

小児期発症の希少難治性肝胆膵疾患における医療水準並びに患者 QOL の向上のための調査研究

嚢胞性線維症に関する研究

- 研究分担者（順不同） 竹山宜典（近畿大学医学部外科学教室肝胆膵部門・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（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野・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、診断に必要な検査体制の充実、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、現在、全国の 47 名の患者を受け持つ主治医が参加している。2015 年より“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が参画）。診断に必要な検査については、*CFTR* 遺伝子解析が 2022 年度から保険収載された。ピロカルピンイオン導入法による汗試験、膵外分泌機能不全の判定に必要な便中膵エラスターゼ測定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し、難病および小児慢性特定疾病に指定されている。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 年開始の CF 登録制度（患者レジストリ：www2.htc.nagoya-u.ac.jp/~ishiguro/lhn/cftr.html）は名古屋大学健康栄養医学研究室に事務局を置き、主治医、診療の助言をする相談医、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）を提供する協力施設、

栄養学の専門家、基礎研究者などが参加している。また、CF の診療に携わる医療関係者、患者さんとその家族、基礎研究者の間の緊密な連携を保つために、2015 年より“嚢胞性線維症患者と家族の会（CF 家族会）”（<https://jcfm.jimdofree.com/>）と合同で情報交換会を毎年開催している。2019 年 6 月には NPO 法人 CF 支援ネットワーク（<https://www.cfnetworkjapan.org/>）が設立され、合同で活動している。

CF は早期に診断し早期に治療を始める必要がある。CF の診断には、汗試験により汗中 Cl 濃度の高値（60 mmol/L 以上）を確認する、あるいは、遺伝子解析により 2 つの病原性のある *CFTR* バリエーションを認める必要がある。また、便中膵エラスターゼ試験により膵外分泌機能不全の存在を確認

することは、診断の助けになる。

CFTR 遺伝子解析は今年度（2022 年度）から保険収載された。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名古屋大学健康栄養医学研究室がコメント（遺伝学的検査報告書作成支援業務）する体制となっている。必要に応じて、主治医から臨床情報の提供を受けたうえで、当研究室が追加解析している。

しかし、汗試験は保険収載されていない。欧米における標準法であるピロカルピンイオン導入法を実施しているのは、現在、国内で唯一みよし市民病院のみである。汗採取装置は承認されておらず、本検査は医薬品医療機器法上未承認のため、みよし市民病院では、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。便中膵エラスターゼ試験も保険収載されていない。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。

本稿では、CF 登録制度（患者レジストリ登録）による全症例の経年調査、CFTR 遺伝子解析、汗試験、便中膵エラスターゼ測定などを中心に 2022 年度の活動について報告する。

CF では消化酵素の膵外分泌機能不全による消化吸収不良、気道感染症の治療の為に抗生剤の使用などにより、腸内細菌叢のバランスが崩れていることが欧米にて報告されている。しかし、腸内細菌叢は食生活を含む環境の影響を強く受け、人種によっても異なる。今年度は、日本在住の CF 患者の腸内細菌叢を解析した。

SARS-CoV-2 による感染症 COVID-19 は CF において重症化リスクの可能性が高い病態であると考えられる。CF 患者を対象としたこれまでの研究では、肺機能低下、糖尿病、年齢（>40 歳）、膵外分泌機能不全、低体重、肺移植、アジスロマイシン服用などが COVID-19 の重症化リスク因子に挙げられている。逆に、ドルナーゼ α と CFTR モジュレーターは重症化のリスクを下げると報告されている。日本で mRNA ワクチンが承認された段階で、CF 患者が接種することが望ましいと考えられたが、どの程度の効果があるか不明であった。そ

こで CF 患者がワクチン接種を判断するための資料とするため、健常者を対象として、ワクチン接種後の抗体濃度を経時的に測定した。

B. 研究方法

1. CF 登録制度を利用した症例調査

本年度は CF 登録制度（患者レジストリ）を始めて 11 年目である。47 名の登録患者（男性 21 名、女性 26 名）の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た。

2. CFTR 遺伝子解析

かずさ DNA 研究所で実施された 8 症例の CFTR 遺伝子解析の結果について、遺伝学的検査報告書作成支援業務を行った。

3. 汗試験

汗中の Cl⁻濃度はピロカルピンイオン導入法にて測定した。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・CheckTM 汗伝導度アナライザーを用いた。

4. 便中膵エラスターゼ試験

全国の主治医から送付された便は、まず、イムノクロマトグラフィーを用いた迅速試験（Pancreas Elastase 1 Quick、ScheBo 社、基準値は 200 $\mu\text{g/g}$ ）により、膵外分泌機能不全無し（pancreatic sufficient : PS）あるいは膵外分泌機能不全有り（pancreatic insufficient : PI）の判定を行い、結果は翌日までに主治医に報告した。後日、ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）法にて定量測定を行い、最終報告とした。

5. COVID-19 mRNA ワクチン接種と抗体価

2021 年 4 月から 2023 年 1 月まで、みよし市民病院の医療関係者を対象に計 5 回のワクチン接種後の血液を採取して、血中の SARS-CoV-2 スパイク蛋白抗体の濃度を ELISA 法（ロシュ・ダイアグノスティックス社）により経時的に測定した。

6. CF 患者の腸内細菌叢

CF 患者 14 名（1～13 歳、男 6 女 8、うち 2 人は両親の母国がパキスタン）および健常者 25 名（1～17 歳、男 12 女 13）を対象とした。便から DNA を抽出（ISOFEAL for Beads Beating、ニッポンジーン）、

16S rRNA 遺伝子の v3-v4 領域を増幅し、次世代シーケンサーにより得られたデータを mothur (ver1.41) と R (ver3.6.1) を用いて解析した。

7. CF 情報交換会

2022年8月20日に名古屋大学鶴友会館において第8回CF情報交換会を開催した（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、CFTR遺伝子解析および腸内細菌叢の解析は、名古屋大学医学部生命倫理審査委員会（2008-0650-2、2012-0310-3、2022-0001）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

21症例の調査票を回収した。また、3名の患者を新たに登録した。

2. CFTR遺伝子解析

両アレルに病的なCFTR遺伝子バリエーションが見られた症例はなかった。2症例については、主治医の希望により、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中である。

3. 汗試験

COVID-19パンデミックの影響で4名の実施に留まった（表1）。1例は生後41日目の患者で発汗量が少なく汗を採取できなかった。1例はスペイン出身の男性で、副鼻腔炎と気管支炎の既往歴があり汗Cl濃度は60mmol/L以上とCFと推定された。

性別	年齢	居住県	汗Cl ⁻ (mmol/L)		診断	対応
			右	左		
男	4	富山	—	124	CF	派遣

男	3M	富山	—	—	CF	派遣
女	12	愛知	37	36	非CF	来院
男	28	東京	63	60	CF	来院

表1 汗試験（みよし市民病院2022年度）

4. 便中膵エラスターゼ試験

全国から11名の検査依頼を受け、4例にPIを認めた（表2）。経過観察中のCF患者の1例では、迅速試験でPSと判定されたが、ELISA法による定量試験では178μg/gとPIであった。迅速試験では100～200μg/gの領域の診断は困難である。

性別	年齢	居住県	定性	定量	判定	診断
男	4	東京	+	749	PS	CF疑い
女	3	石川	+	178	PI	CF
男	3M	富山	—	1	PI	CF
男	5	富山	—	1	PI	CF
男	8M	愛知	+	4,450	PS	消化吸収障害
女	12	愛知	+	912	PS	喘息性気管支炎
男	1	埼玉	—	2	PI	難治性下痢症、発達遅延
男	1M	神奈川県	+	415	PS	CF疑い
男	2	岡山	+	445	PS	消化吸収障害
男	28	東京	+	278	PS	CF
男	9	埼玉	+	327	PS	脂肪便

表2 便中膵エラスターゼ試験（みよし市民病院2022年度）

5. COVID-19 mRNA ワクチン接種と抗体価

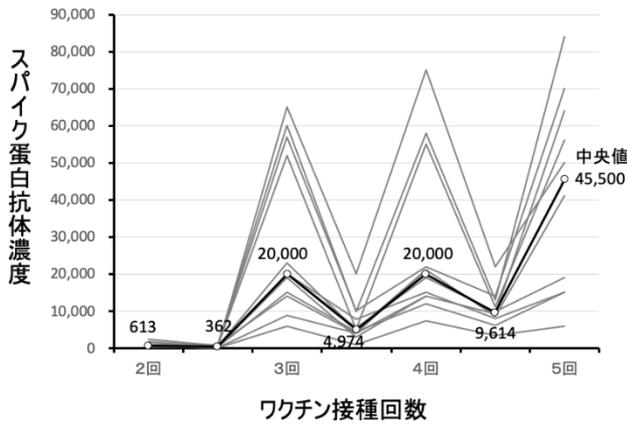


図1 SARS-CoV-2 mRNA ワクチンの接種回数と
 スパイク蛋白抗体の濃度の経時的変化

mRNA ワクチン（ファイザー社製）の2回接種により有意のスパイク蛋白抗体の濃度の上昇（中央値：613単位、範囲：215~2,320単位）を認めた（図1）が、6ヶ月後には約半分（中央値：362、範囲：99~1,092）に低下した。3回目の接種（ブースター接種）では約50倍（中央値：20,000、範囲：5,969~65,000）に増加した。

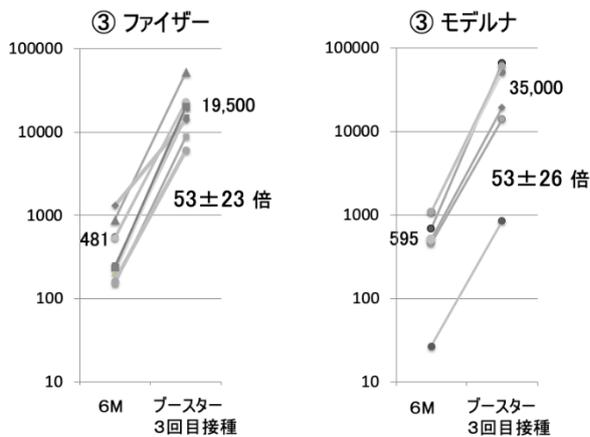


図2 mRNA ワクチン（ファイザー製とモデルナ製）
 の交差接種の効果（数値は中央値）

ブースター接種ではファイザー製ワクチンとモデルナ製ワクチンが使用されたが、ワクチンの交差接種による抗体濃度の差は小さく（ファイザー→ファイザー：53±23倍、ファイザー→モデルナ：53±26倍）、どちらの製剤を接種しても同等の効果が得られた（図2）。抗体濃度の反応性は個人差が大きいですが、個人ごとの反応には同じ傾向を認めた。4回目接種前には抗体濃度は約4分の1に低下し（中央値：4,974、範囲：932~20,000）、4回目接種後には再

び増加（中央値：20,000、範囲：7,317~75,000）した。5回目接種前には抗体濃度は低下し（中央値：9,514、範囲：3,308~22,000）、5回目接種後には再び増加（中央値：45,500、範囲：5,774~84,000）した。

6. CF患者の腸内細菌叢

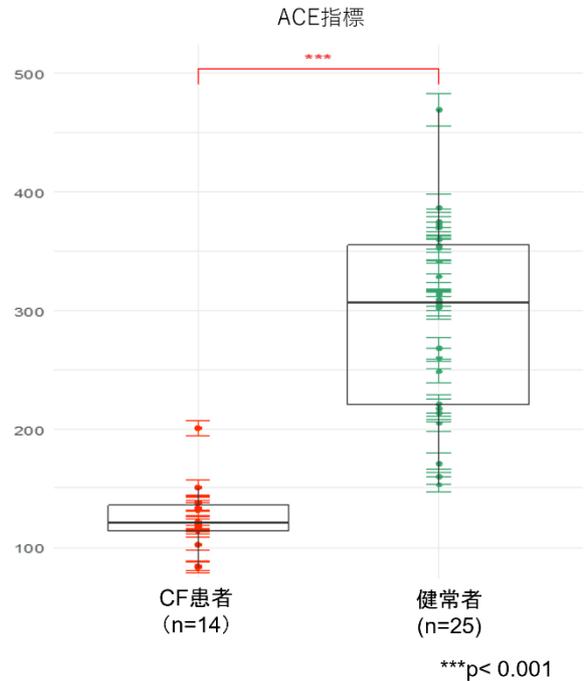


図3 腸内細菌叢のα多様性解析
 CF患者の腸内細菌叢のACE指標は健常者に比べて有意に低く多様性が乏しかった（図3）。

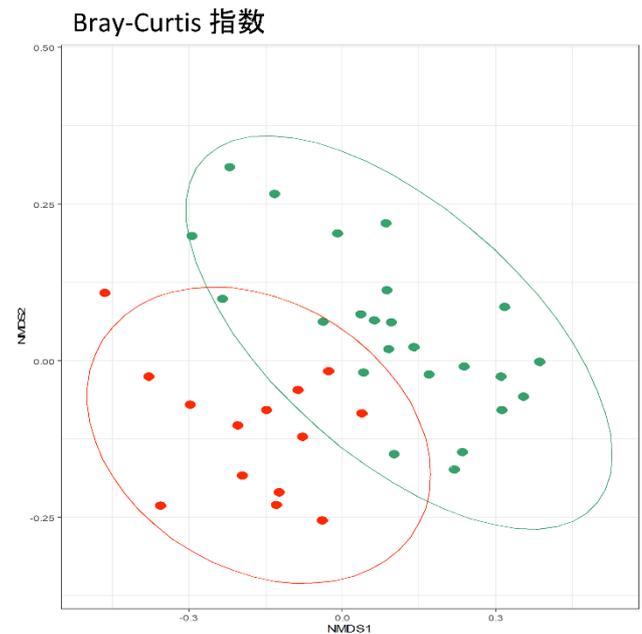


図4 腸内細菌叢の非類似度
 Bray-Curtis 指数（図4）では、CF患者（赤、n=14）

と健常者（緑、n=24）の菌叢構造には有意な（ $p<0.001$ ）違いがみられた。

7. CF 情報交換会

プログラムは以下の通りである。50 名が参加した（主治医 13、看護師 1、管理栄養士 2、薬剤師 1、患者さんご家族 9、研究班員 5、事務局 7、その他 8、NPO 4）。

13：00 日本の CF の現状

石黒 洋 名古屋大学健康栄養医学

13：10 NPO 法人 CF 支援ネットワークからの報告
福井佐和

13：20 診断までに 5 年を要した CF の一例

塩穴真一、梶原健太 大分県立病院小児科
坂田 優、原 卓也 九州大学小児科

13：40 弟の出生を契機に診断された乳幼児期脂肪
肝・呼吸窮迫/不全にて発症した兄弟例

五十嵐 登、五十嵐淳平、中山裕子、
堀川慎二郎 富山県立中央病院
新井田 要 金沢医大ゲノム医療センター

14：00 CF、肺移植と COVID-19 ワクチン

伊藤嘉規 日本大学医学部小児科学

14：40 CF と遺伝子

中莖みゆき 名古屋大学健康栄養医学

15：00 CF と向き合った 17 年

インタビュー：中澤未美子 山形大学

15：25 AbbVie 第 II 相治験薬 Galicaftr の日本人型
病因性 CFTR 変異体への効果

相馬義郎 国際医療福祉大学薬学部

15：55 閉会の挨拶 竹山宜典 近畿大学外科

D. 考察

稀な疾患である CF の診療体制を構築し予後を改善していくためには、①臨床データの集積、②診断に必要な検査体制の充実、③患者とその家族、医療関係者、基礎研究者を含めた情報交換、④一般診療医への啓発が必要である。臨床データの集積については、現在、CF 登録制度（2012 年～）に全国から 47 名の患者を受け持つ主治医が参加している。

診断に必要な検査については、CFTR 遺伝子解析が 2022 年度から保険収載されたが、汗試験と便中

エラスターゼ試験は未収載であり、全国で唯一みよし市民病院が無償で実施している。便中エラスターゼ試験はサンプル（便）の送付だけで済むが、汗試験は患者に来院してもらう必要があり、病状が重く遠方からの来院が難しい場合には検査技師を派遣している。保険収載および検査体制の拡充が必要である。

患者とその家族を含めた情報交換については、2015 年度から毎年、CF 家族会と合同で（2019 年度からは NPO 法人 CF 支援ネットワークも参画）、主治医、看護師、管理栄養士、薬剤師、相談医、基礎研究者による情報交換会を開催している。今年度は、CF 患者および肺移植患者が COVID-19 ワクチンを接種する意義について専門家による講演を企画した。また、肺移植を経験した CF 患者さん自身による講演を実施した。今後も引き続いて開催し、医療ニーズに答えていく。

最近、小児科関連の学会での症例報告が増えてきているが、一般診療医への啓発については引き続き工夫していく。

今年度実施した医療関係者を対象とした抗体検査によると、COVID-19 mRNA ワクチンを最低 3 回は接種することが望ましい。ワクチンの効果はおおよそ 6 ヶ月で半減するので、CF 患者は、重篤なアレルギー反応がない限り、国の推奨通り 6 ヶ月ごとに追加接種することが望ましいと考えられる。

CF 患者の 35% は出生時に胎便性イレウスを起こすが、これに加えて頑固な便秘が続くことが多く、腸内細菌叢の乱れの関与が推測されている。今年度の研究では、CF 患者の腸内細菌叢は、健常者と異なる構造を持ち、多様性が乏しかった。この点についてはヨーロッパ人種と同様であった。今後、原因となる CFTR 遺伝子バリエーションのタイプ、食事内容との関連を調べる必要がある。

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、診断に必要な検査体制の充実、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。

開」 石黒 洋 Japan Basic and Clinical Pharmacology Week 2022 第96回日本薬理学会年会/第43回日本臨床薬理学会学術集会（横浜）2022.12.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bicarbonate transport of airway surface epithelia in luminally perfused mice bronchioles. Liu L, Yamamoto A, Yamaguchi M, Taniguchi I, Nomura N, Nakakuki M, Kozawa Y, Fukuyasu T, Higuchi M, Niwa E, Tamada T, Ishiguro H. J Physiol Sci 2022, 72 (1): 4.
- 2) 膵導管細胞の病態生理と嚢胞性線維症 石黒洋、山口 誠、山本明子 胆と膵2022, 43 (8): 743-750.
- 3) 小児の嚢胞性線維症はいかに診断すべきか？ 石黒 洋 小児科診療Controversy 中外医学社2022, P.130-134.

2. 学会発表

- 1) わが国のCF患者のCFTR variantの特徴 ワークショップ「胆膵疾患の遺伝子解析による病態解明・臨床展開」 中莖みゆき、山本明子、石黒 洋 第108回日本消化器病学会総会（東京）2022.4.
- 2) Effects of GLP-1, GIP, and glucagon on pancreatic fluid secretion in guinea-pig interlobular pancreatic duct. Higuchi M, Yamamoto A, Taniguchi I, Nomura N, Niwa E, Nakakuki M, Yamaguchi M, Liu L, Ishiguro H 第26回国際膵臓学会/第53回日本膵臓学会大会（京都）2022.7.
- 3) Roles of zinc in fluid secretion from pancreatic duct cells. Nomura N, Yamamoto A, Nakakuki M, Mochimaru Y, Taniguchi I, Liu L, Kozawa Y, Higuchi M, Niwa E, Ishiguro H 第26回国際膵臓学会/第53回日本膵臓学会大会（京都）2022.7.
- 4) Educational Lecture 膵の生理と生化学 石黒洋 第26回国際膵臓学会/第53回日本膵臓学会大会（京都）2022.7.
- 5) 嚢胞性線維症に対する吸入療法 シンポジウム「難治性呼吸器疾患に対する吸入療法の新展

G. 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