

## 論文の内容の要旨

論文題目 Erdheim-Chester 病に関する疫学調査（多施設共同後方視的調査研究）

氏名 小倉瑞生

### 序文

エルドハイム・チェスター病(Erdheim-Chester disease ; 以下 ECD)は広範な全身の病変と典型的な画像所見を特徴とする非ランゲルハンス細胞性組織球症の一型である。比較的稀な疾患のため 2014 年の時点で世界でも 500 例程度が報告されているのみである。

浸潤臓器は極めて多岐に渡り、代表的な症状としては骨痛、尿崩症、眼球突出、黄色板腫、中枢神経症状などが挙げられる。患者は症状に合わせて血液内科、整形外科、神経内科、眼科、内分泌内科など様々な診療科を受診し、個々の診療科が独自に治療に当たることが多いことや、その稀少さや診断の困難さもあって発症から診断までに数ヶ月から数年を要することもまれではない。原因は長らく不明であったが、近年になり ECD 患者に *BRAF*、*NRAS*、*PIK3CA* などの癌遺伝子の変異が認められるとの報告がなされるようになり、ECD はこれらが原因の腫瘍性疾患と見る傾向が強くなってきている。しかし、これらの変異がもたらす発症機序に関しては依然として不明のままである。治療に関しても長い間エビデンスのある薬剤が存在せず、類似疾患であるランゲルハンス細胞組織球症(Langerhans cell histiocytosis ; 以下 LCH)に準じた治療が行われていたが、多くの場合で一時的に症状を抑えるのみであった。ここ 10 年ほどでインターフェロンアルファ(IFN $\alpha$ )の有効性を示す報告がなされるようになり、第一選択として提唱されている。それ以外にも *BRAF* 阻害剤であるベムラフェニブ(Vemurafenib)の有効性を示す報告がなされ、今後の臨床応用が期待されている。

本邦の ECD 診療については不明な点が多く残されているが、これまでにまとまった疫学的研究は行われていない。そこで、本研究では国内で初めて診療科横断的に ECD 症例を集積し、疫学的なデータをまとめ、本邦における ECD 診療の実態を把握することを目的とした。本論文では、調査により得られた情報に過去の論文のレビューを加えて検討した。また、東京大学医学部附属病院に検体が保存されており、かつ同意が得られた 4 例について遺伝子変異の解析を行った。

### 研究の方法

#### 疫学研究について

本研究は多施設共同後方視的調査研究である。研究は東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の審査と承認(承認番号 10502)を得た上で人権擁護上の配慮をもって行った。

まず、日本全国の主要な施設の血液内科、皮膚科、呼吸器内科、整形外科等 ECD の診療に携わる頻度が比較的高い部局を中心として診療科横断的に幅広く ECD 診療経験の有無を問う一次調査を行った。また、各施設の病理部に対しても ECD 診断経験の有無を問う予備調査を行った。これらにより日本国内における症例の概数を予測した。

さらに、一次調査、予備調査において ECD 症例の診療・診断の経験があるとの回答が得られた施設・部局、さらに国内で ECD に関する症例報告を行っている施設に対してより詳細な臨床情報を得るために二次調査を行った。本調査で収集したデータは患者の年齢、性別などの基本的情報や、症状、所見、治療内容とその反応性などの診療記録である。なお、二次調査の際に将来計画される遺伝子研究のための検体提供への協力の有無も確認した。

#### 遺伝子研究について

東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の審査と承認(承認番号 G10056)を得た上で、人権擁護上の配慮をもって行った。患者検体については、対象となる ECD 患者もしくは遺族より書面にてインフォームドコンセントを得た上で使用した。

まず ECD 検体 4 例のホルマリン固定パラフィン包埋検体より DNA 抽出を行った。

BRAF V600E 変異及び NRAS Q61R 変異について、アレル特異的ポリメラーゼ連鎖反応により変異を検出するためのプライマーを設計した。BRAF V600E 変異についてはヒト大腸癌細胞株 RKO より抽出した DNA を、NRAS Q61R 変異についてはヒト髄芽腫細胞株 ONS-76 より抽出した DNA を、それぞれポジティブコントロールとした。これらポジティブコントロール DNA を、健常人末梢血より抽出したネガティブコントロール DNA により希釈し、どの程度までの変異を検出できるか、検出感度の検討を行った。

患者検体より抽出した DNA を鋳型として、2 ヶ所の遺伝子変異に対してアレル特異的ポリメラーゼ連鎖反応を行った。

## 結果

### 疫学調査

一次調査 2835 部局、予備調査 1015 部局、合計 3850 部局に対して調査を行い、のうちそれぞれ 1568 部局、437 部局、合計 2005 部局(52%)より回答を得た。ECD 症例の診療経験があると回答したのは 33 部局(1.6%)だった。国内で過去に報告された ECD 症例と合わせて計 71 例の ECD 及び ECD 疑い症例を同定することができた。

これらに対して症例毎の詳細な臨床情報について問う二次調査を行った結果、29 症例の詳細な情報が得られた。これらの症例と、既報から情報が得られた 13 症例を加えた全 42 症例を対象に解析を行った。

疫学的な調査結果としては、男女比が 1.2 : 1、発症時の年齢中央値は 40 代であった。5 年生存率は二次調査症例で 75%、全症例では 68%であった。また、*BRAF* 変異は 2 例に、*LCH* との合併例は 2 例に見られた。骨外病変は全体の 8 割以上に見られた。治療に関しては、副腎皮質ステロイドが最も多く使用されており、全体の約半数に施行されていた。*IFN*  $\alpha$  による治療は全体の 2 割程度に留まっていた。臓器病変に対して臓器症状が出現する率は内分泌病変は 8 割程度、それ以外の骨病変、中枢神経病変、循環器病変、呼吸器病変、腎・後腹膜病変は 5~7 割程度であった。

*ECD* の血液検査所見としては、骨病変及び骨症状の有無ではアルカリフォスファターゼ (*ALP*) に有意な差は認めなかった。また、治療により症状や画像所見の改善を示した症例において、*ALP*、*C* 反応性蛋白(*CRP*)を治療前後で比較したところ、*CRP* は治療後に有意に低下していた。

*ECD* 患者の生命予後に関して単変量解析を行ったところ、中枢神経病変を有する症例 ( $p=0.0048$ )、循環器病変を有する症例 ( $p=0.0005$ )、消化器病変を有する症例 ( $p=0.0215$ )、初発年齢が 50 歳以上の症例 ( $p<0.0001$ )、骨病変を有さない症例 ( $p=0.0004$ ) において有意に生命予後が悪かった。

これらの因子に対して *Cox* 比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行い、全生存率に対して影響を及ぼす因子を検討したところ「初発年齢が 50 歳以上であること」「循環器病変を有すること」の二つの因子が抽出され、いずれも全生存率に対して有意な影響を持つことが判明した。このうち一つ以上を満たす場合を予後不良群、どちらも満たさない場合を予後良好群とし、両群で生命予後の差を比較したところ、二次調査症例及び全症例について、予後不良群は予後良好群に比べて有意に生命予後が悪かった(それぞれ  $p=0.0102$ ,  $0.0010$ )。

また、骨病変が存在する方が早期に症状が出現して発症から受診や診断までの時間が短縮されるのではないかと考え解析を行ったが、骨病変の有無による発症から受診までの期間に有意な差はなかった。性別、*LCH* 合併の有無、*IFN*  $\alpha$ ・副腎皮質ステロイド・その他の抗癌剤・放射線などによる治療の有無では予後に有意な差は見られなかった。

#### 遺伝子研究

検体が入手可能であり、かつ患者本人もしくは遺族の同意が得られた 4 患者 6 検体に対して *BRAF* 変異、*NRAS* 変異の解析を行ったところ、*BRAF* は 1 例で陽性、*NRAS* は全例陰性であった。

#### 考察

今回の調査で 71 例と本邦における *ECD* 症例の概数を明らかにすることができた。過去の報告数が計 25 例であったことを考えると、*ECD* 症例は現在報告されているよりもはる

かに多いことが予想された。

本調査によれば、男女比、発症年齢などは既報と同等であったが、5年生存率は既報と比べて優れており、報告が少なく治療方針が定まっていなかった過去の症例と比べて予後が改善してきているものと考えられた。しかし、本調査で IFN $\alpha$  を投与された症例は症状の改善、病変の縮小などの一定の反応は見られたものの、統計上の IFN $\alpha$  治療による生命予後の改善は見られなかった。これは本調査での IFN $\alpha$  使用例が 2 割にとどまっており、十分な症例数が得られなかったことが原因と考えられた。

ECD では中枢神経病変を有する症例や循環器病変を有する症例においては予後が悪いとされているが、統計学的な有意差を示した報告はない。本調査では多変量解析において、初発年齢が 50 歳以上であること、さらに循環器病変を有することが予後に負の影響を与える因子として抽出され、どちらか 1 つの因子を持つ患者ではどちらの因子も持たない患者と比べて有意に予後が悪いという結果になった。

さらに、4 症例に対して遺伝子解析を行ったところ、4 例中 *BRAF* 変異陽性は 1 例、*NRAS* 変異は全例で陰性であった。*BRAF* については同一患者から得られた骨検体と皮膚検体において、骨検体が *BRAF* 陽性、皮膚検体が *BRAF* 陰性となった。このことから、両者は別のクローンからなる病変と考えられた。また、本患者は IFN $\alpha$  による治療を受けているが、それによって骨病変は画像所見上軽度の改善を認めていたものの、皮膚病変は反応が見られず、同一患者でも病変のクローンにより治療反応性が異なる可能性があると考えられた。ただ、この点に関しては、現時点では ECD の病変クローンに関する報告はなく、薬剤の組織移行性なども含めて今後慎重に検討する必要があると考えられた。

*BRAF*V600E 変異の陽性率は 25% と既報に比べてやや低い結果となっており、本邦の ECD 症例においては *BRAF*V600E 変異の陽性率が海外に比べて低い可能性があると言えた。*NRAS*Q61R 変異については全例が陰性という結果になったが、これまでに変異の陽性率を調べた報告は無く、今後の症例の集積とさらなる検討が必要と考える。

本研究では国内で初めて診療科横断的に ECD 症例を集積し、疫学的なデータをまとめ、本邦における ECD 診療の実態を把握した。得られたデータは発症関連因子や予後関連因子などの解明を通じて重症度分類の確立や治療指針の作成を行うために有用であると考えられた。