

大学医歯学総合病院生命科学医療センター 3 例（5 回）、愛知医科大学 3 例（6 回）、東京医科大学八王子医療センター 6 例（12 回）であった。

（倫理面への配慮）

本検討は、aPAP の治療として通常に行われている WLL 施行中のモニタリング結果などをレトロスペクティブに検討したものであり、倫理的に問題ないと思われる。

C. 研究結果

WLL 方法に関する第 2 回検討会における主な検討項目のコンセンサスは、以下の通りであった。

1) WLL の適応基準

自然寛解例も約 30%存在するため、急速に増悪しなければ診断から最低 3 ヶ月間は無治療で経過観察する。

本研究班における WLL 適応基準である安静 $\text{PaO}_2 < 70\text{Torr}$ （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）であっても、進行する呼吸困難によって日常生活が支障をきたす場合には WLL の施行を考慮し（文献 6、8 も同様）、6 分間歩行試験における $\text{SpO}_2 \leq 85\%$ が 1 つの指標となる。

2) WLL の禁忌

Michaud ら⁷⁾ は、1)未治療な血液疾患、2)麻酔リスク、3)不安定な循環呼吸動態を禁忌としているが、不安定な循環呼吸動態については、WLL により酸素化が急激に改善するために相対的禁忌と報告している。

第 2 回アンケートでは感染症を禁忌とする施設が多かったが、第 2 回検討会では、感染症が必ずしも禁忌とはならないとの結論であった。

3) 術前評価（感染症合併検索の必要性）

Witty LA ら⁸⁾ は、19 例中 8 例で WLL の排液中に *Mycobacterium avium* (MAC) を検

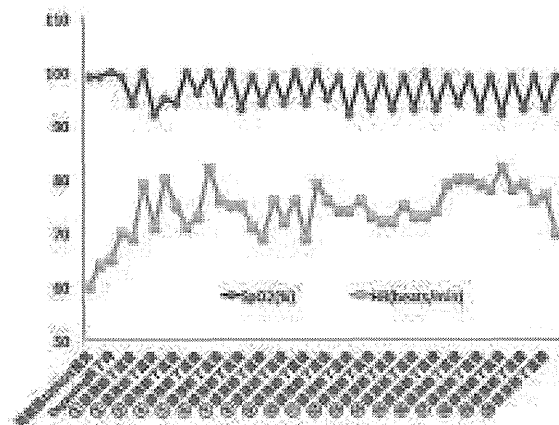


図1 左肺を上にした側臥位での初回 WLL 時の SpO_2 と HR の変動

出したと報告している。また近畿中央胸部疾患センターにおいて、18 例中 6 例で WLL 直前の BAL 液または WLL の排液で非結核性抗酸菌症（NTB）が陽性であったが、WLL 後の BALF では消失し、また NTB 感染症を発症した症例はないと報告している。

しかし、WLL 後に NTB 感染が増悪した症例が報告されており、WLL 前の BALF や WLL 中洗浄液で、NTB を含む細菌学的検索を施行すべきであり、NTB 以外にアスペルギルス、ノカルディア感染などの報告例がある。

4) WLL の体位

洗浄肺を上にした側臥位での WLL の最大の利点は、WLL 時の低酸素血症の防止である。図 1 に初回 WLL 時の左肺を上にした側臥位で WLL 時の SpO_2 と HR の変動を示すが（34 歳、女性、大気下 BGA; pH 7.473、 PaO_2 56.9Torr、 PaCO_2 36.3Torr、東京医科大学八王子医療センター）、 $\text{PaO}_2 > 90\text{Torr}$ に維持されて重篤な低酸素症は認めなかった。

しかし、洗浄肺を上にした側臥位での WLL は、1) 換気している対側肺への洗浄液の漏出、2) 洗浄肺に残存洗浄液が多い場合や高度肥満患者では換気肺のコンプライアンス低下などに

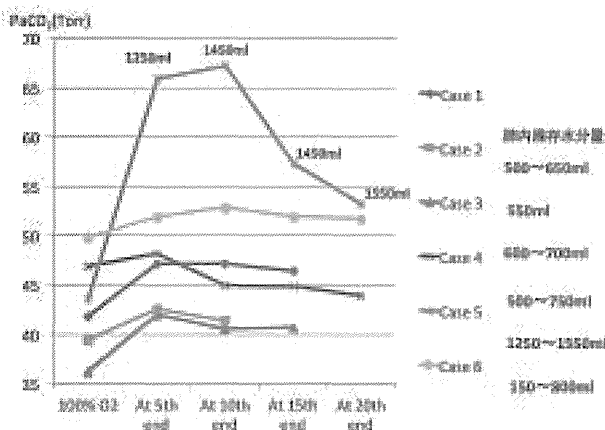


図2 初回 WLL 時の左肺を上にした側臥位で WLL 時の PaCO₂ 変動と肺内残存洗浄液量 (東京医科大学八王子医療センター)

より換気量が低下して PaCO₂ が上昇する可能性がある (図 2)。

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の高いため、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 は、洗浄液を効率的に洗浄肺に注入することができる。しかし、低酸素血症や気管チューブの位置ずれ (注入液の換気肺への漏出の原因) などの問題点がある。

WLL において Degassing 時に最も PaO₂ が低下するが、洗浄肺を上にした側臥位では PaO₂ の低下が軽減する (図 3)。また、WLL 前に WLL 時の最低 PaO₂ を予測すること⁹⁾ は可能だが、時間を必要とする。

洗浄肺を上にした側臥位では、重力により Degassing した肺は完全に吸収性無気肺にならないため縦隔の偏位は軽度であり、気管チューブの位置ずれは僅かであった (図 4)。

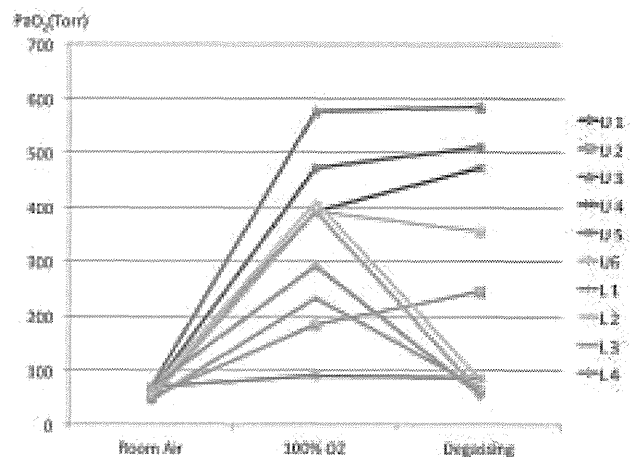


図3 100% O₂ 換気時と Degassing 時の PaO₂ (洗浄肺上 6 症例; 東京医科大学八王子医療センター、洗浄肺下 4 症例; 獨協医科大学越谷病院)

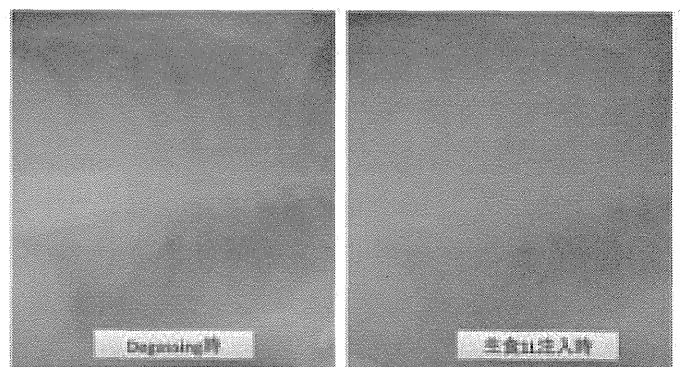


図4 Degassing 時と Degassing 後に生理食塩水 1000ml 注入時の胸部レントゲン (東京医科大学八王子医療センター)

しかし、完全に吸収性無気肺にならないため、初回洗浄液注入時に air pocket を生じる可能性がある。air pocket を発生させずに洗浄液を注入するには、100%O₂ 換気後に安静時 O₂ 摂取量 (約 250ml/min) の 50%以下 (片側肺洗浄のため) の速度 (約 100ml/min) で洗浄液を注入する²⁾。

6) ECMO の適応基準

第 1、2 回アンケートでは、35 施設中 14 施

は可能と思われる。

D. 結論

2 回のアンケート調査と WLL に関する検討会においても、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た。現時点における、主な WLL 方法のコンセンサス案（課題点）を以下の表 2 に示す。

表 2 現時点における WLL 方法のコンセサスと今後の課題

	現時点の研究用コンセンサス	今後の研究課題
適応基準	1. 重症度3以上(PaO ₂ <70mm) 2. 重症度1,2であっても、患者のライフスタイル	BSA/WTIにおけるSpO ₂ での評価
禁忌	1. 高度で不安定な循環動態 2. 片側肺換気不能な換気不全 3. 呼吸器感染症	呼吸器感染症は禁忌か？
術前評価	感染症(特にNTB)	
体位	洗淨肺を上が原則	側臥位の洗淨の適応基準は？
Deaerating	吸引	完全にDeaeratingできるか？
注入液	37℃生食	NACの有効性、副作用は？
注入量	1000ml	注、容量規定法？
注入方法	30cmの高さ	カブ圧の設定値？
洗淨回数	高度<100NTU	抗GM-CSF抗体価の迅速測定
対側肺の洗淨	1週間後	同日でも施行の可能性は？
ECMO適応	高度な心不全併発など	PaO ₂ などの基準は？

今後、本研究班の施設を中心に洗淨肺を上にした側臥位で WLL を施行し、今回の検討会で問題となった WLL 時の換気やガス交換などの課題を検討して、標準的 WLL 方法のコンセンサス案を報告する予定である。

E. 健康危険情報

なし

F. 参考文献

1. Ramires-R J. Pulmonary Alveolar Proteinosis, Treatmentby massive bronchopulmonary lavage. Arch Intern Med 1967 ; 119 : 147-156.
2. Rogers RM, Tantum KR. A "New"

Approach to old problems. Med Clin North Amer 1970 ; 53 : 755-771.
3. Rogers RM, Szindon JP, Shelburne J, et al. Hemodynamics response of the pulmonary circulation to bronchopulmonary lavage in man. New Engl J Med 1972 ; 286 : 1230-1233.
4. Altose MD, Hicks RE, Edwards MW. Extracorporeal membrane oxygenation during Bronchopulmonary lavage. Arch Surg 1976 ; 111 : 1148-1153.
5. Inoue Y, Trapnell BC, Tazawa R, et al. Characteristics of a large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in Japan. Am J Respi Crit Care Med 2008 ; 177 : 752-762.
6. Beccaria M, Luisetti M, Rodi G, et al. Long-term durable benefit after whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis. Eur Respir J 2004; 23: 526-531
7. Michaud G, Reddy C, Ernst A. Whole-lung avage for pulmonary alveolar proteinosis. CHEST 2009 ;136 : 1678-1681.
8. Witty LA, Tapson VF, Piantadosi CA. solation of mycobacteria in patients with pulmonary alveolar proteinosis. Medicine 1994; 73: 103-109.
9. 一和多俊男、長尾光修、岩田祥吾他 窒素換気により片側全肺洗淨時の最低動脈血酸素分圧の予測を試みた肺胞蛋白症の 1 例.日胸疾会誌 32:179-183,1994.
10. Claypool WD, Rogers RM, Matuschak GM. Update on the clinical diagnosis, management, and pathogenesis of pulmonary alveolar proteinosis (phospholipidosis). Chest 1984 ; 85 :550-558.

11. Akasaka K, Tanaka T, Maruyama T, et al.
A mathematical model to predict protein
wash out kinetics during whole-lung
lavage in autoimmune pulmonary
alveolar proteinosis. Am J Physiol Lung
Cell Mol Physiol 308: 2015. (in press)

G. 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
特記すべきことなし

難治性肺胞蛋白症に対する肺移植および骨髄移植の有効性の検討

海老名雅仁 東北薬科大学病院 呼吸器センター長

研究要旨

骨髄移植後 7 年後に狭窄性細気管支炎による慢性呼吸不全と考えられた 14 歳患者に対する右肺生体肺移植術の結果、摘出された右肺の主病変が肺胞蛋白症であることが判明した。肺移植後残存している左肺の肺胞蛋白症病変まで著明に改善し、呼吸状態は良好となった。このことは抗 GM-CSF 抗体陰性難治性肺胞蛋白症に対する肺移植療法の可能性を示す。また Bach2 欠損マウスにみられた骨髄異常由来の二次性肺胞蛋白症に対する骨髄移植の有効性を以前報告したが、GM-CSF 受容体欠損肺胞蛋白症マウスモデルに対する正常マクロファージの細胞移植による治療効果を示した最近の報告もまた難治性肺胞蛋白症に対する移植療法の臨床応用の可能性が示される。

A. 研究目的

肺胞蛋白症の病態のほとんどが、抗 GM-CSF 抗体が関与した肺胞マクロファージの機能異常に基づくものであり、GM-CSF の吸入療法は臨床効果がよく示されてきた。一方、二次性とされる骨髄異常や、その他の原因としての喫煙や粉塵吸入などによる肺胞蛋白症に対しては、全肺洗浄だけが治療法とされている。しかし、肺胞蛋白症の動物モデルにおいては骨髄や細胞移植など新たな治療法の有効性も示され始めている。本研究は、臨床的に骨髄移植後狭窄性細気管支炎を疑われて右肺生体肺移植がなされた症例が、残存している対側肺まで著しく改善していたことなどから、難治性肺胞蛋白症に対する新しい治療戦略としての肺移植、骨髄移植、細胞移植の可能性を、基礎実験データも含めて検証する。

B. 研究方法

(1) 臨床的に骨髄移植後狭窄性細気管支炎を疑われて右肺生体肺移植がなされた症例の臨

床経過から、肺移植の臨床効果を検証する。

(2) 疾患モデルに対して示された骨髄移植と細胞移植の研究から、今後の難治性肺胞蛋白症に対する新しい治療法として考察する。

(倫理面への配慮)

患者個人を特定しえない条件のもとに抗 GM-CSF 抗体の測定を行った。

(3) すでに報告した肺胞蛋白症モデルマウスを用いた骨髄移植の自験例 (J.Exp. Med., 2013)、および最近米国の施設から報告された細胞 (肺胞マクロファージ) 移植症例 (Nature, 2014) の病態改善効果を再評価して、臨床応用の可能性を探る。

C. 研究成果

(1) 先天性赤芽球癆 (Diamond-Blackfan anemia, HLA 1 座 DBA) の根治療法として HLA 1 座不一致の母をドナーとして同種骨髄移植を受けた 7 歳女子が、移植後に慢性

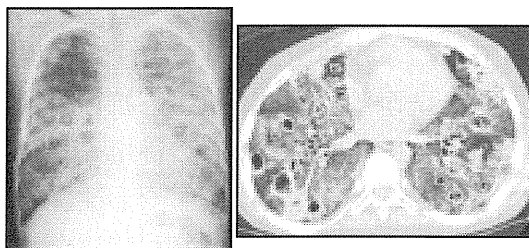


図1 移植前の胸部XpとCT

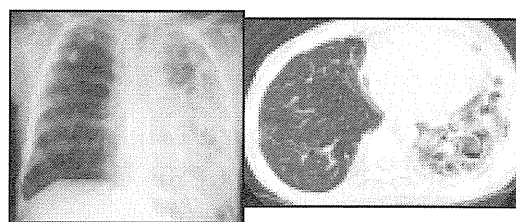


図2 移植後の胸部XpとCT

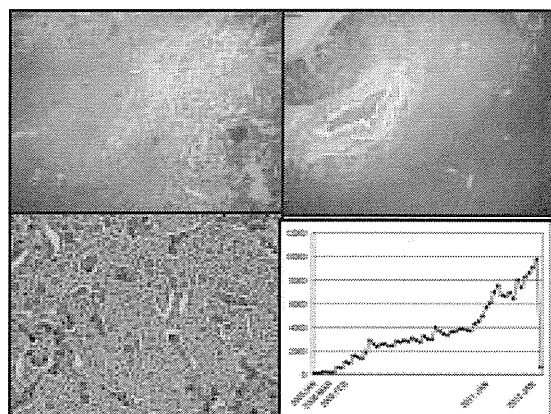


図3 摘出肺に見る肺胞蛋白症病変と臨床経過中の血中 KL-6 の術後の急激な減少
HE 染色(左上・左下)と KL-6 染色標本(右上)。右下のグラフは血中 KL-6 の変化を示す。

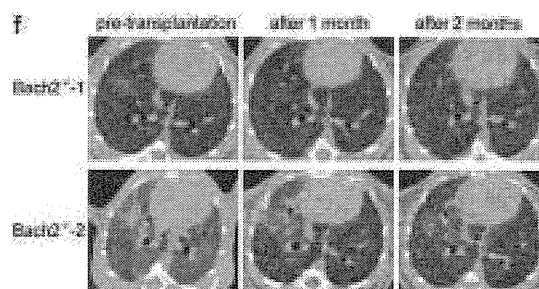


図4 Bach2 欠損マウスに Bach2 正常マウスの骨髓を移植することで病変が改善することが確認された(*J.Exp. Med.*, 2013)

GVHD と狭窄性細気管支炎 (CBO) 併発したと診断され、7年間の長期にわたり低量ステロイド (2 mg/日) +免疫抑制剤投与 (オキサトミド 1500 mg/日)、および気道感染時にジスロマックなどで継続治療していた。しかし次第に慢性炎症にともない肺胞内にすりガラス様陰影が肺内に広範に拡がるようになるとともに、在宅酸素吸入療法でも労作時呼吸困難が顕著であった (図1)。このため同種骨髓移植のドナーである母の右下葉を右片肺移植術が施行された。術後直後には 10000 U/mL 近かった血清 KL-6 が 1000 U/mL 以下に低下し、最近では正

常上限の 500 台に、呼吸状態も顕著に改善して酸素吸入も不要となって移植された右肺はもちろん、左肺の肺胞蛋白症を示していたすりガラス様陰影も消失するに至った (図2)。切除された肺胞腔内にはエオジン好染色性で、KL-6, SP-A のいずれもが強陽性の液成分が蓄積し、細胞質がふくれあがった肺胞マクロファージが散在する肺胞蛋白症と合致する病理像を呈していた (図3)。

(2) Bリンパ球の転写因子 Bach2 の欠損マウスもまた生後次第に抗 GM-CSF 抗体によらない肺胞蛋白症を形成し、生後 20 週で 50%が、

30 週に至るまで 90%が呼吸不全で死亡する。このマウスに対する Bach2 正常マウスの骨髄を移植することで病態が改善することが確認された (図 4、J.Exp. Med., 2013)。

また、Suzuki らは GM-CSF 受容体が異常なマウスにおける肺胞蛋白症に対して、正常マウスの骨髄細胞から分化させた肺胞マクロファージを肺胞内に移植することで肺胞蛋白症が改善することを示した。これはまた、細胞移植という新しい移植の臨床応用への可能性を示した。

D. 考察

肺胞蛋白症の原因として骨髄移植の報告はいくつかあるものの、狭窄性細気管支炎 (CBO) に比べてはるかに発症頻度は低く、また、実際の発症要因は明確にはされていないわけではない。それは二次性 PAP と呼ばれる骨髄異形成症候群 (MDS) を中心とする骨髄異常に伴う肺胞蛋白症も同様で、MDS 全体からみれば肺胞蛋白症の発症は必ずしも高いものではないし、真の発症要因も明らかにされていないわけではない。

本症例では慢性の GVHD と考えられた炎症の遅延化があったが、MDS でもまた免疫不全に基づく感染の遷延化がある。CD4+T リンパ球において免疫反応の調節を行っている Runx1 を欠損したマウスは全身に強い自己免疫反応が持続するが、その肺には抗 GM-CSF 抗体が関わらない肺胞蛋白症が発症することを以前発表した (J. Immunol., 2012)。おそらくは本症例は骨髄移植後の持続的な炎症と、時に併発した感染症によって難治性の肺胞蛋白症にいたったものと考ええる。その片肺移植後の病態の安定化は、一つには骨髄移植と同一の母からの移植であって持続的な拒否反応が消失したこと、そのために免疫抑制薬も使わずにすみ、感染のコントロールがより安定化したことで、残存する対側肺における肺胞蛋白症の改善も可能になったためではないだろうか。

E. 結論

現在までに重症肺胞蛋白症に対する治療法としては全肺洗浄と、抗 GM-CSF 抗体陽性の場合には GM-CSF 吸入療法との併用のみが試みられてきた。しかし、それでもなお改善が認められない場合には骨髄移植や細胞移植を、そしてさらに骨髄移植による悪化には肺移植なども合わせて考えていくことが必要であろう。

G. 参考文献

1. Watanabe T, et al. Contralateral pulmonary artery banding after single lobar lung transplantation Ann Thorac Surg 2014;97:1429-31
2. Wong WF, Kohu K, Nakamura A, Ebina M, Kikuchi T, Tanaka K, Kon S, Funaki T, Sugahara-Tobinai A, Looi CY, Tazawa R, Kurokawa M, Habu S, Fukumoto M, Nakata K, Takai, Satake M. Runx1-deficiency in CD4+ T Cells Causes Fatal Autoimmune Inflammatory Lung Disease due to Spontaneous Hyperactivation of Cells. J. Immunol. 188: 5408-20, 2012.
3. Nakamura A, Shibuya R, Itoh-Nakadai A, Muto A, Shima H, Aoki J, 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.
4. Suzuki T, et al. Pulmonary macrophage transplantation therapy. Nature. 2014;514:450-4.

遺伝性間質性肺疾患の診断に関する研究

長 和俊、秋元琢真、早坂 格
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（HILD）の診断システムを構築し、遺伝子検査を含む診断支援を行った。SP-C 異常症 6 例、ABCA3 異常症 1 例、*FOXF1* 遺伝子異常による ACD/MPV 2 例を診断し、間質性肺疾患症例の56%で原因を同定した。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ことを確認した。稀で難治である 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。

A. 研究目的

小児の間質性肺疾患は、さまざまな難治性疾患を含む稀な疾患群であり胸部 X 線写真あるいは CT 画像上のびまん性間質性陰影と呼吸障害を呈する。間質性肺疾患のうち、遺伝子変異などの遺伝性原因によるものを遺伝性間質性肺疾患 (hereditary interstitial lung disease, HILD) と呼ぶ。これまでに HILD に含まれる疾患として、surfactant protein(SP)-B 欠損症¹⁾、SP-C 異常症²⁾、ATP-binding cassette transporter A3 (ABCA3) 異常症³⁾、granulocyte macrophage colony stimulating factor(GM-CSF)受容体異常症⁴⁾、低ガンマグロブリン血症を合併する肺胞蛋白症⁵⁾、alveolar capillary dysplasia with misalignment of pulmonary veins (ACD/MPV)⁶⁾、thyroid transcription factor-1(TTF-1)異常症⁷⁾、が報告されている。診断は間質性肺疾患であることの診断と、原因となり得る遺伝子変異の同定による。発生頻度が低いこと、原因が多岐にわたること、新生児期に発症すると急速に重篤な呼吸不全に陥ることが多く診断を目的とした

HRCT、気管支肺胞洗浄 (BAL)、肺生検などの検査を行うことが困難であること、診断補助となる遺伝子検査を行える施設が少ないことなどから、診断が困難である。本研究の目的は、日本における HILD の頻度の推定、遺伝子検査等による診断の支援、および症例の蓄積により診断の手順を確立することである。

B. 研究方法

電子メールを用いて国内の小児科診療施設、周産母子センター等新生児診療施設に対して HILD の診断支援の周知を行った。また、日本未熟児新生児学会の新生児希有疾患(病態)前方視的サーベイランス事業を通して症例の集積を開始すると同時に、同学会のホームページ、学会誌にて診断支援の周知を行った。対象は、1 歳未満で発症した治療抵抗性の呼吸不全の症例、または 16 歳未満の小児で肺胞蛋白症、間質性肺炎などの間質性肺疾患が疑われたあるいは診断された症例のうち、本研究の診断支援システムに紹介された症例とした。既知の原因により説明可能な呼吸不全を除外した。症例の紹

介があった場合に、診断に有用な検査、検査結果の解釈、鑑別診断などについての情報提供を行った。遺伝性間質性肺疾患の可能性があり家族の同意が得られた場合に以下の検査を提供した。1) *SFTPC* 遺伝子、*ABCA3* 遺伝子のシーケンスを行った。2) SP-B 欠損症の可能性のある症例に BAL 液または気道吸引液を用いた SP-B 蛋白の検出と *SFTPB* 遺伝子のシーケンスを行った。3) 肺胞マクロファージの異常の可能性のある症例に末梢血単球を用いた GM-CSF 受容体機能を反映する STAT-5 のリン酸化測定を行った。4) ACD/MPV と診断された症例、もしくは治療抵抗性の重度の肺高血圧が遷延する症例に *FOXF1* 遺伝子のシーケンスを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、北海道大学大学院医学研究科倫理審査委員会の許可の下に行った。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した。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した。

C. 研究結果

2010 年 4 月から 2014 年 10 月までの期間において、本研究の診断システムに 75 例の紹介があり、68 例に研究への参加を依頼し全例で家族の同意が得られた。68 例の最終的な臨床診断は、間質性肺炎 6 例、肺胞蛋白症 6 例、ACD/MPV 4 例、歌舞伎症候群 1 例、重症複合免疫不全症 1 例、胃食道逆流症 1 例、先天性副腎低形成 1 例であり、48 例は原因が特定されなかった。

SFTPC 遺伝子、*ABCA3* 遺伝子の遺伝子検査を 65 例で施行した。*SFTPC* 遺伝子検査にて 3 例に 2 つの既報変異 (p.Leu45Arg,

p.Ser61Gly)と、3 例に 4 つの新規変異 (p.Gln145fs, p.Ser72Asn, p.Gly100Ala, p.Lys63Glu)を検出し、6 例を SP-C 異常症と診断した⁸⁾⁹⁾。*ABCA3* 遺伝子検査では、3 例で新規変異のヘテロ接合を認めた。臨床経過などから 2 例は *ABCA3* 異常症が否定的であり (p.Pro73+eu/p.Gly1205Arg, p.Thr761Met/p.Ala1362Val)、1 例を *ABCA3* 異常症と診断した (p.Arg1583Trp/p.Val1495Cysfs21X)。*SFTPB* 遺伝子解析を 21 例に、SP-B 蛋白の解析を 17 例に行い、解析を行った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。GM-CSF 刺激による STAT-5 リン酸化の解析の対象は 3 例あり、異常は認められなかった。*FOXF1* の遺伝子解析を臨床的に ACD/MPV と診断された 4 症例および治療抵抗性の肺高血圧症 7 例に行い、ACD/MPV の 2 例に遺伝子変異 (p.Leu300ArgfsX79, p.Try284X)を認めた。ACD/MPV と診断された他の 2 例においては、遺伝子検査が不能であった。

D. 考察

臨床的に間質性肺疾患と診断された 16 例 (間質性肺炎 6 例、肺胞蛋白症 6 例、ACD/MPV 4 例)のうち、9 例(56%)において原因となる遺伝子変異を特定し HILD と診断した。HILD の原因となる 6 つの新規遺伝子変異 (*SFTPC* p.Gln145fs, p.Ser72Asn, p.Gly100Ala, p.Lys63Glu, *ABCA3* p.Arg1583Trp/p.Val1495Cysfs21X)を同定した。間質性肺疾患 16 例のうち SP-C 異常症が 6 例、*ABCA3* 異常症が 1 例、ACD/MPV が 2 例であった。日本において SP-C 異常症と ACD/MPV は間質性肺疾患の主要な原因であり、*ABCA3* 異常症は欧米諸国に比して少ないことがわかった。新生児期発症の間質性肺疾患 11 例のうち、SP-C 異常症は 5 例であった。

欧米諸国における SP-C 異常症は新生児期以降の発症がほとんどであるが、日本における新生児期発症の間質性肺疾患に対しては SP-C 異常症を第一に考えるべきである。SP-B 異常症は日本においては、過去にも報告がなく¹⁰⁾、日本人には極めて稀であることが確認された。

SP-C 異常症や ABCA3 異常症の一部にハイドロキシクロロキンが有効であるという報告がある¹¹⁾。また、最近 ABCA3 異常症の一部にアジスロマイシンが著効したとの報告もある¹²⁾。生後早期に遺伝子異常症の診断を行い、より早期に投与を開始することが、予後改善に繋がる可能性がある。

稀で難治な疾患群である HILD に対して、遺伝子検査を含む診断システムを構築し、それにより効率的に HILD を抽出できた。さらに、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。

今後の診断・治療成績の向上のためにも本システムの維持が不可欠であると考えられる。

E. 結論

HILD の診断システムを構築した。HILD 9 例を診断し、6 つの新規遺伝子変異を同定した。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. 参考文献

1. Nogee LM, de Mello DE, Dehner LP, Colten HR. Brief report: deficiency of pulmonary surfactant protein B in congenital alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 328: 406-410, 1993
2. Tredano M, Griese M, Brasch F, et al: Mutation of SFTPC in infantile pulmonary alveolar proteinosis with or without fibrosing lung disease. *Am J Med Genet A* 126A(1):18-26, 2004
3. Bullard JE, Wert SE, Nogee LM. ABCA3 deficiency: neonatal respiratory failure and interstitial lung disease. *Semin Perinatol.* 30(6): 327-34, 2006
4. Suzuki T, Sakagami T, Rubin BK, et al. Familial pulmonary alveolar proteinosis caused by mutations in CSF2RA. *Exp Med* 205(12), 2703-2710, 2008
5. Cho K, Nakata K, Ariga T, et al: Successful treatment of congenital pulmonary alveolar proteinosis with gammaglobulin administration. *Respirology* 11, S74-S77, 2006
6. Pawel S, Partha S, Samarth S, et al: Genomic and Genic Deletions of the FOX Gene Cluster on 16q24.1 and Inactivating Mutations of FOXF1 Cause Alveolar Capillary Dysplasia and Other Malformations. *Am J Human Genetics* 84: 780-791, 2009
7. Galambos C, Levy H, Cannon CL, et al: Pulmonary pathology in thyroid transcription factor-1 deficiency syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 182(4): 549-554, 2010
8. 小杉雄二郎, 市山正子, 小窪啓之, 赤石睦美, 飯田浩一, 秋元琢真, 長 和俊: 肺サーファクタント蛋白 C 遺伝子異常による先天性肺胞蛋白症の 1 例. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 49: 1346-1351, 2013
9. Akimoto T, Cho K, Hayasaka I, Morioka K, Kaneshi Y, Furuta I, Yamada M, Ariga T, Minakami H. Hereditary interstitial

lung diseases manifesting in early
childhood in Japan. *Pediatr Res* 76 :
453-458, 2014

10. 清水 浩, 荒川 浩, Lee GH, 他:わが国
における先天性肺胞蛋白症, 先天性 SP-B
欠損症の患者発生 新生児希有疾患 (病
態) サーベイランス事業報告. 日本未熟児
新生児学会雑誌 15 巻 1 号, 107-111, 2003
11. 後藤幹生: SP-C 遺伝子変異を有しハイド
ロキシクロロキンが著効した特発性間質性
肺炎の乳児例. 日本小児科学会雑誌 110
巻 7 号 956-961, 2006
12. Thouvenin G, Nathan N, Epaud R,
Clement A. Diffuse parenchymal lung
disease caused by surfactant deficiency:
dramatic improvement by azithromycin.
BMJ Case Rep 2013 Jun : 24, 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

GM-CSF 吸入製剤開発に向けた基盤整備 —非臨床試験・治験プロトコル・参加者リクルート方法の検討—

田澤立之¹、中田 光¹、伊藤祐子¹、橋本淳史¹、田中崇裕¹、白井久美子¹、
赤坂圭一¹、北村信隆¹、湯尾 明²、中垣和英³、内田寛治⁴、井上 彰⁵、井上義一⁶

1) 新潟大学医歯学総合病院、2) 国立国際医療研究センター、3) 日本獣医生命科学大学、
4) 東京大学病院、5) 東北大学病院、6) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター

研究要旨

自己免疫性肺胞蛋白症に対する GM-CSF 吸入製剤の開発に向けて、これまで、非臨床試験の方法の検討、治験プロトコルの策定を医薬品医療機器総合機構（PMDA）の薬事戦略相談の事前面談を利用して進めてきた。今回、2014 年 10 月に正式の対面助言を受けた。その結果、今後新たな問題点が認められない場合には、非臨床試験に関して提示のデータパッケージおよびこれから実施予定の GLP 適応の 6 か月反復吸入毒性試験の結果により製造販売承認申請の可能性が考えられること、治験では、健常成人での単回投与薬物動態試験をできるだけ早期に行うこと（検証的試験と同時で可）、提示の第Ⅲ相試験（検証的試験）の試験デザインで概ね受け入れ可能であること等が示された。今後 PMDA の意見に沿って実験計画、治験プロトコルの修正を進め、あわせて日本医療研究開発機構の研究予算への応募のための各種書面の準備を開発協力企業と協議して進める予定である。

A. 研究目的

肺胞蛋白症の標準治療は、全身麻酔下で行う全肺洗浄であるが、より簡便で病因⁽¹⁻⁵⁾に根ざした新規治療として GM-CSF の吸入治療については、本研究班では 2000 年より検討を行ってきた。2004 年～2008 年の本邦の多施設第Ⅱ相臨床研究および米国の後方視研究でその安全性と有効性が示唆され^(6, 7)、さらに治療終了後 30 カ月の観察による検討でも、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事が本研究班により示唆されている⁽⁸⁾。

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、本研究班ではヒトに近いカンクイザルでの GM-CSF 吸入実験の方法を検討している。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、カンクイザルで GM-CSF 製剤を気管内にマイクロスプレーカニューレで単回投与すると、投与終了翌日にかけて、0.5mg/body、0.05mg/body の高中等用量では、血中濃度の推移を確認できることが示された。

そこで、さらに臨床近づけるため、ネブライ

ザーでの投与方法を検討し、薬事承認に必要な6ヵ月慢性毒性試験の方法を検討し、さらに人での薬物動態試験の計画に必要なデータを得るため、ネブライザーでの投与実験を試みた。

これらのデータをもとに、非臨床試験データ、第Ⅰ相試験、検証試験についてそれぞれ計画案・計画概要を作成し、医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談を利用し、臨床での検証試験への道筋を計画した。

B. 研究方法

投与方法

薬事戦略相談事前相談でのPMDAの意見に沿い、ネブライザーでの動物気管内への噴霧吸入投与する方法をとった。ネブライザーには、膜型ネブライザー（Aerogen社）とジェットネブライザー（Pari社）を使用し、これに3Dプリンターで作成したマスクを接続して吸入させた。この方法で単回投与実験では、5mg/body、0.5mg/body、0.05mg/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。

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 μ 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。

GM-CSF 製剤経気道反復投与での抗体産生 3ヵ月長期投与実験

CHO細胞由来GM-CSF製剤および大腸菌由来GM-CSF製剤の2種類の製剤を用いて、マイクロスプレーによる気管内噴霧投与（15 μ g/body/回、2回/週、12週）を各製剤オス2例のカニクイザルに施行し、1週間毎に採血し抗体の検出を行うとともに、一般状態観察、2週間毎の血液検査及び12週後に気管支肺胞洗浄液（BALF）採取を行った。

（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。

薬事戦略相談

これまで、2012年9月7日、2013年7月30日、2014年3月28日の3回、事前相談を受け、今回2014年10月24日に対面助言を受けた。今回の対面助言での相談項目はPMDAとの事前の打ち合わせにより①非臨床試験項目の充足性、②第Ⅰ相試験の要否及びその実施時期、③第Ⅲ相試験（検証的試験）の試験デザイン（目標例数、用法・用量、主要評価項目及び評価時期、その他の評価項目）とした。

C. 研究結果

ネブライザー単回投与実験

いずれネブライザーの投与でも末梢血中の白血球数、好中球及び好酸球数、CRP の上昇が認められ、血中 GM-CSF が検出可能で、24 時間の濃度推移を測定できた。BALF 中の GM-CSF も検出可能であった。ネブライザーでの 5mg 投与と マイクロスプレーでの 0.5mg 投与はほぼ同等の血中濃度を示した。一般状態、体温及び一般細菌及び真菌検査に異常は認められなかった。

3 か月長期投与実験

反復投与継続により、投与開始後 12 週までに 60 μ g/mL 以上のレベルまで抗体価が上昇した。これに対して、CHO 細胞由来製剤投与群では、投与開始後 4 週より抗体が検出されたが、抗体価は投与開始後 12 週までおよそ 30 μ g/mL 程度のレベルにとどまって推移した。12 週終了時の気管支肺胞洗浄液では、泡沫状マクロファージ様細胞が少数みられたが、外観の白濁はみられず、無構造沈殿物もみられなかった。

薬事戦略相談

これまでの結果より、慢性毒性試験の概要、健常成人での薬物動態試験の概要、および検証試験（1 用量 実薬群偽薬群の 2 群）の実施計画書案を作成し、対面助言を受けた。その結果、今後新たな問題点が認められない場合には、非臨床試験に関して協力企業より提示のデータパッケージおよびこれから実施予定の GLP 適応の 6 か月反復吸入毒性試験の結果により製造販売承認申請の可能性が考えられること、治験では、健常成人での単回投与薬物動態試験をできるだけ早期に行うこと（検証的試験と同時で可）、提示の第Ⅲ相試験（検証的試験）の試験デザインで概ね受け入れ可能であること等が示された。

D. 考察

対面助言での機構見解・意見に沿って、現在 6 か月慢性毒性試験、健常成人男性での薬物動態試験、検証試験の計画書を作成している。

その概要は次のとおりである。

6 か月慢性毒性試験

試験の種類：サル反復投与試験（6 ヶ月）

GLP：厚生省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 2008 年 6 月 13 日）

動物：サル（カニクイザル）（投与開始時齢：3 歳）

群構成：4 群（対照+3 用量）

動物数：雄 12（3 匹/群）

雌 12（3 匹/群）

投与経路：臨床適用経路（膜型ネブライザによる吸入投与）

投与期間：6 ヶ月

投与回数：対照および 3 用量：1 週間（1 日 1 回）投与 1 週間休薬

投与液分析：初回・中間・最終調製時、濃度確認（ELISA）

検査項目

一般状態：投与期間中は 1 日 2 回、その他の期間は 1 日 1 回（全例）

体重：1 回/週（全例）

摂餌量：1 回/日（全例）

以下の検査を投与開始前、投与開始後 13 週および 25 週に行う。

心電図、血圧測定、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査

剖検：投与期間終了時（最終投与の翌日）

器官重量：剖検時全例

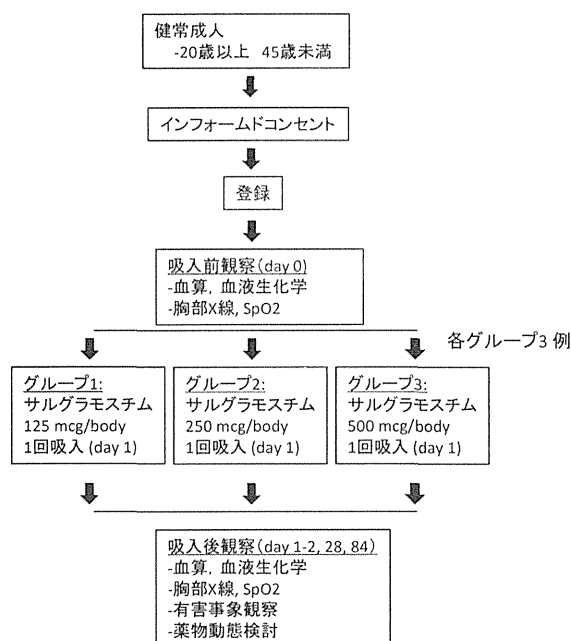
骨髓塗抹標本の作製および観察：剖検時全例

病理組織学的検査：剖検時全例

TK サンプルング：投与 1、91、175 日（各 5～6 ポイント）

その他：抗薬物抗体測定

健常成人男性での薬物動態試験 スキーム



健常成人での薬物動態パラメータを調べることが目的に、ARO に委託して、登録時 20 歳以上 45 歳未満の健常成人男性を対象として、GM-CSF 吸入製剤単吸入を 3 用量で、各群 3 例で実施する。

目的：自己免疫性肺胞蛋白症を適応とする GM-CSF 吸入製剤の、健常成人での薬物動態の解析を行い、有害事象発現割合を評価し、安全性の評価を行う。

主要評価項目：薬物動態パラメータ

副次評価項目：有害事象発現割合

対象：登録時 20 歳以上 45 歳未満の健常成人男性

治療

グループ 1：GM-CSF 吸入製剤 125mcg/body を 1 回吸入 予定症例：3 例

グループ 2：GM-CSF 吸入製剤 250mcg/body を 1 回吸入 予定症例：3 例

グループ 3：GM-CSF 吸入製剤 500mcg/body を 1 回吸入 予定症例：3 例

予定登録数と登録期間

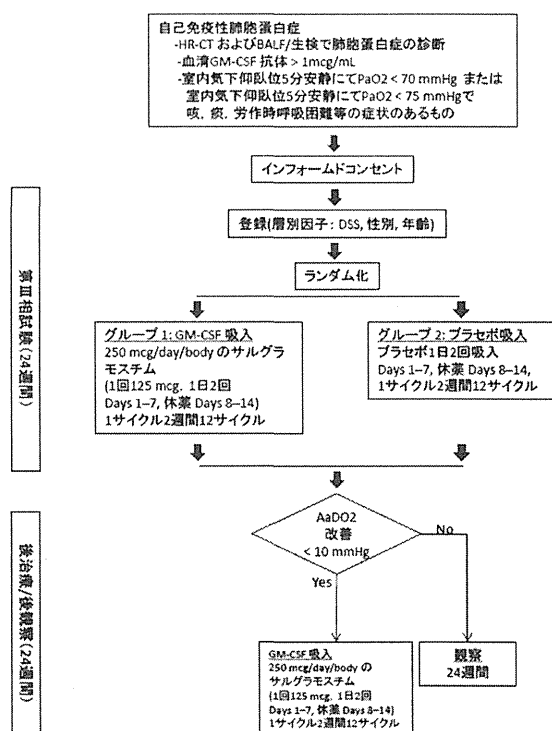
予定登録参加者数： 9 例

登録期間：3 ヶ月。予定登録数に達しない場合にはさらに 3 ヶ月延長する。

検証的試験

スキーム

目的



・主要研究目的

自己免疫性肺胞蛋白症患者における GM-CSF 吸入の安全性および AaDO₂ 改善における有効性の確認

・二次研究目的

a. 日本人健常成人男性 9 例での単回 GM-CSF 吸入での薬物動態試験

b. プラセボ群—GM-CSF 吸入群間の 24 週吸

入前後の二次評価項目、すなわち、徴候（QOL、息切れ、咳）、酸素療法の必要性、肺機能（%VC、%DLco、PaO₂）、画像所見（CT スコア）、血清マーカー（KL-6、CEA、CYFRA 21-1、SP-A、SP-D、LDH、抗 GM-CSF 抗体）の差異の比較評価

・試験計画

第Ⅲ相、ランダム化、二重盲検、プラセボ/コントロール、安全性/有効性試験

対象

症例選択基準

以下の a.～e. の全てを満たす症例とする。

a. 年齢 16 歳以上 80 歳以下（登録日を基準）の患者。性別は問わない。

b. 文書により本人の同意を得られる者。未成年者の場合は代諾者の承諾を得られる者。

c. 治療前、治療中、治療後に評価のため、短期間検査入院が可能な症例

d. 自己免疫性肺胞蛋白症の患者、すなわち HRCT で両肺に本症に合致する陰影を呈し、以下の A または B を満たし血清抗 GM-CSF 自己抗体価が 1 μg/ml 以上で陽性の患者。

A：経気管支肺生検ないし外科的肺生検（胸腔鏡下肺生検等）で典型的病理所見（PAS 陽性蛋白様物質の肺胞内貯留）

B：気管支肺胞洗浄液で典型的所見（白濁、蛋白様物質、マクロファージ減少）

e. 安静時 PO₂<70mmHg の症例 または安静時 PO₂<75mmHg で咳、痰、労作時呼吸困難等の症状のある症例

除外基準

下記 a.～n.のうち、いずれか 1 項目以上を満たす患者

a. 白血球数 12000/mm³ 以上の患者

b. 38℃以上の発熱の患者

c. Grade 2 以上の浮腫の患者

d. 骨髄系悪性疾患の患者

e. うっ血性心不全、狭心症、出血傾向、原発性肺癌、転移性肺癌、気管支喘息などの

合併症を有し治療評価困難と判定される場合

f. 他のサイトカイン療法を受けている患者

g. 妊娠および妊娠している可能性のある女性、授乳中の女性、あるいは試験中に妊娠を希望する女性

h. 治療開始日よりさかのぼって6ヶ月以内に全肺洗浄、反復区域洗浄療法、リツキシマブによる治療を受けた患者

i. 気管支喘息の既往のある患者

j. 薬物の吸入治療後に重篤あるいは説明不能な有害事象の既往のある患者

k. 続発性肺胞蛋白症あるいは遺伝性肺胞蛋白症と診断された患者

l. 重症度分類 1 の患者または重症度分類 5 の患者

m. 過去に GM-CSF 吸入療法を受けたことがある患者

n. その他担当医師が不適当と判断した症例（例えば、治療を完遂することが困難と考えられるような症例や、非協力的な患者）

治療

薬剤：サルグラモスチム（酵母由来ヒトリコンビナント GM-CSF）

用量、用法：

グループ 1

125 μg/回、1 日 2 回吸入、7 日間吸入後、7 日間休薬の 2 週間を 1 コースとして、12 回繰り返し、計 24 週。

グループ 2

プラセボ 1 日 2 回吸入、7 日間吸入後、7 日間休薬の 2 週間を 1 コースとして、12 回繰り返し、計 24 週。

後治療/後観察（グループ 1、グループ 2 の両グ

ループの被験者を対象とする)

・治療 24 週後、治療前と比し AaDO₂ 改善が 10mmHg 未満のとき、
125 μg/回、1 日 2 回吸入、7 日間吸入後、
7 日間休薬の 2 週間を 1 コースとして、
12 回繰り返し、計 24 週。

・治療 24 週後、治療前と比し AaDO₂ 改善が 10mmHg 以上のとき、
無治療で 6 週毎の経過観察を行う。

・吸入中増悪時

治療開始後 50 週までの間に、AaDO₂ が 15mmHg 以上増悪した被験者は、試験から脱落として、全肺洗浄による治療を行う。

評価方法

観察時期：

visit 0 ベースライン

visit 1 治療直前

visit 2 治療開始 6 週後

visit 3 治療開始 12 週後

visit 4 治療開始 18 週後

visit 5 治療開始 24 週後

visit 6 治療開始 26 週後

visit 7 治療開始 32 週後

visit 8 治療開始 38 週後

visit 9 治療開始 44 週後

visit 10 治療開始 50 週後

観察項目：臨床症状、胸部 X 線写真、胸部 CT (HRCT) 検査、動脈血液ガス分析、血液学的検査、血液生化学的検査、血中 GM-CSF 濃度、呼吸機能検査、6 分間歩行試験、気管支肺胞洗浄液検査 (オプション)。

主要評価項目：AaDO₂

副次的評価項目：徴候 (QOL、息切れ、咳)、

酸素療法の必要性、肺機能 (%VC、%DLco、PaO₂)、画像所見 (CT スコア)、血清マーカー (KL-6、CEA、CYFRA 21-1、SP-A、SP-D、LDH、抗 GM-CSF 抗体)

予定登録数と研究期間

目標症例数

60 例

実施予定期間

2016 年～2018 年

E. 結論

以上のように PMDA の意見に沿って実験計画、治験プロトコルの修正を進め、あわせて日本医療研究開発機構の研究予算への応募のための各種書面の準備を協力企業と協議して進めている。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 参考文献

1. Seymour JF et al. Pulmonary alveolar proteinosis: progress in the first 44 years. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166:215-35.
2. Inoue Y et al. Characteristics of a large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in Japan. Am J Respir Crit Care Med. 2008;177:752-62.
3. Tanaka N et al. Lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis express a factor which neutralizes granulocyte-macrophage colony stimulating factor. FEBS Lett 1999;442:246-50.
4. Kitamura T et al. Idiopathic pulmonary

alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. J Exp Med. 1999;190:875-80.

5. Sakagami T et al. Human GM-CSF autoantibodies and reproduction of pulmonary alveolar proteinosis. N Engl J Med. 2009;361:2679-81.
6. Tazawa R et al. Inhaled granulocyte/macrophage-colony stimulating factor as therapy of pulmonary alveolar Proteinosis. Am J Respir Crit Care Med. 2010;181:1345-54.
7. Wylam ME et al. Aerosol granulocyte-macrophage colony stimulating factor for pulmonary alveolar proteinosis. Eur Respir J. 2006;27:585-93.
8. Tazawa R et al. Duration of benefit in patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis after inhaled granulocyte-macrophage colony-stimulating factor therapy. Chest 2014;145:729-37.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

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

続発性肺胞蛋白症の肺胞マクロファージの形態学的特徴に関する研究

石井晴之 杏林大学医学部第一内科学 講師
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
大河内眞也 東北大学医学部附属病院呼吸器内科 講師
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
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

肺胞蛋白症の気管支肺胞洗浄液（BALF）では泡沫状に腫大した肺胞マクロファージ（AM）が特徴的所見とされている。しかし抗 GM-CSF 自己抗体陽性の自己免疫性肺胞蛋白症（aPAP）と、同自己抗体陰性の続発性肺胞蛋白症（sPAP）において病型による AM の形態異常は不明であり、本研究において評価した。両群間で BALF 中の AM サイズ、AM 核サイズ、AM 核・細胞比率（N/C）を比較検討すると、sPAP は aPAP より AM サイズと核サイズは小さく、N/C が高い結果であった。これは sPAP の AM 自体が未熟な細胞で貪食能力も aPAP より低下している傾向がある。今回の研究結果から sPAP は GM-CSF シグナル異常による機能低下ではなく、AM 自体が異常細胞である可能性が示唆された。

A. 研究目的

続発性肺胞蛋白症 (secondary pulmonary alveolar proteinosis: sPAP) は自己免疫性肺胞蛋白症 (autoimmune PAP: aPAP) の 10% 程度の頻度である非常に稀な肺疾患である。これまでに sPAP に合併する基礎疾患として骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) が最も多くみられている事、そして予後は著しく不良である事を報告してきた。aPAP が抗 GM-CSF 自己抗体の存在により GM-CSF シグナル異常による肺胞マクロファージ (alveolar macrophage: AM) の機能低下が明らかなのに対し、sPAP の AM が異常をきたす病因は不明のままである。aPAP と sPAP 共に AM の機能異常をみとめるが、細胞形態が異なっているかどうかを評価した研究は皆無である。本研究に

おいて、両者の AM 形態異常を比較検討し、sPAP の病態解明の糸口を探りたい。

B. 研究方法

1999 年以降に抗 GM-CSF 自己抗体陰性で気管支肺胞洗浄液所見 (BALF) から肺胞蛋白症が確定診断された sPAP 10 例を対象に、既存資料である BALF の標本 (スメア、サイトスピン) における AM 形態をデジタル蛍光顕微鏡によって評価した。sPAP は、基礎疾患に MDS を有した症例を対象とした。細胞形態におきては AM の大きさ、核の大きさ、そして核サイズ/細胞サイズ (nuclear/cell: N/C) 比率に注目した。デジタル顕微鏡は株式会社キーエンス BZX-700 を用い、付属の解析ソフトウェアにより評価項目の平均値・中央値を算出した。また aPAP 4 例