

肺非結核性抗酸菌症の病態と気管支肺胞洗浄液中および血中コレクチン濃度、抗菌ペプチド濃度の関連

実施計画書

1. 研究の背景

肺非結核性抗酸菌症、とりわけ肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症は世界的に増加傾向にあることが報告されている。肺 MAC 症は難治性で長期の経過を辿ることが多く、しばしば気管支拡張症や空洞病変の合併を来す。肺 MAC 症の予後不良因子として低体重、貧血の存在、胸部画像所見で空洞病変を認めることなどが報告されている。¹一方、肺 MAC 症の経過において予後予測因子として CT スコアリングや QOL 質問票などが検討されているが、²確立された指標はいまだ存在しない。

肺コレクチンであるサーファクタントタンパク質 A(SP-A)および D(SP-D)は 2 型肺胞上皮細胞で合成され、肺胞腔に分泌される脂質タンパク質で、肺胞腔の虚脱を防ぐ表面活性剤として作用するのみならず、病原微生物に対するパターン認識分子として生体防御を担う自然免疫を構成する因子の一つである。肺コレクチンはマクロファージの貪食促進作用により *M. avium* の増殖を抑制することが知られている。³⁻⁶ また抗菌ペプチドである Cathelicidin は気道上皮細胞や好中球から分泌され、結核菌を含む抗酸菌や一般細菌に対して自然免疫の一翼を担っていることが明らかにされている。^{7,8} しかし、肺 MAC 症患者において、感染時の肺胞内の炎症局所におけるこれらのタンパク質の動態に関する報告はない。呼吸器領域において肺生検を行い肺胞局所の病態を検索するのは侵襲性が高く必ずしも容易ではない。このため肺胞内の炎症を反映するものとして気管支肺胞洗浄液が代用されている。またこれらのタンパク質は血液検査でも測定可能であり、肺胞局所（気管支肺胞洗浄液）と全身（血液）での相関及び動態評価が可能である。

2. 研究の目的と意義

肺非結核性抗酸菌症が疑われ気管支鏡検査を行った患者から気管支肺胞洗浄液を回収し、気管支肺胞洗浄液の中に存在するコレクチンや抗菌ペプチドの濃度を調べ、臨床所見、検査所見、画像所見、治療反応性との関連を検討する。また血液中のコレクチン、抗菌ペプチド濃度と気管支肺胞洗浄液中のこれらの濃度の相関を調べる。肺非結核性抗酸菌症患者と対照者で比較し、さらに肺非結核性抗酸菌症患者の中で、病態・重症度ごとに比較を行う。気管支肺胞洗浄液は診断時、血液は診断時と 6 ヶ月毎に採取し、測定を行う。得られた結果によっては病態を把握するためのバイオマーカーになりうると考えられる。

3. 研究のデザイン

前向きコホート研究、症例対照研究

4. 対象となる被験者

1) 患者選択基準

国立病院機構京都医療センター呼吸器内科に外来通院または入院加療をしている肺非結核性抗酸菌症疑いの患者のうち、気管支鏡検査で診断を要する者。

対照者は気管支鏡検査を行ったが、肺非結核性抗酸菌症の診断に至らなかった者（中葉症候群、気管支拡張症）。

2) 診断基準

（肺非結核性抗酸菌症の診断基準）

2008年に発表された日本結核病学会・日本呼吸器学会基準（表1）のうち、気管支肺胞洗浄液で新規に肺非結核性抗酸菌症と診断された患者

表1 肺非結核性抗酸菌症の診断基準（日本結核病学会・日本呼吸器学会基準）

A. 臨床的基準（以下の2項目を満たす）

1. 胸部画像所見（HRCTを含む）で、結節性陰影、小結節性陰影や分枝状陰影の散布、均等性陰影、空洞性陰影、気管支または細気管支拡張所見のいずれか（複数可）を示す。

但し、先行肺疾患による陰影が既にある場合は、この限りではない。

2. 他の疾患を除外できる。

B. 細菌学的基準（菌種の区別なく、以下のいずれか1項目を満たす）

1. 2回以上の異なった喀痰検体での培養陽性。

2. 1回以上の気管支洗浄液での培養陽性。

3. 経気管支肺生検または肺生検組織の場合は、抗酸菌症に合致する組織学的所見と同時に組織、または気管支洗浄液、または喀痰での1回以上の培養陽性。

4. 稀な菌種や環境から高頻度に分離される菌種の場合は、検体種類を問わず2回以上の培養陽性と菌種同定検査を原則とし、専門家の見解を必要とする。

以上のA, Bを満たす。

3) 除外基準

ヒト免疫不全ウイルスに感染している者、胸部CT画像が欠損している者、経過観察期間が1年未満の者、播種性のMAC症を有する者を除外する。

4) サンプルサイズとその算定根拠

目標症例数 連続する気管支鏡検査 50 件を対象とする。

肺非結核性抗酸菌症患者 25 例

非肺非結核性抗酸菌症患者 25 例

（連続する気管支鏡検査実施患者を対象とする。上記の比率は過去の当院での気管支鏡検査の結果から割り出された推定比率であり必ずしも 1:1 となるわけではない。）

※ 当院で行われる肺非結核性抗酸菌症の診断目的のための気管支鏡検査の件数が年間 10～15 症

例程度であり、そのうち約 50%程度が上記の診断基準により肺 MAC 症と診断される。4 年間の登録期間で見込まれる研修参加者が 50 名程度と考えられそれぞれ半数ずつが患者群と対照群になると見込まれる。

5. 適格基準

1) 選択基準

国立病院機構京都医療センター呼吸器内科に外来通院または入院加療をしている肺非結核性抗酸菌症疑いの患者のうち、気管支鏡検査で診断を要する者。

2) 除外基準

ヒト免疫不全ウイルスに感染している者、胸部CT画像が欠損している者、経過観察期間が1年未満の者、播種性のMAC症を有する者を除外する。

6. 対象者登録の手順

国立病院機構京都医療センター呼吸器内科に外来通院または入院加療をしている非結核性抗酸菌症疑いの患者のうち、診断目的で気管支鏡検査をおこなった者に対して検査時に本研究の説明を行い、文章による同意を得る。

検体の保存には通常の臨床行為の中で得られた検体のうち、検査提出後の残検体を用いる。

7. 観察・検査項目とスケジュール

1) 測定項目、測定方法、測定者または測定機関

気管支肺胞洗浄液中及び血中の SP-A、SP-D、LL37/cathelicidine を測定する。気管支肺胞洗浄液は診断時、血液検査は 6 か月毎に施行する。各項目は ELISA を用いて測定を行う。必要に応じて外部受託検査機関を利用して測定を行う。

また SP-A, SP-D, LL37/Cathelicidine の測定は一般試薬を用いたコントロールを準備し、臨床検体とともに保存し検体の経年変化の補正を行う予定である。

2) 測定スケジュール

気管支肺胞洗浄液は初回診断時のみ。

血液検査は通常の定期経過観察において 6 か月ごとに採取する。

3) 研究期間

倫理委員会承認より 4 年間

8. 観察または測定によって新たに加わる侵襲と予測される有害事象および対応

通常の医療行為として行われる気管支鏡検査から得られた検体の一部を利用するため、追加で加わ

る侵襲はない。気管支鏡検査時に生じた有害事象については通常の医療行為にともなう有害事象として対応する。

9. 研究機関

(主任研究者)

氏名 藤田 浩平(計画立案、データ収集、統計解析、論文作成)

所属 国立病院機構京都医療センター・呼吸器内科

職位 医師

連絡先住所 〒612-8555 京都府京都市伏見区深草向畑町 1-1

電話番号 075-641-9161

10. 研究実施計画書の変更、及び改訂

承認された研究計画の実施に際して内容の変更をしようとするときは、あらかじめ変更申請書を委員会に提出し、審査を受ける。

11. 遵守すべき倫理指針

(遵守事項)

本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」(平成 27 年 4 月 1 日改正)を遵守して実施する。

(倫理審査委員会)

本研究の実施に先立ち、実施医療機関の倫理審査委員会またはこれに準じる委員会において本研究計画書の内容について審査を受け、承認を得た後に実施する。

(利益相反)

本研究の実施に際して開示すべき利益相反関係にある企業、団体はない。

12. 説明と同意

本研究は人を対象とする臨床研究であり、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、研究対象となる者に対して個別に書面で同意を得る。また研究対象となる者が研究対象者となる事を拒否できるようにする。拒否する場合の手続きは、口頭、電話またはファックスにて行い、別添 1 の文章には実施責任者の連絡先について記載する

13. 個人情報の保護

データは患者番号を新たに付し、患者名や患者カルテ番号など個人が特定できるものは記載しない。個人情報および個人データの取扱者の範囲は主任研究者、分担研究者とする。

14. 文献

1. Hayashi M, Takayanagi N, Kanauchi T, Miyahara Y, Yanagisawa T, Sugita Y. Prognostic factors of 634 HIV-negative patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Mar 1;185(5):575-83.
2. Maekawa K, Ito Y, Oga T, Hirai T, Kubo T, Fujita K, Imai S, Niimi A, Chin K, Ichiyama S, Togashi K, Mishima M. High-resolution computed tomography and health-related quality of life in *Mycobacterium avium* complex disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Jun;17(6):829-35.
3. Lopez JP, Clark E, Shepherd VL. Surfactant protein A enhances *Mycobacterium avium* ingestion but not killing by rat macrophages. *J Leukoc Biol*. 2003 Oct;74(4):523-30.
4. Kudo K, Sano H, Takahashi H, Kuronuma K, Yokota S, Fujii N, Shimada K, Yano I, Kumazawa Y, Voelker DR, Abe S, Kuroki Y. Pulmonary collectins enhance phagocytosis of *Mycobacterium avium* through increased activity of mannose receptor. *J Immunol*. 2004 Jun 15;172(12):7592-602.
5. Carlson TK, Torrelles JB, Smith K, Horlacher T, Castelli R, Seeberger PH, Crouch EC, Schlesinger LS. Critical role of amino acid position 343 of surfactant protein-D in the selective binding of glycolipids from *Mycobacterium tuberculosis*. *Glycobiology*. 2009 Dec;19(12):1473-84.
6. Ariki S, Kojima T, Gasa S, Saito A, Nishitani C, Takahashi M, Shimizu T, Kurimura Y, Sawada N, Fujii N, Kuroki Y. Pulmonary collectins play distinct roles in host defense against *Mycobacterium avium*. *J Immunol*. 2011 Sep 1;187(5):2586-94.
7. Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL. vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *J Immunol*. 2007 Aug 15;179(4):2060-3.
8. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT, Schaubert J, Wu K, Meinken C, Kamen DL, Wagner M, Bals R, Steinmeyer A, Zügel U, Gallo RL, Eisenberg D, Hewison M, Hollis BW, Adams JS, Bloom BR, Modlin RL. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*. 2006 Mar 24;311(5768):1770-3.

患者さんへの説明文章（別添 1）

「国立病院機構京都医療センターで肺非結核性抗酸菌症が疑われ気管支鏡検査を受ける患者さんへ」

当院呼吸器内科では、以下の臨床研究を実施しております。この研究は通常の診療行為で得られる検体（血液や気管支肺胞洗浄液）の一部を研究用に転用し行われます。このような研究は、文部科学省・厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」の規定により、対象となる患者さんお一人ずつから直接同意を得る必要があります。研究内容の情報を公開することが必要とされています。この研究に関する問い合わせなどがありましたら、以下の「問い合わせ先」へご連絡ください。

「研究課題名」：**肺非結核性抗酸菌症の病態と気管支肺胞洗浄液中および血中コレクチン濃度、抗菌ペプチド濃度の関連**

「主たる研究機関」：国立病院機構京都医療センター・呼吸器内科

「研究責任者」：藤田浩平（国立病院機構京都医療センター・呼吸器内科）

「研究の目的と方法」：

近年、肺非結核性抗酸菌(nontuberculous mycobacteria; NTM)症は世界的に増加傾向にあることが知られています。肺MAC症は長期の経過をたどり、しばしば治療抵抗性で標準治療を行っていても病気の進行がみられることがあります。このように厄介な疾患の肺NTM症ですが、残念ながらまだ解明されていない病態が多く、進行度や予後の予測となる因子の解明が不十分です。

我々は肺NTM症の進行度や予後の予測となる因子を解明すべく、患者様から得られた検体（気管支肺胞洗浄液、血液）の一部を用いてそこに分泌されている、タンパク質、脂質などの解析を行いたいと考えております。これらの解析した結果を患者様の背景・血液検査・喀痰検査・画像所見・肺生理検査・治療内容などと比較しその関連を調べたいと考えております。

この研究で用いる検体は臨床で採取する検体の一部を用いるため本研究のために新たな侵襲的検査は行いません。また得られた個人情報呼吸器内科に所属の医師が行い、個人情報が施設外に持ち出されることはありません。各調査表には患者名は記載せず、番号のみで管理されますので、個人情報は厳密に保護されます。本研究はすでに当院における倫理委員会で承認されておりますが、この研究の対象となります患者様につきましては、ご異存がなければ調査に加えさせていただきたいと思っております。なお、研究結果は、学会や出版物として公表することがあります。ご理解とご協力のほど、どうぞよろしくお願いいたします。

同意は自由意思によるものであること

この研究に参加するかどうかはあなたの自由です。また、この研究への参加に同意した場合でも、あなたが希望する時にいつでも自由に同意を取り消すことができます。

本研究に参加しないこと、参加を取りやめることにより、被験者が不当な扱いを受けないこと

あなたが参加を拒否しても、途中で取り消されても、引き続きあなたに最も適していると考えられる

方法で治療を行います。治療上不当な扱いを受けることはありません。

プライバシーの保護

この調査で得られた結果はきちんと記録し、解析されます。また学会や医学雑誌などで発表されることもあります。あなたの氏名や個人的な情報は収集時に匿名化されます。情報が外部にもれることはありません。

各種費用、謝礼・報酬について

本研究では特殊な診断や治療を行うことはありません。本研究にご参加いただいても謝礼、報酬はありません。

問合せなどの連絡先

本研究に参加していただく場合に心配事や、その内容についての説明などについて聞きたいことがありましたら、いつでも遠慮なく下記の担当者にお尋ねください。

「問い合わせ先」

〒612-8555 京都府京都市伏見区深草向畑町1-1

国立病院機構京都医療センター・呼吸器内科 藤田浩平

Email:kohfujit@kyotolan.hosp.go.jp

電話 075-641-9161 FAX 075-643-4325