

20020816

厚生労働科学研究補助金
免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

遺伝子情報に基づいた
抗脂質メディエーター薬適正投与の検討

平成14年度総括・分担研究報告書

主任研究者 浅野 浩一郎

平成15(2003)年3月

目次

I. 総括研究報告	1
遺伝子情報に基づいた抗脂質メディエーター薬適正投与の検討 浅野 浩一郎	
II. 分担研究報告	
1. ロイコトリエン代謝酵素遺伝子と抗ロイコトリエン薬の 臨床効果の個体差に関する検討 浅野 浩一郎	8
2. 日本人喘息患者におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の 薬物動態と臨床効果 山口 佳寿博	1 2
3. 生体内ロイコトリエン量におよぼすロイコトリエン 合成・代謝酵素遺伝子多型の影響 石坂 彰敏	1 7
4. 近交系マウスを用いたシステイニルロイコトリエン反応性 遺伝子の解析に関する研究 石井 聡	2 1
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	2 7
IV. 研究成果の刊行物・別刷	2 9

厚生科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
総括研究報告書

遺伝子情報に基づいた抗脂質メディエーター薬適正投与の検討

主任研究者 浅野 浩一郎
慶應義塾大学医学部 呼吸循環器内科 講師

研究要旨

ロイコトリエン、トロンボキサンなどの脂質メディエーターの作用を抑制する薬剤（抗脂質メディエーター薬）は強力かつ安全な喘息治療薬であるが薬剤の効果に比較的大きい個体差があり、しかもどの薬剤がどの患者に奏功するのかを事前に予測する有効な手段が存在しない。本研究では患者の脂質メディエーターの産生・代謝酵素、受容体などの遺伝子情報に基づいて、適切な抗脂質メディエーター薬の選択を行うことが可能かどうかの基礎的、臨床的検討を行った。平成 14 年度の検討では四つの知見が得られた。①ロイコトリエン代謝酵素である γ グルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子の T459C 多型あるいは A989G 多型の有無がロイコトリエン受容体拮抗薬ランルカストの肺機能改善効果と相関していた。特に T459C 多型は昨年度の研究でランルカスト反応性との相関が認められたロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型と組み合わせることによりさらに薬剤反応性の良い指標となりうることが示唆された。②ランルカストに対する反応性と薬物動態の個体差との関連を検討した結果、97%の症例では十分な血中濃度が得られており、またランルカストに対するレスポナー、ノンレスポナー間でランルカスト血中濃度の違いは認められなかったことから、薬物代謝酵素遺伝子の違いによる影響は少ないと考えられた。③尿中ロイコトリエン E₄ 濃度は末梢血好酸球数と良い相関を示し、ロイコトリエン代謝酵素ジペプチダーゼの E351Q 多型と弱い相関 (p = 0.04) を示した。しかし、ランルカスト反応性との相関が認められたロイコトリエン合成系酵素の遺伝子多型とは関連を示さず、ロイコトリエン受容体拮抗薬反応性の指標としてはやはり不十分であると考えられた。④システイニルロイコトリエン反応性の異なる C57BL/6J と 129 マウスの CysLT₁ と CysLT₂ 受容体遺伝子を比較した結果 129 マウスでは CysLT₂ 遺伝子内ヘレトロトランスポゾンが挿入され、発現が低下していた。CysLT₂ 受容体からのシグナルが CysLT₁ 受容体からの炎症性シグナルを減弱ないしは相殺することを示唆するデータも得られ、129 マウスでの CysLT₂ 受容体発現低下がロイコトリエン反応性増強をきたした可能性が示唆された。これらの知見が抗脂質メディエーター薬の選択に応用できる可能性について今後検討を続けていく。

分担研究者

山口佳寿博 慶應義塾大学医学部 呼吸循環器
内科 助教授
石坂彰敏 東京電力病院 検査科 科長
石井 聡 東京大学大学院医学系研究科 分
子細胞生物学専攻 助手

病態を修飾しており、その合成阻害薬あるいは受容体拮抗薬のなかには喘息における治療薬としての有効性が確立しているものも多い。

ロイコトリエン、トロンボキサンなどの脂質メディエーター合成阻害薬あるいは受容体拮抗薬は現在の喘息治療のガイドラインではステロイド薬と並ぶコントローラーとして位置づけられている。これら抗脂質メディエーター薬は、（1）従来の抗アレルギー薬と比較して有効性が高い、（2）吸入ステロイド薬単独で治療効果が不十分な症例に相加効果が期待できる、（3）経口薬であるため服薬コンプライアンスが良い、

A. 研究目的

脂質メディエーターの中でもプロスタグランジン D₂、トロンボキサン A₂、ロイコトリエン、血小板活性化因子は気管支平滑筋の収縮作用、好酸球などの炎症細胞遊走作用等を介して喘息の

などの利点を有しており、軽症例から重症例までの喘息治療において有用であるとされている。しかし、これらの薬剤は吸入ステロイド薬と異なり必ずしもすべての患者に奏功しない（奏功率 50-60%）ため、無効な患者に投与されると不必要な副作用をきたしたり無駄な医療費がかかることになる。かといって有効な抗脂質メディエーター薬が試みられなければ、喘息のコントロールが不十分となったり、ステロイド薬投与量が必要以上に多くなる場合もありうる。しかし現時点では事前に抗脂質メディエーター薬の効果を予測する有効な手段が存在せず、いずれの抗脂質メディエーター薬も実際に長期間投与してみなければその効果がわからない。

抗脂質メディエーター薬を含む全ての薬物において、薬効の個体差には年齢、性別、体格、人種など患者側の様々な要因が関与している。薬理作用の個体差には遺伝的要因も重要な役割を果たしており、喘息患者においてみられる薬物反応性の個体差の 60-80%は遺伝的に規定されていると試算されている。そこで個体差を考慮した、より合理的な薬物治療を行うために“遺伝子情報”を利用する薬理遺伝学的アプローチが注目されている。

薬理作用を規定する重要な因子である薬物動態については、薬物代謝酵素の遺伝子が非常に多型性に富み、さまざまな薬剤の薬理作用に大きな影響を与えていることがわかっているにも関わらず今まで喘息治療薬と薬物代謝酵素遺伝子との関連を詳細に検討した報告はほとんどみられなかった。抗脂質メディエーター薬の作用の個体差を検討する上で薬物動態に関する検討は不可避であり、本研究班の山口はロイコトリエン受容体拮抗薬プラナルカストの反応性と薬物動態の関連について検討を行った。

一方、抗脂質メディエーター薬の薬力学的側面を規定する因子としては（1）生体内での脂質メディエーター産生・代謝速度、（2）脂質メディエーターに対する生体感受性の個体差、の二つが重要な因子となっていると考えられる。前者に関しては、昨年度のロイコトリエン合成酵素遺伝子の検討に引き続いて浅野らがロイコトリエン代謝酵素遺伝子とプラナルカスト反応性との関連について検討を行った。その結果で特に興味深いのは単一の遺伝子による薬剤反応性の予測よりも合成・代謝経路の複数の遺伝子の解析がより有効である可能性が示唆されたこと

である。また、石坂は生体のロイコトリエン合成量自体を反映すると考えられている尿中ロイコトリエン E_4 排泄量とロイコトリエン合成・代謝酵素遺伝子との関連について検討を行った。

また、脂質メディエーター感受性を規定する因子の検討については石井らが動物の中から脂質メディエーター高感受性個体と低感受性個体を見いだして比較検討することにより、2つのロイコトリエン受容体の発現バランスがロイコトリエン感受性を規定する、という全く新しい可能性を見いだした。

B. 研究方法

① ロイコトリエン代謝酵素遺伝子と抗ロイコトリエン薬の臨床効果の個体差に関する検討

日本人中等量喘息患者 48 名にロイコトリエン受容体拮抗薬プラナルカスト (450 mg/day) を 4 週間投与し、前後での一秒量改善率をプラナルカスト反応性の指標として検討した。被験者の末梢血から DNA を抽出し、昨年度石坂らにより見いだされたロイコトリエン代謝酵素 (γグルタミルロイコトリエンナーゼとジペプチダーゼ) 遺伝子多型のタイピングを行い、プラナルカストの臨床効果との関連を検討した。

② 日本人喘息患者におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の薬物動態と臨床効果

健康成人 8 名および日本人中等症喘息患者 37 名にプラナルカスト (オノンカプセル) 225 mg を朝食 30 分後に服用させ、服薬 5-11 時間後に採血を行った。プラナルカスト血中濃度を高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトリー法により測定し、さらに喘息患者についてはプラナルカスト長期投与時の一秒量改善率との関連を検討した。

③ 生体内ロイコトリエン量におよぼすロイコトリエン合成・代謝酵素遺伝子多型の影響

安定期の日本人中等症喘息患者 61 名の尿中ロイコトリエン E_4 排泄量を HPLC-ELISA 法により測定した。34 名の患者については EcoScreen (Jaeger 社) を用いて呼気水を採取し、ステイニルロイコトリエン量を ELISA 法にて測定した。またロイコトリエン合成系酵素 (5 リポキシゲナーゼ、ロイコトリエン C_4 合成酵素) とロイコトリエン代謝酵素 (γグルタミルロイコトリエンナーゼ、ジペプチダーゼ) 遺伝子の遺伝子型を PCR-SSLP 法あるいは PCR-RFLP 法により決定した。

④ 近交系マウスを用いたシステイニルロイコトリエン反応性遺伝子の解析に関する研究
LTC₄ 低感受性の C57BL/6J と高感受性の 129 マウス株から CysLT₁ と CysLT₂ 受容体遺伝子のクローニングを行い、両遺伝子の塩基配列や mRNA の発現について、二つのマウス株間で比較を行った。また、CysLT₁ と CysLT₂ 受容体を培養動物細胞で発現させ、細胞内シグナル伝達機構を解析した。

DNA 採取・解析に関してはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）に基づき、慶應義塾大学医学部倫理審査委員会の承諾を得た説明書を用いて被験者の書面での同意を得た上で行った。サンプルは ID 化して保管し、被験者のプライバシーには特に留意した。

C. 結果

① ロイコトリエン代謝酵素遺伝子と抗ロイコトリエン薬の臨床効果の個体差に関する検討
γグルタミルロイコトリエンナーゼのエクソン 4 内のサイレント変異 T459C 多型をもつ患者 12 例ではプラシルカストによる一秒量改善率が 15.9±6.3% であり、同変異をもたない 36 例の一秒量改善率 3.6±2.4% よりも有意に高値をしめした ($p < 0.05$)。γグルタミルロイコトリエンナーゼのエクソン 7 内のミスセンス変異 A989G 多型 (K330R) の場合にはプラシルカスト反応性は変異をもたない 33 例（一秒量改善率 10.2±3.3%）よりも変異をもつ 15 例（一秒量改善率 -1.1±1.9%）の方が有意に低値であった ($p < 0.05$)。プラシルカスト投与によって 10% 以上の一秒量改善を示したのは A989G 多型をもたない患者 33 名中 14 名 (42%) であったのに対し、A989G 多型をもつ患者では 15 名中 0 名 (0%) のみであった ($p < 0.005$)。なお、いずれの多型についても 2 群間でサルブタモールに対する気道可逆性には有意差を認めなかった。ジペプチダーゼ遺伝子の G1051C (E351Q) 多型とプラシルカストに対する反応性には明らかな関連が認められなかった。

② 日本人喘息患者におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の薬物動態と臨床効果

健康人 8 名に対する単回投与試験ではプラシルカスト血中濃度が有効濃度 (100 ng/ml 以上) に達しない症例が 1-3 例みられ、特に食事摂取

のタイミングとの関連が強く示唆された。一方、4 日間連続投与を行った喘息患者では解析終了例 32 例中 1 例を除き全例でプラシルカスト血中濃度は有効域に達していた。プラシルカストの 4 週間服薬で 10% 以上の一秒量改善を示した症例 ($n = 10$) の服薬後 5 時間、7 時間のプラシルカスト血中濃度は 525±109 ng/ml、268±76 ng/ml であったのに対し、非改善例 ($n = 22$) のプラシルカスト血中濃度は 758±131 ng/ml、442±76 ng/ml であり、有意差を認めなかった。

③ 生体内ロイコトリエン量におよぼすロイコトリエン合成・代謝酵素遺伝子多型の影響
喘息患者 61 名の尿中ロイコトリエンは 321 pg/mg クレアチニン (相乗平均) であり、末梢血好酸球数と有意な相関を示した ($p < 0.005$)。年齢、性別、末梢血好酸球数で補正した尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量はロイコトリエン代謝酵素ジペプチダーゼの E351Q 多型と弱い相関 ($p = 0.04$) を示したが、5 リポキシゲナーゼ 5' 上流領域 GC 繰り返し配列多型、ロイコトリエン C₄ 合成酵素 C(-444)A 多型、あるいはγグルタミルロイコトリエンナーゼ K330R 多型とは有意な相関を示さなかった。呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は 3.9 pg/ml (相乗平均) であったが、いずれの遺伝子多型とも有意な関連を認めなかった。

④ 近交系マウスを用いたシステイニルロイコトリエン反応性遺伝子の解析に関する研究
LTC₄ 低感受性の C57BL/6J と高感受性の 129 マウス間で CysLT₁ 受容体のアミノ酸配列は完全に一致し、CysLT₂ 受容体では構造上極めて類似したアミノ酸間での置換 (イソロイシンとバリン) のみが認められた。しかしノーザンハイブリダイゼーションおよび定量的 PCR 法の結果、mRNA が検出されたほとんどの臓器において、129 マウスでは C57BL/6 マウスよりも CysLT₂ 受容体の mRNA の発現量が顕著に低下していた。そこで CysLT₂ 受容体遺伝子の 5' 非翻訳領域について制限酵素マッピングを行ったところ、129 マウスの遺伝子でのみ全長約 7.2 kbp レトロトランスポゾン L1 が挿入していることが判明した。その挿入位置は CysLT₂ 受容体のオープンリーディングフレームの 5' 末端から約 500bp 上流の第 5 イントロン内であり、この挿入によって CysLT₂ 遺伝子構造は大きく乱されていると考えられた。CysLT₁ 受容体を発現した CHO 細胞は LTD₄ に対して化学走性を示したが、CysLT₂ 受容体を発現した

CHO 細胞では LTC₄ と LTD₄ の両方で細胞の運動は濃度依存的に抑制された。

D. 考察

喘息治療薬に限らずどのような薬剤においても薬理作用（あるいは副作用）にはかなりの個体差がみられるが、その個体差には遺伝的要因も重要な役割を果たしており、喘息患者においてみられる薬物反応性の個体差の 80% は遺伝的に規定されていると試算されている。

薬理作用の個体差に影響する因子は大きく 2 つに分けられる。ひとつは、一定量の薬物の投与により血中（組織中）濃度がどのレベルに達するか（薬物動態、pharmacokinetics）であり、もうひとつは一定の血中濃度の薬物に対して生体がどのように反応するか（薬力学、pharmacodynamics）である。昨年度の研究においてわれわれは抗脂質メディエーター薬感受性規定遺伝子として脂質メディエーターの産生酵素、代謝酵素、受容体の遺伝子に注目し、血小板活性化因子受容体、ロイコトリエン産生・代謝酵素遺伝子など主に薬力学に関与する因子群に関する検討を行った。一方、薬物動態には吸収、分布、代謝、排泄の各相で様々な因子が関与するが、その中でも薬物代謝酵素の遺伝子は非常に多型性に富んでいることが知られている。そこで山口らは昨年度にプランルカスト投与試験を行った喘息患者について薬物動態と臨床効果を比較し薬物動態関連遺伝子についての検討が必要かどうかを調査した。その結果、単回投与（健常人）では血中濃度に大きな個体差がみられたが連続投与（喘息患者）時には血中濃度のばらつきは小さく、プランルカストに関しては薬物動態関連遺伝子の検討は必要ないと考えられた。

昨年度の検討によりロイコトリエン産生酵素であるロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子のタイプによりロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果を予測できる可能性が示唆された。これはロイコトリエン産生量が多い喘息患者ほどロイコトリエン受容体拮抗薬が奏功しやすい、という仮説を支持している。しかし生体内のロイコトリエン量は産生速度のみでなく代謝速度によっても規定される可能性がある。そこで本年度はロイコトリエン代謝酵素である γ グルタミルロイコトリエンナーゼとジペプチダーゼの遺伝子多型とロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果との

関連を検討した。その結果 LTC₄ を LTD₄ に変換する γ グルタミルロイコトリエンナーゼ遺伝子の複数の多型が臨床効果と関連することを見いだした。まだ症例数が少ないため結論にはいたらないがロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子多型と γ グルタミルロイコトリエンナーゼ遺伝子多型を組み合わせることによりさらに臨床効果をよく反映する可能性も示唆されており、今後症例数を増やして検討する必要があると考えられた。

一方、生体内のロイコトリエン量自体を直接測定する方法として尿中ロイコトリエン E₄ 濃度測定があるが、この手法で測定された生体内ロイコトリエン量と抗ロイコトリエン薬の臨床効果との関連は認められていない。これは尿中ロイコトリエン E₄ 濃度が気道以外の臓器で産生されたロイコトリエンも含むためである可能性がある。最近、呼気を冷却し、その中の水分に含まれるロイコトリエン量を測定することで気道内のロイコトリエン量を測定する手法が新しく開発された。石坂らはその手法を用いた生体内のロイコトリエン量測定を行い、それが抗ロイコトリエン薬の臨床効果と関連するかどうかについて検討するための基礎的検討を進めている。

実験動物を用いた検討は必ずしも患者に直接応用可能ではないが、ヒトではできないような検討（交配実験など）も可能となる利点があり、その意味で薬理遺伝学研究においても動物モデルの検討は重要であると考えられる。石井らは LTC₄ やアラキドン酸が 129 マウスにおいて C57BL/6 マウスに比べより重篤な皮膚や腹腔内の炎症をきたす原因を検討した結果、レトロトランスポゾンが 129 マウスの CysLT₂ 遺伝子内へ挿入され CysLT₂ 受容体の発現レベルを低下したことで CysLT₁ 受容体からの炎症性シグナルを抑制している CysLT₂ 受容体からのシグナルが減弱していた可能性を見いだした。このことはヒトの気道で一定量のロイコトリエンが産生されても炎症性の CysLT₁ 受容体と抗炎症性の CysLT₂ 受容体の発現バランスによってロイコトリエン感受性が異なってくる可能性を示唆している。

昨年度および今年度の検討により、中等症以上の日本人成人喘息患者で抗脂質メディエーター薬、特に最も汎用されるロイコトリエン受容体拮抗薬感受性を規定するいくつかの候補遺伝子が同定されてきた。しかし、ロイコトリエン受容体拮抗薬は中等症以上の成人喘息だけでなく、軽症喘息、小児喘息、鼻アレルギーにおいても

有効性が認められ、広く使用されている薬剤である。そこで今後はこれらの疾患においても中等症以上の成人喘息で得られた知見が応用可能であるかを検討することが重要であろう。

E. 結論

ロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果を遺伝的に規定する因子として薬物動態および薬力学関連因子（ロイコトリエン合成酵素、代謝酵素、受容体）について系統的な検討を行った。その結果、昨年報告したロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子に加えて、 γ グルタミルロイコトリエンナーゼ遺伝子多型および CysLT₁ 受容体/CysLT₂ 受容体の発現バランスが関与している可能性を見いだした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

(主任研究者 浅野 浩一郎)

1. K. Asano, T. Shiomi, N. Hasegawa, H. Nakamura, H. Kudo, T. Matsuzaki, H. Hakuno, K. Fukunaga, Y. Suzuki, M. Kanazawa, and K. Yamaguchi. Leukotriene C₄ synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a Cys-LT₁ antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics* 12: 565-570, 2002.
2. T. Oguma, K. Asano, T. Shiomi, K. Fukunaga, Y. Suzuki, M. Nakamura, H. Matsubara, H. Sheldon, K. Haley, C. M. Lilly, J. M. Drazen, and K. Yamaguchi. Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea pig lungs. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 165: 382-386, 2002.
3. 浅野浩一郎 アラキドン酸代謝酵素遺伝子多型と喘息治療薬の効果 炎症と免疫 10 (2), 157-163, 2002
4. 浅野浩一郎 抗ロイコトリエン薬の薬理遺伝学 喘息 15 (3), 53-56, 2002
5. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (1) アレルギーの臨床 22 (6), 486-489, 2002
6. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (2) アレルギーの臨床 22 (7), 562-565, 2002
7. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (3) アレルギーの臨床 22 (10), 812-814, 2002
8. 浅野浩一郎 β_2 アドレナリン受容体刺激薬と遺伝子多型 呼吸 21 (7), 647-652, 2002
9. 浅野浩一郎 喘息治療における薬理遺伝学 呼吸と循環 50 (9), 935-939, 2002
10. 浅野浩一郎 気管支喘息と脂質メディエーター遺伝子 アレルギー・免疫 9 (10), 1207-1211, 2002
11. 浅野浩一郎 アレルギー疾患の Pharmacogeneticsの新展開 最新医学 58 (2), 245-250, 2003
12. 浅野浩一郎 遺伝子多型と抗喘息薬の有効性 分子呼吸器病 7 (2), 106-113, 2003

(分担研究者 山口 佳寿博)

1. Itoh, Y., Oyamada, Y., Hakuno, H. and Yamaguchi, K.: Morphological analysis of developmental changes in pontine noradrenergic neuronal groups in the neonatal rat. *Brain Res.* 925(1):107-109, 2002.
2. Oguma, T., Asano, K., Shiomi, T., Fukunaga, K., Nakamura, M., Matsubara, H., Lilly, C.M., Drazen, J.M. and Yamaguchi, K.: Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea pig lungs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165(3):382-386, 2002.
3. Hasegawa, N., Miura, T., Ishii, K., Yamaguchi, K., Lindner, TH., Merritt S., Matthews, JD. and Siddiqi, SH.: A new simple and rapid test for culture confirmation of *M. tuberculosis* - A multi-center study. *J. Clin. Microbiol.* 40(3):908-912, 2002.
4. Hasegawa, N., Miura, T., Yamaguchi, K. and Ishii, K.: Detection of mycobacteria in patients with pulmonary tuberculosis undergoing chemotherapy using MGIT and egg-based solid medium culture systems. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 6(5):447-453, 2002..
5. Naoki, K., Suzuki, K., Kudo, H., Takeshita, K., Miyao, N., Ishii, M., Sato, N., Suzuki, Y., Tsumura, H. and Yamaguchi, K.:

- Constitutive isoforms of NOS and COX mediate abnormal microvessel responses to CO₂ and H⁺ in hyperoxia-injured lungs. *Eur. Respir. J.* 20(1):43-51, 2002.
6. Asano, K., Hasegawa, N., Nakamura H., Kudo, H., Matsuzaki, T., Hakuno, H., Fukunaga, K., Shiomi, T., Suzuki, Y., Kanazawa, M. and Yamaguchi, K.: Leukotriene C₄ synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a cys-LT₁ antagonist, Pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics* 12:565-570, 2002.
 7. Terashima, T., Amakawa, K., Matsumaru, A. and Yamaguchi, K.: Correlation between cysteinyl leukotriene release from leukocytes and clinical response to a leukotriene inhibitor. *Chest* 122(6):1566-1570, 2002.
 8. 福永興彦、山口佳寿博：喘息の薬理遺伝学、副腎皮質ステロイド薬-グルココルチコイド受容体遺伝子変異と喘息治療の可能性-、*喘息* 15(3):73-77, 2002.
 9. 仲村秀俊、峰松直人、山口佳寿博：COPD発症と遺伝子変異の関連、*呼吸器科* 1(3):242-248, 2002.
 10. 山口佳寿博：慢性細気管支炎に対する新たな分類の試み-間質性肺炎との接点を求めて、*呼吸と循環* 50(5):453-462, 2002.
 11. 山口佳寿博：喘息の診断のプロセス、*ドクターサロン* 46(8):608-613, 2002.
 12. 山口佳寿博：COPDの遺伝子多型、*THE LUNG perspectives* 10(3):372-375, 2002
 13. 山口佳寿博、仲村秀俊、峰松直人、中島隆裕：慢性閉塞性肺疾患の新しい診断的アプローチ-遺伝子多型からみたハイリスクグループの特定、*現代医療(特集：慢性閉塞性肺疾患-基礎と臨床)* 34(9):2205-2213, 2002.
 14. 仲村秀俊、山口佳寿博：COPDの急性増悪の薬物療法、*最新医学(特集：日本の慢性閉塞性肺疾患(COPD)の現状とGOLDのインパクト)* 57(10):2341-2344, 2002

(分担研究者 石坂 彰敏)

1. Albertine K, Soulier M, Wang Z, Ishizaka A, Hashimoto S, Zimmerman W, Matthay M, Ware L. Fas and Fas Ligand are Upregulated in Pulmonary Edema Fluid and Lung Tissue of Patients with Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome *Am J Pathol* 161: 1783-1796,

2002

2. N Hasegawa, T Miura, Ishizaka A, K Yamaguchi, K Ishii. Detection of Mycobacteria from Patients with Pulmonary Tuberculosis Undergoing Chemotherapy Using MGIT and Egg-based Solid Media Culture Systems. *Int J Tuberc Lung Dis* 6, 447-453, 2002
3. 澤藤誠、石坂彰敏、河野光智、長谷川直樹、菊池功次、小林紘一：虚脱後再膨張肺に生じる肺損傷-肺血管および上皮透過性の検討 *臨床呼吸生理* 32:101-103, 2002
4. 小谷真理子、小谷透、小竹良文、森崎浩、武田純三、黄英文、藤島清太郎、澤藤誠、石坂彰敏：大きな一回換気量は健常肺に損傷を与えるか？ *臨床呼吸生理* 32:119-121, 2002
5. 渡辺真純、小林紘一、石坂彰敏：末梢型小型肺癌に対する新しい診断アプローチ-気管支鏡下マイクロサンプリング法- *肺癌の臨床*、4 : 435-9、2002.
6. 石坂彰敏：慢性閉塞性肺疾患と栄養 *Nutritional Support Journal* 6, 13- 15, 2002
7. 仲村秀俊、石坂彰敏：肺線維化におけるケモカインとケモカインレセプターの関与 *分子呼吸器病学* 6, 290-295, 2002
8. 山田雅子、田坂定智、石坂彰敏：ALI/ARDS発症因子 活性酸素種、急性肺傷害(ALI)/急性呼吸促迫症候群(ARDS)-病態と最新の治療 *現代医療* 34(増刊号), 38-43, 2002.
9. 竹下啓、石坂彰敏：Hypercapniaと急性肺損傷(ALI) *分子呼吸器病学* 2002、6、77-82
10. 石坂彰敏、渡辺真純、小林紘一、黄英文、長谷川直樹、松田知之、橋本悟 *マイクロサンプリングプローブによる肺上皮被覆液中液性因子の解析* *気管支学* 2002、24、632-635

(分担研究者 石井 聡)

1. Nagase, T., Ishii, S., Shindou, H., Ouchi, Y., and Shimizu, T. Airway hyper-responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated via an atropine sensitive pathway. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 165, 200-205, 2002.
2. Klein, A., Pinho, V., Alessandrini, A.L., Shimizu, T., Ishii, S. and Teixeira, M.M.

- Platelet-activating factor drives eotaxin production in an allergic pleurisy in mice. *Brit. J. Pharmacol.* 135, 1213–1218, 2002.
3. Ohshima, N., Ishii, S., Izumi, T. and Shimizu, T. Receptor-dependent metabolism of platelet-activating factor in murine macrophages. *J. Biol. Chem.* 277, 9722–9727, 2002.
 4. Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kita, Y., Yamamoto, H., Ohga, E., Ouchi, Y. and Shimizu, T. A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Med.* 8, 480–484, 2002.
 5. Barbuti, A., Ishii, S., Shimizu, T., Robinson, R.B., and Feinmark, S.J. Block of the background K⁺ channel, TASK-1, contributes to the arrhythmogenic effects of platelet-activating factor. *Am. J. Physiol.* 282, H2024–H2030, 2002.
 6. Ogasawara, H., Ishii, S., Yokomizo, T., Shimizu, T. and Izumi, T. Characterization of mouse cysteinyl leukotriene receptors; mCysLT₁ and mCysLT₂. Differential pharmacological properties and tissue distribution. *J. Biol. Chem.* 277, 18763–18768, 2002.
 7. Honda, Z., Ishii, S., and Shimizu, T. Platelet-activating factor receptor. *J. Biochem.* 131, 773–779, 2002.
 8. Ishii, S., Nagase, T., and Shimizu, T. Platelet-activating factor receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 68–69, 599–609, 2002.
 9. Strømgaard, K., Saito, D.R., Shindou, H., Ishii, S., Shimizu, T., and Nakanishi, K. Ginkgolide derivatives for photolabeling studies: preparation and pharmacological evaluation. *J. Med. Chem.* 45, 4038–4046, 2002.
 10. Soares, A.C., Pinho, V.S., Souza, D.G., Shimizu, T., Ishii, S., Nicoli, J.R., and Teixeira, M.M. Role of the platelet-activating factor (PAF) receptor during pulmonary infection with gram negative bacteria. *Brit. J. Pharmacol.* 137, 621–628, 2002.
 11. Vogensen, S.B., Strømgaard, K., Shindou, H., Jaracz, S., Suehiro, M., Ishii, S., Shimizu, T., and Nakanishi, K. Preparation of 7-substituted ginkgolide derivatives: potent platelet activating factor (PAF) receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 46, 601–608, 2003.
 12. Nagase, T., Uozumi, N., Aoki-Nagase, T., Terawaki, K., Ishii, S., Tomita, T., Yamamoto, H., Hashizume, K., Ouchi, Y., and Shimizu, T. A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A₂, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS-induced lung injury in mice. *Am. J. Physiol.* in press, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

ロイコトリエン代謝酵素遺伝子と抗ロイコトリエン薬の臨床効果の個体差に関する検討

主任研究者 浅野 浩一郎
慶應義塾大学医学部 呼吸循環器内科 講師

研究要旨

昨年度の検討においてロイコトリエン産生酵素であるロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型によりロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果を予測できる可能性が示唆された。これはロイコトリエン産生能が高い喘息患者ほどロイコトリエン受容体拮抗薬が奏功しやすいことを示唆している。しかし生体内のロイコトリエン量は産生速度のみでなく代謝速度によっても規定される。そこで本年度はロイコトリエン代謝酵素であるγグルタミルロイコトリエナーゼとジペプチダーゼの遺伝子多型とロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果との関連を検討した。その結果 LTC₄ を LTD₄ に変換するγグルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子の複数の多型 (T459C, A989G) が臨床効果と関連することを見いだした。さらにロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型とγグルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子 T459C 多型を組み合わせることによりさらに臨床効果をよく反映する可能性も示唆された。一方、LTD₄ を LTE₄ に変換するジペプチダーゼ遺伝子の G1051C 多型とロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果との関連は認められなかった。

A. 研究目的

フォスホオリパーゼにより細胞膜から遊離したアラキドン酸は核膜上の FLAP と結合した状態で活性化した5リポキシゲナーゼと反応しロイコトリエン A₄ となる。マスト細胞、好酸球、好塩基球においてロイコトリエン A₄ はロイコトリエン C₄ 合成酵素によりグルタチオンと結合しロイコトリエン C₄ に変換される。細胞膜トランスポーター (MRP-2 など) を介して細胞外に放出されたロイコトリエン C₄ は cysLT₂ 受容体に作用することが知られているが、cysLT₂ 受容体を介したシグナルが喘息の病態にどのような影響を及ぼしているのかについてはまだ明らかとはなっていない。細胞外に遊離されたロイコトリエン C₄ はγグルタミルトランスぺプチダーゼあるいはロイコトリエナーゼの作用によりロイコトリエン D₄ となる。このロイコトリエン D₄ が主に気管支平滑筋、好酸球、マクロファージなどに発現している cysLT₁ 受容体に作用して気管支平滑筋収縮、好酸球遊走・活性化などの生物活性を発揮し、喘息の病態に関与すると考えられている。ロイコトリエン D₄ はジペプチダーゼの作用によりロイコトリエン E₄ となる。ロイコトリエン E₄ も cysLT₁ 受容体に作用して若干の生物活性を示すが、ロイコトリエン D₄ と比較するとその作用は10分の1以下である。

ロイコトリエンの喘息の病態に占める重要性から、喘息の治療薬としてロイコトリエン合成酵素阻害薬 (Zileuton、本邦では未承認)、ロイコトリエン受容体 (cysLT₁) 拮抗薬 (Pranlukast、Zafirlukast、Montelukast) が開発され、副腎皮質ステロイドと並ぶ喘息のコントローラーとしての有効性が確立している。しかしこれらのロイコトリエン合成酵素阻害薬、受容体拮抗薬は喘息患者の10%に著効し50-60%程度に有効であるものの、残りの30-40%の患者では無効であることがその使用上の制約になっている。有効な薬剤を投与されないことが患者にとっての不利益になるだけでなく、無効な薬剤を投与されることも不必要な副作用をきたす危険性があり、また医療経済上の大きなデメリットとなる。そこで昨年度の研究では、日本人中等症喘息患者におけるロイコトリエン受容体拮抗薬 (プラナルカスト) に対するレスポンス、ノンレスポンスを2つのロイコトリエン合成系酵素 (5リポキシゲナーゼ、ロイコトリエン C₄ 合成酵素) の遺伝子多型を用いて予測できないかどうかを検討した。5リポキシゲナーゼ遺伝子多型とプラナルカストの効果には関連を認めなかったが、ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子の C(-444)Aレルの有無でプラナルカストに対する反応には明らかな違いが認められた。ロイコトリエン C₄

合成酵素遺伝子の C(-444)アレルの有無で β 刺激薬サルブタモールによる気管支拡張効果には差がなかったことから、抗ロイコトリエン薬特有の現象であると考えられた。また気道可逆性と C(-444)アレルは多重ロジスティック回帰分析により独立のプラナルカスト反応性規定因子であった。

これらの結果はロイコトリエン量が多い喘息患者ほどロイコトリエン受容体拮抗薬が奏功しやすい、という仮説を支持している。しかし生体内のロイコトリエン量は産生速度のみでなく代謝速度によっても規定される可能性がある。そこでロイコトリエン C₄合成酵素より下流に位置するロイコトリエン代謝酵素 γ グルタミルロイコトリエナーゼとジペプチダーゼの遺伝子にわれわれが見いだした複数の多型とロイコトリエン受容体拮抗薬の臨床効果が関連するかどうかを検討した。

B. 研究方法

(1) 対象

日本人におけるロイコトリエン代謝酵素 γ グルタミルロイコトリエナーゼとジペプチダーゼの遺伝子多型の頻度を調べるために、東京近郊在住の健康人 94 名、喘息患者 149 名から血液を採取し、DNA を抽出した。

喘息患者の中でプラナルカストを服用しておらず、中等量の吸入ステロイド薬 (BDP 400-800 μ g) および経口、吸入気管支拡張薬の連用により 12 週間以上呼吸器症状が安定した状態にある日本人喘息患者 50 名 (男性 31 名、女性 19 名、年齢 26-75 歳) に 4 週間のプラナルカスト投与試験を行った。

DNA 採取・解析に関してはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) に基づき、慶應義塾大学医学部倫理審査委員会の承諾を得た説明書を用いて被験者の書面での同意を得た上で行った。サンプルは ID 化して保管し、被験者のプライバシーには特に留意した。

(2) プラナルカスト投与試験

プラナルカスト投与開始前に肺機能検査を行った。気管支拡張薬を 12 時間以上 (徐放性テオフィリン薬は 24 時間以上) 中止した上で、午前 8 時 30 分に一秒量を測定し、さらに β 刺激薬サルブタモール (200 μ g) を吸入 15 分後に再度一秒

量を測定することで気道可逆性を測定した。同時に血液検査を行い、末梢血好酸球数、血清 IgE 値、RAST score を測定した。CysLT₁拮抗薬プラナルカスト (225 mg bid) を 4 週間投与した後に再度一秒量を測定し、一秒量改善率をプラナルカストの臨床効果の指標とした。

γ グルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子とジペプチダーゼ遺伝子のジェノタイプングを行うために末梢血 10ml を採取した。

(3) ロイコトリエン代謝酵素遺伝子多型

γ グルタミルロイコトリエナーゼ T459C 多型は制限酵素 Nco I を用いた PCR-RFLP 法により、A989G 多型は BstNI を用いた PCR-RFLP 法により解析した。またジペプチダーゼ遺伝子 G1051C 多型は Taq I を用いた PCR-RFLP 法により解析した。

(5) 統計解析

結果は平均値 \pm 標準誤差で表した。血清 IgE 値については相乗平均値と 95%信頼区間であらわした。吸入ステロイド使用量 (ベクロメサゾン 800 μ g はフルチカゾン 400 μ g に相当するとして計算した)、肺機能データ、遺伝子型頻度は Mann-Whitney 検定、Kruskal-Wallis 検定、 χ^2 検定により解析した。

C. 研究結果

エントリーした 50 名の喘息患者のうちアトピー型喘息患者は 23 名であった。5 名が喫煙者であり、11 名に喫煙の既往があった。1 名は既往からアスピリン過敏性が疑われた。2 名はプラナルカストの副作用がうたがわれる軽微な症状 (頭痛、皮疹) のため投薬を中止した。服薬中止後にはこれらの症状は速やかに消失した。1 名は投与期間中に喘息症状が悪化し経口ステロイド薬投与が必要となったが、この症例はプラナルカストに対するノンレスポンドと判定した。

健康者 (n = 94) および喘息患者 (n = 149) における γ グルタミルロイコトリエナーゼのエクソン 4 内のサイレント変異 T459C 多型の頻度は 14.9%、12.4%、エクソン 7 内のミスセンス変異 A989G 多型 (K330R) の頻度は 19.1%、18.8% であった。ジペプチダーゼ遺伝子のミスセンス変異 G1051C (E351Q) 多型の頻度は 29.2%、29.9% であった。いずれの遺伝子多型についても健康人と喘息患者における頻度に有意差は認められなかった。

γ グルタミルロイコトリエナーゼ T459C 多型を

もつ患者 12 例ではプラシルカストによる一秒量改善率が $15.9 \pm 6.3\%$ であり、同変異をもたない 36 例の一秒量改善率 $3.6 \pm 2.4\%$ よりも有意に高値をしめした ($p < 0.05$)。なお、この 2 群間でサルブタモールに対する気道可逆性には有意差を認めなかった (一秒量改善率 $17.3 \pm 2.0\%$ 対 $19.5 \pm 2.1\%$)。ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型と γ グルタミルロイコトリエナーゼ T459C 多型のいずれももたない症例、いずれか一方のみもつ症例、両方持つ症例のプラシルカストによる一秒量改善率は $1.9 \pm 2.5\%$ 、 $8.3 \pm 4.0\%$ 、 $24.2 \pm 10.6\%$ であり ($p < 0.05$)、プラシルカスト投与によって 10% 以上の一秒量改善を示した症例の比率はそれぞれ 15%、33%、83% であった ($p < 0.005$)。

γ グルタミルロイコトリエナーゼ A989G 多型 (K330R) の場合にもサルブタモール反応性に有意差を認めなかった (一秒量改善率 $18.2 \pm 2.0\%$ 対 $17.0 \pm 2.2\%$) が、プラシルカスト反応性は T459C 多型と逆に変異をもたない 33 例 (一秒量改善率 $10.2 \pm 3.3\%$) よりも変異をもつ 15 例 (一秒量改善率 $-1.1 \pm 1.9\%$) の方が有意に低値であった ($p < 0.05$)。プラシルカスト投与によって 10% 以上の一秒量改善を示したのは A989G 多型をもたない患者 33 名中 14 名 (42%) であったのに対し、A989G 多型をもつ患者では 15 名中全く認められなかった ($p < 0.005$)。

ジペプチダーゼ遺伝子の G1051C (E351Q) 多型とプラシルカストに対する反応性には明らかな関連が認められなかった。

D. 考察

ザフィルルカスト、モンテルカスト、プラシルカストが作用する cysLT₁ 受容体にはロイコトリエン C₄ とロイコトリエン D₄ とともにリガンドとして作用する。今回、ロイコトリエン C₄ からロイコトリエン D₄ への代謝に関与する γ グルタミルロイコトリエナーゼの遺伝子多型がプラシルカスト反応性と関連していたこと、ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子の A(-444)C 多型と組み合わせることによりプラシルカスト反応性への影響がさらにはっきりしたことは大変興味深い。ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型と γ グルタミルロイコトリエナーゼの遺伝子 T459C 多型は機能的ハプロタイプを形成していると考えられる。

なお T459C 多型はサイレント変異であり、それ

自体が酵素活性を変化させるとは考えられないので近傍に存在する何らかの遺伝子多型と連鎖不平衡にあることが考えられる。プラシルカスト反応性との関連がみられたミスセンス変異である A989G 多型は T459C 多型と連鎖不平衡状態にはなく、今後、プロモーター領域やイントロン領域の遺伝子多型の検討が必要と考えられた。今後引き続き症例数を増やして検討する必要があると考えられた。

E. 結論

LTC₄ を LTD₄ に変換する γ グルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子の複数の多型 (T459C, A989G) が臨床効果と関連することを見いだした。これをロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型と組み合わせることによりさらに臨床効果をよく反映する可能性も示唆され、今後さらに対象を軽症喘息、小児喘息、鼻アレルギーなどに広げて検証する意義があると考えられた。

研究協力者

白石良樹 財団法人日本予防医学協会非常勤職員
(リサーチレジデント)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. K. Asano, T. Shiomi, N. Hasegawa, H. Nakamura, H. Kudo, T. Matsuzaki, H. Hakuno, K. Fukunaga, Y. Suzuki, M. Kanazawa, and K. Yamaguchi. Leukotriene C₄ synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a Cys-LT₁ antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics* 12: 565-570, 2002.
2. T. Oguma, K. Asano, T. Shiomi, K. Fukunaga, Y. Suzuki, M. Nakamura, H. Matsubara, H. Sheldon, K. Haley, C. M. Lilly, J. M. Drazen, and K. Yamaguchi. Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea pig lungs. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 165: 382-386, 2002.

3. 浅野浩一郎 アラキドン酸代謝酵素遺伝子多型と喘息治療薬の効果 炎症と免疫 10 (2), 157-163, 2002
4. 浅野浩一郎 抗ロイコトリエン薬の薬理遺伝学 喘息 15 (3), 53-56, 2002
5. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (1) アレルギーの臨床 22 (6), 486-489, 2002
6. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (2) アレルギーの臨床 22 (7), 562-565, 2002
7. 浅野浩一郎 臨床アレルギーの入門講座 Pharmacogenetics (3) アレルギーの臨床 22 (10), 812-814, 2002
8. 浅野浩一郎 β_2 アドレナリン受容体刺激薬と遺伝子多型 呼吸 21 (7), 647-652, 2002
9. 浅野浩一郎 喘息治療における薬理遺伝学 呼吸と循環 50 (9), 935-939, 2002
10. 浅野浩一郎 気管支喘息と脂質メディエーター遺伝子 アレルギー・免疫 9 (10), 1207-1211, 2002
11. 浅野浩一郎 アレルギー疾患の Pharmacogeneticsの新展開 最新医学 58 (2), 245-250, 2003
12. 浅野浩一郎 遺伝子多型と抗喘息薬の有効性 分子呼吸器病 7 (2), 106-113, 2003

学会発表

1. K Asano, Y. Suzuki, T. Shiomi, T. Nakajima, H. Kudoh, T. Matsuzaki, W. Yamada, R. Hiraoka, K. Yamaguchi, A. Nagabukuro, Y. Harada Airway Responsiveness to β -agonist and β_2 -adrenoceptor Gene Polymorphisms 60th AAAAI Annual Meeting, 2003.3
2. 浅野浩一郎 喘息治療における5リポキシゲナーゼおよびロイコトリエン C_4 合成酵素遺伝子多型の意義 第14回日本アレルギー

学会春期臨床大会サテライトシンポジウム(気道アレルギーにおける抗ロイコトリエン療法の基礎と臨床) 2002.3 千葉.

3. 浅野浩一郎 これからの喘息薬物治療—喘息治療ガイドラインからテーラーメイド医療へ— 第4回奈良喘息フォーラム 2002.3 奈良.
4. 鈴木雄介、浅野浩一郎、福永 興彦、塩見哲也、山口佳寿博 ヒト気管支平滑筋細胞に発現するトロンボキサン受容体について 第42回日本呼吸器学会総会 2002.4 仙台
5. 浅野浩一郎 β_2 刺激薬反応性と β_2 受容体遺伝子多型 第52回日本アレルギー学会総会 2002.11 横浜.
6. 浅野浩一郎 ケモカインとケモカイン受容体の遺伝子多型 第52回日本アレルギー学会総会シンポジウム(アレルギー性疾患におけるケモカインの意義) 2002.11 横浜.
7. 浅野浩一郎、塩見哲也、鈴木雄介、他9名 抗コリン薬反応性を規定する遺伝因子の検討 第43回日本呼吸器学会総会 2003.3 福岡
8. 鈴木雄介、浅野浩一郎、塩見哲也、中島剛、山口佳寿博 ヒト気管支平滑筋細胞増殖におけるトロンボキサン A_2 の作用 第43回日本呼吸器学会総会 2003.3 福岡
9. 中島 剛、浅野 浩一郎、福永 興彦、鈴木 雄介、塩見 哲也、山口 佳寿博 末梢血好中球機能と血小板活性化因子(PAF)受容体遺伝子多型 第43回日本呼吸器学会総会 2003.3 福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

日本人喘息患者におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の薬物動態と臨床効果

分担研究者 山口 佳寿博

慶應義塾大学医学部 呼吸循環器内科 助教授

研究要旨

薬理作用は大きく分けて 2 つの因子によって規定される。ひとつは、一定量の薬物の投与により血中（組織中）濃度がどのレベルに達するか（薬物動態、pharmacokinetics）であり、もうひとつは一定の血中濃度の薬物に対して生体がいかに反応するか（薬力学、pharmacodynamics）である。薬物動態には吸収、分布、代謝、排泄の各相で様々な因子が関与するが、その中でも薬物代謝酵素の遺伝子は非常に多型性に富んでいる。ところが今まで喘息治療薬と薬物代謝酵素遺伝子との関連を詳細に検討した報告はほとんどみられない。そこで昨年度にプラナルカスト投与試験を行った喘息患者について薬物動態と臨床効果を比較し薬物動態関連遺伝子についての検討が必要かどうかを調査した。その結果、単回投与では血中濃度に大きな個体差がみられたが連続投与時には血中濃度のばらつきは小さく、プラナルカストに関しては薬物動態関連遺伝子の検討は必要ないと考えられた。

A. 研究目的

薬物治療によって期待している効果が得られない難治性喘息症例を診た場合には、診断が間違っていないか、気道リモデリングなどによって不可逆性の気流閉塞をきたしていないかを考慮すると同時に、その患者にとってその薬剤の選択が適切であったかどうか、また薬剤の投与量が十分であったかどうかを検討する必要がある。喘息治療薬に限らずどのような薬剤においても薬理作用（あるいは副作用）にはかなりの個体差がみられるが、その個体差には遺伝的要因も重要な役割を果たしており、喘息患者においてみられる薬物反応性の個体差の 60-80%は遺伝的に規定されていると試算されている。

薬理作用は大きく分けて 2 つの因子によって規定される。ひとつは、一定量の薬物の投与により血中（組織中）濃度がどのレベルに達するか（薬物動態、pharmacokinetics）であり、もうひとつは一定の血中濃度の薬物に対して生体がいかに反応するか（薬力学、pharmacodynamics）である。

薬物動態には吸収、分布、代謝、排泄の各相で様々な因子が関与するが、その中でも薬物代謝酵素の遺伝子は非常に多型性に富んでいる。一例を挙げるとプロトンポンプ阻害薬オメプラゾールの代謝にはチトクローム P450 の一つである CYP2C19 が重要であるが、その遺伝子の多型により酵素活性が低下している poor metabolizer

（東洋人の 15-25%）と酵素活性の亢進している extensive metabolizer（東洋人の 30-40%）間の AUC の違いは 6 倍以上になる。そのため胃十二指腸潰瘍患者のオメプラゾールとアモキシシリンを用いた場合のピロリ菌除菌効率は poor metabolizer でほぼ 100%であるのに対し、extensive metabolizer では 50%程度の患者しか除菌できない。このような薬物動態の違いを理解しておかないと有効な薬物治療はなしえない。ところが今まで喘息治療薬と薬物代謝酵素遺伝子との関連を詳細に検討した報告はほとんどみられない。

平成 13 年度の研究においてわれわれは 2 つのロイコトリエン合成系酵素（5 リポキシゲナーゼ、ロイコトリエン C₄ 合成酵素）の遺伝子多型を用いてロイコトリエン受容体拮抗薬（プラナルカスト）の効果を予測できないか検討した。その結果、ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 5'上流領域の一塩基置換 A(-444)C とロイコトリエン受容体拮抗薬の治療反応性との関連が示唆された。ロイコトリエン C₄ 合成酵素遺伝子 A(-444)C 多型ではロイコトリエン産生が亢進することが in vitro の実験結果で報告されていることから、昨年度のわれわれの結果はロイコトリエン量が多い喘息患者ほどロイコトリエン受容体拮抗薬が奏功しやすい、という仮説を支持している。ただし、この検討では薬理作用を規定する 2 つの因子（薬物動態、薬力学）のうち薬力学的評価

のみを行っており、C(-444)アレルをもつにもかかわらずプラナルカストに反応しなかった患者において十分な血中薬物濃度が得られていなかった可能性があるのではないかと仮説のもとに今回の検討を行った。

プラナルカストの代謝は主にチトクロームP450に属するCYP3A群の酵素によって肝臓で行われる。CYP3A群の中で最も活性の高いCYP3A4の遺伝子には酵素活性を変化させる多型は認められない。しかしほぼ同じ基質選択性をもつCYP3A5には酵素活性を変化させる多型があることが最近報告された。

そこで今回われわれは健常人及び喘息患者においてプラナルカストの薬物代謝の個体差がどの程度存在するかを検討し、さらに薬物代謝の個体差が薬剤反応性に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

1. 対象

日本人健常成人8名(男6名、女2名、年齢29-41歳)および平成13年度の研究に参加した日本人中等症-重症喘息患者50名のうち、同意の得られた37名(男21名、女16名、年齢35-75歳)を対象とした。

被験者に対して慶應義塾大学医学部治験審査委員会の承諾を得た説明同意文書を用いて説明を行い、書面での同意を得た。

(2) プラナルカスト投与試験

1. 単回投与試験

i) 食前投与方法

健常成人8名にプラナルカスト(オノンカプセル)225mgを朝食前に投与し、服薬1、2、4時間後に採血を行った。

ii) 食後投与方法

健常成人7名にプラナルカスト(オノンカプセル)225mgを朝食30分後に服用させた。4時間後に昼食を摂取させた後、服薬5、8、11時間後に採血を行った。

2. 連続投与試験

喘息患者37名にプラナルカスト(オノンカプセル)225mgを一日2回、3日間服薬させたのち、4日目の朝食30分後にプラナルカスト225mgを服用させた。4時間後に昼食を摂取させた後、服薬5、7時間後に採血を行った。

これらの喘息患者でのプラナルカスト反応性の指標としては、昨年度にプラナルカスト投与開始前と4週間連用後に肺機能検査を行い、一秒

量改善率をプラナルカストの臨床効果の指標として検討したときのデータを使用した。

(3) プラナルカスト血中濃度の測定

日本医学臨床検査研究所に委託し、高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトリー法により測定を行った。

(4) 統計解析

結果は平均値±標準誤差で表した。レスポンドーとノンレスポンドーの血中濃度はStudent's t検定により行った。

C. 研究結果

食前投与では8名中3名においてプラナルカスト血中濃度は有効濃度(100 ng/ml)に到達しなかった。食後投与では7名中6名においてプラナルカスト血中濃度は服薬5-8時間後に有効濃度(100 ng/ml)をこえる値(261-1815 ng/ml)に達し、服薬11時間後には全例150 ng/ml以下まで低下した。1例では服薬5時間後でもプラナルカスト血中濃度は47 ng/mlまでしか上昇せず、服薬8、11時間後には検出限界以下まで低下した。

喘息患者37名のうち33名で測定が終了し、慢性肝炎による肝機能障害が認められた症例を除く32例で解析を行った。1例を除き全例でプラナルカスト血中濃度は有効濃度(100 ng/ml)をこえていた。プラナルカストの4週間服薬で10%以上の一秒量改善を示したレスポンドー(n=10)の服薬後5時間、7時間のプラナルカスト血中濃度は525±109 ng/ml、268±76 ng/mlであったのに対し、ノンレスポンドー(n=22)の服薬後5時間、7時間のプラナルカスト血中濃度は758±131 ng/ml、442±76 ng/mlであった(有意差なし)。

D. 考察

健常者への単回投与試験では8名中1-3名(14-42%)においてプラナルカスト血中濃度が有効濃度に到達しなかったことから、プラナルカストに対する反応性低下の要因として薬物動態が関与する可能性が示唆された。そこで症例数を増やし喘息患者で4日間連続投与による検討を行った。その結果32例中1例(3%)のみ5時間値105 ng/ml、7時間値97 ng/mlと血中濃度の上昇が不十分な症例が認められたが、97%の症例では十分な血中濃度が得られていた。またプラナルカストに対するレスポンドー、ノン

レスポナー間でプラナルカスト血中濃度の違いは認められなかった。

E. 結論

プラナルカスト連続投与時には血中濃度のばらつきは小さく、臨床効果との関連もみられないことから、プラナルカストに関しては薬物動態関連遺伝子の検討は必要ないと考えられた。

研究協力者

白石良樹 財団法人日本予防医学協会非常勤職員
(リサーチレジデント)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Itoh, Y., Oyamada, Y., Hakuno, H. and Yamaguchi, K.: Morphological analysis of developmental changes in pontine noradrenergic neuronal groups in the neonatal rat. *Brain Res.* 925(1):107-109, 2002.
2. Oguma, T., Asano, K., Shiomi, T., Fukunaga, K., Nakamura, M., Matsubara, H., Lilly, C.M., Drazen, J.M. and Yamaguchi, K.: Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea pig lungs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165(3):382-386, 2002.
3. Hasegawa, N., Miura, T., Ishii, K., Yamaguchi, K., Lindner, TH., Merritt S., Matthews, JD. and Siddiqi, SH.: A new simple and rapid test for culture confirmation of *M. tuberculosis* - A multi-center study. *J. Clin. Microbiol.* 40(3):908-912, 2002.
4. Hasegawa, N., Miura, T., Yamaguchi, K. and Ishii, K.: Detection of mycobacteria in patients with pulmonary tuberculosis undergoing chemotherapy using MGIT and egg-based solid medium culture systems. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 6(5):447-453, 2002..
5. Naoki, K., Suzuki, K., Kudo, H., Takeshita, K., Miyao, N., Ishii, M., Sato, N., Suzuki, Y., Tsumura, H. and Yamaguchi, K.: Constitutive isoforms of NOS and COX

mediate abnormal microvessel responses to CO₂ and H⁺ in hyperoxia-injured lungs. *Eur. Respir. J.* 20(1):43-51, 2002.

6. Asano, K., Hasegawa, N., Nakamura H., Kudo, H., Matsuzaki, T., Hakuno, H., Fukunaga, K., Shiomi, T., Suzuki, Y., Kanazawa, M. and Yamaguchi, K.: Leukotriene C₄ synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a cys-LT₁ antagonist, Pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics* 12:565-570, 2002.
7. Terashima, T., Amakawa, K., Matsumaru, A. and Yamaguchi, K.: Correlation between cysteinyl leukotriene release from leukocytes and clinical response to a leukotriene inhibitor. *Chest* 122(6):1566-1570, 2002.
8. 福永興彦、山口佳寿博：喘息の薬理遺伝学、副腎皮質ステロイド薬-グルココルチコイド受容体遺伝子変異と喘息治療の可能性-、*喘息* 15(3):73-77, 2002.
9. 仲村秀俊、峰松直人、山口佳寿博：COPD発症と遺伝子変異の関連、*呼吸器科* 1(3):242-248, 2002.
10. 山口佳寿博：慢性細気管支炎に対する新たな分類の試み-間質性肺炎との接点を求めて、*呼吸と循環* 50(5):453-462, 2002.
11. 山口佳寿博：喘息の診断のプロセス、*ドクターサロン* 46(8):608-613, 2002.
12. 山口佳寿博：COPDの遺伝子多型、*THE LUNG perspectives* 10(3):372-375, 2002
13. 山口佳寿博、仲村秀俊、峰松直人、中島隆裕：慢性閉塞性肺疾患の新しい診断的アプローチ-遺伝子多型からみたハイリスクグループの特定、*現代医療(特集：慢性閉塞性肺疾患-基礎と臨床)* 34(9):2205-2213, 2002.
14. 仲村秀俊、山口佳寿博：COPDの急性増悪の薬物療法、*最新医学(特集：日本の慢性閉塞性肺疾患(COPD)の現状と GOLDのインパクト)* 57(1C):2341-2344, 2002

学会発表

1. Yamaguchi, K., Nakamura, H., Minematsu, N., Nakajima, T.: Genetic polymorphism of various proteases is associated with development of smoking-induced pulmonary emphysema. (International Program of the 42th Annual Meeting of the Japanese Respiratory Society, Sendai,

- Japan, 2002).
2. Yamada, Y., Tasaka, S., Ishizaka, A., Koh, H., Hasegawa, N., Shimizu, M., Terasawa, M. and Yamaguchi, K.: Effects of Rho-associated kinase inhibitor, Y-27632, on endotoxin-induced acute lung injury in mice. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 3. Tasaka, S., Ishizaka, A., Hasegawa, N., Koh, H., Yamada, W., Shimizu, M., Adachi, Y. and Yamaguchi, K.: CD14 blockade attenuates endotoxin-induced lung injury through suppressing macrophage function in mice. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 4. Shimizu, M., Hasegawa, N., Yamada, W., Koh, H., Ishizaka, A., Tasaka, S., Shimada, N., Ohotani, S., Ishii, K. and Yamaguchi, K.: Comparative evaluation in detecting *M. tuberculosis* complex by in-house PCR (Cobas-amplicor) and culture using MGIT system. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 5. Oyamada, Y., Hakuno, H., Ito, Y. and Yamaguchi, K.: Age-dependent excitatory effect of *Lucus coeruleus* on respiratory rate in isolated brainstem of neonatal rat. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 6. Minematsu, N., Nakamura H., Tateno, H., Nakajima, T. and Yamaguchi, K.: Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and pulmonary emphysema. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 7. Miyao, N., Takeshita, K., Suzuki, Y., Aoki, T., Nishio, K., Sato, N., Naoki, K., Kudo, H., Ishii, M., Tsumura, H. and Yamaguchi, K.: Impaired leukocyte kinetics in pulmonary microcirculation of ventilator-induced lung injury. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 8. Kudo, H., Naoki, K., Suzuki, Y., Nishio, K., Sato, N., Takeshita, K., Miyao, N., Aoki, T., Tsumura, H. and Yamaguchi, K.: Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction in hyperoxia-exposed rat lungs. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 9. Terashima, T. and Yamaguchi, K.: Effect of pranlukast on health-related quality of life in patients with moderate persistent asthma. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 10. Suzuki, Y., Takeshita, K., Nishio, K., Takeuchi, O., Toda, K., Kudo, H., Miyao, N., Ishii, M., Sato, N., Naoki, K., Aoki, T. and Yamaguchi, K.: Regulation of NF- κ B activation and TRAF expressions by hyperoxia in human pulmonary endothelial cells. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 11. Takeshita, K., Suzuki, Y., Nishio, K., Takeuchi, O., Toda, K., Aoki, T., Sato, N., Naoki, K., Kudo, H., Miyao, N., Ishii, M. and Yamaguchi, K.: Hypocapnic alkalosis activates NF- κ B in human pulmonary endothelial cells. (2002 ATS International Conference, Atlanta, Georgia, U.S.A.)
 12. Nakamura, H., Nakajima, T., Minematsu, N., Tateno, H., Ishizaka, A. and Yamaguchi K.: Detection of cathepsin S in epithelial lining fluid of COPD patients by bronchoscopic microsampling. (12th World Congress for Bronchology, Boston, MA, U.S.A., 2002)
 13. Ishii, M., Suzuki, Y., Takeshita, K., Miyao, N., Kudo, H., Aoki, T., Nishio, K., Naoki, K., Sato, N., Tsumura, H. and Yamaguchi, K.: Upregulation of nitric oxide synthase, cyclooxygenase, and heme oxygenase blunts the hypoxia-elicited pulmonary microvessel response in ischemia-reperfusion lung injury. (International Congress of European Respiratory Society, 12th ERS Annual Congress, Stockholm, Sweden, 2002).
 14. Nakajima, H., Nakamura, H., Tateno, H., Minematsu, N., Fujishima, S. and Yamaguchi, K.: Elevation of plasma cystatin C levels in patients with COPD. (International Congress of European Respiratory Society, 12th ERS Annual Congress, Stockholm, Sweden, 2002).
 15. 山口佳寿博：シンポジウム（呼吸機能障害の評価をめぐって）、日本人の呼吸機能正常値について、（12回日本呼吸管理学会学術集会、東京、7月、2002年）。
 16. 峰松直人、仲村秀俊、館野博喜、中島隆裕、山口佳寿博：日本人喫煙者における matrix metalloproteinase (MMP)-9 遺伝子多型と肺の気腫化、（42回日本呼吸器学会総会、仙台、2002、4月）
 17. 鈴木雄介、浅野浩一郎、福永興壺、塩見哲

也、山口佳寿博：ヒト気管支平滑筋細胞に発現するトロンボキサン受容体の作用について、（42 回日本呼吸器学会総会、仙台、2002、4 月）

18. 松崎達、寺嶋毅、松丸明子、天川和久、山口佳寿博：ディーゼル排気微粒子曝露による好中球細胞表面マーカーの発現と好中球内活性酸素の産生、（42 回日本呼吸器学会

総会、仙台、2002、4 月）

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

生体内ロイコトリエン量におよぼすロイコトリエン合成・代謝酵素遺伝子多型の影響

分担研究者 石坂彰敏
東京電力病院 検査科 科長

研究要旨

尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は体内でのシステイニルロイコトリエン産生量、呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は気道局所のシステイニルロイコトリエン産生量の指標として用いられる。それらの指標とロイコトリエン合成酵素（5リポキシゲナーゼ、ロイコトリエン C₄合成酵素）、ロイコトリエン代謝酵素遺伝子（ γ グルタミルロイコトリエナーゼ、ジペプチダーゼ）の遺伝子多型との関連について検討した。喘息患者 61 名の尿中ロイコトリエンは 321 pg/mg クレアチニン（相乗平均）であり、末梢血好酸球数と有意な相関を示した（ $p < 0.005$ ）。年齢、性別、末梢血好酸球数で補正した尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量はロイコトリエン代謝酵素ジペプチダーゼの E351Q 多型と弱い相関（ $p = 0.04$ ）を示したが、5リポキシゲナーゼ 5'上流領域 GC 繰り返し配列多型、ロイコトリエン C₄合成酵素 C(-444)A 多型、あるいは γ グルタミルロイコトリエナーゼ K330R 多型とは有意な相関を示さなかった。呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は 3.9 pg/ml（相乗平均）であったが、いずれの遺伝子多型とも有意な関連を認めなかった。

A. 研究目的

体内でのシステイニルロイコトリエン（ロイコトリエン C₄、ロイコトリエン D₄、ロイコトリエン E₄）産生量の指標として一般的に用いられる尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量には大きな個体差が存在する。健常人と比較して喘息患者では高い傾向があり、アスピリン喘息患者では非アスピリン喘息患者より高値を示すことが知られているが、それ以外に尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量を規定しているものが何であるかは不明である。システイニルロイコトリエン産生量の多い喘息患者ではロイコトリエン合成阻害薬（5リポキシゲナーゼ阻害薬）やロイコトリエン受容体拮抗薬の有効性が高いことが予測されることから、平成 13 年度の研究では尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量とロイコトリエン合成酵素（5リポキシゲナーゼ、ロイコトリエン C₄合成酵素）遺伝子多型との関連を検討したが、明らかな関連は認められなかった。

そこで今年度は尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量を規定する因子としてロイコトリエン C₄ からロイコトリエン D₄ へ代謝する γ グルタミルロイコトリエナーゼとロイコトリエン D₄ からロイコトリエン E₄ への代謝に関与する酵素であるジペプチダーゼに焦点をあてて検討を行った。 γ グルタミルロイコトリエナーゼは気管支上皮をはじめとした気道局所に分布しており、その代謝産物であるロイコトリエン D₄ はロイコトリエン C₄ とほぼ同等の cysLT1 受容体を介した作用がある。

これに対してジペプチダーゼは尿細管上皮に活性が高いことが知られている。

最近、呼気を冷却し、その中の水分に含まれるロイコトリエン量を測定することで気道内のロイコトリエン量を直接測定する手法が新しく開発された。この方法で測定した気道内ロイコトリエン産生量とロイコトリエン合成・分解酵素遺伝子多型についても検討を行った。

B. 研究方法

(1) 対象

中等量の吸入ステロイド薬（BDP 400-800 μ g）および経口、吸入気管支拡張薬の連用により 12 週間以上呼吸器症状が安定した状態にある日本人喘息患者 61 名からスポット尿と血液を採取した。DNA 採取・解析に関してはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）に基づき、慶應義塾大学医学部倫理審査委員会の承諾を得た説明書を用いて被験者の書面での同意を得た上で行った。サンプルは ID 化して保管し、被験者のプライバシーには特に留意した。

(2) 尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量の測定

10 ml の尿に ³H 標識ロイコトリエン E₄ を加えた上で逆相固相カラム（Sep-Pak C₁₈）を通し、精製水と 40%エタノールで洗浄した後に 80%エタ

ノールで抽出した。風乾後に逆相高速液体クロマトグラフィーでロイコトリエン E₄ 分画を分離抽出した。再度風乾後に ELISA 法によりロイコトリエン E₄ 濃度を測定した。尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は添加した³H 標識ロイコトリエン E₄ の回収率と尿中クレアチニン濃度で補正した。

(3) 呼気水中システイニルロイコトリエン量の測定

34 名の患者について EcoScreen (Jaeger 社) を用いて呼気水を採取した。鼻クリップを使用することにより鼻腔・副鼻腔内の空気の影響を除外し、安静換気下で 15 分間の呼気から呼気水を採取した。呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は ELISA 法により測定した。

(4) ロイコトリエン代謝酵素遺伝子多型

γグルタミルロイコトリエナーゼ T459C 多型は制限酵素 Nco I を用いた PCR-RFLP 法により、A989G 多型は BstNI を用いた PCR-RFLP 法により解析した。またジペプチダーゼ遺伝子 G1051C 多型は Taq I を用いた PCR-RFLP 法により解析した。

(5) 統計解析

尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は対数変換した上で統計処理を行い、相乗平均値と 95%信頼区間であらわした。尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量と年齢、性別、血清 IgE 値、末梢血好酸球数、吸入ステロイド量およびロイコトリエン代謝酵素遺伝子多型の有無との関連を多変量解析で検討した。

C. 研究結果

喘息患者 61 名の尿中ロイコトリエン E₄ 濃度は 321 pg/mg クレアチニン (相乗平均) であった。対数変換した尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は末梢血好酸球数と有意な相関を示した ($r = 0.4$, $p < 0.005$) ため、年齢、性別、末梢血好酸球数で補正した尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量についてロイコトリエン代謝酵素遺伝子多型との関連を検討した。補正尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は γグルタミルロイコトリエナーゼ T459C 多型、A989G 多型との間に有意な関連を示さなかったが、ジペプチダーゼの G1051C 多型と弱い相関 ($p = 0.04$) を示した。

呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は 3.9 pg/ml (相乗平均) であったが、ロイコトリエン合成・代謝酵素いずれの遺伝子多型とも有意な相関を認めなかった。

D. 考察

尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は生体内でのロイコトリエン産生量を反映する指標であるが、今までの検討ではロイコトリエン受容体拮抗薬に対する反応性との関連はあまり明確ではない。今回の検討で末梢血好酸球数とよく相関することが示され、尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量は気道局所以外でのロイコトリエン産生を反映している可能性が示唆された。その点で呼気水中のシステイニルロイコトリエン量は気道局所のロイコトリエン産生量を反映すると考えられたが、今回の検討では検出限界ぎりぎりの症例が多く、正確な評価が困難であった。今回の検討で呼気水中システイニルロイコトリエン濃度が低かった理由としては全例で吸入ステロイドを使用しているためと考えられる。

昨年度の検討では 5 リポキシゲナーゼあるいはロイコトリエン C₄ 合成酵素の遺伝子多型と尿中ロイコトリエン E₄ 排泄速度には全く関連がなかったが、今年度の検討でロイコトリエン D₄ からロイコトリエン E₄ への代謝に関与する酵素であるジペプチダーゼの G1051C 多型との間に相関が認められた。ジペプチダーゼは尿細管上皮に多く分布しており、必ずしも気道局所での生物活性が高いロイコトリエン C₄/D₄ と生物活性が低いロイコトリエン E₄ とのバランスを反映するとは限らない。このことも尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量がロイコトリエン受容体拮抗薬に対する反応性を反映しない理由の一つかもしれない。また喘息症状の安定した被験者で測定された尿中ロイコトリエン E₄ 排泄速度は基質であるアラキドン酸の供給量で規定されており、遺伝的に規定された 5 リポキシゲナーゼやロイコトリエン C₄ 合成・代謝酵素の活性の多寡は影響を及ぼさないのではないとも考えられる。しかし喘息気道局所で十分量の基質が供給されている場合には 5 リポキシゲナーゼやロイコトリエン C₄ 合成酵素、γグルタミルロイコトリエナーゼの酵素量がロイコトリエン産生量を規定する可能性がある。

昨年度および今年度の検討から、尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量よりもロイコトリエン合成・代謝酵素遺伝子の方が抗ロイコトリエン薬反応性をよく反映することが示された。これらの結果は薬理遺伝学的検討の妥当性を示唆している。

E. 結論

尿中ロイコトリエン E₄ 排泄量はロイコトリエン D₄ からロイコトリエン E₄ への代謝に関与するジペプチダーゼの遺伝子多型と弱い関連をしめした。