

severe hypoxemia between December 2000 and October 2001. The patients were administered recombinant GM-CSF ($125\mu\text{g}$) by aerosol twice daily, during alternate weeks for 24 weeks. All three patients were dramatically improved in the alveolar-arterial oxygen gradient (A-aDO₂) with more than 20 mmHg. Two of three patients have been in remission until now. The second round clinical trial was performed between March 2003 and March 2004. Thirteen patients received $125\mu\text{g/d}$ GM-CSF for 12 weeks with serial monitoring of clinical parameters. Patients not responding to $125\mu\text{g/d}$ GM-CSF after 6 weeks inhalation underwent twice dose-escalation. Using prospective criteria, 7 of 13 patients responded; overall response rate was 53.8%. No side effect was observed during the treatment. Two of 7 responders recurred and one patient died one year after the treatment due to progression of severe hypoxemia. Compared with the first round clinical trials, increase in the cell number in BALF was not remarkable and the morphology of AM remained to be immature. Therefore, we decided to change the period of the treatment and designed alternative regimen as follows. The first 12 weeks: (Inhalation with $125\mu\text{g}$ of GM-CSF in 2.5ml saline twice daily for 8 days and no treatment for 6 days) \times 6 cycles. The following 12 weeks: (Inhalation with $125\mu\text{g}$ of GM-CSF in 2.5ml saline once daily for 4 days and no treatment for 10 days) \times 6 cycles. The third round clinical trial using the above regimen has been in progress since April 2004. Eight patients have been enrolled in the study and 5 patients responded. We conclude that inhaled GM-CSF has therapeutic activity in idiopathic PAP, providing a potential alternative to both subcutaneous administration of GM-CSF and whole-lung lavage.

Key words: pulmonary alveolar Proteinosis, alveolar macrophage, autoantibody, cytokine, granulocyte macrophage colony stimulating factor

緒 言

特発性肺胞蛋白症は、肺胞及び終末気管支に過剰なサーファクタントの貯留がおり、進行性の呼吸困難を来す疾患である。好発年齢は40～50代で男女比は約2.2:1である。我が国の罹患率は不明であるが、欧米の報告によれば、人口10万対0.3とされている。国内外ともに地域差は認められていない。著者は1999年に、病因物質として患者の肺及び血液中に抗顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)中和自己抗体が大量に存在することを発見し¹⁾、その検出法²⁾の特許を出願した(優先権主張番号特願平10-303858)。GM-CSFの受容体を欠く先天性の肺胞蛋白症が存在すること³⁾や、GM-CSF⁴⁾やその受容体⁵⁾のノックアウトマウスが肺胞蛋白症を起こすことから、本症の発症にGM-CSFの関与が考えられてきたが、本疾患の病因は、肺胞マクロファージの分化・機能維持に重要な肺のGM-

CSFが自己抗体により中和され、肺胞マクロファージのサーファクタント分解能が低下するためであると考えられる。一方、患者の約3分の1は、呼吸不全に陥るが、治療は、全身麻酔下の全肺洗浄法や反復区域洗浄が一般的で、患者の負担や苦痛が大きく、新治療法が望まれていた。近年、オーストラリアのSeymourらが始めたGM-CSF連日皮下注療法は、肺洗浄によることなく、重症患者の44%に呼吸機能の改善をもたらすことが報告されている⁶⁾。2001年以降、我々は重症患者3例にGM-CSF吸入療法を試み(250 μg /日、7日間吸入後7日間休薬を12クール)、呼吸機能が劇的に改善すること、また、肺胞洗浄液中の自己抗体が消失することを確認した⁷⁾。国内で、本治療を試みたいという医師、患者の要望が高まりつつあるが、GM-CSFは未承認の薬剤であり、一症例の治療に100万～200万円要することから、これまで普及するに至らなかった。この研究は基礎研究成果が実際に患者の治療に繋がったトラン

スレーショナルリサーチの典型であり、GM-CSF吸入療法の有効性が明らかになれば、本疾患の治療に革新をもたらすものであると考える。特発性肺胞蛋白症は、これまで治療として肺洗浄を繰り返す以外に有効な手だてがなかった。肺洗浄は患者に多大な苦痛を与えるばかりでなく、呼吸不全、心不全や肺感染症を合併した患者には危険な場合もある。また、治療に時間と労力を要する。GM-CSF吸入療法は毎日15～30分間の吸入を24週間行うだけで、効果が期待できる画期的なものである。また、在宅治療が可能である。GM-CSFは、クローン病、成人呼吸促迫症候群でも有効性が報告されており、本試験治療は、他の肺疾患への臨床応用を将来考える上で、重要な情報を提供するであろう。

研究方法

症例及び方法

北大第一内科、東北大学呼吸器腫瘍研究分野、国立国際医療センター呼吸器科、愛知医科大学アレルギー呼吸機内科、国立病院機構近畿胸部疾患センター、国立病院機構山陽病院内科、長崎大学熱帯病研究所内科を試験施設として選定した。7施設共同統一プロトコールを作成した。

症例は、本治療が治療研究であることを患者と家族に説明し、文書による承諾を得て、プロトコールを各施設の倫理委員会に申請し、承認を得て施行した。

GM-CSF製剤 Leukine を厚生省医薬安全局より薬監証明の発給を受けて輸入した。

吸入療法

製剤：Leukine (Berlex社、組換え酵母によるGM-CSF製剤)を用いた。

用量：1回125 μ gを1日1回投与

経路：吸入 (Pari LC Plus jet nebulizer)

試験方法の概要

a) 無治療観察期間：12週間、無治療で観察する。6週、12週において後述する観察項目について検討する。

b) 治療期間：プロトコールは3種類行った。

結果のところにそれぞれ記載した。

多施設試験方法：中央登録方式による6施設共同オープン試験を採用した。

主たる評価項目

無治療観察期間：自然寛解の有無で判定。

治療期間：治療前に対する治療6週、12週後の肺胞一動脈血酸素分圧較差の改善が10 mmHg以上のものを有効とし、未満を無効とした。

評価方法

定期的 (観察時期については後述) に臨床症状、胸部X線写真、胸部CT (HRCT) 検査、動脈血液ガス分析、呼吸機能検査、気管支肺胞洗浄検査、6分間歩行試験を行い、各パラメータについて無治療観察期間と治療期間の間で比較した。

倫理面への配慮

本試験の開始にあたり、試験担当医師は被験者本人に対し、内容を十分に説明し、本試験への参加について文書により被験者本人の自由意志による同意を取得した。

結果

★パイロットスタディー (平成12-13年) プロトコール1で (250mg/day \times 7 days + 休薬7日間) \times 12cycles, ジェットネブライザーで吸入) 3例治療した。結果は3例とも著効 (AaDO₂が20mmHg以上改善) をしめした。うち1例が再発再治療した。費用は、GM-CSFとジェットネブライザーを含めて1例あたり、約160万円であった。動脈血の酸素分圧 (PaO₂) はいずれも劇的に改善し、特に在宅酸素療法を行っていた症例1, 3では、同療法が治療後、不必要となった。呼吸機能では肺活量 (VC (L)) の改善が目立ち、症例3を除いて肺拡散能 (% Dlco) の改善は顕著でなかった。肺胞蛋白症の血清マーカーではCEA, KL-6が劇的に減少した。興味深いのは、気管支肺胞洗浄液所見で、治療前に存在した抗GM-CSF自己抗体のレベルがほぼ測定限界あるいはそれ以下に低下したことである。これに対し、血清中の自己抗体の動きは少なかった。

★多施設臨床試験前期 (平成14-15年) プロト

コール2で(125mg/day連日12週間, ジェットネブライザーで吸入)13例治療した。結果は3例著効(AaDO₂が20mmHg以上改善), 4例有効(AaDO₂が10mmHg以上20mmHg未満改善)6例無効であった。費用はGM-CSFとジェットネブライザーを含めて1例あたり, 約120万円であった。6週後の中間効果判定で, 評価基準の肺動脈血酸素分圧較差の減少が10mmHg未満で, 一日吸入量125mg→250mgへと増量した患者は, 7例であった。また, 無治療経過観察期間に自然寛解した症例はなかった。12週間の治療後, 治療前後の肺動脈血酸素分圧較差の減少が10mmHg以上あった症例は7例で, これらをresponderとし, 無効例をnonresponderとした。動脈血酸素分圧及び肺動脈血酸素分圧較差を見る限り, はっきりと治療反応群と無効群に分かれた。また, responderでは, 肺活量に有意な改善は見られなかったものの, 努力肺活量に有意な増加($P < 0.05$)が認められた。Responderではいづれも有意ではなかった。responderでは治療前後で末梢血好酸球数%の減少が認められた($P < 0.05$)。これは, 好酸球の実数についても同様であった。白血球数ではresponder, nonresponderともに有意な変動は見られなかった。KL-6, SP-A, D, CEAなど肺動脈蛋白症で上昇する血清マーカーはresponderで有意に減少した(いづれも $p < 0.05$)。これに対して, nonresponderでは差が認められなかった。responder, nonresponderともに治療前に比べて治療後のBALF中細胞数の増加が見られた($p < 0.05$)。これは, 主としてマクロファージの増加による。BALF中の抗GM-CSF自己抗体価はresponderでのみ, 有意に減少した。血清中の自己抗体価はこれに対して両群ともに変動がなかった。GM-CSF吸入によると思われる重篤な副作用は認められなかった。

★多施設臨床試験後期(平成16-17年)プロトコール3(250mg/day連日8日間+休薬6日間)×6cycles+(125mg/day連日4日間+休薬10日間)×6cycles, ジェットネブライザーで吸入)で実施症例数は8例であった。結果は, 4例

著効(AaDO₂が20mmHg以上改善), 1例有効(AaDO₂が10mmHg以上20mmHg未満改善)3例無効であった。費用は, GM-CSFとジェットネブライザーを含めて1例あたり, 約120万円であった。このうち, 在宅酸素療法を受けていた患者は2名であった。最終的な集計はこれからである。

考 察

パイロットスタディーで治療した3例では全例改善し, 動脈血酸素分圧の上昇が平均25mmHgと顕著であったのに対し, 15年の多施設共同プロトコールによる治療研究では, 有効率は50%に留まり, かつ有効例の動脈血酸素分圧の上昇も17mmHgと低かった。16年度にはこの点を改良し, 治療期間を24週とし, 薬用量は抑えた。その結果現在までに治療終了5例中3例で有効ないしは著効という成績を得ている。以上のことから, 治療期間の長さが重要な要素であることが示唆された。

文 献

- 1) Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J, Uchida K, Kanegasaki S, Yamada Y and Nakata K: Idiopathic Pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte macrophage colony stimulating factor. *J Exp Med* 190: 875-880, 1999.
- 2) Kitamura T, Uchida K, Tanaka N, Watanabe J, Kanegasaki S, Yamada Y and Nakata K: Serological diagnosis of idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 658-662, 2000.
- 3) Dirksen U, Hattenhorst U and Schneider P: Human pulmonary alveolar proteinosis associated with a defect in GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta chain expression. *J Clin Invest* 100: 2211-2217, 1997.
- 4) Dranoff G, Crawford AD, Sadelain M, Ream B, Rashid A, Bronson R and Mulligan R:

- Involvement of granulocyte - macrophage colony - stimulating factor in pulmonary home - ostasis. *Science* 264: 713 - 716, 1994.
- 5) Nishinakamura R, Nakayama N, Hirabayashi Y, Inoue T, Aud D, McNeil T, Azuma S, Yoshida S, Toyota Y, Arai K, Miyajima A and Murray R: Mice deficient for the IL - 3/GM - CSF/IL - 5 beta c receptor exhibit lung pathology and impaired immune response, while beta IL3 receptor - deficient mice are normal. *Immunity* 2: 211 - 222, 1995.
- 6) Seymour JF, Presneill JJ, Schoch OD, Downie GH, Moore PE, Doyle IR, Vincent JM, Nakata K, Kitamura T, Langton D, Pain MC and Dunn AR: Therapeutic efficacy of granulocyte macrophage colony - stimulating factor in patients with idiopathic acquired alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 524 - 531, 2001.
- 7) Tazawa R, Hamano E, Arai T, Ohta H, Ishimoto O, Uchida K, Watanabe M, Saito J, Takeshita M, Hirabayashi Y, Ishige I, Eishi Y, Hagiwara K, Ebina M, Inoue Y, Nakata K and Nukiwa T: Granulocyte - macrophage colony stimulating factor and lung immunity in pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 25: (Epub ahead of print), 2005.
-