

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防 治療研究事業）
分担研究報告書

気管支喘息治療におけるプラナルカスト反応性とγグルタミルロイコトリエナーゼ遺伝子多型の関連

分担研究者氏名 小崎健次郎
慶應義塾大学医学部小児科 助教授

研究要旨 薬剤反応性と遺伝子多型の相関を調べる際、各多型を個別に評価するよりも、多型の組み合わせすなわちハプロタイプを評価する方が、統計学的な検出力が高い。そこで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の3つの遺伝子多型からなるハプロタイプと成人喘息患者におけるプラナルカストによる治療反応性について検討した。ハプロタイプ解析には Schaid らが開発した haplo score プログラムを使用した。年齢・性別・サルブタモール反応性で補正した Schaid らの Global score 値は 12.4 (p 値 = 0.029) であり、グルタミルロイコトリエナーゼ座位のハプロタイプとプラナルカスト反応性に有意な関連を認めた。ハプロタイプ 1-1-2 (アレル頻度 17.6%) ではプラナルカスト反応性が低く (ハプロタイプ特異的 p 値=0.038)、ハプロタイプ 2-2-1 (アレル頻度 4.8%) においてプラナルカスト反応性は高値となる傾向 (ハプロタイプ特異的 p 値=0.003) を認めた。ハプロタイプあるいは連鎖しているいずれの多型がγグルタミルロイコトリエナーゼの機能に影響を与えているかどうか検討が必要である。

A 研究目的

われわれ慶大グループはこれまでの研究により、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の遺伝子多型とプラナルカストによる治療反応性に関連があることを示した。γグルタミルロイコトリエナーゼの遺伝子領域内には3カ所の比較的ヘテロ接合性の高い多型が存在する。薬剤反応性と遺伝子多型の相関を調べる際、各多型を個別に評価するよりも、多型の組み合わせすなわちハプロタイプを評価する方が、統計学的な検出力が高いことが知られている。そこで、上記3カ所の多型からなるハプロタイプとプラナルカストに対する反応性の関連を評価した。

B 研究方法

日本人中等症喘息患者72名（男性45名、年齢26-75歳）に4週間のプラナルカスト投与試験を行い、一秒量改善率をプラナルカストの臨床効果の指標とした。さらに吸入β刺激薬サルブ

タモール（200 μg）を用いてサルブタモール反応性を測定した。末梢血より抽出したDNAを用い、γグルタミルロイコトリエナーゼのエクソン4のT459C多型、イントロン5のAT置換多型、エクソン7のA989G多型をPCR-RFLP法により解析した。ハプロタイプ解析には Schaid らが開発した、ハプロタイプ解析プログラム haplo score プログラムを、WindowsXP オペレーティング・システム上で使用した。Haplo score プログラムは、対象となる患者集団の中に存在するハプロタイプを最尤法により推定し、頻度の高いハプロタイプと被説明変数との関連を分析する。推定されたハプロタイプの頻度が0.5%未満であるハプロタイプを1群に纏めて検討した。本研究ではプラナルカスト反応性を被説明変数、グルタミルロイコトリエナーゼ座位のハプロタイプ（エクソン4のT459C多型・イントロン5のAT多型・エクソン7のA989G）を説明変数とし、年齢・性別について補正して解析した。さらに、サルブタモール反応性について

補正して解析した。

C 結果

年齢・性別について補正したとき、Schaid らの Global score 値は 10.6 で、 p 値 = 0.060 であり、グルタミルロイコトリエナーゼ座位のハプロタイプとプラナルカスト反応性に関連がある可能性が示唆された。年齢・性別・サルブタモール反応性について補正したとき、Schaid らの Global score 値は 12.4 で、 p 値 = 0.029 であり、グルタミルロイコトリエナーゼ座位のハプロタイプとプラナルカスト反応性に統計学的に有意な関連を認めた。1-1-2 のハプロタイプ（アレル頻度は 17.6%）においてプラナルカスト反応性が低値となる傾向を認めた（ハプロタイプ特異的 p 値=0.038）。一方、2-2-1 のハプロタイプ（アレル頻度は 4.8%）においてプラナルカスト反応性は高値となる傾向を認めた（ハプロタイプ特異的 p 値=0.003）。プラナルカストによる一秒量改善率が 10%以上である患者群を「反応群」、10%未満である群を「非反応群」として、ハプロタイプ解析を行うと 1-1-2 のハプロタイプにおいてプラナルカスト反応性が低値となる傾向を認めた（ハプロタイプ特異的 p 値=0.0096）。一方、2-2-1 のハプロタイプにおいてプラナルカスト反応性は高値となる傾向を認めた（ハプロタイプ特異的 p 値=0.039）。

D 考察

プラナルカスト反応性の一部が γ グルタミルロイコトリエナーゼの遺伝子多型で説明できる可能性が示唆された。約 20%の頻度をしめる 1-1-2 のハプロタイプの患者でプラナルカスト反応性

が低く、約 5%の頻度をしめる 2-2-1 のハプロタイプの患者でプラナルカスト反応性が高い傾向を認めた。プラナルカスト治療開始前にこれらのハプロタイプに基づいて治療反応性を予測できるかどうか、前方視的検討が必要である。ハプロタイプ（エクソン 4 の T459C 多型・イントロン 5 の AT 多型 エクソン 7 の A989G）のいずれかの多型が、 γ グルタミルロイコトリエナーゼの機能に影響を与えているかどうか検討が必要である。また、1-1-2 ないし 2-2-1 と連鎖している他の多型が同酵素の機能に影響を与えている可能性もあり、1-1-2 の患者のゲノム DNA の配列をプロモータ領域も含めて評価する必要がある。

E 結論

成人喘息患者でみられるグルタミルロイコトリエナーゼのハプロタイプと抗ロイコトリエン薬の有効性に関連が認められた。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

今後発表予定

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

CysLT₂ 受容体が抗炎症性シグナルを惹起する可能性についての検討

分担研究者 石井 聡

東京大学大学院 医学系研究科 生化学分子生物学講座 細胞情報部門 助手

研究要旨

システイニルロイコトリエン（ロイコトリエン C₄ とロイコトリエン D₄）には二種類の特異的受容体 CysLT₁ と CysLT₂ が存在する。新規喘息薬のターゲットともなっている起炎症性の CysLT₁ 受容体とは異なり、CysLT₂ 受容体の細胞内シグナル伝達機構が抗炎症性に働く可能性を検証するために、CysLT₂ 受容体欠損マウスの作製を試みた。その結果、C57BL/6 マウス由来の特殊な ES を使って、CysLT₂ 受容体欠損 C57BL/6 マウスを得ることができた。今後、このマウスを使って CysLT₂ 受容体の機能が明確に示されると期待される。

A 研究目的

ロイコトリエン(LT)は細胞膜の構成成分であるアラキドン酸から生合成される強力な生理活性脂質である。中でも LTC₄ とその派生物である LTD₄ は気道平滑筋収縮作用や炎症惹起作用を持ち、システイニル LT と総称される。これら二つのシステイニル LT は親和性に違いがあるものの、ともに二種類の G タンパク質共役型受容体 (CysLT₁ と CysLT₂) を介して細胞に作用を及ぼす。ヒト CysLT₁ 受容体は近年開発されたプラナルカスト等の喘息薬によって拮抗されることが示され、CysLT₁ 受容体を介したシステイニル LT の喘息への関与が明らかとなっている。しかし CysLT₂ 受容体に関しては、特異的なアゴニストやアンタゴニストが未だ開発されておらず、生体内での機能は明らかになっていない。

LTC₄ やアラキドン酸の投与によってマウスの皮膚や腹腔内に炎症を惹起すると、C57BL/6 マウスに比へ 129 マウスの方が有意に重い症状を呈することが報告されている (Goulet ら、*J Immunol* 2000)。二つの近郊系マウス間におけるこの反応性の違いの原因は未だ明らかになってはいない。私は昨年度に CysLT₁ と CysLT₂ 受容体のアミノ酸配列に大きな違いがないことを報告した。さらに、129 マウスではレトロトランスポゾン L1 の挿入により C57BL/6 マウスよりも CysLT₂ 受容体 mRNA の発現低下が起きており、この現象が 129 マウスにおける LTC₄ やアラキドン酸への反応性亢進の原因である可能性も指摘した (図 1)。この可能性は、言い換えると

「起炎症性物質として従来知られてきたシステイニル LT が CysLT₂ 受容体に作用すると抗炎症性に働く可能性」となり興味深い。129 マウスと C57BL/6 マウスは同じ「マウス」ではあるものの、両者の間には数多くの遺伝的多型が存在する。したがって、両マウスを直接比較して反応性亢進の原因を遺伝学的に究明するのは困難である。そこで本年度の研究では、CysLT₂ 受容体欠損マウスの作製を行い、上記の可能性を検証することとした。

B 研究方法

1) DNA クローニング

ヒト CysLT₂ 受容体遺伝子 DNA (ORF の全長) をプローブとして、129 マウスのゲノムライブラ

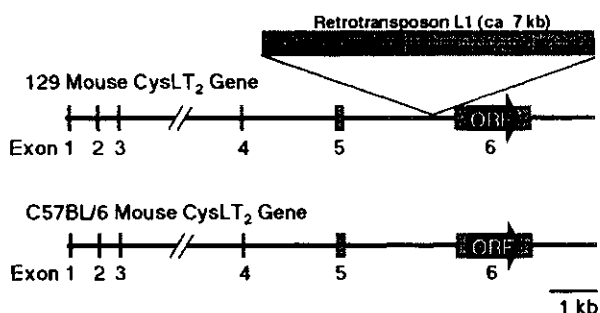


図 1 129 マウスと C57BL/6 マウスの CysLT₂ 受容体遺伝子構造の概略図

数字はエクソンを示す。タンパク質をコードする ORF (太い矢印) は全てエクソン 6 にある。129 マウスではエクソン 6 の直上流のイントロン内にレトロトランスポゾン L1 が挿入している。

リーについてブランクハイブリダイゼーションを行い、129 マウスの CysLT₂ 受容体 ORF を含むゲノム DNA をクローニングした。さらにこの 129 マウスの CysLT₂ 受容体 ORF をプローブにして C57BL/6 マウスのゲノムライブラリーについてブランクハイブリダイゼーションを行い、

CysLT₂ 受容体 ORF を含むゲノム DNA をクローニングした。

2) ターゲティングベクターの構築

二つのマウス CysLT₂ 受容体 DNA クローンのそれぞれをもとに、ネオマイシン耐性遺伝子とジフテリア毒素遺伝子を組み込んだターゲティ

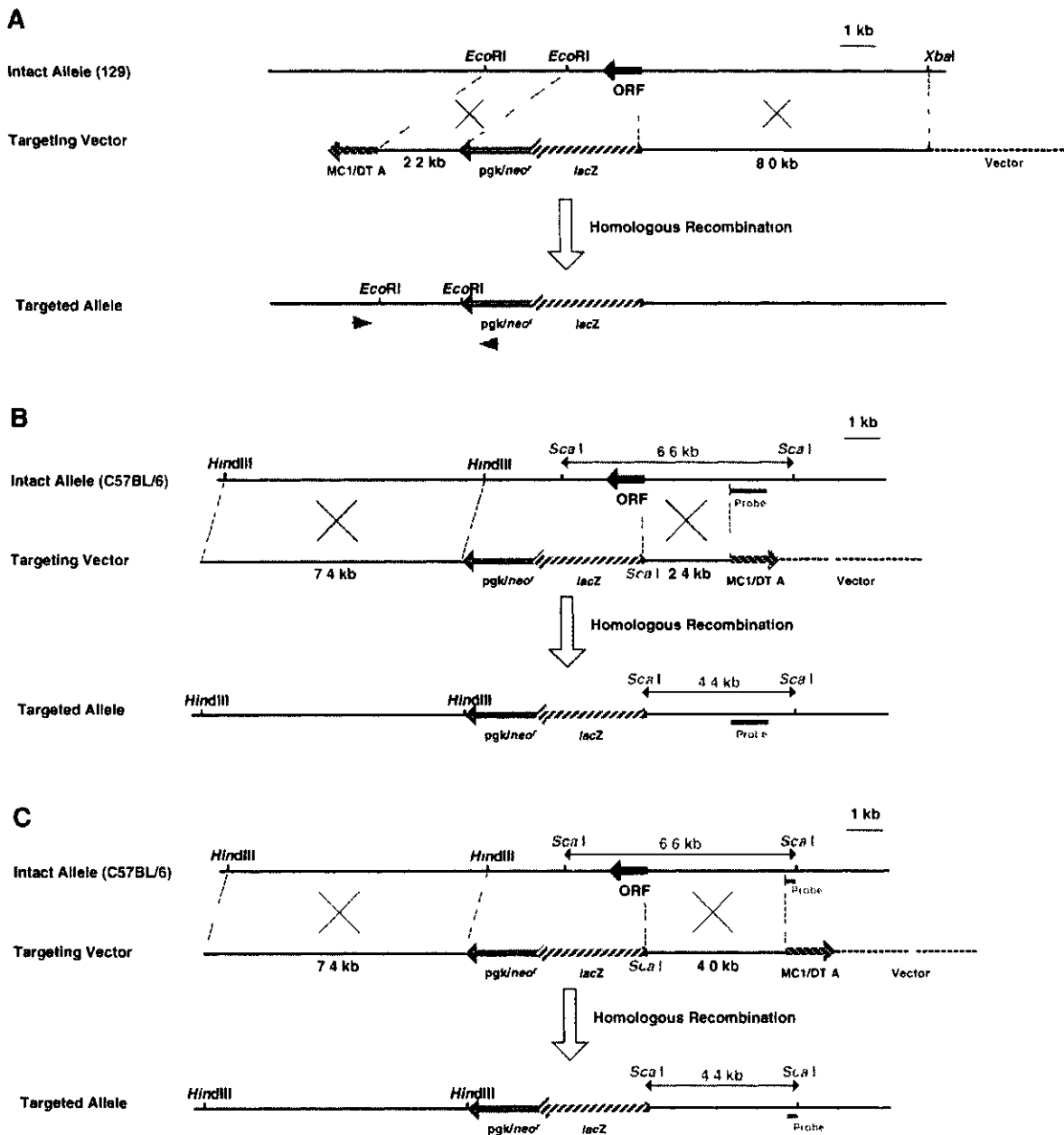


図2 各種ターゲティングベクターの構造と予想される相同組換え

A 129 マウス由来のゲノム DNA を基に構築したターゲティングベクター。ES 細胞をスクリーニングするための PCR プライマーの位置を矢印で示している。B C57BL/6 マウス由来のゲノム DNA を基に構築した一つのターゲティングベクター。ES 細胞をスクリーニングするためのプローブの位置と長さを "probe" の表記で示す。ゲノム DNA と相同領域の長さは 7.4 kb + 2.4 kb である。相同組換え体は 6.6 kb に加え、4.4 kb のハイブリダイゼーションハンドを持つ。C C57BL/6 マウス由来のゲノム DNA を基に構築した二つ目のターゲティングベクター。ゲノム DNA と相同領域の長さは 7.4 kb + 1.0 kb であり、B よりも 1.6 kb 長い。やはり相同組換え体は 6.6 kb に加え、4.4 kb のハイブリダイゼーションハンドを持つ。

ングベクターを構築した(図2)。

3) ES細胞のスクリーニング

ES細胞株は、129マウス由来のターゲティングベクターに対してはC57BL/6マウスとCBAマウスの雑種由来のTT2株を、C57BL/6マウス由来のターゲティングベクターに対してはC57BL/6マウス由来のRENKA株を用いた。ES細胞へのターゲティングベクターの導入はエレクトロポレーションによって行った。ネオマイシン耐性の各ESクローンからゲノムDNAを抽出し、TT2株ではPCRによって、またRENKA株ではサザンハイブリダイゼーションによって相同組換え体のスクリーニングを行った。サザンハイブリダイゼーションでは、ターゲティングベクターの5'隣接領域のゲノムDNAをプローブとした(図2)。相同組換え体のさらなる確認には、3'隣接領域のゲノムDNAとネオマイシン耐性遺伝子をプローブとして、サザンハイブリダイゼーションを行った。

C 研究結果

マウスCysLT₂遺伝子をジーンターゲティングするための第一の試みとして、129マウス由来のゲノムDNAで作製したCysLT₂遺伝子のターゲティングベクター(図2A)を、C57BL/6マウスとCBAマウスの雑種由来のES細胞(TT2株)に導入した。ネオマイシン耐性のクローンをPCRによって777個スクリーニングしたが、相同組換え体は一つも得られなかった。全長約7.2kbpレトロトランスポゾンL1が129マウスでのみ挿入している、という結果がその後得られたので(図1)、次のシーンターゲティングの試みとして、C57BL/6マウス由来のゲノムDNAでタ

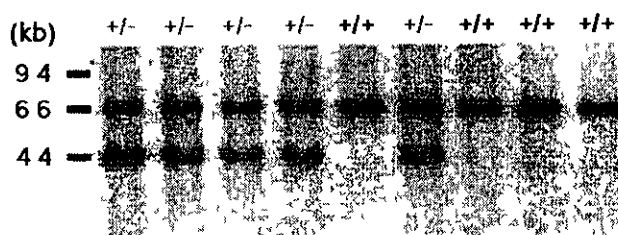


図3 相同組換えES細胞由来のマウスの遺伝子型

尾からゲノムDNAを抽出し、電気泳動後サザンハイブリダイゼーションを行った。プローブは図2Cに示したものをを用いた。+/+は野生型、+/-はヘテロ欠損マウスを示す。約4.4kbのバンドは組換えをしたCysLT₂遺伝子に由来する。

ーゲティングベクターを構築し直した(図2B)。

このベクターを新潟大学脳研究所崎村教授が樹立した特殊なC57BL/6マウス由来のES細胞(RENKA株)に導入した。727個のネオマイシン耐性クローンをサザンハイブリダイゼーションでスクリーニングしたが、相同組換え体は得られなかった。そこで図2Cの新しいターゲティングベクター、すなわちゲノムDNAと相同領域の長さを7.4kb+2.4kbから7.4kb+4.0kbに延長したベクターを構築して用いたところ、463個のネオマイシン耐性クローンから相同組換え体を1個得ることができた。その後、この相同組換えES細胞が生殖系列に伝達されたキメラマウスからヘテロ遺伝子欠損マウスが得られた(図3)。

D 考察

レトロトランスポゾンL1はマウスゲノム全体で10万コピー以上存在しているため、相同組換えを利用してマウスCysLT₂遺伝子を破壊するにはターゲティングベクター内にレトロトランスポゾンL1の配列が含まれていないはずである。実際、129マウス由来のゲノムDNAで構築したターゲティングベクターでは、組換え体が全く得られなかった。一方、レトロトランスポゾンL1の配列が含まれていないC57BL/6マウスのゲノムDNAで構築したターゲティングベクターではC57BL/6マウス由来のES細胞では、組換え体の取得に成功している。この組換え体ES細胞由来のホモ遺伝子欠損マウスは近日中に得られる見込みなので、このマウスに対し炎症反応(喘息、慢性閉塞性肺疾患、間質性肺炎、細菌性肺炎、嚥下性肺炎等おもに呼吸器系の炎症)を惹起してCysLT₂受容体が抗炎症性の細胞内シグナル伝達を活性化する可能性を*in vivo*で検討する予定である。また、マクロファージや線維芽細胞等、CysLT₁とCysLT₂の両受容体が発現している細胞において、システインLTへの反応性に異常が現れていないかについても*in vitro*の実験で確かめる予定である。

E. 結論

RENKA株から得られたホモ遺伝子欠損マウスの遺伝学的な背景は、戻し交配をしなくても始めからC57BL/6マウスのもので同一である。したがって、遺伝学的背景の個体差に起因する実験データのばらつきが無いこのような欠損マウ

スを使えば、CysLT₂ 受容体の機能について明確な結果が得られると期待される。

F 健康危険情報

なし

研究協力者

野口響子 東京大学大学院医学系研究科生化学分子生物学教室 大学院生

崎村建司 新潟大学脳研究所基礎神経科学部門細胞神経生物学分野 教授

清水孝雄 東京大学大学院医学系研究科生化学分子生物学教室 教授

G 研究発表

1) 論文発表

- 1 Vogensen, S B , Strømgaard, K , Shindou, H , Jaracz, S , Suehiro, M , Ishii, S., Shimizu, T , and Nakanishi, K (2003) Preparation of 7-substituted ginkgolide derivatives potent platelet activating factor (PAF) receptor antagonists *J Med Chem.* 46, 601-608
- 2 Nagase, T , Uozumi, N , Aoki-Nagase, T , Terawaki, K , Ishii, S., Tomita, T , Yamamoto, H , Hashizume, K , Ouchi, Y , and Shimizu, T (2003) A potent inhibitor of cytosolic phospholipase A₂, arachidonyl trifluoromethyl ketone, attenuates LPS-induced lung injury in mice *Am. J Physiol* 284, L720-L726
- 3 Noguchi, K , Ishii, S., and Shimizu, T (2003) Identification of p2y₉/GPR23 as a novel G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid, structurally distant from the Edg family *J Biol Chem* 278, 25600-25606
- 4 Tokuoka, S M , Ishii, S., Kawamura, N , Satoh, M , Shimada, A , Sasaki, S , Hirotsune, S , Wynshaw-Boris, A , and Shimizu, T (2003) Involvement of platelet-activating factor and LIS1 in neuronal migration *Eur J Neurosci* 18, 563-570
- 5 Talvani, A , Santana, G , Barcelos, L S , Ishii, S., Shimizu, T , Romanha, A J , Silva, J S , Soares, M B P , and Teixeira, M M (2003) Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in platelet-activating factor-deficient mice *Microb Infect* 5, 789-

796

- 6 Souza, D G , Pinho, V , Soares, A C Shimizu, T , Ishii, S., and Teixeira, M M (2003) Role of PAF receptors during intestinal ischemia and reperfusion injury A comparative study between PAF receptor-deficient mice and PAF receptor antagonist treatment *Brit J Pharmacol.* 139, 733-740
- 7 Weijer, S , Leemans, J C , Florquin, S , Shimizu, T , Ishii, S., and van der Poll, T (2003) Host response of platelet-activating factor receptor-deficient mice during pulmonary tuberculosis *Immunology*, 109, 552-556
- 8 Rijnveld, A W , Weijer, S , Florquin, S , Speelman, P , Shimizu, T , Ishii, S., and van der Poll, T (2004) Platelet activating factor receptor deficient mice have an improved host defense against pneumococcal pneumonia *J Infect Dis* 189, 711-716

2) 学会発表

- 1 ○Satoshi Ishii, Kyoko Noguchi, and Takao Shimizu A novel receptor (LPA₄) for lysophosphatidic acid (口演) FASEB Summer Research Conferences, Lysophospholipids and related lipids in biology and diseases 2003年7月(アメリカ・コロラド州スノーマス)
- 2 三田村涼美、○石井聡、河村則子、佐藤衛、島田厚良、佐々木慎二、広常真治、Wynshaw-Boris, Anthony、清水孝雄 Role of Platelet-Activating Factor Receptor and LIS1 in Neuronal Migration (口演) 第76回日本生化学会大会 2003年10月(横浜)
- 3 ○石井聡、関根寿樹、進藤英雄、畑中颯和、清水孝雄 緑茶の香りを感じるメカニズムの分子生物学的研究(口演) 第6回宇治茶健康フォーラム 2004年2月(京都)

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 1件
番号 特願 2003-007657
発明者 清水孝雄、石井聡、野口響子
発明の名称 新規リゾフォスファチシン酸受容体

出願人 科学技術振興事業団
出願日 平成 15 年 1 月 16 日

2	実用新案登録	なし
3	その他	なし

厚生科学研究費補助金（感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業）
分担研究報告書

小児気管支喘息におけるロイコトリエンの動向と遺伝子多型に関する検討

分担研究者 松井永子 岐阜大学医学部小児病態学 助手

研究要旨 ロイコトリエン(leukotrienes, LTs)、プロスタグランジン(prostaglandins, PGs)などのアラキドン酸代謝産物は顆粒球系細胞を含む種々の細胞に存在し、生理活性物質として、多岐にわたり重要な役割を果たしている。LTsのCysLT1受容体を介した作用機序は気管支平滑筋収縮作用、気管支腺分泌促進作用、血管透過性亢進作用、好酸球走化作用、好酸球アポトーシス抑制作用が知られており、CysLT1受容体拮抗薬は、強力かつ安全な喘息治療薬である。今回、小児気管支喘息患児に対し、モンテルカスト投薬前後における尿中アラキドン酸代謝産物の変化と喘息日誌から症状点数の変化を検討した。さらに、アラキドン酸カスケード内に存在する遺伝子の変異と、症状の改善度の関連について検討した。検討した遺伝子多型のうち、LTC4合成酵素遺伝子C(-444)アレルを持つ症例全例で中等度以上の改善が得られた。

A. 研究目的

最近、気管支喘息の治療薬としてCysLT1受容体拮抗薬は副腎皮質ステロイドと並ぶ気管支喘息のコントローラーとしての有用性が小児においても確立してきている。小児科領域では、CysLT1受容体拮抗薬としてプラナルカスト、モンテルカストの2種類が認可されているが、CysLT1受容体拮抗薬は喘息患者の約25%に著効し、軽度改善を含めると約75%に有効であるものの、残りの20-30%の患者には有効ではないとの報告がある。そこで、この薬剤が奏功する患者を予測することができれば、より効果的であると考え、臨床症状の改善度と遺伝子多型との関連を検討することを目的とした。

B 研究方法

①対象は6-15歳の小児気管支喘息患者とした。②対象者にモンテルカスト5mg/dayを4週間投薬した。投薬前2週間、治療期4週間の喘息日誌より、大発作を9点、中発作を6点、小発作を3点、喘鳴、咳そを各1点として症状点数を解析

した。③モンテルカスト投薬前後の尿中LTE4、TXB2排血量を測定した。④ゲノムDNAを用いてアラキドン酸カスケード内に存在する酵素の遺伝子変異について検討した。

（倫理面への配慮）

研究対象者には本研究の内容、方法および予想される結果について十分に説明し十分な理解（インフォームドコンセント）を得た上で採血が行なわれた。また、倫理面でも、結果による不利益は全く生じないか、または配慮が充分になされることから問題がないと判断された。

C 研究結果

①モンテルカスト投薬前後における臨床症状の変化

今回、CysLT1受容体に選択的に結合し、炎症惹起メディエーターを強力に抑制するモンテルカストを投与した時の、症状点数、尿中アラキドン酸代謝産物の排血量の変化について検討した。

a) 平均症状点数

喘息日誌から算出した平均症状点数の経時

的变化から、投与開始2週目以降、有意な低下がみられた(図1)。しかし、各症例

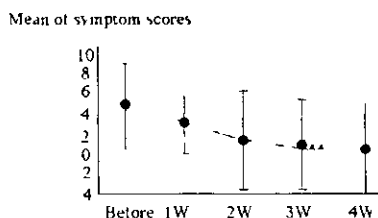


図1 Montelukast 投与前後による症状点数の変化

ことに解析すると、症状の改善がみられない症例が存在した。

b) 尿中LTE4、TXB2 排泄量の変化

モンテルカスト投薬により症状の改善が得られた症例の尿中LTE4 排泄量は、投与前に比較して投与4週後には著明に減少していた(図2)。

また、TXB2 排泄量についても、変化率は小さいものの、投与前に比較して投与4週後には減少していた(図3)。

②アラキトン酸代謝酵素遺伝子多型の検索

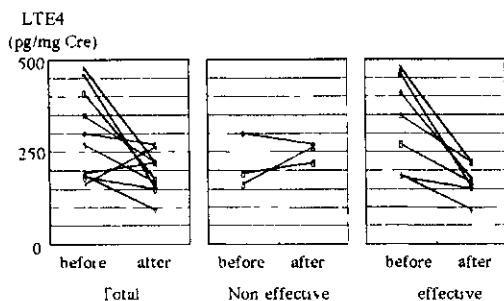


図2 Montelukast投与前後における尿中LTE4排泄量の変化

これまでに、アラキトン酸代謝関連酵素の遺伝子多型については、様々な報告がなされている。今回、これまでに多型とCysLT1受容体拮抗薬の効果についての検討が報告されている5-リポキシゲナーゼ遺伝子と

ロイコトリエンC4合成酵素遺伝子、さらにγグルタミルロイコトリエナーゼT459C、A989G、Dipeptidase G1051C、CysLT1受容体遺伝子の検討をおこなった。このうち、CysLT1受容体拮抗薬とロイコトリエンC4合成酵素遺伝子5'上流領域の一塩基置換多型(A-444C)との関連検討で、興味ある結果を得た(表1)。つまり、症状改善のみられなかった症例はいずれも野生型であり、変異型をもつ症例にはCysLT1受容体拮抗薬に対する治療不応症例が少ないというこれまでの報告に一致する結果であった。また、γグルタミルロイコトリエナーゼA989Gの検討結果を表2に示す。症例数が少なく有意差は得られなかった。

D 考察

これまでに、アレルギーの活動期にはアラキドン酸代謝産物が有意に多く排泄されることが報告されている。当教室でもこれまでに、喘息の病態におけるアラキドン酸の関与を検証するために、小児気管支喘息患者を対象に、非発作時および発作時の尿中LTE4とTXB2を測定し、健常小児と比較したところ、発作時の尿中LTE4は、非発

表1 CysLT1受容体遺伝子多型と治療効果との関係

遺伝子型	有効例数	無効例数	全例数
野生型	1	0	1

表2 5-リポキシゲナーゼ遺伝子多型と治療効果との関係

遺伝子型	有効例数	無効例数	全例数
野生型	2	0	2
変異型	1	0	1

作時および健常小児に比べて有意に多かった。発作時の尿中TXB2は、健常小児に比べて有意に多い結果であったが、非発作時との間に相関関係は認められなかった。また、LTE4とTXB2排泄量の間にも相関関係は認められなかった。さらに、症例によ

て、これらアラキドン酸代謝産物の排せ量にはばらつきがあることも判明した。以上より、小児気管支喘息の病態にアラキドン酸は重要な役割を果たしていると考えられたが、ロイコトリエン、トロンホキサンのいずれの経路が有意であるかは、各喘息患者ごとに異なる可能性が示唆された。さらに、CysLT1 受容体拮抗薬を投与した結果、症状改善にともなって尿中アラキドン酸代謝産物が低下した。また、変異型をもつ症例には CysLT1 受容体拮抗薬に対する治療不応症例がみられなかった。今後、さらに症例数を増やしてロイコトリエンの代謝に関係する酵素、輸送蛋白、ロイコトリエン受容体などの遺伝子検索することで患者ごとの薬剤の選択を行なうことが可能になってくると思われる。

E 結論

ロイコトリエンの代謝に関係する酵素のうちロイコトリエン C4 合成酵素遺伝子の塩基置換多型を有する症例には CysLT1 受容体拮抗薬に対する治療不応例がみられなかった。CysLT1 受容体拮抗薬の効果とロイコトリエンの代謝に関係する酵素の遺伝子多型について検討していくことは、喘息治療に有用であると考えられる。

研究協力者

吉川かおり 岐阜大学医学部大学院
金子英雄 岐阜大学医学部附属病院 小児科 講師
近藤直実 岐阜大学医学部 小児病態学 教授

F.健康危険情報

なし

G 研究発表

論文発表

- 1 Higa, S, Hirano, T, Mayumi, M, Hiraoka, M, Ohshima, Y, Nambu, M, Yamaguchi, E, Hizawa, N, Kondo, N,

Matsui, E, Katada, Y, Miyatake, A, Kawase, I, Tanaka, T Association between interleukin-18 gene polymorphism 105A/C and asthma Clin Exp Allergy 33,1097-1102, 2003

- 2 Aoki, M, Matsui, E, Kaneko, H, Inoue, R, Fukao, T, Watanabe, M, Teramoto, T, Kato, Z, Suzuki, K, Suzuki, Y, Kasahara, K, Kondo, N A novel single-nucleotide substitution, Leu 467 Pro, in the interferon-gamma receptor 1 gene associated with allergic diseases Int J Mol Med 12, 185-191, 2003
- 3 Kondo, N, Matsui, E, Kaneko, H, Kato, Z, Fukao, T, Teramoto, T, Shikano, H, Aoki, M, Onishi, H, Tatebayashi, K, Omoya, K, Kondo, M, Matsukuma, E, Kasahara, K, Morimoto, N Genetic defects in downregulation of IgE production and a new genetic classification of atopy Allergol Int (in press) 2003
- 4 Kondo, N, Matsui, E, Kaneko, H, Aoki, M, Kato, Z, Fukao, T, Kasahara, K, Morimoto, N RNA editing of interleukin-12 receptor $\beta 2$, 2451 C-to-U (Ala 604 Val) conversion, associated with atopy Clin Exp Allergy (in press) 2003
- 5 Yoshikawa K, Matsui, E, Inoue R, Kaneko H, Teramoto T, Aoki M, Kasahara K, Shinoda S, Fukutomi O, Kondo N Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma Allergol Int (in press) 2003

学会発表

- 1 松井永子, 金子英雄, 深尾敏幸, 伊上良輔, 加藤善一郎, 寺本貴英, 長尾みづほ, 浅野勉, 青木美奈子, 吉川かおり, 舘林宏治, 近藤直実 シンポジウ

ム アレルギーにおけるゲノム解析の
応用 日本小児アレルギー学会（第
40回）岐阜（2003年）

- 2 松井永子, 加藤善一郎, 浅野勉, 寺本
貴英, 伊藤玲子, 青木美奈子, 長尾み
づほ, 笠原貴美子, 近藤直実 シンポ
シウム ウイルス感染におけるアレル
ギー病態の分子メカニズム 日本アレ
ルギー学会総会（第53回）岐阜
（2003年）
- 3 松井永子, 金子英雄, 長尾みづほ, 青

木美奈子, 吉川かおり, 舘林宏治, 笠
原貴美子, 近藤直実 オーダーメイト
医療は可能か 小児気道アレルギー研
究会 京都（2003年）

H 知的財産権の出願、登録状況

- 1 特許取得 アレルギー素因を規定す
る遺伝子の検出方法 申請中
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
K Naoki, K Asano, N Satoh, K Fukunaga, T Oguma, T Shiomi, Y Suzuki, T Nakajima, K Niimi, Y Shirashi, A Ishizaka, and K Yamaguchi	PAF responsiveness in Japanese subjects with plasma PAF acetylhydrolase deficiency	Biochem Biophys Res Commun	in press		2004
Sakamaki, F, Ishizaka, A, Urano, T, Sayama K, Nakamura, H, Terashima, T, Waki, Y, Soejima, K, Tasaka, S, Sawafuji M, Kobayashi, K, Yamaguchi, K and Kanazawa, M	Attenuation by intravenous 2-chloroadenosine of acute lung injury induced by live Escherichia coli or latex particles added to endotoxin in the neutropenic state	J Lab Clin Med	142(2)	128-135	2003
Tasaka, S, Ishizaka, A, Yamada, W, Shimizu, M Koh, H, Hasegawa, N, Adachi, Y and Yamaguchi, K	Effect of CD14 blockade on endotoxin-induced acute lung injury in mice	Am J Respir Cell Mol Biol	29(2)	252-258	2003
Minematsu, M, Nakamura, H, Iwata, M, Tateno, H, Nakajima, T, Takahashi, S, Fujishima, S and Yamaguchi K	CYP2A6 deletion polymorphism is associated with smoking habit and development of pulmonary emphysema	Thorax	58(7)	623-628	2003
Takeshita, K, Suzuki, Y, Takeuchi, O Nishio K, Toda, K, Kudo, H Miyao N, Ishii, M, Sato N, Naoki, K, Aoki, T, Suzuki, K, Hiraoka, R and Yamaguchi, K	Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin-induced nuclear factor- κ B activation	Am J Respir Cell Mol Biol	29(1)	124-132	2003
Amakawa, K, Terashima, T, Matsuzaki T, Matsumaru, A Sagai, M and Yamaguchi, K	Suppressive effects of diesel exhaust particles on cytokine release from human and murine macrophages	Exp Lung Res	29(3)	149-164	2003
K Yamazaki, S Ogura, A Ishizaka, T Oh-hara, M Nishimura	Bronchoscopic microsampling method for measuring drug concentration in epithelial lining fluid	Am J Respir Crit Care Med	168	1304-1307	2003
M Watanabe, A Ishizaka, E Ikeda, A Ohashi, K Kobayashi	Contributions of bronchoscopic microsampling in the diagnosis of peripheral lung carcinoma	Ann Thorac Surg	76	1668-1667	2003
Ishizaka A Matsuda T Albertine KH Koh H Tasaka S Hasegawa N Kohno N Kotani T Morisaki H Takeda J, Nakamura M Martin TR Matthay MA and Hashimoto S	Clinical Outcome in Acute Lung Injury is Predicted by KL-6, a Lung Epithelial Cell Marker	Am J Physiol	in press		2004
Vogensen, S B, Str/mgaard, 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
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	284	L720-L726	2003
Noguchi, K, Ishii, S, and Shimizu, T	Identification of p2y9/GPR23 as a novel G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid, structurally distant from the Edg family	J Biol Chem	278	25600-25606	2003

Tokuoka, S M , Ishii, S , Kawamura, N Satoh, M , Shimada, A Sasaki, S Hirotsune, S , Wynshaw-Boris, A , and Shimizu, T	Involvement of platelet-activating factor and LIS1 in neuronal migration	Eur J Neurosci	18	563-570	2003
Talvani, A , Santana, G , Barcelos, L S , Ishii, S , Shimizu, T , Romanha, A , J , Silva, J S , Soares, M B P , and Teixeira, M M	Experimental Trypanosoma cruzi infection in platelet-activating factor-deficient mice	Microb Infect	5	789-796	2003
Souza, D G , Pinho, V , Soares, A C Shimizu, T , Ishii, S , and Teixeira, M M	Role of PAF receptors during intestinal ischemia and reperfusion injury A comparative study between PAF receptor-deficient mice and PAF receptor antagonist treatment	Brit J Pharmacol	139	733-740	2003
Weijer, S Leemans, J C Florquin, S , Shimizu, T Ishii, S and van der Poll T	Host response of platelet-activating factor receptor-deficient mice during pulmonary tuberculosis	Immunology	109	552-556	2003
Rijneveld, A W , Weijer, S , Florquin, S , Speelman, P , Shimizu T , Ishii S , and van der Poll, T	Platelet activating factor receptor deficient mice have an improved host defense against pneumococcal pneumonia	J Infect Dis	189	711-716	2004
Higa, S Hirano, T , Mayumi, M , Hiraoka, M Ohshima Y Nambu, M , Yamaguchi, E , Hizawa, N , Kondo, N , Matsui, E , Katada, Y , Miyatake, A , Kawase I , Tanaka, T	Association between interleukin-18 gene polymorphism 105A/C and asthma.	Clin Exp Allergy	33,	1097-1102	2003
Aoki, M Matsui, E Kaneko, H , Inoue R , Fukao T Watanabe, M , Teramoto, T , Kato, Z , Suzuki, K , Suzuki, Y , Kasahara, K , Kondo, N	A novel single-nucleotide substitution, Leu 467 Pro, in the interferon-gamma receptor 1 gene associated with allergic diseases	Int J Mol Med	12	185-191	2003
Yoshikawa K, Matsui E Inoue R Kaneko H Teramoto T, Aoki M, Kasahara K, Shinoda S, Fukutomi O, Kondo N	Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma	Allergol Int	in press		
浅野浩一郎	アレルギー疾患のPharmacogeneticsの新展開	最新医学	58	245-250	2003
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	106-113	2003
浅野浩一郎	気管支喘息と遺伝子	呼吸	22 (8)	771-776	2003
浅野浩一郎	テーラーメイド医療	Medical Practice	20 (10)	1727-1729	2003
浅野浩一郎	呼吸器疾患とpharmacogenetics (気管支喘息を中心に)	Asthma Frontier	2 (1)	54-64	2003

20030682

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。