

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	稀少疾患研究の光と影 医師主導治験から薬事承認にいたるいばらの道
別タイトル	154th Regular Meeting of the Medical Society of Toho University Invited Lecture: Light and Shadow of Rare Disease Research, a thorny road to regulatory approval
作成者(著者)	中田, 光
公開者	東邦大学医学会
発行日	2019.12.01
ISSN	00408670
掲載情報	東邦医学会雑誌. 66(4). p.194 197.
資料種別	学術雑誌論文
内容記述	総説
著者版フラグ	publisher
JaLCDOI	info:doi/10.14994/tohoigaku.2019 044
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD27947333

総 説

稀少疾患研究の光と影

一医師主導治験から薬事承認にいたるいばらの道

中田 光

新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター部長・教授

要約：自己免疫性肺胞蛋白症は末梢気道に過剰なサーファクタントが貯留し、徐々に呼吸不全が進行する稀少肺難病である。本邦に約三千人の患者がおり、壮年の男性に多く、難治例は呼吸不全や感染症で亡くなる場合もある。同症は国の指定難病となっている。第一例報告以来、40年間原因不明だったが、1998年、東大医科研で最も貧しいと言われた微生物株保存施設で、北村享之先生（現東邦医大佐倉病院教授）と肺胞蛋白症患者の肺洗浄液中のGM-CSF結合タンパク質の単離に成功し、それが、GM-CSF自己抗体であることを発見した。ほどなく、北村先生と血清診断法を開発した。一方、病因に基づいて開発されたのが、GM-CSF吸入療法であるが、GM-CSFの製造販売権が20年間で6社も移り、実用化は遅々として進まなかった。動物への試験投与を経て、2016年から2017年にかけて、多施設共同医師主導治験を実施した。実薬33例の肺胞動脈血酸素分圧較差の改善は、偽薬30例に比べて有意に優れ、胸部CT上のスリガラス影の改善もこの治療の有効性を裏付けていた。これらの成果は、2019年9月5日号のThe New England Journal of Medicineに掲載された。今後薬事承認に向けて、製薬企業と交渉をすすめていきたい。

東邦医学会誌 66(4): 194-197, 2019

索引用語：肺胞蛋白症，指定難病，医師主導治験

はじめに

ニューヨーク大学に留学中の1994年、GM-CSFノックアウトマウスが肺胞蛋白症を発症するという結果が、米国とオーストラリアから相次いで発表された。ボスのロム先生は、エイズと結核の重感染を研究していた私を教授室に呼んで論文を示しながら、『ヒトの肺胞蛋白症の肺洗浄液が保存してあるので、それを使ってヒトの肺胞蛋白症の病因解明の研究をしないか?』と誘ってくださった。エイズ結核重感染実験が佳境となっていたので、大変興味はあったが、丁重にお断りした。しかし、どうしても諦めがつかなかったロム先生は、実験助手のMarian Bodkinに実験させるから、マクロファージの培養法を教えてやってくれと

言って、私は実験を計画した。その時にBodkinがやった実験は、ヒト単球由来マクロファージを健常者の肺胞洗浄液が入った培地か肺胞蛋白症患者の肺胞洗浄液が入った培地の中で培養し、LPS(内毒素)で刺激して、1日後に培養上清中のTNF- α 濃度を、4日後にGM-CSF濃度を測るという単純なものだった。TNF- α 濃度は、LPS刺激により上昇したが、GM-CSF濃度は、健常者の肺洗浄液を入れた培養上清中のみ上昇し、肺胞蛋白症患者の洗浄液を入れた培養上清中では、全く検出できなかった。

この結果をロム先生に見せると、「これは、きっと肺胞蛋白症の患者培養上清中にIL-10があり、GM-CSFの上昇を抑えているからに違いない」と仰って、BodkinにIL-10を測定させた。運が悪く、肺胞蛋白症患者の肺胞洗浄液中

の IL-10 濃度は非常に高かった。この結果は、ロム先生の巧みな論文技術により、「ヒト肺胞蛋白症の病因は、IL-10 の過剰な産生による」という内容で、呼吸器の一流誌に掲載された。しかし、私は納得がいかなかった。IL-10 は、multi-cytokine repressor である。GM-CSF が IL-10 によって抑制されたなら、何故、TNF- α は抑制されなかったのか？もやもやとした疑問を持ちつつ、1995 年夏に帰国した。

肺胞蛋白症の肺洗浄液中の GM-CSF 測定 阻害物質を追求する

東大医科学研究所微生物株保存施設の助手に就いたが、研究費がなく、しばらくは病原細菌の培養と分譲業務以外は何もできなかった。1996 年の 6 月に病原性大腸菌 O-157 の大流行が起ると、製薬企業の注目するところとなり、共同研究費が入り、また文科省からも特別事業費がおり、研究が出来る状態となった。

その頃、恩師の田中寛先生のご長男で北里大学の呼吸器内科のポスドクであった田中直彦先生の研究の面倒を見てほしいと言われ、直彦先生と留学中に疑問をもった肺胞蛋白症の肺洗浄液の謎を解明することとなった。ニューヨーク時代に Bodkin がやった実験を再現してみた。健常者の肺洗浄液を入れて単球を培養すると、3 日くらいで元気な単球由来マクロファージができる。しかし、肺胞蛋白症の肺洗浄液を入れた方は、全部の細胞が死んでしまった。こういうのを物理現象では、「井戸型ポテンシャル」というのだろう。片方が 100% で片方が 0% というような現象を見つけたときには、絶対に大発見に繋がると利根川進先生がどこかに書いていたのを思い出した。

Bodkin が肺胞蛋白症の肺洗浄液を入れた培養上清の GM-CSF を測ったのは、ELISA 法だったので、もしかしたら測定を邪魔する物質が肺胞蛋白症の肺洗浄液中にあるのかもしれないと思って、田中直彦先生は、来る日も来る日も ELISA をやっていた。ELISA キットは高価なので、彼は試薬を 5 倍に希釈して、測定をやり、データを真眼で見ると判断していた。ある日、私は旗の台の昭和医大に検体をもらいに出かけていた。検体をもって駅まで来たら、田中直彦先生が「せんせー」と言って、改札の内側から身を乗り出すようにして手を振っていた。手には、ELISA の測定結果を持っていた。肺胞蛋白症の肺洗浄液中に GM-CSF の測定を阻害する物質があることを示すデータだった。

こうして阻害物質を検出する系を手に入れた私たちだったが、患者肺洗浄液は、白濁したドロドロの液で、阻害物質の精製は難航した。ある友人が「壁にぶち当たったら、論文を読め」とアドバイスしてくれた。札幌医大の秋野先生、黒木先生という二代の教授が、肺胞蛋白症の肺洗浄液

中のサーファクタント蛋白を精製するのに、ブタノールで、ドロドロの原因であるリン脂質を抽出するという方法を使っていた。試しに肺洗浄液にブタノールを入れ混和すると、水層と油層に分かれ、透明な水層に ELISA の阻害活性が見られた。こうして、精製は進んだが、単品になるまでには至らなかった。2 年間、私のところに通って実験を続けた田中直彦先生は、とうとう貯金がつき、エイズ予防財団の留学費を得て、1998 年春にロム先生の教室に留学した。

北村享之先生の登場

代わって実験に来たのは、東大麻酔科から教務職員として医科研に来ていた北村享之先生（現東邦佐倉病院教授）だった。彼は、実験を始めると恐ろしいくらいに集中する人で、朝 8 時から夜遅くまで、昼食とショートピースを 3 本立て続けにふかす以外は、ぶっ通しで実験ができた。彼がまずやったのは、ELISA 法に代わる阻害物質検出系の確立である。肺胞蛋白症の肺洗浄液をアクリルアミドのゲル中で電気泳動し、ポリビニール膜に移して、そこに放射性ヨードラベルした GM-CSF と反応させると、180 キロダルトン周辺にバンドが見えた。健常者や肺胞蛋白症以外の洗浄液では、このバンドは見えなかった。つまり、肺胞蛋白症の肺洗浄液中には、GM-CSF と結合する蛋白が存在することを示していた。このバンドを頼りに 5 本のカラムを使い、とうとう単品にすることに成功した。北村先生は、実験を始めて 5 ヶ月半後にこの偉業を達成したのである。精製した蛋白はほどなく IgG であることがわかり、肺胞蛋白症は、抗 GM-CSF 自己抗体が起こすということになり、やがて自己免疫性肺胞蛋白症と呼ばれるようになった。ついで北村先生と血清自己抗体を検出する血清診断法を開発し、特許に結びつけた。ところが、微生物株保存施設は、教授会の意向で平成 12 年に廃止となった。廃止と同時に私は国際医療センターに新設された呼吸器疾患研究部に職を得て移動した。

自己免疫性肺胞蛋白症の新治療開発

1958 年に Rosen らが最初の報告をして、60 年代には生理食塩水を注入して肺を洗い、肺胞に貯まったサーファクタントを排出させるという肺洗浄法が開発され普及していった。今では、全身麻酔下にダブルルーメンの挿管チューブを用いて、片肺ずつ 20-30 L の生理食塩水で洗浄する全肺洗浄法が標準となっている。2 週間程度の入院を要する上に、呼吸不全、心不全があると実施出来ないし、術後肺炎がかなりの頻度で起こる。抗 GM-CSF 自己抗体の発見以来、過剰な GM-CSF を吸入で肺胞までとどけ、自己抗体を凌駕させると、未分化なマクロファージが成熟し、サーファクタントの分解が促進されて呼吸不全が改善する



図1 第10回冷やし中華の会記念写真

冷やし中華の会：The New England Journal of MedicineにPAGE試験の結果を執筆するために結成された専門家。毎週土曜日に開催し、昼食に「まるや」の冷やし中華の出前を取ったためにこの名前がついた。後列左から、三上礼子（国際医療研究センター臨床研究センターデータサイエンス部/臨床研究推進部長）、小田未来（杏林大学呼吸器内科助教）、石井晴之（杏林大学呼吸器内科教授）、田中崇裕（新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター助教、生物統計家）、前列左から北村信隆（新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター特任教授、生物統計家）、筆者（新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター部長、教授）、まるやのご主人、田澤立之（東京医科歯科大学保健管理センター教授、筆頭著者）

のではないかと考えるようになった。2000年の12月に最初の治療が東北大学の貫和教授、田澤助手らによって行われた。ほとんど寝たきりだった40代の女性は、社会復帰できるまで劇的に回復した。次いで、東北大学、近畿中央胸部疾患センターで行われた2例も改善した。私は、厚生労働科学研究費を得て全国7施設からなる早期II相試験の研究班を立ち上げ、ついで、新潟大学医歯学総合病院に移動した2004年からは、文部科学省の特別推進経費を得て、II相試験を行った。一方、製薬企業と実用化のための薬事承認申請について話し合ったが、2012年までの12年間に5社も製造販売権が移り、交渉が進んだかと思うと、売却されという徒労が繰り返された。2012年にMegaPharmaのSanofi社がGenzymeを買収すると、Genzymeは稀少疾患に特化した開発を手がけることとなり、Leukine（酵母由来ヒト組換えGM-CSF）の吸入投与による自己免疫性肺胞蛋白症の吸入療法が開発の候補として上がるようになった。

全国12施設共同医師主導治験へ

Sanofi-Genzymeと交渉を進め、2014年10月にととう彼等を医薬品医療機器総合機構（PMDA）による対面助言の場に連れて行くことができた。PMDAからは、4項目の宿題が出された。第一に、サルを用いた6ヶ月慢性

毒性吸入試験を実施すること。第二に、健常者にLeukineを吸入させた後の血液中のLeukine濃度の推移を見ること。第三にLeukineが効くことを検証する試験（偽薬対照III相医師主導治験）を実施すること。第四に、自己免疫性肺胞蛋白症の診断のための自己抗体測定キットの薬事承認を目指すこと。2015年4月、日本医療研究開発機構（AMED）の難治性疾患実用化研究推進事業に採択されると、まず、長野県伊那市にあるイナリサーチに委託して、カニタイザル24頭に対して、24週間のLeukine吸入投与を3用量で行った。患者さんへの投与量の100倍量を吸入しても安全であることが確認できた。ついで、第二の宿題であった薬物動態調査であるが、2016年夏までに東大AROと契約して健常者9人で3用量の単回吸入後のLeukine血中濃度の測定ができた。第三の宿題のために、全国12病院（北大、東北大、新潟大、千葉大、国立国際医療研究センター、杏林大、愛知医大、京大、近畿中央胸部疾患センター、神戸市立医療センター、倉敷市民、長崎大）の呼吸器科医に分担研究者になってもらい、田澤准教授とともにサイトイニシエーションビジット（施設毎に訪問して吸入方法や動脈血ガス分析の方法を統一した）を行った。過去5年間に自己免疫性肺胞蛋白症の診断のために血清を送ってくれた240施設ほどに、調査を依頼し、候補となる患者情報を収集し、情報をプールした。

医師主導治験の結果と The New England Journal of Medicine への掲載

2016年9月より自己免疫性肺胞蛋白症の診断を受けた患者さん78例から同意を得て、さらに検査をして、最終的に64例の被験者を12月までに登録し、実薬250 μ g吸入33人と偽薬吸入31人にランダムに割り付けた。Leukineか偽薬を24週間吸入（盲検期）したのち、ほとんどの患者が、Leukineを吸入する後治療期に移った。2017年11月に全ての治療は終了して、データを固定し、解析に入った。解析は、私が部長を務める臨床研究推進センターの生物統計家やデータマネージャー、モニターが担当してくれ、2018年6月までかかって、総括報告書が完成した。

主要評価項目である肺動脈血酸素分圧較差の改善は実薬完遂33名の平均が-4.5 mmHgであったのに対し、偽薬では、0.17 mmHgと統計的に有意な差がみられた（文献1, $p=0.02$ ）。胸部のCT画像上観られたスリガラス影の改善や血清マーカーなども実薬群が有意に改善した。これらの結果を報告するために、2018年7月7日に論文作成を開始し、毎週末教室に7人のメンバーが集まり、喧々諤々の議論をしながら執筆した。お昼に冷やし中華の出前を取ったことから、『冷やし中華の会』と呼んだ（図1）。11月30日にThe New England Journal of Medicine (NEJM)に投稿し、1月10日に外部査読が終了し、統計査読に回

され、1月25日に最初の revise が戻ってきて、編集長 Jeffrey Drazen の評価が悪くないことを知った。真冬ではあったが、『緊急冷やし中華の会』を招集。Drazen の修正要求には、かなり苦痛な部分もあったが、臨床系雑誌最高峰に到達するために妥協し、2月18日再投稿。2月28日、revise の返事とともに Drazen 編集長のお直し原稿がとどき、2019年3月10日再投稿。これで採択かと思いきや、ここまでの第一段階の査読で、第二段階の査読が始まり、統計査読者とのやりとりが2ヶ月間続き、5月14日採択となった。

エピローグ

2019年9月5日、NEJM の論文が解禁となり、田澤先生（筆頭著者）、北村先生（生物統計家）、患者会代表の小

林さんとともに、厚生労働省9階の記者会見室でプレス発表した。その帰りに某製薬企業を訪問、薬事承認のための交渉に入った。人生で忘れられない日となったが、もしかしたら、Leukine 吸入療法の実用化の道のりのほんの入り口に立っただけなのかもしれない。過大な期待もまた落胆もすることなく、まっすぐに進んで行ければと思っている。

Conflicts of interest : 企業からのアドバイザー料 : ノーベルファーマ (株), パテント料 : 医学生物学研究所 (株), 企業内倫理委員会外部委員 : デンカ生研 (株), 共同研究費 : コージンバイオ (株)

文 献

- 1) Tazawa R, Ueda T, Abe M, Tatsumi K, Eda R, Kondoh S, et al. Inhaled GM-CSF for pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med.* 2019; 381: 923-32.