

て、TARC 血中濃度との関連を見いだすとともに、luciferase assay により機能的な SNP であることを証明した。しかしながら臨床パラメーターとの比較では喘息およびアトピー性皮膚炎の病態や重症度との関連が示唆されたものの、喘息患者やアトピー性皮膚炎の発症自体に関しては、健常コントロール群との有意差は見いだせなかった。MDC SNP も同様に、アレルギー疾患と健常コントロールの間には有意差は認められなかった。これらの知見から、TARC, MDC に関してはタンパク濃度解析結果から喘息を始めとするアレルギー疾患で増加している、病態と何らかの関わりがあることが強く示唆される。SNP 解析に基づくと、特に TARC において喘息やアトピー性皮膚炎の臨床像との関連が見られており、我々の行ってきたケモカイン領域からのアプローチがアレルギー疾患の病態解析に有用であることが裏付けられていると考える。ケモカインがその作用に基づき、局所での炎症反応形成に直接に関わると考えられることから、本研究により得られたアレルギー疾患各群での解析情報に加えて、今後各患者における疾患の動的变化の知見も集積していくことで、ケモカインおよびその受容体の意義および治療標的たる可能性が更に明らかになっていくことが期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Fukagawa K, Okada N, Fujishima H, Nakajima T, Tsubota K, Takano Y, Kawasaki H, Saito H, Hirai K. CC-chemokine receptor 3: a possible target in treatment of allergy-related

corneal ulcer.

Invest Ophthalmol Vis Sci 43:58-62, 2002.

Iikura M, Yamaguchi M, Hirai K, Suenaga A, Fujiwara T, Fujii T, Taketani Y, Yamamoto K. Streptomycin-induced anaphylactic shock during oocyte retrieval procedures for in vitro fertilization.

J Allergy Clin Immunol 109:571-572, 2002.

Katayama H, Yokoyama A, Kohno N, Sakai K, Hiwada K, Yamada H, Hirai K. Production of eosinophilic chemokines by normal pleural mesothelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 26:398-403, 2002.

Kato Y, Fujisawa T, Shibano M, Saito T, Gatto W, Kamiya H, Hirai K, Sumida M, Yoshie O. Airway epithelial cells promote transmigration of eosinophils in a new three-dimensional chemotaxis model. Clin Exp Allergy 32:889-897, 2002.

Morita A, Kikuoka S, Horikawa T, Bito T, Yamada H, Kanda M, Sasakura K, Tamaki M, Hirai K, Suzuki R, Sugita K. Evaluation of human thymus and activation-regulated chemokine (TARC) levels in blood using a new sandwich ELISA based on monoclonal antibodies. Clin Chim Acta 322:67-75, 2002.

Nagase H, Miyamasu M, Yamaguchi M, Imanishi M, Tsuno NH, Matsushima K, Yamamoto K,

- Morita Y, Hirai K. Cytokine-mediated regulation of CXCR4 expression in human neutrophils. *J Leukoc Biol* 71:711-717, 2002.
- Ohshima N, Nagase H, Koshino T, Miyamasu M, Yamaguchi M, Hirai K, Yamamoto K, Fujisawa T, Nakagawa N, Kishikawa K, Morita Y. A functional study on CysLT1 receptors in human eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 129:67-75, 2002.
- Sekiya T, Yamada H, Yamaguchi M, Yamamoto K, Ishii A, Yoshie O, Sano Y, Morita A, Matsushima K, Hirai K. Increased levels of a TH2-type CC chemokine thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in serum and induced sputum of asthmatics. *Allergy* 57:173-177, 2002.
- Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, Asano N, Kishimoto M, Tanida Y, Kakinuma T, Mitsui H, Tada Y, Wakugawa M, Torii H, Komine M, Asahina A, Tamaki K. Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 30:161-166, 2002.
- Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Kakinuma T, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. Eotaxin gene single nucleotide polymorphism in the promoter and exon regions are not associated with susceptibility to atopic dermatitis, but two of them in the promoter region are associated with serum IgE levels in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 29:222-228, 2002.
- Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Kakinuma T, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. Interleukin-13 gene polymorphism G4257A is associated with atopic dermatitis in Japanese patients. *J Dermatol Sci* 30:100-107, 2002.
- Yoshimura C, Yamaguchi M, Iikura M, Izumi S, Kudo K, Nagase H, Ishii A, Walls AF, Ra C, Iwata T, Igarashi T, Yamamoto K, Hirai K. Activation markers of human basophils: CD69 expression is strongly and preferentially induced by IL-3. *J Allergy Clin Immunol* 109:817-823, 2002.
- Fujiwara H, Morita A, Kobayashi H, Hamano K, Fujiwara Y, Hirai K, Monden M, Naka T, Saeki Y. Infiltrating eosinophils and eotaxin: an association with idiopathic eosinophil esophagitis. Case report and biological analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 89:429-432, 2002.
- Yamamoto T, Yamashita N, Kuwabara M, Nakano J, Sugimoto H, Akiyama K, Hirai K, Ishii A,

- Uehara Y, Ohta K. Mutation screening of the muscarinic m2 and m3 receptor genes in asthmatics, outgrow subjects, and normal controls. *Ann Genet* 45:109-113, 2002.
- Sekiya T, Tsunemi Y, Miyamasu M, Ohta K, Morita A, Saeki H, Matsushima K, Yoshie O, Tsuchiya N, Yamaguchi M, Yamamoto K, Tamaki K, Hirai K. Variations in the human Th2-specific chemokine TARC gene. *Immunogenetics* 54:742-745, 2003.
- Komiya A, Hirai K, Iikura M, Nagase H, Yamada H, Miyamasu M, Ohta K, Morita Y, Ra C, Yamamoto K, Yamaguchi M. Induction of basophil desensitization in physiological medium. Enhancement after IgE-dependent upregulation of surface IgE-binding on basophils. *Int Arch Allergy Immunol* 130:40-50, 2003.
- Yoshimura-Uchiyama C, Yamaguchi M, Nagase H, Fujisawa T, Ra C, Matsushima K, Iwata T, Igarashi T, Yamamoto K, Hirai K. Comparative effects of basophil-directed growth factors. *Biochem Biophys Res Commun* 302:201-206, 2003.
- Yoshimura-Uchiyama C, Yamaguchi M, Nagase H, Matsushima K, Igarashi T, Iwata T, Yamamoto K, Hirai K. Changing expression of IL-3 and IL-5 receptors in cultured human eosinophils. *Biochem Biophys Res Commun* 309:26-31, 2003.
- Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils - Activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J Immunol* 171:3977-3982, 2003.
- Komiya A, Nagase H, Yamada H, Sekiya T, Yamaguchi M, Sano Y, Hanai N, Furuya A, Ohta K, Matsushima K, Yoshie O, Yamamoto K, Hirai K. Concerted expression of eotaxin-1, eotaxin-2 and eotaxin-3 in human bronchial epithelial cells. *Cell Immunol* 225:91-100, 2003.
- Nakajima T, Iikura M, Okayama Y, Matsumoto K, Uchiyama C, Shirakawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H. Identification of granulocyte subtype-selective receptors and ion channels by high-density oligonucleotide probe array. *J Allergy Clin Immunol* 113:528-535, 2003.
- Tsunemi Y, Sekiya T, Saeki H, Hirai K, Ohta K, Nakamura K, Kakinuma K, Fujita H, Asano N, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. Lack of association CCR3 single nucleotide polymorphism with atopic dermatitis in Japanese population. *J Dermatol Sci* 33:130-133, 2003.

Yoshimura-Uchiyama C, Iikura M, Yamaguchi M, Nagase H, Ishii A, Matsushima K, Yamamoto K, Shichijo M, Bacon KB, Hirai K. Differential modulation of human basophil functions through PGD2 receptors DP and CRTH2/DP2. *Clin Exp Allergy* 34:1283-1290, 2004.

Iikura M, Ebisawa M, Yamaguchi M, Tachimoto H, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Transendothelial migration of human basophils. *J Immunol* 173:5189-5195, 2004.

Tsunemi Y, Sekiya T, Saeki H, Hirai K, Ohta K, Nakamura K, Kaminuma T, Fujita H, Kagami S, Asano N, Tanida Y, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. Lack of association of CCR4 single nucleotide polymorphism with atopic dermatitis in Japanese patients. *Acta Derm Venereol* 84:187-190, 2004.

Tsunemi Y, Komine M, Sekiya T, Saeki H, Nakamura K, Hirai K, Kakinuma T, Kagami S, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K.

The -431C>T polymorphism of thymus and activation-regulated chemokine increases the promoter activity but is not associated with susceptibility to atopic dermatitis in Japanese patients.

*Exp Dermatol* 13:715-719, 2004.

3) 関谷剛, 平井浩一  
TARC 遺伝子と SNPs

アレルギー科 17(6):572-578, 2004.

## 2. 学会発表

平井浩一、関谷剛、長瀬洋之、小宮明子、内山千登世、山口正雄、山本一彦。TARC, MDC産生に及ぼす roxythromycin の抑制作用。第15回日本アレルギー学会春季臨床大会 2003.

関谷剛、小宮明子、内山千登世、長瀬洋之、山口正雄、中野純一、山下直美、森晶夫、大田健、平井浩一。

気管支喘息における eotaxin/CCL11 及び TARC/CCL17 の検討。

第15回日本アレルギー学会春季臨床大会 2003.

関谷剛、常深祐一郎、足立哲也、木原令夫、山口正雄、佐伯秀久、中野純一、山下直美、小林信之、塩原哲夫、庄司俊輔、西村正治、棟方充、玉置邦彦、山本一彦、大田健、平井浩一。

アレルギー疾患における Th2 特異的ケモカイン TARC, MDC タンパクおよびその遺伝子多型。アレルギー学会総会 2004.

関谷剛、小宮明子、飯倉元保、鈴川真穂、川上綾子、山口正雄、山下直美、山本一彦、大田健、平井浩一。気管支喘息における CCL22 (MDC: macrophage-derived chemokine) の遺伝子多型。第16回日本アレルギー学会春期臨床大会 2004.

関谷剛、常深祐一郎、足立哲也、木原令夫、山

口正雄, 佐伯秀久, 中野純一, 山下直美, 小林信之, 塩原哲夫, 庄司俊輔, 西村正治, 棟方充, 玉置邦彦, 山本一彦, 大田健, 平井浩一。気管支喘息における Th2 特異的ケモカイン TARC, MDC の遺伝子多型。第13回 Airway Club in SENDAI 2004.

#### G. 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

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）

総合研究報告書

アレルギー疾患の発症および悪化に影響する因子の解析に関する研究  
研究協力者 玉利 真由美 理化学研究所遺伝子多型研究センター

研究要旨

本研究ではゲノムワイドな遺伝子多型解析データを検討し、気管支喘息合併アトピー性皮膚炎に関連する遺伝子の検索を行った。その結果 IL-1R1 とアトピー性皮膚炎との相関を認めた。さらに、候補遺伝子として、リモデリングへの関与が示唆されている、MMP9 遺伝子について詳細に SNP を検索し、症例対照相関解析を行い、小児喘息発症への関与を見いだした。

研究協力者 土居 悟

大阪府立呼吸器アレルギー医療センター  
小児アレルギー科部長

A. 研究目的

人口の 1%以上の頻度で存在する遺伝暗号の違いは遺伝子多型と定義され、それらが病気へのかかりやすさ、重症度、薬剤の副作用の出やすさ等に関与していると考えられている。SNP (Single Nucleotide Polymorphism) と言われる一塩基多型は、近年、高速に大量に低コストでタイピングする技術が確立され、喘息においてもその手法を用いてその病態の解明が進んでいる。喘息の発症や進展に関連する遺伝子多型が同定できれば、早期診断、早期予防に役立てることができる。またその遺伝子機能低下や機能促進によって喘息の病態にどのように関連するのか、機能解析を行うことにより、新たな治療薬の開発に貢献できる可能性がある。本研究では高速大量遺伝子多型解析システムを用いて、喘息の発症や関連する病態と相関する遺伝子を同定することを目的とする。

平成 14 年、15 年度は喘息の病態、特にアトピー性皮膚炎合併喘息と関連する遺伝子多型を同定することを目的に、ゲノムワイド解析で得られたデータを基に、相関解析を行った。

さらに平成 16 年度は候補遺伝子解析として、近年、そのノックアウトマウス解析、および気管支喘息症例での気道内分泌物、気管支組織、血清の検討において、喘息の病態との相関が報告されている MMP9 について詳細に SNP を同定し、それを用いて症例対照相関解析を行った。

B. 研究方法

SNPs の同定についてはゲノム配列より Repeat masker にて反復配列部位を同定し、その部分を避けてプライマーを設計し、PCR-direct sequence 法を用い、小児喘息 12 例、成人喘息 12 例の genome DNA の塩基配列を決定し、コンピューターソフト Sequencher を用いて、遺伝子多型の同定を行った。

遺伝子多型については TaqMan 法にてプライマープローブを設計し genotyping を行った。用いたサンプルは、複数の医療機関より収集した下記のサンプルである。

小児喘息=470 例

成人喘息=470 例

アトピー性皮膚炎=376 例

コントロール=564 例

これらの症例は臨床における疾患重症度、発症年齢、血清 IgE 値、好酸球数等、詳細な臨床情報とともに収集されており、気管支喘息、アトピー性皮膚炎の発症に加え、これらのアレルギーの関連病態と遺伝子多型との相関についても検討を行った。Genotyping 後、コントロール群における Hardy-Weinberg 平衡を確認し、優性モデルおよび劣性モデル、さらにアレル頻度について  $\chi^2$  乗検定にて有意差検定を行った。

(倫理面への配慮)

本研究のヒトの遺伝子解析研究はすべてヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 13 年 3 月 29 日)に準拠して行われ、理化学研究所倫理委員会の承認のもと、行われている。

### C. 研究結果

平成 14 年、15 年度

気管支喘息のゲノムワイド解析の1次スクリーニングは気管支喘息 94 症例で行われているが、この解析において、 $p < 0.01$  で相関の認められた SNPs は 2 次スクリーニングとして、喘息症例 846 症例、コントロール症例 564 症例で検討が行われている。この 2 次スクリーニングのうち、アトピー性皮膚炎を併発した小児喘息は 164 例あり、この症例の遺伝子頻度とコントロール群での頻度との比較を 2 次スクリーニングを行った 470SNP で施行した。その結果、下記の SNP において相関  $p < 0.001$  を認めた。

IMS-JST090713 GPR107

IMS-JST128161 GBE1

IMS-JST161347 SSH3BP1

IMS-JST037790 IL1R1

IMS-JST141411 GALNS

IMS-JST165269 COL19A1

IMS-JST025887 MADH3

これらについては、アトピー性皮膚炎 376 例をさらにタイピングを行い、相関解析を行ったところ、

IL1R1 の SNP において、 $p < 0.001$  の相関を認めた。独立した 2 つの集団において、相関を認めており、アトピー性皮膚炎の病態への関与が強く疑われた。

その他の SNPs については、アトピー性皮膚炎 376 例の解析においては相関は認めなかった。

平成 16 年度

MMP9 遺伝子内に日本人集団において 15 個の SNPs を同定した。白人集団とは分布、頻度がかなり異なっていた。チェコスロバキアで気管支喘息との相関について報告のあった遺伝子多型は今回の検索では日本人集団に存在しなかった。

15 個の SNPs を用いて、連鎖不平衡マップの作製を行った。この連鎖不平衡を鑑み、3 つの SNPs のタイピングを行った。その内、アミノ酸の置換を伴う SNP において、小児喘息発症との相関  $p < 0.01$ 、ダニ特異抗体陽性小児喘息との相関  $p < 0.01$ 、および発症年齢が 3 才以上の喘息との相関  $p < 0.01$  を認めた。成人喘息、アトピー性皮膚炎との相関は認めなかった。さらにマイクロアレイでの気道上皮での発現を確認したところ、MMP9 遺伝子はヒト気道上皮細胞にウイルス感染疑似物質である polyI:C (dsRNA) で刺激を加えたときに、その発現が刺激前の 32 倍と強く誘導されていた。

### D. 考察

平成 14 年、15 年度

IL1R1 は血管内皮細胞の活性化（炎症、血栓形成）、肝臓においては急性期反応物質の生成、視床下部では発熱に関与するとされ、炎症に関与する免疫グロブリンスーパーファミリーの一員である。その遺伝子は第 2 染色体 q12 に存在し、この領域はこれまでにリンケージ解析において Hutter 派の集団においてスキンプリックテスト ( $p=0.00004$ )、ドイツ人集団において総 IgE ( $p=0.0014$ )、オランダ人集団において総 IgE (LOD=1.96)、好酸球 (LOD=1.49)、と相関を認めている。この受容体のリガンドである IL-1 は炎症細胞の血管内皮への浸潤促進、in vivo での好酸球集積促進、Th2 細胞の増殖促進、B 細胞の増殖促進、好中球遊走促進、T 細胞、上皮細胞の活性化と炎症の場において重要な機能を果たす。また、IL1R1 ノックアウトマウスを用いた喘息モデルの実験系においては好酸球性炎症の減弱、杯細胞増生の減弱を認めている。この領域においては 54SNPs があり、さらに詳細な連鎖不平衡マップの作製、症例対照相関解析、ハプロタイプ解析が必要と考えられた。

平成 16 年度

MMP9 は細胞外マトリックス分解作用、そしてサイトカイン、ケモカイン、成長因子のタンパク分解を介した活性化や不活性化に関与すると言われ、炎症反応を修飾すると考えられている。喘息との相関解析についてはこれまでにプロモーターに存在する SNP 一個がチェコスロバキアの集団において、相関が認められないとする報告のみであった。しかし MMP9 の喘息の病態との相関に対する知見は、ノックアウトマウスを使った実験やヒト気管支喘息症例のサンプルを用いた検討により、積み重ねられてきている。MMP9 ノックアウトマウスにおいては樹状細胞の気道内への遊走阻害、樹状細胞由来 RANTES、MIP-3a 等のケモカイン産生阻害等を認め、アレルギー性気道炎症が抑制されることが示されている。また、気管支喘息患者においては気道内分泌物、気管支組織、血液において MMP9 の上昇が報告されている。

これらのことから、MMP9 遺伝子内の多型が気管支喘息の発症や関連病態に関与するかどうかを検討することは重要であると考えられた。さらに日本人集団と白人集団とはその遺伝子多型の存在部位も頻度もかなり異なっていたことから日本人における喘息病態への関与は検討することは重要であると考えられた。

アミノ酸に変化する遺伝子多型が小児喘息の発症と関連病態と相関を示したが、ハプロタイプ解析においても小児喘息との相関を認めた。現在、そのアミノ酸の変化する SNP と連鎖不平衡にあるイントロンの SNP でレポータージーンアッセイを行ったところ、喘息感受性アレルで転写活性の増強が認められた。また、その領域について *in silico* で転写因子の結合を検索したところ、RUNX1 との結合配列を含むことが判明した。現在、EMSA および Supershift assay にて確認中である。さらにマイクロアレイのデータから MMP9 はウイルス感染疑似物質である polyI:C (dsRNA) で刺激を加えたときに、その発現が刺激前の 32 倍と強く誘導されることから、ウイルス感染において重要な役割を果たす可能性が考えられた。特に近年の報告では小児喘息発作にウイルス感染が強く関与していることが報告され、特に 4 才以上の学童期の喘息ではライノウイルスの関与が指摘されている。本研究においては喘息感受性アレルで転写が促進される傾向にあり、ウイルス感染下での気道における MMP9 の役割を検討していく必要があると考えられた。

#### E. 結論

気管支喘息のゲノムワイド解析のデータから候補遺伝子を抽出し、さらに別集団において症例対照相関解析を行い、IL1R1 の SNP において、アトピー性皮膚炎の発症と  $p < 0.001$  の相関を認めた。

候補遺伝子解析として MMP9 遺伝子について検討を行い、日本人において 15 個の SNPs を同定した。小児喘息発症との相関  $p < 0.01$ 、ダニ特異抗体陽性小児喘息との相関  $p < 0.01$ 、および発症年齢が 3 才以上の喘息との相関  $p < 0.01$  を認めた。また小児喘息発症に関連するハプロタイプを同定した。

さらに気道上皮細胞において MMP9 はウイルス疑似物質 polyI:C (dsRNA) 刺激において強く誘導がかかることが判明した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

SNPs を用いた気管支喘息関連遺伝子の解明、日本小児アレルギー学会誌 16 (1) 62-66. 2002

アトピー原因遺伝子解析の現状と今後、ゲノム医学 2 (2) : 13-20. 2002

アトピー原因遺伝子について Genetic analysis of Allergic diseases. アレルギー科 14;5 p361-367 2002

IL-4/IL-4R の遺伝子多型とその機能 Genetic and functional analysis of IL-4 and IL-4 receptor gene. アレルギー科 14;5 p374-379 2002

アレルギー疾患でのポストゲノム(テーラーメイド医療) individualized therapy for allergic disease in the post-genome era : tailor-made medicine アレルギーの臨床 The Allergy in Practice 23;299 p82-86 2002

気管支喘息関連遺伝子へのアプローチ 日本小児アレルギー学会誌 (0914-2649) 16;4 p344 2002

アレルギー性疾患の遺伝疫学 現代医療 New Horizon for Medicine 35;1p127-133 2003

アレルギー疾患における最近の話題 最新医学 58;2 p7-14 2003

SNP を用いた気管支喘息関連遺伝子の解明 最新医学 58;2 p15-21 2003

アトピー遺伝子研究の現状 Allergy 21st Century 12 p3-6 2003

喘息関連遺伝子解析の現状と遺伝子治療の可能性 Prarma Medica The Review of Medicine and Pharmacology 21;3 p15-19 2003



アレルギー疾患のゲノム解析 先端医療シリーズ 19 アレルギー・リウマチ膠原病の最新医療 先端医療技術研究所 p51- 57 2003

喘息の全ゲノム SNP 解析 アレルギー・免疫 医薬ジャーナル社 10; 11 p112-119 2003

アトピー性皮膚炎の全ゲノム解析 アレルギー・免疫 医薬ジャーナル社 10;12 p98-104 2003

ADAM33 をめぐって 分子呼吸器病 8;3 p97-99 2004

SNPs を用いた気管支喘息関連遺伝子の解明 日本小児アレルギー学会誌 18;2 164-167 2004

SNP (一塩基多型) アレルギーの臨床 陸館 アレルギーの臨床 24;643-647 2004

遺伝子多型と喘息 Asthma Frontier 3; 29-37 2004

ロコトリエン遺伝子多型 アレルギー免疫 11; 16-23 2004

日本人喘息患者に対するADAM33,TGFβ遺伝子多型を含む最近の研究結果 アレルギー科 17; 364-373 2004

遺伝子多型と喘息遺伝子 -喘息の個別化医療をめざして International Review of Asthma 7;54-63 2005

Nakajima T, Inagaki N, Tanaka H, Tanaka A, Yoshikawa M, Tamari M, Hasegawa K, Matsumoto K, Tachimoto H, Ebisawa M, Tsujimoto G, Matsuda H, Nagai H, Saito H. Marked increase in CC chemokine gene expression in both human and mouse mast cell transcriptomes following Fcεpsilon receptor I cross-linking: an interspecies comparison. *Blood*.100:3861-3868 (2002)

Onouchi Y, Onoue S, Tamari M, Wakui K, Fukushima Y, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Kishi F, Ouchi K, Terai M, Hamamoto K, Kudo F, Aotsuka H, Sato Y, Nariyai A, Kaburagi Y, Miura M, Saji T, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A.:CD40 ligand gene and Kawasaki disease. *Eur J Hum Genet*. 12:1062-1068 (2004)

Kamada F, Suzuki Y, Shao C, Tamari M, Hasegawa K, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Chiba Y, Aoki Y, Kure S, Taamura G, Shirakawa T, Matsubara Y:Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma. *Genes Immun*. 7:540-547 (2004)

Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kamada F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, Shirakawa T, Suzuki Y: Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma. *Hum Genet*. 115:295-301 (2004)

Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, Shirakawa T: Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese cedar pollen. *Clin Exp Allergy*.34:192-201 (2004)

Hirota T, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Kishi F, Suzuki Y, Saito H, Nakamura Y, Shirakawa T, Tamari M: Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3 (DAP3) and adult asthma. *J Hum Genet*. 49 :370-375 (2004)

Shao C, Suzuki Y, Kamada F, Kanno K, Tamari M, Hasegawa K, Aoki Y, Kure S, Yang X, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Karahashi M, Saito S, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y:Linkage and association of childhood asthma with the chromosome 12 genes. *J Hum Genet*. 49:115-22, (2004)

Akahoshi M, Ishihara M, Remus N, Uno K, Miyake K, Hirota T, Nakashima K, Matsuda A, Kanda M, Enomoto T, Ohno S, Nakashima H, Casanova JL, Hopkin JM, Tamari M, Mao XQ, Shirakawa T: Association between IFNA genotype and the risk of sarcoidosis. Hum Genet.114:503 (2004)

Akahoshi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, N. Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, Shirakawa T. A functional promoter polymorphism in the *TBX21* gene is associated with aspirin-induced asthma Hum Genet.in press (2005)

## 2. 学会発表

2002

第39回日本小児アレルギー学会盛岡  
シンポジウム 1 気道アレルギーに関する遺  
伝子情報の基礎と臨床  
気管支喘息関連遺伝子へのアプローチ

4th APAPARI/9th TPAIS/11th PSCAI  
2002 9.20-23 Nagata-cho Tokyo  
GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY FOR  
BRONCHIAL ASTHMA

2003

第11回関東アレルギークラブ  
日本都市センター 喘息等アレルギー疾患ホ  
ールゲノムプロジェクトの成果と展望

第15回日本アレルギー学会 春期臨床大会  
パシフィコ横浜 気管支喘息関連遺伝子への  
アプローチ 患者-対照研究を中心に

第40回日本小児アレルギー学会シンポジウム  
4 岐阜 ゲノム 21世紀型ポストゲノムを小児ア  
レルギー診療にどのように展開するか？  
小児喘息のオーダーメイド医療をめざして

「オーダーメイド医療を考える」公開シンポジウ  
ム 博多・電気ホール  
副作用のリスクを減らし、ひとりひとりの体  
質に応じた 21世紀の医療へー  
シンポジウム「喘息等アレルギー疾患ゲノム解  
析の成果と展望」

日本人類遺伝学会第48回大会 長崎ブリック  
ホール シンポジウム III  
多因子疾患の SNP 研究 小児喘息のオーダー  
メイド医療をめざして

2004

第16回日本アレルギー学会 春期臨床大会  
群馬県民会館  
シンポジウム 2 ゲノム解析の臨床応用  
特別講演 2 環境と遺伝の相互作用、粘膜免疫  
をめぐる

第54回日本アレルギー学会総会 パシフィコ  
横浜 (横浜市西区みなとみらい)  
シンポジウム 5 アレルギー関連遺伝子 2. ア  
レルギー関連遺伝子- 本邦の状況

Annual Meeting The American Society of Human  
Genetics 2004, Toronto, Canada.  
A large-scale case control study for bronchial  
asthma

The 13<sup>th</sup> Takeda Science Foundation Symposium  
on Bioscience Genome Analysis and Medicine  
Hotel Okura Tokyo, Tokyo, Japan  
A large-scale case control study for bronchial  
asthma

2005

第3回 気道アレルギー疾患シンポジウム  
江陽グランドホテル 気管支喘息の遺伝要因

The 8<sup>th</sup> Guest Symposium on Asthma and  
Allergy 阪急電鉄本社「エコルテ・ホール」  
感染とアレルギー、自然免疫とリモデリング  
自然免疫関連遺伝子の遺伝子多型

第7回多摩アレルギー懇話会 吉祥寺第一ホ  
テル 遺伝子多型を利用した気管支喘息へ  
のアプローチ

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 未定
2. 実用新案登録 未定
3. その他 特になし

研究成果の刊行に関する一覧

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto Hirai K.	Expression and function of toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand.	J Immunol	171(8)	3977-82	2003
Komiya A, Hirai K, Iikura M, Nagase H, Yamada H, Miyamasu M, Ohta K, Morita Y, Ra C, Yamamoto K, Yamaguchi M.	Induction of basophil desensitization in physiological medium: enhancement after IgE-dependent upregulation of surface IgE binding on basophils.	Int Arch Allergy Immunol.	130(1)	40-50	2003
Ohta K, Yamashita N, Arai H, Tashimo H, Kuramochi M, Ohbayashi O, Ishida H, Kawashima R, Nakano J, Ishii A, Hirai K, Horiuchi T, Miyamoto T.	Inhibition of airway remodeling, cell infiltration, and airway hyperresponsiveness.	Allergy Clin Immunol Int	(in press)		
Ohta K, Fukuchi Y, Grouse L, Mizutani R, Rabe KF, Rennard SI, Zhong NS.	A prospective clinical study of theophylline safety in 3,810 elderly with asthma or COPD.	Respiratory Medicine	98(10)	1016-24	2004
Iikura M, Ebisawa M, Yamaguchi, Tachimoto H, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K.	Transendothelial Migration of Human Basophil.	J Immunol	15;173(8)	5189-95	2004
Adachi T, Cui C-H, Kanda A, Kayaba H, Ohta K, Chihara J.	Activation of epidermal growth factor receptor via CCR3 in bronchial epithelial cells.	Biochem and Biophys Res Commun	23;320(2)	292-6	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
田中 剛, 慶長直人	慢性閉塞性肺疾患の発症にかかわる遺伝因子	医学のあゆみ	202 (10)	850-854	2002
小林信之	呼吸器感染症と喘息難治化	アレルギー科	13 (1)	14-20	2002
小林信之、飯倉元保	肺炎を合併した気管支喘息	アレルギー科	13 (4)	329-335	2002
慶長直人	びまん性汎細気管支炎関連遺伝子の連鎖不平衡解析	現代医療	35 (1)	93-97	2003
慶長直人, 土方美奈子	びまん性汎細気管支炎と多因子疾患に関連する遺伝子研究の進歩	呼吸	23 (5)	359-364	2004
Keicho N, Kudoh S	Diffuse panbronchiolitis: role of macrolides in therapy.	Am J Respir Med	1 (2)	119-131	2002
Matsushita I, Hasegawa K, Nakata K, Yasuda K, Tokunaga K, Keicho N	Genetic Variants of Human beta Defensin-1 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease.	Biochem Biophys Res Commun	291 (1)	17-22	2002
Matsuzaka Y, Tounai K, Denda A, Tomizawa M, Makino S, Okamoto K, Keicho N, Oka A, Kulski J, Tamiya G, Inoko H	Identification of novel candidate genes in the diffuse panbronchiolitis critical region of the class I human MHC.	Immunogenetics	54 (5)	301-309	2002
Kamio K, Matsushita I, Tanaka G, Ohashi J, Hijikata M, Nakata K, Tokunaga K, Azuma A, Kudoh S, Keicho N	Direct determination of MUC5B promoter haplotypes based on the method of single-strand conformation polymorphism and their statistical estimation.	Genomics	84 (3)	613-22	2004
Tanino Y, Yamaguchi E, Takaoka K, Fukui Y, Konno S, Hizawa N, Nishimura M.	Cytokines and Th2 cells in AEP of smoking.	Allergy	May 57(5)	463-4	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Hizawa N, Yamaguchi E, Konno S, Tanino Y, Jinushi E, Nishimura M.	A Functional polymorphism in the RANTES gene promoter is associated with the development of late-onset asthma.	Am J Respir Crit Care Med	Sep 1 166(5)	686-90	2002
S.Hig T.Hirano, M.Mayumi, M.Hiraoka, Y.Ohshima, M.Nambu, E.Yamaguchi, N.Hizawa, N.Kondo, E.Matsui, Y.Katada, A.Miyatake, I.Kawase, T.Tanaka.	Association between interleukin-18 gene polymorphism 105A/C and asthma.	Clin Exp Allergy	33 (8)	1097-1102	2003
N.Hizawa, E.Yamaguchi, D.Takahashi, J.Nishihira, and M.Nishimura.	Functional Polymorphisms in the Promoter Region of Macrophage Migration Inhibitory Factor and Atopy.	Am. J. Respir. Crit. Care Med.	169	1014-1018	2004
Y.Zhou, E.Yamaguchi, N.Hizawa, M.Nishimura	Roles of functional polymorphisms in the interleukin-18 gene promoter in Sarcoidosis.	Sarcoidosis Vasculitis Diffuse Lung Diseases	(in press)		2005
T.Shimizu, N.Hizawa, A.Honda, Y.Zhao, R.Abe, H.Watanabe, J.Nishihira, M.Nishimura, and H.Shimizu.	Promoter Region Polymorphism of Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) is Strong Risk Factor for Young Onset of Extensive Alopecia Areata.	Genes and Immunity	(in press)		2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
檜澤伸之、山口悦郎、地主英世	気管支喘息と自律神経遺伝子 β2 受容体とムスカリン受容体—	アレルギーの臨床	22 (1)	39-43	2002
檜澤伸之	IL-4 およびその受容体遺伝子	喘息	15 (3)	25-30	2002
檜澤伸之、木下一郎、西村正治	呼吸器系疾患の遺伝子学	最新医学	57 巻	2075-2085	2002
山口悦郎、地主英世、檜澤伸之	喘息と自律神経遺伝子	アレルギー・免疫	9 (10)	72-77	2002
福居嘉信、山口悦郎、檜澤伸之、 前田由起子、高橋大輔、 今野 哲、小林基子、細川 剛、 地主英世、高村 圭、 南須原謙行、西村正治	気管支喘息患者と若年成人無症候者にお けるア ストグラフ法による気道過敏性の 検討	アレルギー	53 (6)	565-574	2004
檜澤伸之	気管支喘息とサイトカイン	医学のあゆみ	210 (10)	879-882	2004
高橋大輔、檜澤伸之、 前田由起子、福居嘉信、 西村正治	日本人喘息患者と非喘息健常者における 抗原特異的 IgE 反 応の比較検討	アレルギー	53 (10)	1071-1078	2004
檜澤伸之	アレルギーの臨床におけるゲノム解析の 意義	アレルギー科 (in press)	(in press)		2005
檜澤伸之	サイトカイン関連遺伝子による喘息分類 の可能性	カレントセラピー (in press)	(in press)		2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Kamachi A, Nasuhara Y, Nishimura M, Takahashi T, Homma Y, Ohtsuka Y, <u>Munakata M</u>	Dissociation between responsiveness to methacholine and responsiveness to antigen.	Eur Respir J	19	76-83	2002
Niimi T, <u>Munakata M</u> , Keck WCL, Popescu NC, Levitt RC, Hisada M, Kimura S	A polymorphism in the human UGRP1 gene promoter that regulates transcription is associated with an increased risk of asthma.	Am J Human Genetics	70	718-725	2002
Takahashi T, <u>Munakata M</u> , Ohtsuka Y, Nishihara H, Nasuhara Y, Kamachi A, Akita H, Homma Y, Kawakami Y,	Expression and alteration of ras and p53 proteins in idiopathic pulmonary fibrosis with lung cancer.	Cancer	95	624-633	2002
Takahashi T, Ohtsuka Y, <u>Munakata M</u> , Nasuhara Y, Kamachi A, Homma Y and Kawakami Y	Occurrence of farmer's lung disease is relevant to meteorological conditions; A 20-year follow-up survey analysis.	Am J Ind Med	46	506-513	2002
Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, Watanabe K, Ishida T, Ohtsuka Y, <u>Munakata M</u>	Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in school children.	J Allergy Clin Immunol	114	512-6	2004
Inoue K, Saito J, Miyazaki M, Ejiri S, <u>Munakata M</u>	A Kendo player with haemoptysis.	Lancet	364	814	2004
Takahashi K, Ishida T, Ogura G, Ishii T, Ohshima K, Sato S, Muroi M, Kanazawa K, Saito J, Otsuka Y, Watanabe K, Handa M, <u>Munakata M</u>	Diagnostic usefulness of bronchoalveolar lavage in Hermansky-Pudlak syndrome: A case with double lung cancers.	Int Med	43	972-6	2004
Shiohara T	T-cell dynamics of inflammatory skin diseases.	Expert Review of Clinical Immunology		in press	

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Shiohara T, Mizukawa Y	The immunological basis of lichenoid tissue reaction.	Autoimmunity Review		in press	
Shiohara T, Kano Y	Are viral infections responsible for the development of drug-induced hypersensitivity syndrome as well as graft-versus-host diseases ?	Dermatology		in press	
Teraki Y, Miyake A, Takebayashi R, Shiohara T	Homing receptor and chemokine receptor on intraepidermal T cells in psoriasis vulgaris.	Clin Exp Dermatol	29	658-663	2004
Teraki Y, Miyake A, Takebayashi R, Shiohara T	In vivo evidence for close association of CLA expression and E-selectin binding by T cells in the inflamed skin.	J Dermatol Sci	36	63-65	2004
Shiohara T, Hayakawa J, Mizukawa Y	Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease?	J Dermatol Sci	36	1-9	2004
Teraki Y, Shiohara T	Successful desensitization on fixed drug eruption: the presence of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T cells in the epidermis of fixed drug eruption lesions may be involved in the induction of desensitization.	Dermatology	209	29-32	2004
Mizukawa Y, Shiohara T	Which term should be used to describe drug eruptions confined to sites of previous herpes zoster lesions, 'isotopic response' or 'recall phenomenon' ?	Clin Exp Dermatol	29	323-324	2004



発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Kano Y, Inaoka M, Shiohara T	Association between anticonvulsant hypersensitivity syndrome and human herpesvirus 6 reactivation and hypogammaglobulinemia.	Arch Dermatol	140	183-188	2004
Teraki Y, Shiohara T	Spontaneous tolerance to terbinafine-induced lichenoid drug eruption.	Dermatology	208	81-82	2004
Takahashi R, Mizukawa Y, Yamazaki Y, Hayakawa K, Hayakawa J, Kudo A, Shiohara T	In vitro differentiation from naive to mature E-selectin binding CD4 T cells: acquisition of skin-homing properties occurs independently of cutaneous lymphocyte antigen expression.	J Immunol	171	5769-5777	2003
Nori M, Iwata S, Munakata Y, Kobayashi H, Kobayashi S, Umezawa Y, Hosono O, Kawasaki H, Dang NH, Tanaka H, Shiohara T, Morimoto C	Ebastin inhibits T cell migration, production of Th2-type cytokines and proinflammatory cytokines.	Clin Exp Allergy	33	1544-1554	2003
Hayakawa K, Shiohara T	Two cases of Henoch-Schonlein purpura with transient myocardial ischaemia.	Acta Derm Venereol	83	393-394	2003
Teraki Y, Shiohara T.	IFN- $\gamma$ -producing effector CD8 <sup>+</sup> T cells and IL-10-producing regulatory CD4 <sup>+</sup> T cells in fixed drug eruption.	J Allergy Clin Immunol	112	609-615	2003
Shiohara T, Mizukawa Y	Recall phenomenon: some skin-resident cells remember previous insults.	Dermatology	207	127-129	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Inoue Y, Isobe M, Shiohara T, Hayashi H	Inhibitory activity of CX-659S, a novel diaminoxacil derivative, against the rebound phenomenon following withdrawal of corticosteroid therapy for chronic contact hypersensitivity responses.	Int Arch Allergy Immunol	131	143-152	2003
Teraki Y, Shiohara T	Preferential expression of $\alpha\epsilon\beta_7$ integrin (CD103) on CD8 <sup>+</sup> T cells in the psoriatic epidermis: regulation by interleukins 4 and 12 and transforming growth factor- $\beta$ .	Br J Dermatol	147	1118-1126	2002
Mizukawa Y, Yamazaki Y, Teraki Y, Hayakawa J, Hayakawa K, Nuriya H, Kohara M, Shiohara T	Direct evidence for IFN- $\gamma$ production by effector-memory-type intraepidermal T cells residing at an effector site of immunopathology in fixed drug eruption.	Am J Pathol	161	1337-1147	2002
Inoue Y, Isobe M, Shiohara T, Goto Y, Hayashi H	Protective and curative effects of topically applied CS-659S, a novel diaminoxacil derivative, on chronic picryl chloride-induced contact hypersensitivity responses.	Br J Dermatol	147	675-682	2002
Mizukawa Y, Shiohara T	Trauma-localized fixed drug eruption: involvement of burn scars, insect bites and venipuncture sites.	Dermatology	205	159-161	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Shiohara T, Mizukawa Y	Fixed drug eruption: easily overlooked but needing new respect.	Dermatology	205	103-104	2002
Shiohara T, Mizukawa Y, Teraki Y	Pathophysiology of fixed drug eruption: the role of skin-resident T cells.	Curr Opin Allergy Clin Immunol	2	317-323	2002
Fukagawa K, Okada N, Fujishima H, Nakajima T, Tsubota K, Takano Y, Kawasaki H, Saito H, Hirai K.	CC-chemokine receptor 3: a possible target in treatment of allergy-related corneal ulcer.	Invest Ophthalmol Vis Sci	43	58-62	2002
Iikura M, Yamaguchi M, Hirai K, Suenaga A, Fujiwara T, Fujii T, Taketani Y, Yamamoto K.	Streptomycin-induced anaphylactic shock during oocyte retrieval procedures for in vitro fertilization.	J Allergy Clin Immunol	109	:571-572	2002
Katayama H, Yokoyama A, Kohno N, Sakai K, Hiwada K, Yamada H, Hirai K.	Production of eosinophilic chemokines by normal pleural mesothelial cells.	Am J Respir Cell Mol Biol	26	398-403	2002
Kato Y, Fujisawa T, Shibano M, Saito T, Gatto W, Kamiya H, Hirai K, Sumida M, Yoshie O.	Airway epithelial cells promote transmigration of eosinophils in a new three-dimensional chemotaxis model.	Clin Exp Allergy	32	889-897	2002
Morita A, Kikuoka S, Horikawa T, Bito T, Yamada H, Kanda M, Sasakura K, Tanaki M, Hirai K, Suzuki R, Sugita K.	Evaluation of human thymus and activation-regulated chemokine (TARC) levels in blood using a new sandwich ELISA based on monoclonal antibodies.	Clin Chim Acta	322	67-75	2002
Nagase H, Miyamasu M, Yamaguchi M, Imanishi M, Tsuno NH, Matsushima K, Yamamoto K, Morita Y, Hirai K.	Cytokine-mediated regulation of CXCR4 expression in human neutrophils.	J Leukoc Biol	71	711-717	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Ohshima N, Nagase H, Koshino T, Miyamasu M, Yamaguchi M, Hirai K, Yamamoto K, Fujisawa T, Nakagawa N, Kishikawa K, Morita Y.	A functional study on CysLT1 receptors in human eosinophils.	Int Arch Allergy Immunol	129	67-75	2002
Sekiya T, Yamada H, Yamaguchi M, Yamamoto K, Ishii A, Yoshie O, Sano Y, Morita A, Matsushima K, Hirai K.	Increased levels of a TH2-type CC chemokine thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in serum and induced sputum of asthmatics.	Allergy	57	173-177	2002
Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, Asano N, Kishimoto M, Tanida Y, Kakinuma T, Mitsui H, Tada Y, Wakugawa M, Torii H, Komine M, Asahina A, Tamaki K.	Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris.	J Dermatol Sci	30	161-166	2002
Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Kakinuma T, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K.	Eotaxin gene single nucleotide polymorphism in the promoter and exon regions are not associated with susceptibility to atopic dermatitis, but two of them in the promoter region are associated with serum IgE levels in patients with atopic dermatitis.	J Dermatol Sci	29	222-228	2002