

小児期・移行期を含む包括的対応を要する希少難治性肝胆膵疾患の調査研究

## 嚢胞性線維症に関する研究

- 研究分担者（順不同） 竹山宜典（近畿大学医学部肝胆膵外科学・主任教授）  
成瀬 達（みよし市民病院・病院事業管理者）  
石黒 洋（名古屋大学総合保健体育科学センター・教授）
- 研究協力者（順不同） 吉村邦彦（社会福祉法人東京有隣会有隣病院・診療部長）  
藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科・教授）  
神田康司（日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院小児アレルギー科・部長）  
相馬義郎（国際医療福祉大学薬学部・基礎医学研究センター・教授）  
伊藤孝一（名古屋市立大学小児科・助教）

**研究要旨** 稀な疾患である嚢胞性線維症（cystic fibrosis: CF）の予後を改善するためには、臨床データの集積、医療関係者・患者とその家族を含めた情報交換、一般診療医への啓発が必要である。CF登録制度（患者レジストリ）には、2022年3月現在、全国の50名の患者を受け持つ主治医が参加している。2015年より毎年「嚢胞性線維症患者と家族の会」と合同の情報交換会を継続して開催している（2019年からはNPO法人嚢胞性線維症支援ネットワークも参画）。診断に必要な検査については、CFTR遺伝子解析はこれまで名古屋大学健康栄養医学研究室が実施してきたが、2022年度から保険収載されることになった。ピロカルピンイオン導入法による汗試験と膵外分泌不全の判定に必要な便中膵エラスターゼ測定は、みよし市民病院において無償で施行しており、この二つについても保険収載を要望していく。

### A. 研究目的

嚢胞性線維症（Cystic Fibrosis: CF）は、CFTR（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator）を原因分子とする常染色体潜性（劣性）遺伝性疾患である。乳児期に発症し、腸閉塞、栄養不良、繰り返す呼吸器感染などをきたす難病である。CFはヨーロッパ人種に多くみられるが、日本を含む東アジアでは稀である。2012年に始まったCF登録制度（患者レジストリ）は、名古屋大学健康栄養医学研究室に事務局を置き、CF患者を受け持つ主治医、診療について助言をする相談医、遺伝子診断（CFTR遺伝子解析）および機能診断（汗試験、便中

膵エラスターゼ測定による膵外分泌機能の把握）を提供する協力施設などが参加している。2015年より毎年「嚢胞性線維症患者と家族の会」（CF家族会：<http://jcfn.jimdo.com/>）と合同で、情報交換会を開催している。2019年6月には、有志により特定非営利活動法人嚢胞性線維症支援ネットワーク（<https://www.cfnetworkjapan.org/>）を設立し、名古屋スポーツ市民局市民活動推進センターの指導のもとに活動を始めた。

汗中のCl<sup>-</sup>濃度はCFTR Cl<sup>-</sup>チャンネル機能を反映しており、Cl<sup>-</sup>濃度の異常高値はCFの診断に必須の診断項目である。みよし市民病院では、ピロカルピン

イオン導入法により汗試験を行っている。Cl<sup>-</sup>濃度が 60 mmol/L 以上であれば異常高値とし、59～40 mmol/L を境界領域、40 mmol/L 未満を正常と判定している。本検査は医薬品医療機器法上未承認のため、全国の主治医の紹介にて来院された患者さんに無償で施行している。

CF において CFTR Cl<sup>-</sup>チャンネル機能が完全に失われると膵液の分泌とアルカリ化が障害される。その結果、膵導管は粘稠な膵液と蛋白栓により嚢胞状に拡張し、腺房は萎縮し、小葉間および小葉内の線維化が進み、膵嚢胞線維症の病理象を示す。膵臓の酵素分泌が正常の 10%未満となると、食物の消化ができず脂肪便など膵外分泌機能不全（Pancreatic Insufficiency：PI）の症状をしめす。膵エラスターゼは安定な酵素であり、便中に排泄される。そこで便中の膵エラスターゼ濃度を測定することにより膵外分泌機能を間接的に評価することができる。便中膵エラスターゼ試験は、ヒト膵エラスターゼに特異的なモノクローナル抗体を用いて、便中の濃度を免疫学的測定する検査である。便を採取して膵エラスターゼの濃度を測定するだけで良いので、患者の負担はなく、乳児から成人まで簡単に施行できる。本検査は医薬品医療機器法上未承認のため、みよし市民病院において無償で施行している。

CF 登録制度（患者レジストリ登録）、全症例の経年調査、CFTR 遺伝子解析、汗試験、便中膵エラスターゼ測定、情報交換会など 2019～2021 年度の活動について報告する。

## B. 研究方法

### 1. CF 登録制度を利用した症例調査

CF 登録制度を始めて以来、毎年、各主治医に調査票を送り、最近 1 年間の臨床経過、検査値、治療について調査している。

### 2. CF 患者の CFTR 遺伝子解析（2019～2021 年度）

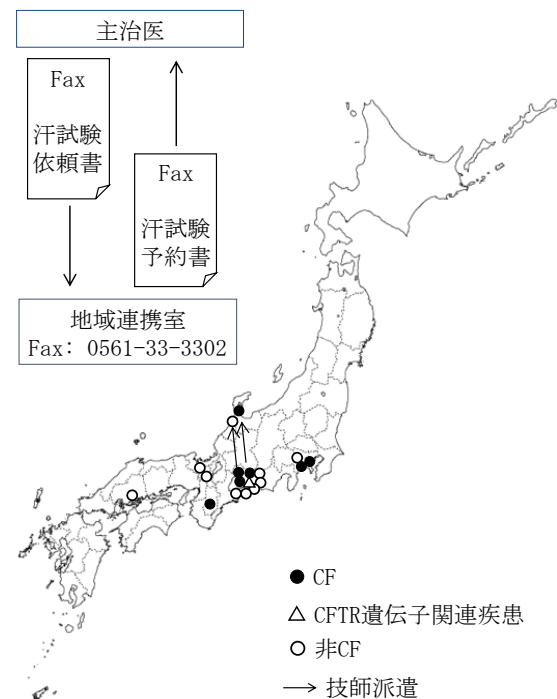
CF が疑われた 37 名の患者の CFTR 遺伝子解析を実施した。CFTR 遺伝子の全 27 エクソン領域とその近傍（約 300～600bp）およびプロモーター領域約 1,100bp のシーケンスに加えて、multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)

によるゲノム・リアレンジメントの解析を実施した。

### 3. 汗試験（2019～2021 年度）

来院（みよし市民病院）あるいは技師を派遣して実施した（図 1）。

図1 汗クロライド試験受診者の居住県  
みよし市民病院（2019～2021年）



これまでに延 139 回の検査を施行してきたが、乳幼児から成人まで簡単かつ安全に施行できた。発汗を認めず結果が得られなかった症例は 3 例であった。5 分間のピロカルピンイオン導入時の皮膚のピリピリとした感覚以外には副作用はなかった。汗試験用イオン導入装置（Webster 汗誘発装置 3700）、Macroduct 汗収集システム、Sweat・Check™ 汗伝導度アナライザーを用いた。

### 4. 便中膵エラスターゼ（2019～2021 年度）

全国の主治医からみよし市民病院に送付された便は、まずモノクローナル抗体を用いた迅速試験（Pancreas Elastase 1 Quick、ScheBo 社）により、膵外分泌不全無し（ $\geq 200 \mu\text{g/g}$ ：pancreatic sufficient:PS）あるいは膵外分泌不全有り（ $< 200 \mu\text{g/g}$ ：pancreatic insufficient:PI）の判定を行い、翌日までに主治医に報告した。後日、ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）キット（Pancreas Elastase 1 Stool Test ELISA、ScheBo

社）にて定量測定を行い、最終報告とした。

### 5. CF 情報交換会（2019～2021 年度）

CF 家族会および NPO 法人 CF 支援ネットワークと共同で年 1 回情報交換会を開催した（名古屋大学鶴友会館、2020 年度と 2021 年度はオンライン併用によるハイブリッド形式）。

（倫理面への配慮）

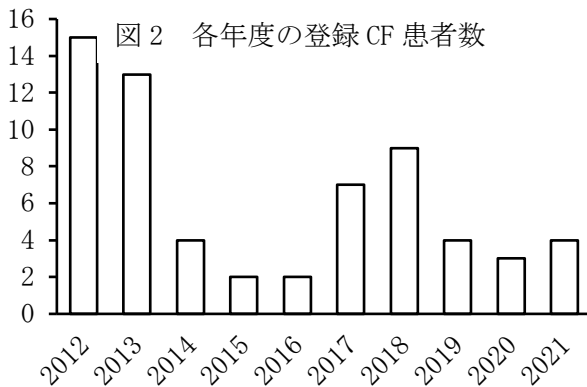
1. CF 登録制度を利用した症例調査および CFTR 遺伝子解析は、名古屋大学医学部生命倫理審査委員会（2008-0650、2012-0310）の承認を得て、患者あるいは保護者の同意を書面で得て実施した。

2. 汗試験の他の医療機関からの依頼は、みよし市民病院地域医療連携室にて受付けた。主治医ならびに当院の医師が検査の目的、意義、内容、副作用につき、十分に説明して施行した。汗試験の結果は患者および主治医に報告した。

## C. 研究結果

### 1. CF 登録制度を利用した症例調査

各年度ごとの登録患者数を図 2 に示す。



### 2. CF 患者の CFTR 遺伝子解析（2019～2021 年度）

CF と診断した 11 症例について解析結果を示す（表 1）。これまでに報告がない 4 種類の新規（pathogenic）バリエント（dele promoter、dele 20、L812fsX、c. 1340-3C>G）が検出された。

年齢	性別	バリエント —1	バリエント —2	汗 Cl <sup>-</sup> (mM)	PS/PI
10	男	dele promoter	dele 16-17b	120	PI

0.5	女	dele promoter	dele 16-17b	126	PI
0.2	女	H1085R	dele 16-17b	113	PI
18	女	L1156F	ND	64	PS
13	女	R347H	dele 16-17b	105	PS
0.5	男	405+1G->A	dele 20	150	PI
1	女	L812fsX	dele 16-17b	150	PI
5	男	F508del	1949del84	未	PI
5	女	dele 16-17b	c. 1340-3C>G	未	PI
0.2	女	c. 2989-2A>G	c. 2989-2A>G	未	未
31	男	F508del	5T	未	PS

表 1 CF 患者に検出された CFTR バリエント

新規 cnv である dele promoter について、欠失範囲を確定した。リアルタイム PCR により切断点のある範囲を狭めた後に、欠失領域を含む PCR を行い、PCR 断片を TA クローニングしシーケンスした。その結果、CFTR 遺伝子の exon1 とプロモーター部、さらに上流の ASZI 遺伝子を含む約 138kb の欠失であることが分かった（論文発表 3）。

### 3. 汗試験（2019～2021 年度）

汗試験を 18 例に施行した（表 2）。1 歳以下で来院が困難な 3 例については、依頼先の病院に当院の検査技師を派遣して検査を行った。原則は両腕の皮膚で施行し、両側で得られた値がほぼ等しいことを確認した。2 例では片腕しか十分な汗が得られなかった。汗試験の結果 CF と診断されたのは 7 例（39%）であった。この内 6 例が 60 mmol/L 以上であった。

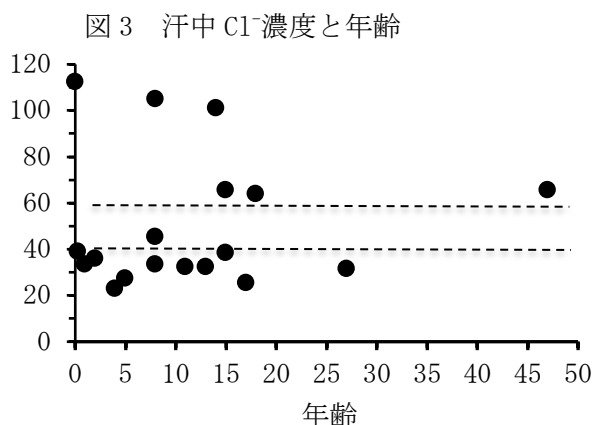
性別	年齢	居住県	汗 Cl <sup>-</sup> 濃度 (mmol/L)		診断	対応
			右	左		
女	0	石川	109	116	CF	派遣
男	8	愛知	45	46	CF	来院
女	8	愛知	101	109	CF	来院
女	14	神奈川	105	97	CF	来院
男	15	愛知	67	64	CF	来院
女	18	奈良	64	64	CF	来院
女	47	神奈川	64	67	CF	来院
男	13	愛知	33	32	CFTR 関連疾患	来院

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）  
総合研究報告書

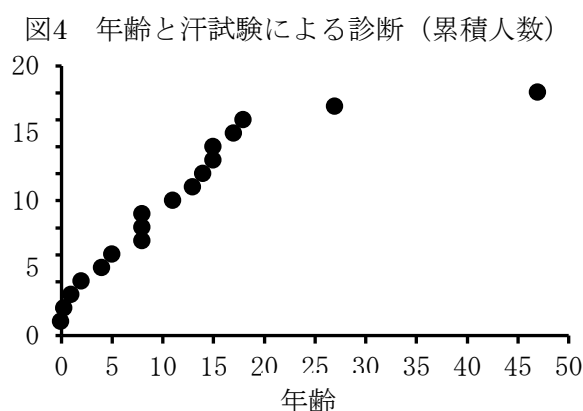
男	2	神奈川	36	—	非CF	来院
男	4	広島	22	24	非CF	来院
女	5	愛知	28	27	非CF	来院
女	11	愛知	33	32	非CF	来院
男	0	愛知	39	—	非CF	派遣
男	1	石川	35	32	非CF	派遣
女	8	京都	32	35	非CF	来院
男	15	愛知	38	39	非CF	来院
女	17	京都	24	27	非CF	来院
男	27	愛知	31	32	非CF	来院

表2 汗試験（みよし市民病院 2019～2021年度）

ほとんどの症例の診断年齢は20歳未満であったが、1例は46歳での診断であった（図3）。



汗試験による診断年齢は、10歳以下が50%、20歳以下が89%、30歳以下が94%であった（図4）。



4. 便中腓エラストーゼ（2019～2021年度）

36例に便中腓エラストーゼ試験を施行した（表3）。

性別	年齢	居住県	定性	定量	判定	診断
----	----	-----	----	----	----	----

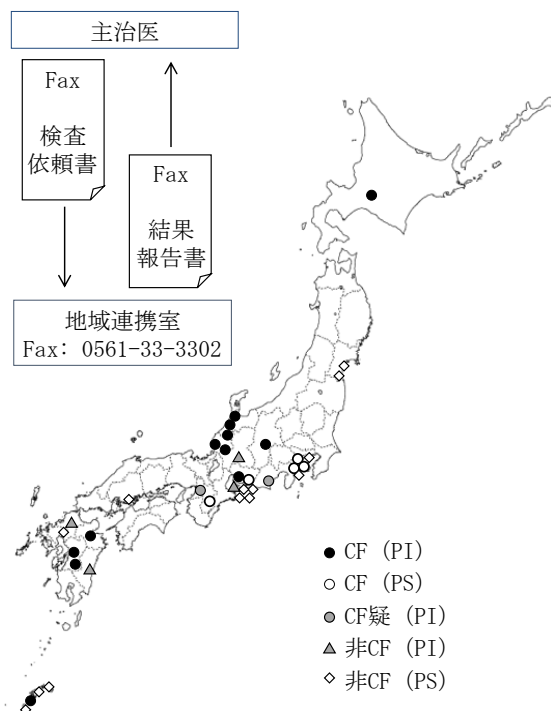
女	0	石川	-	85	PI	CF
女	0	沖縄	-	4	PI	CF
男	2	福井	-	2	PI	CF
男	5	長野	-	0	PI	CF、肝硬変
女	5	大分	-	0	PI	CF
男	0	岐阜	-	0	PI	1GATA6 遺伝子異常症
女	1	大阪	-	0	PI	胎便性イレウス
女	1	宮城	-	0	PI	Shwachman-Diamond
女	1	石川	+	143	PI	CF
男	0	北海道	+/-	0	PI	CF
男	3	福井	+/-	2	PI	CF
男	7	熊本	+/-	7	PI	CF
女	8	愛知	+/-	1	PI	CF
男	9	熊本	+/-	4	PI	CF
女	0	静岡	+	161	PI	超低出生体重、イレウス
男	4	福岡	+	46	PI	Shwachman-Diamond
女	7	愛知	+	151	PI	輪状膵、膵萎縮
女	5	愛知	+/-	1,103	PS	非CF
女	1	石川	+	238	PS	CF
女	13	神奈川	+	984	PS	CF
男	15	愛知	+	461	PS	CF
女	15	神奈川	+	1,069	PS	CF
女	18	奈良	+	622	PS	CF
女	47	神奈川	+	899	PS	CF
女	0	東京	+	337	PS	胎便性イレウス
男	0	沖縄	+	470	PS	非CF

男	1	宮城	+	490	PS	CF 疑
男	4	宮城	+	698	PS	非 CF
男	4	広島	+	753	PS	気管支喘息
女	6	福岡	+	389	PS	先天性好中球減少症、SRP50 遺伝子変異
男	8	愛知	+	455	PS	喘息、ネフローゼ
男	9	神奈川県	+	513	PS	脂肪便
女	13	沖縄	+	1,004	PS	CF 疑い
男	15	愛知	+	826	PS	CF 疑い
女	19	愛知	+	634	PS	MODY8 疑
女	25	沖縄	+	677	PS	トリソミー 3q 2

表 3 便中膵エラスターゼ（みよし市民病院 2019～2021 年度）

この検査は来院を要せず、便検体の郵送で済むため、COVID-19 感染症のパンデミックの影響を大きくは受けず、北海道と沖縄を含むより広範な地域の依頼に応えることが可能であった（図 5）。

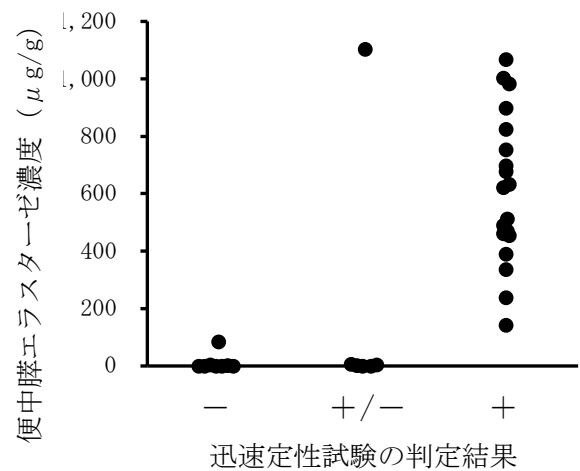
図 5 便中膵エラスターゼ試験受検者の居住県みよし市民病院（2019-2021年）



CF の診断を受けた 17 例の内、PI 症例は 12 例、PS 症例は 5 例であった。PS の患者では診断年齢が 13～47 歳と高かった。汗試験や *CFTR* 遺伝子検査が未施行で CF と診断されていないが、胎便性イレウスを合併して PI を示し CF が強く疑われる症例が 2 例あった。CF 以外に PI となった症例は、Shwachman-Diamond 症候群 2 例、1GATA6 遺伝子異常症 1 例、腭の先天性奇形（輪状腭・腭萎縮）1 例であった。

図 6 に迅速定性試験と定量試験の比較を示す。

図 6 便中膵エラスターゼの迅速定性試験と定量試験の比較



迅速定性試験では、明瞭なバンドが検出された場合は陽性（+）、バンドがない場合は陰性（-）、薄いバンドを認めた場合は（+/-）と判定した。定性試験で（-）と判定した 8 例は定量試験で全例 PI（ $<200 \mu\text{g/g}$ ）であった。定性試験で（+/-）と判定した 6 例の内 5 例は定量試験で PI であった。定性試験で（+）と判定した 19 例中 18 例は定量試験で PS（ $\geq 200 \mu\text{g/g}$ ）であった。定性試験で（-）または（+/-）の場合は PI、（+）の場合は PS とすると、両試験の判定の関係は、表 4 のようになる。

		定量試験判定		計
		PS	PI	
定性試験判定	PS	18	4	22
	PI	1	13	14
計		19	17	36

表 4 便中膵エラスターゼ試験  
：迅速定性試験と定量試験の関係

定量試験の判定結果を基準とすると、迅速定性試験によるPIの診断感度は76%（13/17）、診断特異度は95%（18/19）であった。外来で短時間で簡単に判断ができる便中腓エラストラーゼ迅速試験はCF患者における腓外分泌機能の判定（PS or PI）に有用であると考えられる。

#### 5. CF情報交換会（2019～2021年度）

	第5回	第6回	第7回
	2019年 11月	2020年 8月	2021年 8月
主治医	14	11	11
看護師	1	1	
管理栄養士	5	5	3
検査技師			
理学療法士			
薬剤師	1	1	
患者さんとご家族	16	6	10
研究班員	4	5	6
事務局	2	3	6
その他	11	13	17
合計	54	45	53

表5 情報交換会の参加者（2019～2021年度）

CF家族会や主治医を含む医療関係者の意見を参考にトピックスと講演者を選んだ（表6）。

年度	トピックス
2015	保護者の経験 出生から肺移植まで
2016	栄養ケア、呼吸理学療法の実践
2017	患者の経験 食事の実際
2018	病气入院児の学習保障・学習空白・進学について
2019	患者と家族の会について NPO法人の紹介
2020	在宅医療について 新型コロナウイルス感染症対策
2021	日本の肺移植の現状

表6 情報交換会の各会のトピックス

#### D. 考察

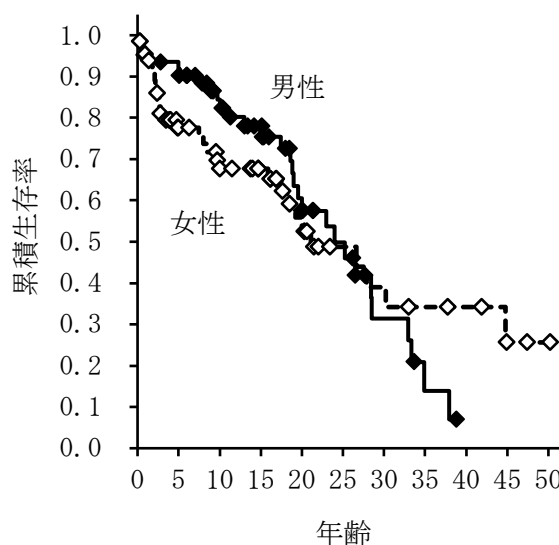
1994年以降事務局には139名のCF患者のデータが蓄積されている。うち海外で生まれた8名を除く131名の患者の概要を表7に示す。PIを伴う古典的（典型的）なCFは63%であった。胎便性イレウスの合併が多い（36%）が日本の特徴である。

		全患者 (131)	男性 (64)	女性 (67)
カテゴリー	Definite	115	55	60
	Probable	16	9	7
汗中[Cl <sup>-</sup> ]	高値	103	53	50
	境界域	6	2	4
	正常	4	1	3
腓外分泌不全PI		83	40	43
呼吸器症状		112	56	56
胎便性イレウス		47	21	26
家族歴		29	16	13
CF原因 バリエーション	2	47	20	27
	1	15	7	8
	0	22	13	9
	未検査	34	19	15
肝障害		18	14	4
糖尿病		8	5	3

表7 日本におけるCF患者の概要

生存期間の中央値は男性24.0歳、女性21.1歳である（図7）。

図7 日本におけるCF患者の生存曲線



この10年間で生存期間は約5年延長したが、欧米（米国では約35年、カナダでは約42年、ヨーロッパでは約30年、オーストラリア約30年）に比較すると予後は不良である。女性の方が予後が悪い傾向がある（図7、有意差無し）のは欧米と同様である。

日本におけるCFの予後を改善していくためには、臨床データの集積、患者とその家族を含めた情報交換、一般診療医への啓発が必要である。小児慢性特定疾病に加えて2015年に難病に指定され患者への支援は手厚くなってきている。現状の課題は、診断に必須の検査のほぼ全てに保険適応がないこと及び検査を実施できる施設が限られていることであり、CFの診断が遅れる要因となっているおそれがある。

CFTR遺伝子解析はこれまで名古屋大学健康栄養医学研究室（当研究室）が実施してきたが、2022年度から保険収載されることになった。今後は、遺伝子解析はかずさDNA研究所で実施され、検出されたバリエーションの病原性などについて当研究室がコメント（遺伝学的検査報告書作成支援業務）する体制となる。必要に応じて、当研究室が追加解析したり、主治医から臨床情報を提供いただいて汗検査や便中膵エラスターゼ検査を案内することになる。

ピロカルピンイオン導入法による汗試験と膵外分泌不全の判定に必要な便中膵エラスターゼ測定は、みよし市民病院において無償で施行しており、この二つについても保険収載を要望していく。

## E. 結論

CFの予後を改善していくためには、臨床データの集積、患者とその家族を含めた情報交換、一般診療医への啓発が必要である。CF家族会と合同の情報交換会を継続して開催し、医療ニーズに答えていく。また、診療体制を確立するために、汗検査と便中膵エラスターゼ検査の保険収載を要望していく。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 嚢胞性線維症に伴う膵外分泌機能不全 石黒洋、藤木理代、近藤志保、中莖みゆき、小澤祐

加、谷口いつか、成瀬達、山本明子 胆と膵 2019, 40: 1299-1302.

- 2) 嚢胞性線維症 石黒洋、相馬義郎、山本明子 [増大特集]難病研究の進歩 生体の科学 2020, 71: 436-437.
  - 3) Japanese siblings of cystic fibrosis with a novel large heterozygous deletion in the CFTR gene. Kawase M, Ogawa M, Hoshina T, Kojiro M, Nakakuki M, Naruse S, Ishiguro H, Kusuhara K. Front Pediatr 2022, 9: 800095.
  - 4) Focal biliary cirrhosisと門脈圧亢進症をともなう嚢胞性線維症の1例 山本明子、伊藤孝一、成瀬達、服部日出雄、中莖みゆき、藤木理代、石黒洋 日消誌 2021, 118: 686-697.
  - 5) 嚢胞性線維症 石黒洋、中莖みゆき、小澤祐加、山本明子 膵臓症候群 日本臨床 2021: 57-61.
  - 6) 膵嚢胞線維症（嚢胞性線維症） 成瀬達、中莖みゆき、藤木理代、近藤志保、小澤祐加、山本明子、石黒洋 胆と膵 2021, 42: 937-941.
- ### 2. 学会発表
- 1) 偽性Bartter症候群を契機に診断された嚢胞性線維症の日本人乳児例 郡温子、伊藤孝一、堀いくみ、田中達之、青山幸平、戸川貴夫、齋藤伸治 第122回日本小児科学会学術集会（金沢）2019. 4.
  - 2) 嚢胞性線維症患者の病態と栄養ケア 藤木理代、石黒洋、山本明子、竹山宜典、成瀬達 第105回日本消化器病学会総会（金沢）2019. 5.
  - 3) 日本における嚢胞性線維症患者の膵外分泌機能、栄養状態および膵酵素補充療法の現状 小澤祐加、山本明子、中莖みゆき、谷口いつか、藤木理代、近藤志保、成瀬達、竹山宜典、石黒洋 第50回日本膵臓学会大会（東京）2019. 7.
  - 4) わが国の嚢胞性線維症（CF）の発症頻度—CF登録制度からの推定値— 成瀬達、石黒洋、

山本明子、中莖みゆき、小澤祐加、谷口いつか、  
竹山宜典 第50回日本膵臓学会大会（東京）  
2019. 7.

- 5) 日本における嚢胞性線維症患者のCFTR遺伝子  
変異 中莖みゆき、藤木理代、山本明子、山口  
誠、谷口いつか、小澤祐加、野村奈央、福安智  
哉、Liu Libin、樋口万祐子、丹羽永理奈、成  
瀬 達、石黒 洋 第43回全日本遺伝カウンセ  
リング学会学術集会・第26回日本遺伝子診療学  
会大会合同学術集会（北海道）2019. 8.
- 6) Pancreatic presentation and CFTR mutations  
of cystic fibrosis in Japan. Ishiguro H .  
50th anniversary meeting of American  
Pancreatic Association and Japan Pancreas  
Society (Maui, Hawaii) 2019. 11.
- 7) Incidence of cystic fibrosis in Japanese.  
Naruse S, Ishiguro H, Yamamoto A, Nakakuki  
M, Ozawa Y, Taniguchi I, Kondo S, Fujiki K,  
Futakuchi S, Takeyama Y. 50th anniversary  
meeting of American Pancreatic Association  
and Japan Pancreas Society (Maui, Hawaii)  
2019. 11.
- 8) Genetics and pancreatic exocrine status of  
cystic fibrosis patients in Japan. Kondo  
S, Fujiki K, Nakakuki M, Yamamoto A,  
Kozawa Y, Takeyama Y, Naruse S, Ishiguro  
H. 50th anniversary meeting of American  
Pancreatic Association and Japan Pancreas  
Society (Maui, Hawaii) 2019. 11.
- 9) Comparison of pancreatic exocrine status  
between patients with cystic fibrosis in  
pediatric and adult age in Japan. Fujiki  
K, Kondo S, Nakakuki M, Kozawa Y, Yamamoto  
A, Takeyama Y, Naruse S, Ishiguro H. 50th  
anniversary meeting of American Pancreatic  
Association and Japan Pancreas Society  
(Maui, Hawaii) 2019. 11.
- 10) 日本の嚢胞性線維症患者のCFTRバリエーションと  
膵外分泌機能 パネルディスカッション「膵内  
外分泌機能障害の診断と治療」 山本明子、中

莖みゆき、成瀬 達、小澤祐加、藤木理代、近  
藤志保、竹山宜典、石黒 洋 第51回日本膵  
臓学会大会（東京）2021. 9.

- 11) 嚢胞性線維症患者の腸内細菌叢解析 福安智  
哉、藤木理代、中村浩平、鈴木 徹、成瀬 達、  
山本明子、近藤志保、中莖みゆき、小澤祐加、  
石黒 洋 第52回日本膵臓学会大会（東京）  
2021. 9.

#### 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