

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

アレルギー疾患の治療反応性予測因子の確立及び  
テラーメイド治療法の確立に関する研究

平成 16 年度～ 18 年度  
総合研究報告書

主任研究者 近藤直実

平成 19 年 3 月

# 目 次

はじめに

## I. 総合研究報告

- アレルギー疾患の治療反応性予測因子の確立およびテーラーメイド治療法の  
確立に関する研究…………… 1  
近藤直実

## II. 分担研究報告

- 1 アレルギーの病因遺伝子・病態・治療反応性予測因子の解明とテーラーメイド  
治療法の確立および創薬の検討…………… 5  
(分担研究者 近藤直実)
- 2 成人喘息におけるロイコトリエン受容体拮抗薬と吸入ステロイド薬の  
治療反応性と中止可能予知因子の解明…………… 11  
(分担研究者 秋山一男)
- 3 吸入ステロイド薬の至適用量にもとづく臨床効果と遺伝子多型解析…………… 15  
(分担研究者 大田 健)
- 4 小児喘息における吸入ステロイド薬の治療反応性に及ぼす生体因子  
環境因子の解析に関する研究…………… 21  
(分担研究者 赤澤 晃)
- 5 健常者におけるテオフィリン薬物動態パラメーターとCYP1A2 遺伝子多型…………… 29  
(分担研究者 山口悦郎)
- 6 テーラーメイド治療開発のための発症予測データベース作成：アトピー性  
皮膚炎に関して（H 16, 17 年度分）…………… 33  
(分担研究者 白川太郎)
- 7 食物アレルギー児の解析に基づくテーラーメイド医療開発…………… 41  
(分担研究者 海老澤元宏)
- 8 細胞反応性に基づく食物アレルギー管理のテーラーメイド化に関する研究…………… 45  
(分担研究者 藤澤隆夫)
- 9 遺伝子情報の網羅的解析、および小児喘息におけるロイコトリエン受容体  
拮抗薬の治療反応性予測遺伝子因子とテーラーメイド治療開発…………… 53  
(分担研究者 松井永子)

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表

## IV. 研究成果の刊行物・別冊

## はじめに

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の増加が大きな社会問題になっている。従ってこれらに対する適格な対策の確立が急務である。本研究の目的は、

①アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出できる遺伝子診断キット及びDNAチップ(アレイ)を中心とする診断システムを開発すること。—このためには病因・病態・薬剤反応性解析の蓄積が重要である。

②その診断をもとにして各病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立すること。—このためには新たな創薬も必要である。

本研究から、画期的成果が幾つか得られた。

(1) アレルギーの病因・病態解析をもとにして、さらに遺伝子相互作用と遺伝子・環境相互作用の検討も含めて新たにアレルギー(アトピー)の遺伝子学的分類が確立され、さらに個々の異常部位を系統的に診断あるいは予測できる遺伝子診断キットが確立できた。

(2) DNAチップ(アレイ)が開発できた。

(3) 画期的成果が幾つも得られたので、特に既存の薬剤(抗アレルギー系、吸入ステロイド系など)の適格な使用方法(中止時期決定因子の解明を含む)が明らかにされてきたので、その病因・病態に合致したテーラーメイド治療管理法の基礎が確立できた。この成果をもとに「気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き(付、食物アレルギーを含む)」が作成された。

(4) 近い将来、適格な診断・治療法の確立により医療効果が上昇し、患者の治癒軽快率の向上、QOLの向上、医療費の節減にもとづいて社会問題の解決が図れる。

(5) テーラーメイド治療のための創薬がタンパク解析により可能であることが示された。

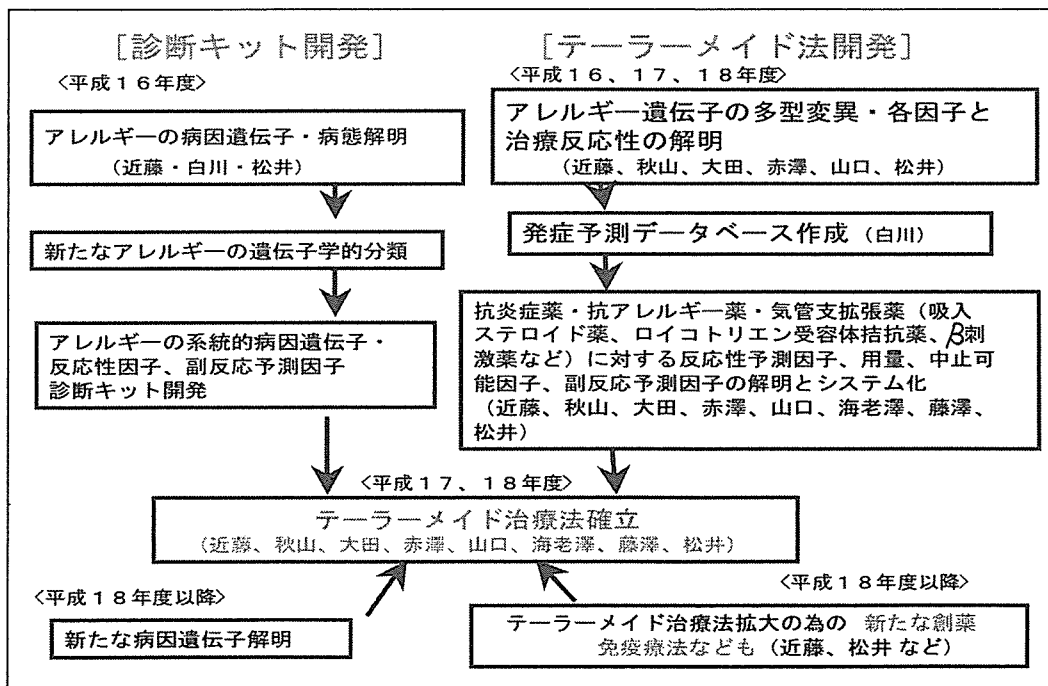


図1 研究の流れ

平成19年3月

岐阜大学大学院医学系研究科 小児病態学 教授 近藤直実

# I. 総合研究報告書

## アレルギー疾患の治療反応性予測因子の確立及びテーラーメイド治療法の確立に関する研究

主任研究者 近藤直実 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授

### 研究要旨

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の増加が大きな社会問題になっている。従ってこれらに対する適格な対策の確立が急務である。本研究の目的は、

①アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出できる遺伝子診断キット及びDNAチップ(アレイ)を中心とする診断システムを開発すること。—このためには病因・病態・薬剤反応性解析の蓄積が重要である。

②その診断をもとにして各病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立すること。—このためには新たな創薬も必要である。

本研究から、画期的成果が幾つか得られた。

(1) アレルギーの病因・病態解析をもとにして、さらに遺伝子相互作用と遺伝子・環境相互作用の検討も含めて新たにアレルギー(アトピー)の遺伝子学的分類が確立され、さらに個々の異常部位を系統的に診断あるいは予測できる遺伝子診断キットが確立できた。

(2) DNAチップ(アレイ)が開発できた。

(3) 画期的成果が幾つも得られたので、特に既存の薬剤(抗アレルギー系、吸入ステロイド系など)の適格な使用方法(中止時期決定因子の解明を含む)が明らかにされてきたので、その病因・病態に合致したテーラーメイド治療管理法の基礎が確立できた。この成果をもとに「気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き(付、食物アレルギーを含む)」が作成された。

(4) 近い将来、適格な診断・治療法の確立により医療効果が上昇し、患者の治療軽快率の向上、QOLの向上、医療費の節減にもとづいて社会問題の解決が図れる。

(5) テーラーメイド治療のための創薬がタンパク解析により可能であることが示された。

### 分担研究者

秋山一男 (独) 国立病院機構相模原病院  
臨床研究センター センター長  
大田 健 帝京大学医学部内科学講座 教授  
赤澤 晃 国立成育医療センター総合診療部  
小児期診療科 医長  
山口悦郎 愛知医科大学医学部  
呼吸器・アレルギー内科 教授  
白川太郎 京都大学大学院医学研究科 教授  
(平成16,17年度)  
海老澤元宏 (独) 国立病院機構相模原病院  
臨床研究センター  
アレルギー性疾患研究部 部長  
藤澤隆夫 (独) 国立病院機構三重病院  
臨床研究部 部長  
松井永子 岐阜大学大学院医学系研究科  
小児病態学 併任講師

る。その病因・病態は極めて多彩である。アレルギー疾患のガイドラインを基盤にして、さらに個々の患者における多彩な病因・病態に対応して、個々への対策の開発が急務である。すなわちテーラーメイド治療法(個別化治療法)の確立である。その為に必須なことは、個々の患者の病因・病態を適格に認識し、さらにこれをもとに治療反応性の予測法を確立することである。これなくしてテーラーメイド治療は成立しない。以上により良好・適格な治療効果が得られ、QOLの向上が得られ、社会問題の解決につながる。

本研究の目的は、

### A. 研究目的

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の増加が大きな社会問題になっている。従ってこれらに対する適格な対策の確立が急務である。アレルギー疾患は遺伝的要因と環境要因とが絡み合って発症す

①アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出できる遺伝子診断キット及びDNAチップ(アレイ)を中心とする診断システムを開発すること。—このためには病因・病態・薬剤反

応性解析の蓄積が重要である。

②その診断をもとにして各病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立すること。—このためには新たな創薬も必要である。

## B. 方法

(1) アレルギー（アトピー）の病因遺伝子群の系統的、多角的な解明に基づいて、アレルギーを新たに遺伝子学的に分類し、アレルギーの系統的遺伝子診断キットをインベーターアッセイ法を用いて開発した。

(2) 加えてDNAチップ（アレイ）の開発を進めた。これを気管支喘息を中心にアレルギー疾患に適用した。

(3) 個々の異常部位を系統的に診断あるいは予測できる遺伝子診断の情報および発症予測データベースをもとにして、その病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立するため、既存の薬剤の適格な使用方法について検討を進めた。具体的には、主に個々の気管支喘息患者の発症病因、病態、成立機序の個々の部位に対する抗アレルギー薬・抗喘息薬のテーラーメイド治療法の確立のためのEBMを検討した。さらに食物アレルギーについても検討した。

(4) 次いで詳細な遺伝子情報をもとに、今後、どのような薬剤を開発すれば、医療効果が上昇し、患者の治癒軽快率の向上、さらにはQOLの向上が図れるかについて検討し、蛋白構造レベルでの創薬をすすめた。

## C. 結果

(1) アレルギーの病因、病態の系統的解析にもとづいてアレルギー（アトピー）を遺伝子学的に分類し、これに基づいて遺伝子検出キッ

トをインベーターアッセイ法を利用して確立した。画期的成果である。

(2) 遺伝子発現変化を系統的に検出するためのDNAチップ（アレイ）を開発することができた。

(3) 抗アレルギー薬、抗喘息薬について、①Th2サイトカイン抑制薬であるトシル酸スプラタスト投与により、症状の軽快が得られた症例では、IFN- $\gamma$ 産生量は、投与前には低く、投与後に明らかに増加していた。さらに、症状の改善と遺伝子多型について検討したところ、IL-13遺伝子多型に加えてLTC4S遺伝子多型が症状改善度と関連することが明らかになった。両マーカーを用いたロジスティック回帰による予測率は80%と高値であった。これは極めて画期的成果の1つである。

②ロイコトリエン受容体拮抗薬により効果のみられた症例では、尿中LTE4が高値であり、好酸球上のCysLT1受容体発現が低下している症例が多いことが明らかになった。

③吸入ステロイド薬の使用量、臨床効果、治療反応性、寛解予測、中止予知のために気道過敏性の評価が重要であることが示された。吸入ステロイド薬の中止予測としては、成人喘息における検討で、初診時の気道の好酸球性炎症、末梢気道病変の有無、ACh気道過敏性などが因子となる可能性が示唆された。遺伝子多型としては、MIF G-173CのCC症例はステロイド反応性が良好であることが示された。また、TGF- $\beta$ 1 C-507Tが野生型であることが、気管支喘息の寛解予測因子となる可能性が示唆された。

④非喫煙健常者におけるテオフィリンの代謝の検討を行ったところCYP1A2 G-3594T多型において、GGはGTと比較して、半減期が有意に短く、クリアランスも有意に高いことが

明らかになった。

⑤食物アレルギーの寛解予測因子の検討で、主要原因食品の特異的 IgE 値の低下傾向が弱く、アトピー性皮膚炎の既往および経過不良であり、アナフィラキシーの回数が多く、食物除去品目数が多い場合に、寛解しにくいという特徴がみられた。また、食物抗原誘発の好塩基球 CD203c 発現定量は即時型食物アレルギーの診断に有効であることが明らかになった。

以上の本研究班の研究成果および文献的検討に基づいて、「気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き（付. 食物アレルギーを含む）」を作成した。

(4) IL-18 リガンド・レセプター立体構造解析に基づいた薬剤開発を、タンパクレベル、ペプチドレベル、低分子レベルで進めている。低分子アンタゴニストのスクリーニングにより、阻害活性を持つ候補分子を明らかにすることができた。

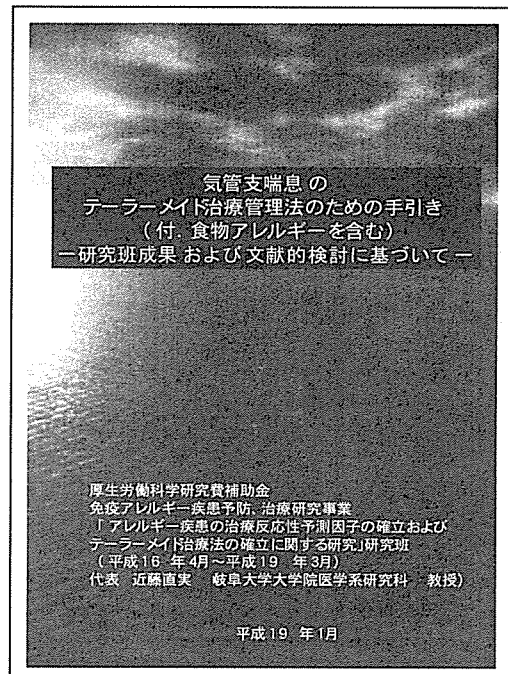
#### D. 考察

本研究から、画期的成果が幾つか得られた。

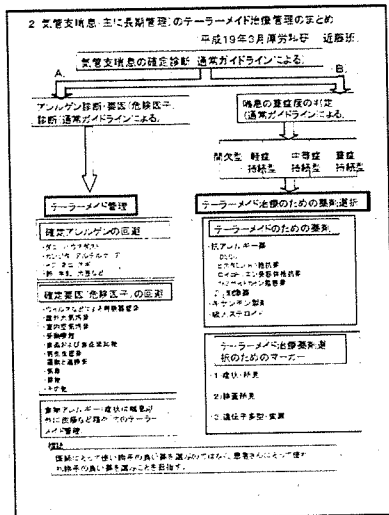
- (1) アレルギーの病因・病態解析をもとにして、さらに遺伝子相互間作用と遺伝子・環境相互作用の検討も含めて新たにアレルギー（アトピー）の遺伝子学的分類が確立され、さらに個々の異常部位を系統的に診断あるいは予測できる遺伝子診断キットが確立できた。
- (2) DNA チップ（アレイ）が開発できた。
- (3) 画期的成果が幾つも得られたので、特に既存の薬剤（抗アレルギー系、吸入ステロイド系など）の適格な使用方法（中止時期決定因子の解明を含む）が明らかにされてきたので、その病因・病態に合致したテーラーメイド治療管理法の基礎が確立できた。この成果をも

とに図 1 に示す「気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き（付. 食物アレルギーを含む）」が作成された。

図 1. 「気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き（付. 食物アレルギーを含む）」（抜粋）



目次	
1 はじめに	1
2 気管支喘息（主に長期管理）のテーラーメイド治療管理のまとめ	2
3 テーラーメイド治療のためのマーカーのまとめ	3
(1) 症状・所見	4
(2) 検査所見	4
(3) 遺伝子多型・変異	5
4 (1) 気管支喘息治療薬の有効性関連因子	6
DSOG (クロモグリク酸ナトリウム)	
ヒスタミンH1拮抗薬	
ロイコトリエン受容体拮抗薬	
Th2サイトカイン阻害	
β <sub>2</sub> 刺激薬	
テオフィリン	
吸入ステロイド薬	
(2) 気管支喘息の寛解予測因子	10
(3) 食物アレルギーにおける寛解予測関連因子	11
5 参考資料	12
喘息予防・管理ガイドライン（JGL）2006 および小児気管支喘息治療・管理ガイドライン（JPGL）2005における長期管理における薬物療法	
6 気管支喘息のテーラーメイド治療管理法のための手引き作成委員一覧	15



3. テーラーメイド治療のためのマーカーのまとめ  
13 遺伝子多型 実薬

患者ID	性別	年齢	CD14		FCG2R		MMP9		MMP9		MMP9		MMP9	
			CC	CT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
01	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
02	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
03	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
04	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
05	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
06	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
07	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
08	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
09	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
11	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
12	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
13	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

注記  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13

5. テーラーメイド治療のためのマーカーのまとめ  
1 症状 病歴

患者ID	性別	年齢	CD14				FCG2R				MMP9				臨床	治療
			CC	CT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT		
01	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
02	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
03	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
04	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
05	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
06	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
07	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
08	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
09	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
10	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
11	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
12	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	
13	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	

注記  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13

3. テーラーメイド治療のためのマーカーのまとめ  
12 検査結果

患者ID	性別	年齢	CD14		FCG2R		MMP9		MMP9		MMP9		MMP9	
			CC	CT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
01	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
02	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
03	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
04	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
05	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
06	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
07	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
08	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
09	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
11	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
12	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
13	男	45	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

注記  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13  
01 02 03 04 05 06 07 08 09 10 11 12 13

(4) 近い将来、適格な診断・治療法の確立により医療効果が上昇し、患者の治癒軽快率の向上、QOLの向上、医療費の節減にもとづいて社会問題の解決が図れる。

(5) テーラーメイド治療のための創薬がタンパク解析により可能であることが示された。

E. 結論

本研究の成果をもとにして、以下の点を中心に今後、次の研究を推進する。

- (1) アレルギーのさらなる病因・病態の解析を基盤に、新たな病因の発見と、網羅的かつより系統的な診断・治療予防範囲の拡大と確立をさらに進める。
- (2) 本研究を通してアレルギーの既存外の新たな創薬の必要性と開拓がなされ、テーラーメイド治療法の開発をさらに拡大充実させる。
- (3) 「アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドライン」を確立し、一般に普及し、QOLの向上、社会への貢献を進める。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

分担研究報告書参照

H. 知的所有権の取得状況

分担研究報告書参照



## II. 分担研究報告書

分担課題名:アレルギーの病因遺伝子・病態・治療反応性予測因子の解明と  
テーラーメイド治療法の確立および創薬の検討

分担研究者 近藤直実 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授

研究要旨

アレルギー疾患は、遺伝的要因と環境要因が相互に影響しあって発症すると考えられている。本研究の目的は、アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に分類し、病態を明らかにすること、および各病因・病態にもとづいたテーラーメイド治療法を確立することである。この確立のためにDNAチップ(アレイ)の開発と新規創薬も目的とする。結果として病因・病態解析にもとづいてアレルギー(アトピー)を遺伝学的に分類することを試みた(図1)。加えてDNAチップ(アレイ)を開発した。トシル酸スプラスタ投与により、症状の軽快が得られた症例ではIFN- $\gamma$ 産生量は、投与後明らかに増加していた。さらに、遺伝子多型を検討したところ、IL-13遺伝子多型およびLTC4S遺伝子多型が症状改善度と関連していた。つまり、いずれも野生型のほうが薬剤有効症例が多かった。両マーカーを用いたロジスティック回帰による予測率は80%であった(図2)。IL-18リガンド、レセプター立体構造解析に基づいた薬剤開発をタンパクレベル、ペプチドレベル、低分子レベルで進めて、低分子アンタゴニストのスクリーニングにより、阻害活性を持つ候補分子を明らかにすることが出来た。

研究協力者

加藤善一郎 岐阜大学医学部附属病院  
小児科講師

A. 研究目的

アレルギー疾患は、遺伝的要因と環境要因が相互に影響しあって発症すると考えられている。本研究の目的は、アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に分類し、病態を明らかにすること、および各病因・病態にもとづいたテーラーメイド治療法を確立することである。この確立のためにDNAチップ(アレイ)の開発と新規創薬も目的とする。

B. 方法

- (1) アレルギーの病因・病態解析をもとにして、さらに遺伝子相互作用と遺伝子・環境相互作用の検討も含めて新たにアレルギー(アトピー)を遺伝学的に分類した。
- (2) 加えてDNAチップ(アレイ)の開発を進めた。
- (3) 個々の異常部位を系統的に診断あるいは

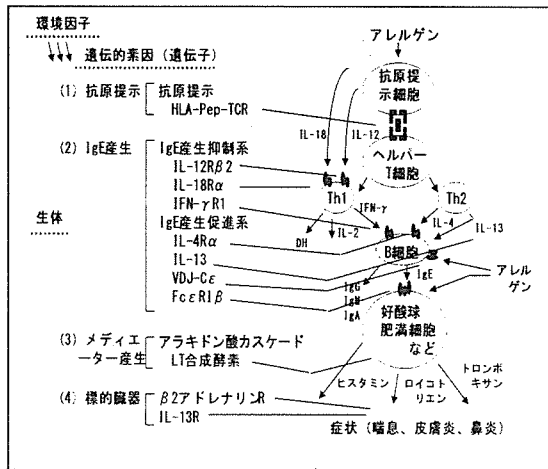
は予測できる遺伝子診断の情報および発症予測データベースをもとにして、その病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立するため、薬剤の適格な使用方法について検討した。具体的には、Th2サイトカイン抑制薬投与前後における、末梢血単核球分画から産生されるTh1、Th2サイトカイン等について検討するとともに喘息日誌における症状改善度、QOL票の記載によるQOLの改善、遺伝子多型との関連について検討した。マーカーを用いたロジスティック回帰による予測率を算出した。

(4) 次いで詳細な遺伝子情報をもとに、今後、どのような薬剤を開発すれば、医療効果が上昇し、患者の治癒軽快率の向上、さらにはQOLの向上が図れるかについて検討し、蛋白構造レベルでの創薬をすすめた。

C. 結果

- (1) 病因・病態解析にもとづいてアレルギー(アトピー)を遺伝学的に分類することを試みた(図1)。

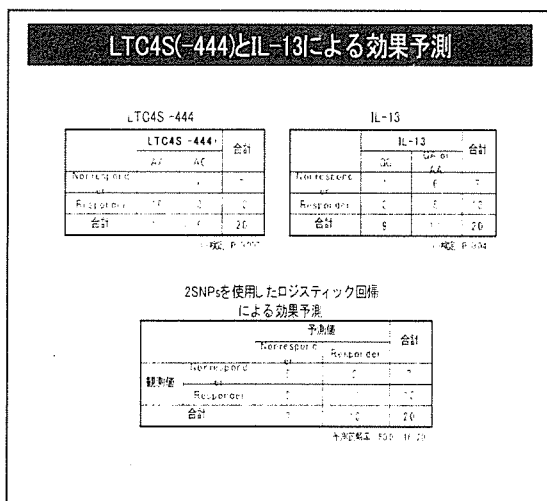
図1 アレルギーの遺伝子学的分類



(2) 加えてDNAチップ(アレイ)を開発した。

(3) トシル酸スプラタスト投与により、症状の軽快が得られた症例ではIFN- $\gamma$ 産生量は、投与後明らかに増加していた。さらに、遺伝子多型を検討したところ、IL-13遺伝子多型およびLTC4S遺伝子多型が症状改善度と関連していた。つまり、いずれも野生型のほうが薬剤有効症例が多かった。両マーカーを用いたロジスティック回帰による予測率は80%であった(図2)。

図2 LTC4S(-444)とIL-13による効果予測



これは極めて画期的な成果である。

(4) IL-18 リガンド、レセプター立体構造解析に基づいた薬剤開発をタンパクレベル、ペプチドレベル、低分子レベルで進めている。

種々の関連分子間結合を検討した。低分子アンタゴニストのスクリーニングにより、阻害活性を持つ候補分子を明らかにすることが出来た。

#### D. 考察

以上の成績から、今後さらに遺伝子診断、発症予測に関する情報を集約し、得られたデータを検討することで、アレルギーのさらなる病因・病態の解析を基盤に新たな病因の発見と、網羅的かつより系統的な診断範囲の拡大と確立が可能であると考えられた。また、既存の薬剤に対する有効性の予測が、遺伝子レベルでなされた。アレルギーの新たな創薬の開拓が、テーラーメイド治療法のさらなる拡大と充実のために必要である。

#### E. 結論

上記の如く画期的成果が得られた。このことは重要なモデルになりえる。アレルギー疾患の病因、病態のデータベースをもとに、既存の薬剤を選択していくことは、患者のQOLの向上のみならず、医療経済学的にも非常に重要であると思われる。さらには、このことが今後どのような分子に注目して創薬をめざせばよいかについての貴重な情報を与えるものとする。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

<論文発表>

1. Kondo N., Matsui E, Kaneko H, Aoki M, Kato Z, Fukao T, Kasahara K, Morimoto N. RNA editing of interleukin-12 receptor beta2, 2451 C-to-U (Ala 604 Val) conversion, associated with atopy. Clin Exp Allergy 34:363-368 (2004)

2. Kondo N., Matsui E, Kaneko H, Kato Z, Teramoto T, Shikano H, Aoki M, Ohnishi 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. *Allergology International*. 53:77-85 (2004)
3. 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. *Allergology International*. 53:127-134 (2004)
4. Yamamoto Y, Kato Z, Matsukuma E, Li A, Omoya K, Hashimoto K, Ohnishi H, Kondo N. Generation of highly stable IL-18 based on a ligand-receptor complex structure. *Biochem Biophys Res Commun*. 317:181-186 (2004).
5. Omoya K, Kato Z, Kato Z, Matsukuma E, Li A, Hashimoto K, Yamamoto Y, Ohnishi H, Kondo N. Systematic optimization of active protein expression using GFP as a folding reporter. *Protein Expr Purif*. 36:327-332 (2004).
6. Asano T, Kaneko H, Terada T, Kasahara Y, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. Molecular analysis of B-cell differentiation in selective or partial IgA deficiency. *Clin Exp Immunol*. 136:284-90. (2004)
7. Jiang M, Tsukahara H, Ohshima Y, Zou C, Ohta N, Sato S, Todoroki Y, Hiraoka M, Nambu M, Tanaka T, Yamaguchi E, Kondo N, Mayumi, M. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Patients with Bronchial Asthma. *International Medical Journal* 11. 119-123 (2004)
8. Kondo N, Kato Z, Kaneko H, Fukao T, Matsui E, Aoki M, Kawamoto N, Kondo M, Omoya K, Tatebayashi K, Matsukuma E, Kasahara K, Kuwabara M, Mabichi Y, Horikoshi H. Molecular explanation of hygiene hypothesis. *MEDIMOND* : 65-73(2004)
9. Tatebayashi K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. IL-12B promoter polymorphism associated with asthma and IL-12B transcriptional activity. *Allergology International*. 54: 345-349 (2005)
10. Yoshikawa K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Inoue R, Teramoto T, Shinoda S, Fukutomi O, Aoki M, Kasahara K, Kondo N. A novel single-nucleotide substitution, Glu 4 Lys, in the leukotriene C4 synthase gene associated with allergic diseases. *Int J Mol Med*. 16: 827-831 (2005)
11. Kondo M, Suzuki K, Inoue R, Sakaguchi H, Matsukuma E, Kato Z, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 15 :107-111 (2005)
12. Kawamoto N, Kaneko H, Takemura M, Seishima M, Sakurai S, Fukao T, Kasahara K, Iwasa S, Kondo N. Age-related changes in intracellular

cytokine profiles and Th2 dominance in allergic children. *Pediatric Allergy and Immunology*. 17:125-33(2006)

13. Matsukuma E, Kato Z, Omoya K, Hashimoto K, Li A, Yamamoto Y, Ohnishi H, Hiranuma H, Komine H, Kondo N. Development of fluorescence linked immunosorbent assay (FLISA) for high throughput screening (HTS) of interferon-gamma. *Allergology International*. 55 : 49-54 (2006).

14. Kaneko H, Matsui E, Shinoda S, Kawamoto N, Nakamura Y, Uehara R, Matsuura, Morita M Tada H, Kondo N. Effects of dioxins on the quantitative levels of immune components in infants *Tox Ind. Health*. 22:131-136(2006).

15. Kaneko H, Matsui E, Asano T, Kato Z, Teramoto T, Aoki M, Kawamoto N, Lian LA, Kasahara K, Kondo N. Suppression of IFN-gamma production in atopic group at the acute phase of RSV infection. *Pediatr Allergy Immunol*. 17:370-375(2006)

16. Kato Z, Asano T, Kondo N. Inosiplex affects the spectra of proton magnetic resonance spectroscopy in subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol*. 21:177-178. (2006)

17. Kaneko H, Isogai K, Kondo M, Hosoi K, Aono T, Funato M, Kondo N. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with relapsed pleuropulmonary blastoma. *J Pediatr Hematol Oncol*. 28:383-385(2006)

18. Teramoto T, Fukao T, Tomita Y, Terauchi Y, Hosoi K, Matsui E, Aoki M, Kondo N, Mikawa H. Pharmacokinetics of Beclomethasone Dipropionate in an Hydrofluoroalkane-134a Propellant System in Japanese Children with Bronchial Asthma. *Allergology International* 55: 317-320(2006)

19. Kondo N, Katsunuma T, Odajima Y, Morikawa A. A Randomized Open-Label Comparative Study of Montelukast Versus Theophylline Added to Inhaled Corticosteroid in Asthmatic Children. *Allergology International*. 55: 287-293(2006)

<学会発表>

1. 近藤直実 : イブニングシンポジウム 2 : ウイルス感染と喘息・アレルギー - 遺伝子生態医学の視点から - . 日本呼吸器学会学術講演会 ( 第 44 回 ) ( 2004 年 3 月 31 日, 東京)

2. 松井永子、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、寺本貴英、長尾みづほ、青木美奈子、吉川かおり、館林宏治、近藤直実 : シンポジウム 2 : アレルギーにおけるゲノム解析と診断への応用 - 小児を中心に - . 日本アレルギー学会春季臨床大会 ( 第 16 回 ) ( 2004 年 5 月 12 日、群馬)

3. 近藤直実 : 小児気管支喘息の病態と治療 - 現状と将来 - : セッション III 将来展望 : 遺伝からみた発症予知予防 小児気道アレルギー研究会 ( 第 11 回 ) ( 2004 年 10 月 24 日、宮崎)

4. 加藤善一郎、大西秀典、李愛蓮、山本裕、面家健太郎、松隈英治、近藤應、深

尾敏幸、近藤直実：シンポジウム5：アレルギーにおけるプロテオミクス解析．日本アレルギー学会総会（第54回）

（2004年11月5日、横浜）

5. Kondo N：国際学会シンポジウム：Symposium 1：The hygiene hypothesis: true or false?（衛生仮説）．APAPARI KAPARD Joint Congress 2005（2005年4月7日、韓国）

6. 近藤直実，松井永子，篠田紳司，寺本貴英，深尾敏幸，金子英雄，加藤善一郎，川本典生，平山耕一郎：イブニングシンポジウム2：講演：小児気管支喘息のQOLと評価．日本アレルギー学会春季臨床大会（第17回）（2005年6月2日、岡山）

7. Kondo N：国際学会シンポジウム：Symposium：Molecular Mechanism of Th1・Th2 Imbalance and Hygiene Hypothesis．26th Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum（2006年5月8日、Malta）

8. Kondo N：国際学会シンポジウム：Symposium：Genetic factors and environmental in allergy．KAAACI-WAO Joint Congress 2006 & the 9<sup>th</sup> WPAS（2006年11月5日、韓国）

9. 近藤直実：教育講演10：「アレルギー発症における遺伝子と環境」．日本アレルギー学会（第56回）（2006年11月4日、東京）

14号の111 岐阜大学発明委員会（2004）

2. 近藤直実，松井永子，吉川かおり，笠原貴美子：アレルギー素因を決定する遺伝子の検出法．PBM101 特許出願日 2004年9月24日（特願2004-276639）（株）BML（2004）

3. 近藤直実，松井永子，金子英雄，青木美奈子，近藤應：遺伝子多型を利用した抗アレルギー薬の感受性予測方法（特許出願中）：

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

1. 近藤直実，松井永子，吉川かおり，笠原貴美子：アレルギーの病因遺伝子としてのロイコトリエンC4合成酵素遺伝子変異の発見と臨床応用．岐大研第

分担課題名: 成人喘息におけるロイコトリエン受容体拮抗薬と吸入ステロイド薬の治療反応性と  
中止可能予知因子の解明

分担研究者 秋山一男 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター長

研究要旨

成人喘息に長期寛解・治癒があり得るかどうかについての明確な回答は得られていない。以前、当センターでは過去に当院受診歴のある成人喘息患者に対しアンケート調査を行い、3年間以上無治療で無症状であるいわゆる臨床的寛解症例が少なからず存在することを明らかにした。これまでの臨床研究から吸入ステロイド(ICS)療法によりアセチルコリン(Ach)気道過敏性が正常化した成人喘息症例でICSを含めたすべての治療薬を中止し、30ヶ月以上の経過を追跡できた症例では、その後の臨床的悪化を認めないことが明らかとなった。長期寛解症例の背景因子としては喘息初診時の気道の好酸球性炎症が軽度(喀痰好酸球 $\leq$ score 1)、末梢気道病変が軽度(%V50,%V25 $\geq$ 80%)、Ach気道過敏性が軽度(AchPC<sub>20</sub>>10000 $\mu$ g/mL)、ICS治療期間が短期間(1年以内)である、などが挙げられる。また成人喘息の治療の第2選択薬としてロイコトリエン受容体拮抗薬(LTRA)は約2/3症例がresponderであるが、responder群はnon-responder群と比較して、使用前の尿中LTE4が高く(207.2 vs 88.1 (pg/mg cre), p<0.01)、CysLT1受容体の発現頻度が低かった(58.1 vs 85.9(%), p<0.01)。さらにCysLT1受容体発現頻度(%)のCut off値は60%で感度0.50、特異度0.92、尿中LTE4のCut off値は150 pg/mg creで感度0.72、特異度0.78であった。以上より成人喘息においても長期寛解症例が存在し、喘息初診時の臨床成績、治療経過から将来の寛解・治癒予備群が予測可能となりうること、またセカンドラインとしてのLTRAは使用前の尿中LTE4、好酸球のLT1受容体発現頻度の測定を行うことで、治療反応性が予測できる可能性があり、将来のテーラーメイド療法への応用が可能であると考えられる。

研究協力者

釣木澤尚実、斉藤博士、三田晴久、粒来崇博、  
押方智也子、関谷潔史、小野恵美子、谷口正実、  
谷本英則、福富友馬、大友 守、前田裕二  
(国立病院機構相模原病院 臨床研究センター)

A. 研究目的

小児喘息の予後に関する報告は多いが、成人喘息の長期予後についての疫学調査は少なく、治癒とはいかないまでも長期寛解が可能か否かについても明確な回答は得られていない。以前、当センターでは過去に当院受診歴のある成人喘息患者に対しアンケートにより寛解状態の調査を行った。その結果、アンケートを回収できた症例の20.7%は3年間以上無治療で無症状であるいわゆる臨床的寛解状態にあった。このことは成人喘息にも長期寛解例が存在する可能性を示唆している。また成人喘息の治療における抗炎症薬としての第一選択薬は吸入ステロイド

(ICS)であることには最早異論のないところである。最近の当センターの臨床研究では成人喘息においてICS療法により臨床症状だけでなくアセチルコリン(Ach)気道過敏性が正常域(AchPC<sub>20</sub>>20000 $\mu$ g/mL)まで改善する症例が増加していることが明らかであるが、気道過敏性正常化後の治療薬減量、中止の基準については十分なevidenceは得られていない。一方、Ach気道過敏性は正常化しないが臨床症状は消失し、自ら治療薬を中断した39症例についてその後の臨床経過をretrospectiveに追跡すると89.4%の症例が平均7.63 $\pm$ 0.9ヶ月で臨床症状の悪化を認めた。この結果は治療薬の中止にはAch気道過敏性が正常域まで改善することが必要であることを示唆している。そこで本研究では気道過敏性が正常化する成人喘息の背景因子の検討、治療薬中止後の臨床経過、治療薬中止後臨床的に悪化しない、寛解予備群の背景因子の検討を行い、喘息初診時の臨床所見から寛解・治癒予備群を推定しうるかについて検討した。

またガイドラインによりICSが長期管理薬として

第1選択薬であるという位置づけが明確になってきた一方で、第2選択薬として位置づけられているロイコトリエン受容体拮抗薬（LTRA）の有効性はすでに知られていることであるが、LTRAによる治療が治癒または長期寛解に結びつくのかどうかについては未だ明確な回答はなく、またLTRAの個々の患者における治療反応性については十分なevidenceは存在しない。本研究班では成人喘息の治癒及び長期寛解導入の可能性をめざし、主要長期管理薬である吸入ステロイド薬とLTRAによる治療反応性及び中止可能性の予知因子を解明するために、成人喘息患者でICSを使用している症例を対象とし、第二選択薬としてLTRAを併用し、治療前後において末梢血好酸球におけるLTC<sub>4</sub>、D<sub>4</sub>、E<sub>4</sub>のレセプターであるCysLT<sub>1</sub>受容体の発現頻度および尿中ロイコトリエンLTE<sub>4</sub>の測定を行い、これらのパラメーターがLTRAの治療反応性予知因子となりうるかどうかについて検討し、さらに将来のテーラーメイド療法に応用できるかどうかについて検討した。

## B. 研究方法

初年度研究（1）ICS(+)群とICS(-)群におけるAch気道過敏性改善の差における検討。

1・対象：当院外来通院中の成人喘息患者で複数回Ach気道過敏性検査を受検している467名を対象とした。

2・方法：ICS(+)群364症例は全症例がICSを使用（徐放性テオフィリン製剤、経口β刺激薬、LT拮抗薬の使用の有無は問わない）。ICS(-)群103症例は全症例ICSを使用せず、徐放性テオフィリン製剤、経口β刺激薬、LT拮抗薬などを使用した。初診時と治療後に標準法によるAch気道過敏性を施行し、改善度（post/pre AchPC<sub>20</sub>）を比較した。

（2）Ach気道過敏性が正常域まで改善する症例の背景因子の検討。

1・対象：当院の成人喘息患者で複数回AchおよびHist気道過敏性検査を受検している288名を対象とした。

2・方法：ICSを使用し、治療後AchPC<sub>20</sub>>20000γまで改善した正常域群91名、治療後AchPC<sub>20</sub><5000γ以下の過敏性残存群110名の2群に分類し、患者背景因子について検討した。

## 2年目の研究

（1）一般喘息116症例をGINAガイドラインに基づき重症度別に分類し末梢血好酸球数（%）と好酸球のCysLT<sub>1</sub>受容体の発現について検討した。末梢血好酸球のCysLT<sub>1</sub>受容体の発現については末梢血からPercoll不連続比重勾配遠心法で好酸球を分離、フォルマリン固定後、細胞膜透過性を亢進し、抗CysLT<sub>1</sub>

receptor抗体(Cayman)と反応させFACSを用いて陽性細胞比率を測定した。

（2）当院成人喘息患者の136症例を対象とし、ICS使用下でのLTRAの併用効果、LTRAの治療反応性を検討した。

①ICS(FP or BUD)群、39症例、②ICS+LTRA群：responder群、68症例、③ICS+LTRA群：non-responder群、29症例の治療前の末梢血好酸球のCysLT<sub>1</sub>受容体の発現、および尿中ロイコトリエンLTE<sub>4</sub>の測定を行い、治療効果と対比した。尿中ロイコトリエンLTE<sub>4</sub>の測定は高速液体クロマトグラフィーで精製したのちEIAで測定した。治療効果判定としてはLTRA responder群を①自覚症状（咳嗽、喀痰、呼吸困難感、喘鳴の減少、消失）の改善、②PEFの10%以上の増加、③βMDIの使用回数の低下のいずれかひとつ以上を認めた症例、LTRA non-responder群を上記のいずれも認めない症例と定義した。

（3）上記3群について治療前、治療後3ヶ月後、6ヶ月後、12ヶ月後のCysLT<sub>1</sub>受容体発現頻度と尿中LTE<sub>4</sub>を経時的に測定した。

（4）さらに著効群と有効群を以下のように分類し3群で比較した。A.自覚症状（咳嗽、喀痰、呼吸困難感、喘鳴の減少または消失）：各1点。B.PEFの10%以上の増加（1点）、20%以上の増加（2点）。C.βMDIの使用回数の低下（1点）、消失（2点）とし、LTRA著効群：A. B. Cの合計点数2点以上、LTRA有効群：A. B. Cの合計点数1点、LTRA non-responder群：A. B. Cの合計点数0点と定義した。

## 3年目の研究

研究1・ICSを使用し臨床症状が消失しかつAchPC<sub>20</sub>>20000μg/mlまで改善した当院の成人喘息患者263例のうち同量のICSを継続した継続群76症例、半分量に減量した減量群92症例、ICSをすべて中止した中止群95症例の予後をKaplan-Miere法で解析した。継続群は約半数がICSのみ、半数はテオフィリン、LABA、LTRA、抗コリン薬を使用していた。悪化の定義は臨床症状（夜間の咳、喘鳴）が週1回以上、βMDIの使用が月2回以上のいずれかを認めた場合を悪化とした。さらに治療薬をすべて中止した95症例を対象とし臨床経過を追跡し、悪化群、非悪化群の背景因子から、寛解予知因子となりうるかどうかについてCut off値を検討した。

研究2・2年目の研究に引き続き、LTRAのresponder群、non-responder群の治療効果判定から、LTRA投与前の末梢血好酸球のCysLT<sub>1</sub>受容体の発現、および尿中LTE<sub>4</sub>のCut off値について検討し、将来のテーラーメイド療法に応用できるかどうかについて検討した。



## C. 研究結果

### 初年度研究

(1) post/pre AchPC<sub>20</sub> は ICS(+)群 9.3 倍、ICS(-)群 3.9 倍と ICS(+)群で有意に改善し(p<0.01)、特に ICS(-)群では臨床的に有意な改善と考えられている 4 倍以上の改善を認めなかった。また ICS(-)群+LTRA(+)、ICS(-)群+LTRA(-)では Ach 気道過敏性改善について有意差を認めなかった。

(2) 過敏性正常域群は過敏性残存群と比較して発症年齢が高く、発症から ICS 導入までの期間が短期であった。過敏性残存群では小児発症(寛解なし)喘息の割合が多かった。

### 2年目の研究

(1)喘息 116 症例の重症度別の末梢血好酸球数は有意差を認めなかったが、末梢血好酸球上に発現する LT1 受容体の発現頻度(%)は喘息重症度に負の相関を認めた(P<0.01)。

(2) 1・ICS 単独群、LTRA responder 群、LTRA non-responder 群の現年齢、発症年齢、罹病期間、病型、血清 IgE 値、初診時%FEV1 は有意差を認めなかった。ICS 一日使用量(BDP 換算)は ICS 単独群:LTRA responder 群:LTRA non-responder 群でそれぞれ平均 1296±735、1598±813、1342±765(mg)であり、3 群間では有意差は認めなかった。また LTRA の平均使用期間は LTRA responder 群(8.1±7.0 ヶ月)、LTRA non-responder 群(4.8±3.4 ヶ月)で有意差は認めなかった。

2・ICS+LTRA responder群はICS+LTRA non-responder 群と比較してCysLT1受容体の発現頻度が低く(58.1 vs 85.9(%), p<0.01)、尿中LTE4は高かった(207.2 vs 88.1 (pg/mg cre), p<0.01)。

3・同一症例では好酸球上のCysLT1受容体の発現頻度と尿中LTE4は負の相関を認めた(P<0.01, R=-0.39)。

4・LTRA 治療前後では好酸球上のCysLT1受容体の発現頻度および尿中LTE4は変化を認めなかった。

5・LTRA 著効群 vs 有効群ではCysLT1受容体の発現頻度では N.S、尿中LTE4では p=0.077 と有意な相関を認めなかった。

### 3年目の研究

研究1 (1) 観察期間(最高 75 ヶ月)中、継続群、平均観察期間 17.5±9.6 ヶ月で 44.7%、減量群 7.5±5.9 ヶ月で 39.1%、中止群 8.9±6.9 ヶ月で 46.3%が臨床症状の悪化を認めた。30 ヶ月以上の観察期間で臨床症状が悪化した症例は認めなかった。(2) 中止群の悪化群 44 症例、非悪化群 51 症例の検討では平均観察期間はそれぞれ 12.6±9.1、26.2±15.4(月)であった。非悪化群は悪化群と比較して初診時の喀痰中好酸球が低値(1.7 vs 2.4(score),

p=0.029)、%V50、%V25 が高値(%V50: 89.4 vs 73.0, p=0.019, %V25: 79.2 vs 63.8, p=0.039)、AchPC<sub>20</sub> が高値(13152.2 vs 6698.2 (μg/ml), p<0.01)、発症から ICS 導入までの期間(4.3 vs 6.5 (year), NS)に有意差は認めなかったが、ICS 使用期間が短期であった(1.6 vs 2.8 (year), p<0.01)。(3) これらのパラメーターの Cut off 値を検討すると、喀痰好酸球数 Score≤1、感度 0.37、特異度 0.89、Odds ratio 4.49、p<0.05、初診時%V50≥80%、感度 0.31、特異度 0.85、Odds ratio 3.09、p<0.05、初診時%V25≥80%、感度 0.68、特異度 0.71、Odds ratio 5.37、p<0.01、初診時 AchPC<sub>20</sub>≥10000 μg/ml、感度 0.46、特異度 0.83、Odds ratio 4.10、p<0.01 であった。

### 研究2

CysLT1 受容体発現頻度(%)の ROC curve、尿中 LTE4 の ROC curve を検討した。CysLT1 受容体発現頻度(%)の Cut off 値は 60%で感度 0.50、特異度 0.92、Odds ratio 12.0、p<0.05 であり、尿中 LTE4 Cut off 値は 150 pg/mg cre で感度 0.72、特異度 0.78、Odds ratio 9.75、p<0.01 であった。

## D. 考察

成人喘息に寛解・治癒はありうるかどうかについては未だに不明な点が多い。これまでの我々の retrospective な臨床成績から Ach 気道過敏性が正常化し、FP200 μg (BUD400 μg) 以下の ICS を使用し臨床症状の消失した症例を対象とし ICS を含めたすべての治療薬を中止し、経過を追跡すると 30 ヶ月以上経過を追跡できた症例では臨床症状の悪化、Ach 気道過敏性の悪化を認めなかった。また寛解・治癒予備群は治療薬を中止するまでの ICS 治療期間が短期間であった。この結果は過去に我々が報告した成人喘息の予後調査(論文1 参考)の内容を反映し、成人喘息においても少なからず寛解・治癒予備群が存在することを示しており、かつ今回の結果から喘息初診時の背景因子からある程度予測が可能であることを示している。このことは将来のテーラーメイド治療に応用が可能、すなわち初診時の臨床所見が軽症である症例は少量 ICS かつ短期間で寛解導入が可能となることを示している。

また臨床的経験から LTRA は約 2/3 の症例が有効であり、1/3 の症例は効果が認められないと考えられている。近年、LTRA の治療反応性予測因子については SNP などの研究が進んでいるが蛋白レベルでの研究は少なく不明な点が多い。今回の結果から LTRA の responder 症例は使用前の尿中 LTE4 高値、好酸球上の CysLT1 受容体発現頻度低下であることが明らかとなった。尿中 LTE4 高値は血清中 LT 高値を反映して

いると考えられる。一般喘息では末梢血好酸球数は変化を認めないが、好酸球上の CysLT1 受容体発現は重症度に応じて低下した。重症例における CysLT1 受容体発現頻度の低下は Cayman の CysLT1 受容体に対する抗体は細胞内のドメインを認識することを考えると down regulation によるエンドサイトーシスより受容体数の低下が考えられる。これらの研究結果から尿中 LTE4、CysLT1 受容体発現頻度の Cut off 値を求めることにより、使用前に LTRA の Responder を選出することが可能になりテーラーメイド療法の具体的な指針が作られたと考えられる。また同一症例における尿中 LTE4 と CysLT1 受容体発現頻度は負の相関 ( $R=-0.39$ ,  $p<0.01$ ) を示すため、どちらか一方の測定でも予測が可能である。

#### E. 結論

成人喘息の寛解・治癒予測因子は喘息初診時の良好な肺機能、気道過敏性、局所の好酸球性炎症が軽度であるなどが挙げられる。また成人喘息の第 2 選択薬としての LTRA の治療反応性予測因子としては尿中 LTE4 高値、好酸球上の LT1 受容体発現頻度低下症例であり、将来のテーラーメイド療法への応用が可能であると考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1・論文発表

釣木澤尚実、秋山一男、他。成人喘息受診中断例の予後の検討—無治療無症状継続群と有症状群との比較検討。アレルギー、55:115-125, 2006

##### 2・学会発表

1・Prognosis in adult asthmatics stopping all medications after normalization of bronchial hyperresponsiveness by inhaled corticosteroid therapy. Naomi Tsurikisawa, Kazuo Akiyama, et al. Am J Resp Crit Care Med 173: A664, 2006

2・成人喘息におけるロイコトリエン受容体拮抗薬 (LTRA) の治療反応性の予測因子に関する検討。釣木澤尚実、秋山一男、他。アレルギー55:442, 2006

3・吸入ステロイド (ICS) 療法により気道過敏性が正常化した成人喘息患者の治療中止後の経過についての検討。釣木澤尚実、秋山一男、他。日呼学会誌 54: 970, 2006

4・成人喘息におけるロイコトリエン受容体拮抗薬 (LTRA) の治療反応性の予測因子 (CysLT1 受容体、尿中 LTE4) に関する検討。釣木澤尚実、三田晴久、斉藤博士、秋山一男、他。第 2 回バイオマーカー研究会、2006

5・Prognosis of adult asthmatics after normalization of bronchial hyperresponsiveness (BHR) by inhaled corticosteroids (ICS) therapy. Naomi Tsurikisawa, Sonoko Morita, Kazuo Akiyama, et al. Am J Resp Crit Care Med 172: A923, 2005

6・吸入ステロイド (ICS) 療法により気道過敏性が正常化した成人喘息患者の ICS 減量・中止後悪化症例に対する再治療後の効果の検討。釣木澤尚実、押方智也子、粒来崇博、秋山一男、他。日呼学会誌 43:274, 2005

7・成人喘息患者の発症年齢別の吸入ステロイド (ICS) 療法に対する気道過敏性改善効果の差違。釣木澤尚実、粒来崇博、秋山一男、他。アレルギー54: 399, 2005

8・気道過敏性正常化した成人喘息患者の病理組織に対する検討。釣木澤尚実、押方智也子、粒来崇博、秋山一男、他。アレルギー54: 1089, 2005

9・気道過敏性が正常域まで改善する症例の疫学背景因子の検討。釣木澤尚実、押方智也子、粒来崇博、秋山一男、他。アレルギー54: 1036, 2005

10・気道過敏性のメカニズム—気道過敏性を指標とした治療効果の判定—シンポジウム。釣木澤尚実、粒来崇博、三富弘之、秋山一男。アレルギー54: 245, 2005

11・成人喘息の予後—長期寛解・治癒の視点から—イブニングシンポジウム。釣木澤尚実、押方智也子、秋山一男、他。アレルギー54: 970, 2005

12・吸入ステロイド療法により気道過敏性が正常化した成人喘息ではその減量、中止が可能か？ 2 釣木澤尚実、秋山一男、他。日呼学会誌、42:121, 2004

13・気道過敏性正常化成人喘息患者の吸入ステロイド (ICS) 減量・中止後悪化症例に対する再治療後の効果の検討。釣木澤尚実、秋山一男、他。アレルギー、53:996, 2004

14・吸入ステロイド (ICS) 療法により気道過敏性が正常化した成人喘息の減量、中止後の検討。釣木澤尚実、秋山一男、他。アレルギー、53:997, 2004

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

1、特許出願 特になし

2、実用新案登録 特になし

3、その他 特になし

分担課題名: 遺伝子多型解析にもとづく、気管支喘息アウトグロウ予測因子および  
吸入ステロイド薬の治療反応性予測因子の同定

分担研究者 大田 健 帝京大学医学部内科学講座 教授

研究要旨

本研究班の研究目的は、病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出する遺伝子診断キットを開発することである。我々は、以下の2点について遺伝子多型 (SNP) と喘息病態の関連を検討した。

まず第1点目として、気管支喘息のアウトグロウ (寛解) を予測する因子を同定することを試みた。現時点で、喘息のアウトグロウを明確に予測する因子は確立しておらず、我々は気道リモデリングとの関連が示唆される TGF- $\beta$ 1 に注目し、プロモーター活性と関連する機能的な遺伝子多型 (SNP) である C-509T について解析した。成人まで持ち越したアトピー型喘息患者では、健常人およびアウトグロウした群に比し、有意に TT (homo) が多く、T allele 頻度が高かった。TGF- $\beta$ 1 C-509T において、TT は喘息を成人に持ち越す予測因子となりうることを見出した。

第2点目の検討として、吸入ステロイド薬の治療反応性予測因子を同定することを試みた。抗炎症薬である吸入ステロイド薬は、気管支喘息治療の中心的位置を占めるが、その治療反応性を予測する指標は乏しく、SNP との関連を検討した報告は少ない。喘息専門施設で診療中の気管支喘息患者において、情報収集時の吸入ステロイド使用量を至適用量とし、15のSNP との関連を retrospective に検討した。

吸入ステロイド単独投与 (BDP-CFC 相当 800  $\mu$ g/日以下) のみで一秒率が70%以上に達している群を反応良好群 ( $n=59$ )、高用量吸入ステロイド (1600  $\mu$ g/日以下) + 併用薬を用いても一秒率が70%未満である群を反応不良群 ( $n=59$ ) と定義したところ、MIF G-173C において有意な SNP 頻度の差を認め ( $p=0.0111$ )、反応良好群で有意に C allele 頻度が高かった。

また、GG 群 (野生型) では経口ステロイド内服患者で MIF 濃度が高値をとるのに対し、GC/CC 群では経口ステロイド内服患者でも MIF 濃度が上昇していなかった。反応良好群で有意に C allele 頻度が多かった背景として、ステロイド投与後にも向炎症性サイトカインである MIF 濃度が上昇しにくいことが関連している可能性が示唆された。

以上から、MIF G-173C SNP において吸入ステロイド抵抗性患者には GG が多く、治療反応性予測において、MIF G-173C SNP の検討が有用である可能性が示唆された。

研究協力者

長瀬洋之 (帝京大学医学部内科講師)  
山下直美 (現武蔵野大学薬学部教授)  
足立哲也 (帝京大学医学部内科講師)  
中島幹夫 (帝京大学医学部内科助手)

気管支喘息における  
アウトグロウ予測因子の同定  
TGF- $\beta$ 1 C-509T 多型との関連

A. 研究目的

本研究班の検討目標は、気管支喘息における病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出する遺伝子診断キットを開発することである。小児の気管支喘息においては、成長過程で治療を要しない寛解 (アウトグロウ) に至る群もあるが、成人に喘息を持ち越す群も存在する。成人に持ち越すリスクをあらかじめ予測することができれば、早期から積極的な加療を行い、気道リモデリング等の非

可逆的変化に進展することを予防できる可能性がある。我々は、気道リモデリングの責任分子であることが示唆されている TGF- $\beta$ 1 のプロモーター領域 C-509T の SNP について解析した。C-509T は TGF- $\beta$ 1 のプロモーター活性と関連する機能的な SNP であることが既に明らかになっている。

## B. 方法

健康人および喘息患者より、遺伝子解析の同意を取得後 EDTA 採血にて血漿を採取し、単核球分画より DNA を採取し、SNP は MassARRAY 法 (日立) で解析した。群は以下の通り定義・分類して解析した。

健康人：アレルギー性鼻炎とアトピー性皮膚炎の既往がなく、かつ血清 IgE < 250 IU/ml、

喘息患者群：小児喘息から成人に持ち越したアトピー型喘息患者、

アウトグロウ群：小児喘息既往を持ち、16才以降発作のない、18才以上の成人。

## C, D. 結果, 考察

成人に持ち越した気管支喘息患者では、健康人に比して、TT (homo) の頻度が有意に高かったが、アウトグロウ群の TT の頻度は健康人と有意差を認めなかった (表 1)。

\* $p = 0.04$  vs Control

TGF- $\beta$ 1 C-509T	CC Wild	CT Hetero	TT Homo	計 (人)
喘息 成人持ち越し	36 21.8%	80 48.4%	49* 29.6%	165
アウトグロウ	26 32.9%	36 45.5%	17 21.5%	79
Control	59 27.6%	114 53.5%	40 18.7%	213

表 1. TGF- $\beta$ 1 C-509T SNP 頻度と喘息病型

また、成人持ち越し喘息群では、アウトグロウ群や、コントロール群に比して有意に T allele の頻度が高かった (図 1)。

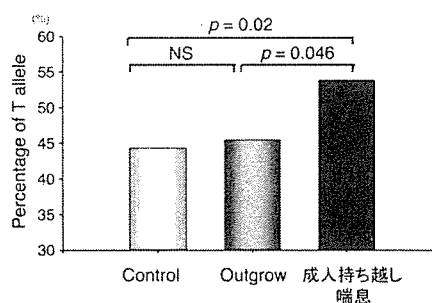


図 1. TGF- $\beta$ 1 C-509T SNP の T allele 頻度と病型

## E. 結論

既に発症している小児気管支喘息患児において、TGF- $\beta$ 1 C-509T が、TT (Homo) であればアウトグロウしにくい可能性がある。TT (Homo) 群は、十分な加療を要するグループである可能性が示唆された。