

一般演題 1

Pendred 症候群/DFNB4 に対する低用量シロリムス療法

（第2報：長期観察の解析結果）

藤岡 正人（ふじおかまさと）<sup>1</sup>、山野邊 義晴（やまのべよしはる）<sup>2</sup>  
北里大学 医学部 / 慶應義塾大学病院 臨床研究推進センター<sup>1</sup>、北里大学病院  
臨床研究部 臨床研究支援室（現：広島大学病院 広島臨床研究開発支援セン  
ター 生物統計室）<sup>2</sup>

Pendred 症候群/DFNB4（ペンドレッド症候群）は、Vaughan Pendred 医師が 1896 年に Lancet 誌に最初に家系報告をした、めまい、難聴、甲状腺腫を主徴とする常染色体劣性遺伝疾患で、本邦約 4000 人の希少疾患である。我々は、患者末梢血由来 iPS 細胞を用いた基礎研究において疾患細胞の細胞ストレスに対する脆弱性を見出し、既存薬を用いた薬剤スクリーニングにてこの脆弱性を抑制する薬剤を探索し、本疾患の蝸牛細胞様細胞における細胞死抑制剤としてシロリムスを同定した<sup>1)</sup>。その後、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）RS 戦略相談を経ていくつかの非臨床データを追加し<sup>2)3)</sup>、2018 年より、Pendred 症候群に対するシロリムス少量療法の単施設二重盲検並行群間比較第 I/IIa 相医師主導治験<sup>4)</sup>（PENDLRA 試験：UMIN000033083）を行った。治験は大きな有害事象を経験することなく終了し、現在、有効性に関する検証試験（第 III 相医師主導治験）に向けた準備を進めている。

本研究発表では、2021 年の JASMIN 会で報告した速報値に続いて、これまで未発表の、長期観察の結果についても報告する。mTOR 経路の生理学的意義は多様性に富むが、今回の解析から得られた臨床データは、遺伝子改変マウスを用いた非臨床研究の結果が示唆する mTOR 阻害剤シロリムスの血管条組織マクロファージに対する組織学的効果にも矛盾しないものと考えられる。会場では、本療法の作用機序に関する作業仮説についての議論とともに、本疾患の真に clinically meaningful なエンドポイントと、推定される効果量の臨床的意義に加えて、希少疾患の治療法開発や治験の在り方についても広く議論できれば幸いである。

参考文献

- 1) Hosoya M. et. al., Cell Rep. 2017 2) Saeki T. & Hosoya M. et.al., Regen. Ther. 2018 3) Saegusa C. et. al., Laryng. Invest. Otol. 2020 4) Fujioka M. et. al., Medicine. 2020 5) 藤岡 正人 他, 日本耳科学会会報（総説）, 2021

第4回 JASMIN 研究会抄録集（一般・特別演題）

一般演題 2

## RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患（RALD）に対するシロリムス療法の有効性

浅野 孝基（あさのたかき）<sup>1,2</sup>、土居 岳彦（どいたけひこ）<sup>1</sup>、岡田 賢（おかださとし）<sup>1</sup>

広島大学大学院医系科学研究科 小児科学<sup>1</sup>/広島大学原爆放射線医科学研究所放射線ゲノム疾患研究分野<sup>2</sup>

自己免疫性リンパ球増殖症候群（ALPS）は、FAS 経路異常によりアポトーシスが障害された異常リンパ球が増殖することによるリンパ節腫脹，脾腫，自己免疫性疾患をきたす。RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患（RALD）は ALPS 様症状を呈する一方で、FAS 経路異常による典型的な ALPS と一部異なる臨床症状を呈するため ALPS 類縁疾患に分類される。また、肝脾腫や自己免疫性血球減少に加え軽微な単球増加を呈するといった若年性骨髄単球性白血病（JMML）に類似した症状を呈することもあり、JMML や ALPS との鑑別が問題となる。RALD の遺伝的背景としては、*NRAS*、*KRAS* の体細胞変異が知られている。ステロイドによる免疫抑制療法が第一選択とされ、不応例などでは造血細胞移植も選択肢となる。多くは緩徐な病勢進行を取ることが推察されているが、発症 15 年目に急激な病勢進行で死亡に至った例の報告もあり、適切な治療法や管理法については議論の余地がある。

今回我々は、ステロイド不応の RALD に対してシロリムス療法が臨床症状改善に有効であった男児例を経験した。症例は 2 歳男児，生後 8 ヶ月時に顔色不良で前医受診し自己免疫性溶血性貧血と診断された。経過中，血小板減少やネフローゼ症候群を合併した。第一選択としてのステロイド療法では血球回復を認めず輸血依存の状態が続きステロイド不応と判断された。遺伝子検査から，*KRAS* (p. Gly13Asp) モザイク変異が同定され RALD の診断に至った。ステロイド不応性の RALD に対し，自己免疫症状の抑制を狙いシロリムス療法を導入した。シロリムス療法には良好な反応性を示し，開始後から臨床症状改善を認め輸血依存の状態から脱却した。現在，シロリムス継続にて臨床症状の安定を維持している。RALD に対するシロリムス療法の有効性や展望について考察する。

一般演題 3

## 肺サルコイドーシスの肺胞マクロファージにおける mTOR 経路の活性化と Rapamycin の作用の検討

春日 啓介（かすがけいすけ）<sup>1</sup>、白土 健（しらとけん）<sup>2</sup>、石井 晴之（いしいはるゆき）<sup>1</sup>

杏林大学医学部 呼吸器内科学教室<sup>1</sup>、杏林大学医学部 衛生学公衆衛生学教室<sup>2</sup>

背景と目的：サルコイドーシスは原因不明の全身性疾患であり，類上皮細胞肉芽腫の形成を特徴とする．臓器別の罹患部位は，肺，リンパ節，眼，皮膚，心臓など多岐にわたる．治療は必要に応じて全身ステロイド薬の投与にて行われており，反応は良好とされるが，中止後に再燃する例も少なくなく，新しい治療法が必要とされている．

肺サルコイドーシスの診断目的で実施された気管支肺胞洗液(BALF)中の肺胞マクロファージは，他疾患と比べて大型で泡沫状マクロファージを呈すなど形態学的変化がある．

本研究では，この形態学的変化における mTOR シグナルの役割を明らかにすることを目標として，まず肺サルコイドーシスの肺胞マクロファージの mTOR シグナルの活性を検討した．

方法：肺サルコイドーシス，慢性好酸球性肺炎，膠原病肺の BALF 中の肺胞マクロファージを単離し，リン酸化型およびトータルのリボソームタンパク質 S6(S6)のレベルを Western blot(WB)法で分析した．さらに，肺サルコイドーシスの肺胞マクロファージを 100 nM Rapamycin 存在下で培養し，リン酸化型 S6 のレベルを WB 法および Immunocytochemistry(ICC)法で解析した．

結果：肺胞マクロファージのリン酸化型およびトータルの S6 のレベルは，慢性好酸球性肺炎と比較して肺サルコイドーシス，膠原病肺の方が著明に高かった．肺サルコイドーシスの肺胞マクロファージの S6 のリン酸化型/トータル比は，Rapamycin 処理によって 1.0 から 0.77 に低下した．ICC 法でも，リン酸化型 S6/CD206(肺胞マクロファージ表面マーカー)比の低下(0.55 から 0.16)が認められた．

考察と展望：肺サルコイドーシスと膠原病肺の肺胞マクロファージでは，mTOR シグナルの活性が高いことが示唆された．

また肺サルコイドーシスの肺胞マクロファージを Rapamycin で処理すると，リン酸化型 S6 のレベルが低下することが確認された．

今後は，肺胞マクロファージの mTOR シグナルの活性がどのように病態に関与しているか，詳細に検証していく．

一般演題 4

## シロリムス投与による血管条マクロファージ活性化抑制作用

### の検証

伊藤 卓（いとうたく）<sup>1</sup>、藤岡 正人（ふじおかまさと）<sup>2</sup>

東京医科歯科大学 医学部 耳鼻咽喉科<sup>1</sup>、北里大学 医学部 / 慶應義塾大学病院 臨床研究推進センター<sup>2</sup>

過去に我々は Pendred 症候群患者の iPS 細胞を用いて研究から治療薬の候補としてシロリムスを特定した。また、Pendred 症候群の動物モデルを用いた研究から、本症候群の聴覚障害の主な原因は内耳の内リンパ電位の低下によるものであることを明らかにした。さらに、内リンパ電位の低下は血管条におけるマクロファージの増殖および活性化と正の相関を示しており、マクロファージ活性化の抑制が聴覚障害の予防や治療につながりうる可能性を報告してきた。

本研究では、最初にシロリムスの動物モデルにおける効果を検討するため *Slc26a4* KO マウスに腹腔内投与し、血管条の形態学的検討を行った。血管条内マクロファージの形態を CD68 および Iba1 抗体を用いて組織学的に定量したところ、CD68 染色領域および色素沈着面積を両者とも投与群では対照群に対して有意に減少していた。次に、血管条内の色素沈着とマクロファージ形態変化の因果関係を調べるために、メラニン合成経路の酵素欠損を有するアルビノマウスに *Slc26a4* KO マウスを交配して観察したところ、同領域における CD68 陽性細胞はほとんど認められなかった。このことから、*Slc26a4* KO 血管条内のマクロファージの増加および活性化は色素沈着に続発して生じる現象であり、色素沈着の抑制によりマクロファージの増殖や活性化が軽減されることが示唆された。

過去の報告から、シロリムスは mTOR 経路を介して、マクロファージの活性化、M1/M2 のスイッチングに直接関与することが知られている。今回の検討の結果から、シロリムスの Pendred 症候群における効果は、マクロファージにおける直接的な免疫抑制作用のみならず、その上流での血管条局所における色素沈着も抑制している可能性が示唆された。

本発表では、血管条における色素沈着の原因や、本症候群の病態におけるシロリムスの薬理作用について聴衆との議論で理解を深め、治療薬としての可能性を検討したい。

一般演題 5

カサバツハ・メリット現象に対するシロリムス療法

林 大地（はやしだいち）<sup>1</sup>、小関道夫（おぜきみちお）<sup>1</sup>、遠渡沙緒理（えんどさおり）<sup>1</sup>、文野誠久（ふみのしげひさ）<sup>2</sup>、古川泰三（ふるかわたいぞう）<sup>2</sup>、武本淳吉（たけもとじゅんきち）<sup>3</sup>、川久保尚徳（かわくぼなおのり）<sup>3</sup>、前川貴伸（まえかわたかのぶ）<sup>4</sup>、藤野明浩（ふじのあきひろ）<sup>5, 6</sup>、加藤源俊（かとうもととし）<sup>6</sup>、黒田達夫（くろだたつお）<sup>6</sup>、田尻達郎（たじりたつろう）<sup>3</sup>、大西秀典（おおにしひでのり）<sup>1</sup>

岐阜大学大学院医学系研究科 小児科学<sup>1</sup>

京都府立医科大学医学部 小児外科<sup>2</sup>

九州大学小児外科<sup>3</sup>

国立成育医療研究センター 総合診療部<sup>4</sup>

国立成育医療研究センター小児外科<sup>5</sup>

慶應義塾大学医学部 小児外科<sup>6</sup>

【背景】カサバツハ・メリット現象（Kasabach-Merritt phenomenon、KMP）はカポジ肉腫様血管内皮細胞腫、房状血管腫などの血管性腫瘍に合併する重篤な血液凝固異常である。近年 KMP に対するシロリムスなどの mTOR 阻害剤の有効性が注目されているが、重篤な有害事象も報告されており、慎重な投与が必要である。

【方法】「難治性血管・リンパ管疾患に対するシロリムスの安全性及び有効性を検討する多施設共同非盲検非対照試験（jRCTs031180290）」の参加同意の得られた症例に対し、シロリムスを月齢、体格等より初期投与量を設計した。定期的にトラフ濃度を測定し、5-15ng/ml となるようシミュレーション解析を参考に投与量を変更した。投与後の KMP の凝固異常の改善までの期間、及び病変の縮小、有害事象を経時的に評価した。

【結果】12 例（治療開始時平均 8.5 か月、1~19 ヶ月）は肩や胸部、頸部、四肢に腫瘍性病変を認めた。7 例（58.3%）はプレドニン、ビンクリスチンなどの初期治療に反応不良な KMP を伴っており、5 例は無治療だった。投与後は全例とも凝固異常と血小板数の改善を認め、フィブリノーゲンは中央値 11.5 日（最小値 3-最大値 67）、D-dimer は 52 日（31-163）、血小板は 28 日（2-163）で正常域まで改善した。前治療有り群と無し群で比較したが有意な差は認めなかったが、プレドニン、ビンクリスチンは全例で中止し、シロリムス単剤で治療可能であった。腫瘍病変も明らかに縮小したが、消失しないため、8 例は継続投与している。4 例は中止したが、2 例は腫瘍が軽度増大したため、少量で再開した。有害事象は高脂血症や蜂窩織炎、敗血症などの感染症を全例に認めたが、中止に至った症例は無かった。

【まとめ】シロリムスはKMPに対する新規治療薬として期待されるが、既存の治療法との有効性の比較はまだ検討されていない。また有害事象は既存の治療法よりも少ない可能性が高いが、長期投与の安全性なども含め、さらなる検討が必要である。

特別講演 1

**iPS 細胞技術を用いた難病の病態解析・創薬・臨床試験**

岡野 栄之

慶應義塾大学医学部生理学教室

ヒト iPS 細胞技術は疾患モデル化や新薬開発に新たな道を開き、特にアクセスが難しい神経・精神疾患において有効とされている。筋萎縮性側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病、パーキンソン病、ペンドレッド症候群など、40 種類を超える疾患から、我々は患者特異的な iPS 細胞を生成している。

ALS は、運動ニューロンの脱落を特徴とする疾患で、家族性と孤発性の 2 つに分類される。FUS および TDP-43 遺伝子の変異を持つ家族性 ALS 患者の iPS 細胞を用いて、FDA 承認済み薬剤ライブラリーから ALS の表現型を抑制する薬剤のスクリーニングを行った。その結果、D2R アゴニストであるロピニロール（ROPI）が抗 ALS 薬として有効であることが示された。この ROPI の効果は、D2R 依存のおよび非依存なメカニズムによるものであることが明らかになった。さらに、*in vitro* の研究で、ROPI はリルゾールやエダラボンといった現行の抗 ALS 薬よりも優れた効果を示した。

孤発性 ALS 患者の 70% が ROPI に反応し、これを受けて、ALS を対象としたロピニロール塩酸塩の第 I/IIa 相試験（ROPALS 試験）が開始された。この試験では、ROPI の安全性、忍容性、治療効果を評価している。試験結果、ROPI は ALS 患者に安全かつ効果的であり、ALS の進行を有意に抑制し、生命予後も改善させたことが確認された。これらの結果は、iPS 細胞を活用した創薬が有望であることを示している。ROPALS 試験を通じて、リバース・トランスクリプションの課題も浮き彫りとなった。

さらに、ペンドレッド症候群という進行性難聴の治療候補薬として、シロリムスを用いた医師主導治験についても触れたい（藤岡正人 博士との共同研究）。この治験は慶應義塾大学病院で行われ、我々の iPS 細胞創薬の研究が背景にある。



特別講演 2

封入体筋炎の病態と治療展望

国際医療福祉大学 成田病院

山下 賢

封入体筋炎 (inclusion body myositis: IBM) は、50 歳以上の高齢男性に好発する特発性炎症性筋疾患であり、手指屈筋群（特に深指屈筋）や手関節屈筋群、大腿四頭筋の筋力低下と筋萎縮が左右非対称に進行する。病状進行に伴って約半数の患者は嚥下障害を呈し、最終的に誤嚥性肺炎や呼吸不全によって死に至る。本疾患に対して確立した治療法はなく、副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬は筋力回復に無効であるばかりか、病理学的に異常蛋白凝集を増悪させたり、病状進行を加速させたりする可能性も指摘されている。免疫グロブリン静注療法は、嚥下障害に対して短期的な有効性を示す報告はあるが、長期的な改善は期待できない。

IBM の病態は未だ十分には解明されていないが、病理学的特徴に基づいて、炎症性機序と変性機序の両者が関与すると推測される。炎症性機序に関しては、骨格筋内に高度に分化した CD8+T リンパ球が浸潤しており、とくに killer cell lectin-like receptor G1 陽性の最終分化型エフェクターメモリーT 細胞が重要な役割を果たし、インターフェロンの分泌を介して強い細胞毒性と治療抵抗性を示す。約半数の患者血漿中に細胞質 5'-ヌクレオチダーゼ 1A (cN1A) に対する自己抗体が見出されているが、その病原性は不明である。また変性機序に関しては患者骨格筋に種々の異常蛋白が凝集し、選択的オートファジーの障害や核機能および RNA 代謝異常の関与が推測される。

我々は cN1A に対する受動および能動免疫により、抗 cN1A 抗体の病原性を明らかにした。また病態解明のモデルとして、野生型ヒト TDP-43 を骨格筋特異的に発現させたマウスや遺伝性封入体ミオパチーの原因である変異型 MATR3 を発現するマウスを作成し、病態解析を行い、シロリムス投与が異常蛋白凝集を減少させる可能性を見出した。シロリムスをはじめとして、現在進行中の IBM に関する臨床試験についても紹介したい。