は要しない。

D. 考察

本例において不十分なWLLによっても、両肺のPAPが著明に改善した機序として、自然軽快、血清抗体濃度の低下、肺局所の抗体濃度の低下、禁煙、FSCの吸入などが考えられる。そのいずれであるかは、今後類似症例の蓄積を踏まえ、共通要因の検討を行う必要があるが、WLLの有効機序、あるいは自然緩解の機序は複合的な要素があることを推測させる興味深い症例である。

E. 結論

不完全なWLLでも緩解に至る症例があり、今後WLL後の経過で非典型例の集積と解析を行う必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 参考文献

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

SP-C遺伝子変異間質性肺炎の分子標的治療

瀬戸口靖弘 東京医科大学呼吸器内科学分野

研究要旨

SP-C 遺伝子変異による小胞体ストレスでは、アポトーシス誘導やシャペロン蛋白誘導、線維化関連サイトカイン分泌がある。Exon4 欠失 SP-C 変異で、新たにシノビオリン過剰発現やコラーゲン分泌促進も起こることを明らかにした。また、シノビオリン阻害コンパウンド LS102 は、exon4 欠失 SP-C 変異を有する細胞のコラーゲン分泌促進を抑制することも明らかにした。このことから LS102 は、exon4 欠失 SP-C 遺伝子に由来する間質性肺炎の進展に抑制的に働く可能性が示唆された。

A. 研究目的

これまで surfactant protein C (SP-C) 遺伝子変異を伴う間質性肺疾患について SP-C 遺伝子の転写翻訳産物である前駆 SP-C 蛋白の C 末端から 100 アミノ酸の部分は、ある種の分泌蛋白に共通のアミノ酸配列を有し BRICHOS ドメインと呼ばれる。この部分に変異がある前駆 SP-C 蛋白は、小胞体における翻訳蛋白の折りたたみの品質管理機構によって小胞体 (ER) ストレスを誘導し、肺胞 II 型上皮細胞の細胞死や EMT、線維化関連のサイトカイン分泌が起こることが明らかになっている。ER では、蛋白の折りたたみに失敗した不良品蛋白質の蓄積による ER の破綻、細胞死を回避する機構として (ERAD) が存在する。ERAD に関わる酵素の一つ E3 ユビキチン化酵素シノビオリンは、RA の滑膜細胞で過剰発現することで発見された。更にサイトカインの質の制御に司るのがシノビオリンであることも明らかになった。シノビオリンのコンディショナル・ノックアウトマウスのサイトカイン、小胞体関連因子の発現解析では、炎症性サイトカインの発現が抑制されていたことから説明さ

れる。SP-C 遺伝子変異特に代表的な BRICHOS ドメインの変異を呈し ER ストレスを起こす exon4 欠失 SP-C 遺伝子 (Δ exon4SP-C) 用いてシノビオリンの発現とサイトカインの発現を調べ、治療法への糸口を探ることが本研究の目的である。

B. 方法と結果

正常及び Δ exon4SP-C を A549 細胞株へ遺伝子導入し線維化に関与する代表的な細胞外マトリックスであるコラーゲン発現を調べた。その結果、野生型と比較して Δ exon4SP-C 導入 A549 細胞では、線維化関連サイトカインの発現の転写レベルでの上昇、また培養液中の分泌コラーゲン量の増加が確認できた。また、シノビオリンの発現も高まっていた。次にシノビオリンの関与を評価するためにシノビオリンプロモーターで発現制御されたルシフェラーゼ遺伝子を有するプラスミドを構築し、 Δ exon4SP-C 発現プラスミドとともに A549 細胞へ遺伝子導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、exon4 欠失 SP-C 遺伝子において 1.6 倍の活性化がみられ、内在シノビオリン発現量

も RNA および蛋白質レベルで上昇していることが明らかになった。正常及び exon4 欠失 SP-C 遺伝子を A549 細胞株へ遺伝子導入し、シノビオリン阻害剤 LS102 を培地へ添加し、LS102 によりコラーゲン分泌量が低下することを確認した。

C. 考察

SP-C 遺伝子変異関連の間質性肺炎の中で SP-C 遺伝子の exon4 欠失する Δ exon4SP-C 遺伝子を有する細胞では、ER ストレスが生じ、ERAD に関わる E3 ユビキチン化酵素シノビオリンの発現が高まることを明らかにした。また、線維化関連サイトカインの発現とくにコラーゲン発現分泌も高まることを明らかにした。シノビオリン阻害剤 LS102 の投与によりコラーゲン発現の抑制が可能となることを示した。

間質性肺炎の発症機序に肺胞上皮細胞のアポトーシスが関与することが広く認知されてきているが、SP-C 前駆蛋白の BRICHOS ドメインの変異を有するものは、ER において蛋白の折りたたみができず ER ストレスを誘導し、アポトーシス、シャペロン蛋白誘導、EMT 等が起こることが報告されてきた。本研究では、*in vitro* 実験であるが RA 滑膜細胞で起こっている E3 ユビキチン化酵素シノビオリンの発現が誘導され、細胞死よりも線維化関連のサイトカイン誘導が起こることも明らかになった。ER における翻訳蛋白の品質管理によるアポトーシスなどの細胞死とアポトーシス抑制と繊維関連サイトカインの誘導の分岐は何が決定しているかについては、今後の研究が必要である。本研究においてシノビオリン阻害剤 LS102 が Δ exon4SP-C 遺伝子を有する A549 細胞のコラーゲン産生を抑制したことは、過剰な ERAD 活性を抑制した現象で SP-C 遺伝子変異による間質性肺疾患の治療への発展性が考えられる。

D. 参考文献

1. Nogee LM: Biochim Biophys Acta 1408: 323-333, 1998.
2. Mulugeta S, et al: Am J Respir Cell Mol Biol 32: 521-530, 2005.
3. Amano T, et al. Genes Dev 17:2436-2449, 2003.
4. Hasegawa D, et al PLoS One 5:e13590, 2010
5. Yagishita N, et al. Int J Mol Med. 30:1281-1286, 2012
6. Nakajima F, et al. Inter J Mol Med 35:110-116, 2015

遺伝性間質性肺疾患の指定難病へ向けての新規枠組みの提案

瀬戸口靖弘 東京医科大学呼吸器内科学分野

研究要旨

「遺伝性間質性肺疾患」ということばは、遺伝性の全身性疾患の一部としての間質性肺疾患、また肺という臓器のみに発症する遺伝性の間質性肺疾患の 2 つの間質性肺疾患が含まれる。特に遺伝性の全身性疾患には、すでに指定難病となっているものも存在している。従って、現在ある程度表現型として明らかになっている **surfactant metabolism dysfunction** 病、成人発症家族性間質性肺疾患などのようにまとめていく方が指定難病として診断、治療法の開発にも有益であると考えられた。

A. 研究目的

これまで本邦において遺伝性間質性肺疾患という枠組みでとらえられてきている呼吸器疾患は、「先天性間質性肺疾患」「家族性間質性肺疾患」など遺伝子変異や遺伝性疾患に関わる間質性肺疾患を指しているが、対象が明確になっていない。また、欧米における遺伝性間質性肺疾患とは、異なる部分も多く、診断治療法を確立する上でも対象疾患や枠組みを再構築することが必要と考え欧米とくに米国において用いられている遺伝性間質性肺炎の分類と比較検討を試みた。

B. 研究方法

米国における文献、書籍から遺伝性間質性肺疾患について検索を行い、分類を確認する手法を行った。遺伝性間質性肺疾患の英文表記については、「**hereditary interstitial lung disease(s)** (HILD)」「**inherited interstitial lung disease(s)** (IILD)」で、またそれに近似する表現で検索を行った。

C. 研究結果と考察

HILD 或いは IILD という表記では、文献、書籍は検索にのぼって来なかった。近似する表記としては「**genetic interstitial lung disease**」「**genetic background of interstitial lung disease**」という表現が多く認められた。これは、「**hereditary**」「**inherited**」は、血縁において受け継がれるという意味合いが強く、家族性であり **de novo** の変異によるものは含まない用である。本邦で使用されている遺伝性間質性肺疾患は、特に小児領域においては、血縁で遺伝している疾患というよりも出生後するに発症した症例を指していることが多く、言葉の意味するところとは齟齬が生じている。一方「**genetic**」という表現は、より広く **de novo** の変異までも含んでいる。したがって、**genetic interstitial lung disease** とする方が好ましいと考える。欧米においては、文献や書籍の中にでてくる **genetic interstitial lung disease** ではメンデル型遺伝および非メンデル型遺伝を有する間質性肺疾患の中で (A) 全身性疾患の一

部分症として間質性肺疾患を呈するものと
 (B) 唯一間質性肺疾患のみを有するものに大きく分類されている。Hermansky-Pudlak 症候群などは、全身性疾患の一部分症としての間質性肺疾患に分類される。一方、遺伝性或いは遺伝子変異による間質性肺疾患のみを呈するグループに属する surfactant protein B, C 遺伝子変異、ATP-binding cassette transporter A3 (ABC-A3) 遺伝子変異に伴う間質性肺疾患、GM-CSF の受容体遺伝子 CSF-A, CSF-B の遺伝子変異に伴う肺胞蛋白症は、発症機序に surfactant 代謝が関連することから更に surfactant metabolism dysfunction というグループにまとめられている。他にグループ (B) には、成人発症家族性肺線維症、テロメア関連家族性肺線維症、SP-A 遺伝子変異に由来する成人発症家族性肺線維症、肺胞微石症も含まれている。指定難病として取り扱う場合 臨床的に症状、病態が比較的明瞭なまとまりを持っていることが疫学調査、診断、重症度、治療を考える上で重要である。従って、「遺伝性間質性肺疾患」としてまとめるよりは、surfactant metabolism dysfunction や成人発症家族性間質性肺疾患などといった、より特徴的な疾患群として遺伝子変異や遺伝性の間質性肺疾患の枠組みの再編が必要であると考ええる。

D. 参考文献

1. Borie R, et al. Familial forms of nonspecific interstitial pneumonia/idiopathic pulmonary fibrosis: clinical course and genetic background. *Curr Opin Pulm Med*.18:455-61, 2012
2. Devine MS, et al. Genetic interstitial lung disease. *Clin Chest Med*. 33:95-110, 2012
3. Das S, Langston C, Fan LL. Interstitial lung disease in children. *Curr Opin Pediatr*. 23:325-31, 2011
4. Wert SE, et al. Genetic disorders of surfactant dysfunction. *Pediatr Dev Pathol*.12:253-74, 2009
5. *Molecular Basis of Pulmonary Disease: Insights from rare lung disorders* Ed McCormak FX, Panos RJ, Trapnell BC. 2010 Springer New York.

肺胞蛋白症に対する全身麻酔下全肺洗浄方法の コンセンサスの確立と問題点に関する研究

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

研究要旨

全身麻酔下全肺洗浄（whole lung lavage:WLL）は、肺胞蛋白症(pulmonary alveolar proteinosis：PAP)に対する標準的治療法であるが、今日においても PAP 症例が少ないため、標準的な WLL 方法が確立していないのが現状である。2014 年 11 月、主に洗浄肺を上にした側臥位での WLL 方法の優位性や問題点を検討する目的で、6 医療機関の医師 13 名が参加して第 2 回検討会を開催して下記の結論を得た。

- 1)WLL の適応基準；安静 $\text{PaO}_2 < 70\text{Torr}$ （重症度Ⅲ以上）は妥当であるが、 $\text{PaO}_2 \geq 70\text{Torr}$ （重症度Ⅰ、Ⅱ）でもあっても日常生活が支障をきたす場合には WLL の施行を考慮する。
- 2)WLL の禁忌；不安定な循環呼吸動態相対的禁忌であり、感染症が必ずしも禁忌とはならない。
- 3)術前評価；循環呼吸動態の評価と非結核性抗酸菌症を含む細菌学的検索を施行すべきである。
- 4)WLL の体位；低酸素血症を防止するには、洗浄肺を上にした側臥位での全肺洗浄は推奨される。
しかし、換気側へ洗浄液が流入する危険性が高いため、全肺洗浄の経験が少ない医療機関では、低酸素血症が軽度の症例に対しては背臥位での WLL の施行も選択肢に入れるべきである。
- 5)Degassing；Degassing により効率的に洗浄肺に注入することが出来るが最も PaO_2 が低下し、Degassing 時の PaO_2 値は ECMO の適応を判断に有用である。
- 6)ECMO の適応基準；施設間の経験や技術の差異により適応基準が異なるが、安全性に不安がある場合には ECMO を使用すべきである。

7)洗浄方法

- a,洗浄液；37℃に加温した生理的食塩水で十分な洗浄効果が得られる。
- b,注入方法と注入量；30cm（洗浄液液面～背柱）の高さから約 1000ml の洗浄液を注入する。
- c,洗浄回数（濁度測定の意義）；濁度 100NTU 以下が中止の目安となる。
- d,洗浄液留置時間；推定累積抗 GM-CSF 抗体回収率は、洗浄液滞留時間は約 60 分で 90%以上となる。
- e,対側肺の洗浄施行間隔；十分な酸素化が得られれば同日に洗浄することは可能と思

われる。

2 回のアンケート調査と WLL に関する検討会を行ったが、WLL 方法のコンセンサスを作成するには検討すべき課題が残っている。今後、本研究班の各施設で洗淨肺を上にした WLL を施行し、2 年後を目標に WLL 時のガス交換などの課題に対する合意を得て、標準的 WLL 方法に関するコンセンサスを確立する予定である。

A. 研究目的

全身麻酔下全肺洗淨 (whole lung lavage : WLL) は、肺胞蛋白症 (pulmonary alveolar proteinosis : PAP) に対する標準的治療法である。1967 年、Ramirez-R¹⁾ が massive pulmonary lavage method を報告し、1970 年代に Rogers らは WLL 中の低酸素血症を防止するため degassing をせずに洗淨液を注入する方法²⁾ と volume controlled lavage method³⁾ を、Altose ら⁴⁾ は Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) を使用する WLL を報告した。しかし、今日においても PAP 症例が少なく、標準的な WLL 方法が確立していないのが現状である。

2011 年 1 月、本邦における WLL の実態を明らかにする目的で、井上ら⁵⁾ が行った自己免疫性肺胞蛋白症 (autoimmune pulmonary alveolar proteinosis : aPAP) の大規模コホート研究に参加した 211 施設に対して第 1 回アンケート調査を行なった。回答があった 86 施設のうち 34 施設で WLL が施行されていたが、約 80% の施設は WLL 施行症例数が 2 例以下であった。

2012 年 11 月、第 1 回アンケート調査で WLL を施行していた 35 施設に 1 施設を追加して 36 施設に対して、より詳細な WLL 方法に関する情報を得るために第 2 回アンケート調査を施行した。しかし、その結果を分析しても、推奨すべき WLL 方法を確立することは困難であった。

2013 年 1 月、第 2 回アンケート調査で

WLL 拠点医療機関候補になると返答があった 22 医療機関、医師 32 名が参加して、WLL 方法に関する第 1 回検討会を開催した。しかし、各医療機関で WLL 方法が異なり、コンセンサスを確立することは困難であった。また、欧米では洗淨肺を上にした側臥位で WLL が行われているが^{6, 7)}、第 2 回アンケート調査においては本邦の 36 施設中 1 施設のみで施行されていた。

2014 年 11 月、主に洗淨肺を上にした側臥位での WLL 方法の優位性や問題点を検討する目的で、WLL 方法に関する第 2 回検討会を開催した。

B. 研究方法

第 2 回アンケート調査において全肺洗淨を数多く施行している下記医療機関を中心に医師 13 名が参加して、WLL 方法に関して第 2 回検討会を開催した。

- 1, 愛知医科大学呼吸器・アレルギー内科講座
- 2, 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
- 3, 東京医科大学八王子医療センター呼吸器内科、麻酔科
- 4, 新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター
- 5, 東京大学医学部麻酔科・痛みセンター
- 6, 神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器内科

なお、各医療機関の医師が洗淨肺を上にした側臥位で全肺洗淨を施行した症例数 (回数) は、近畿中央胸部疾患センター 1 例 (2 回)、新潟