

**吸入ステロイド薬の至適用量に  
基づく臨床効果と遺伝子多型解析  
MIF G-173C 多型との関連**

**A. 研究目的**

気管支喘息ではアレルギー性気道炎症がその病態の中心にあると位置づけられている。抗炎症治療薬として吸入ステロイド薬が普及した結果、入院患者数や喘息死患者数は減少傾向に転じ、治療体系は進歩した。しかしながら、吸入ステロイドに対する治療反応性をあらかじめ予測する指標は乏しく、実際に治療抵抗症例も存在する。最も抗炎症作用が期待できる吸入ステロイド薬をターゲットに、その至適用量にもとづく臨床効果と遺伝子多型との関連を明らかにし、治療反応性予測因子を見出すことを目的とした。

**B. 方法**

喘息患者より遺伝子解析の同意を取得後 EDTA 採血し、血漿を採取、単核球分画より DNA を採取した。同時に臨床情報として、現在の治療薬、呼吸機能検査値を収集した。診察はすべて喘息専門施設で行われており、情報収集時の吸入ステロイド使用量を至適用量とした。検体及び、臨床情報は平成 16 年度厚生労働科学研究事業「アレルギー疾患の発症および悪化に関連する因子の検討 (班長: 大田健, 分担研究者: 西村正治 (北海道大学)、棟方充 (福島県立医科大学)、山口正雄 (東京大学)、庄司俊輔 (国立病院機構福岡病院)、塩原哲夫 (杏林大学)、小林信之 (国立国際医療センター))」で収集したものをを用いた。

SNP 検出は、各施設の方法によったが、当施

設では日立の Mass ARRAY 法で解析した。MIF G-173C の SNP 解析は、北海道大学大学院医学系研究科呼吸器内科学教室 (檜澤伸之、西村正治先生)で行われた。

**C, D. 結果, 考察**

15 の遺伝子多型 (SNP)について解析し、吸入ステロイドの至適用量との関連を検討した。至適コントロールに必要な吸入ステロイド量が、BDP 相当 400  $\mu$ g/日以下 ( $n = 69$ )を低用量群、1600  $\mu$ g/日以上 ( $n = 157$ )を高用量群とした (表 2)。低用量群と高用量群で MIF G-173C において有意な SNP 頻度の差を認め ( $p = 0.043$ )、低用量群で有意に C allele 頻度が多かった。

MIF G-173C	GG (野生型)	GC (ヘテロ)	CC (ホモ)	計
低用量	39 (56.5%)	25 (36.2%)	5 (7.2%)	69
高用量	110 (70.1%)	41 (26.1%)	6 (3.8%)	157

表 2. 吸入ステロイドの至適用量と SNP

さらに、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/日以上) + 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 (表 3)、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 頻度が多かった (図 2)。

MIF G-173C	GG (野生型)	GC (ヘテロ)	CC (ホモ)	計
反応良好群	28 (47.5%)	26 (44.1%)	5 (8.5%)	59
反応不良群	42 (71.2%)	14 (23.7%)	3 (5.1%)	59

表 3. 吸入ステロイド反応性と SNP

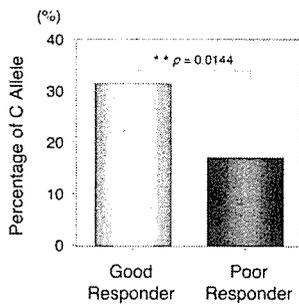


図 2: 治療反応性と C allele 頻度

反応良好群と反応不良群において、臨床的背景を比較したところ、反応不良群は有意に高齢で ( $43.4 \pm 1.5$  vs  $56.6 \pm 1.8$  才)、末梢血リンパ球%が低値 ( $30.3 \pm 1.3$  vs  $26.1 \pm 1.3\%$ )であった。これは、反応不良群に経口ステロイド内服者が 10 名含まれていたことが影響している可能性がある。

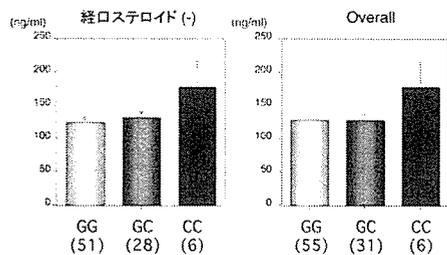


図 3: 血漿 MIF 濃度と MIF G-173C SNP

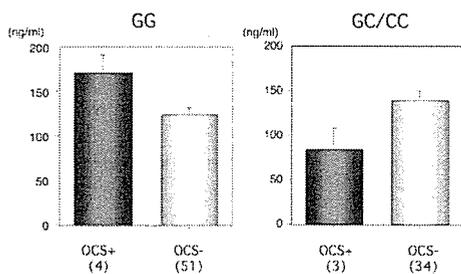


図 4: 経口ステロイド内服と血漿 MIF 濃度

また、血漿 MIF 濃度を ELISA 法で測定し、MIF G-173C 多型との関連を検討した。既報のごとく、血漿 MIF 濃度は GG<GC<CC の順であった (図 3)。反応良好群と不良群では血漿 MIF 濃度に有意差を認めなかった。しかしながら GG (野生型)群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 (図 4)。

MIF は向炎症性サイトカインであり、炎症性腸疾患、乾癬、関節リウマチ、肝硬変、多発性硬化症、糸球体腎炎等の多岐にわたる炎症性疾患での高発現が報告されている。気管支喘息においても、有症状の喘息患者で血清中 MIF 濃度が高いこと、喘息患者の誘発喀痰で濃度上昇がみられたことが報告されている。

反応良好群で有意に C allele 頻度が多かった背景として、C allele を持つと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が、その機構の詳細な解析は今後の検討課題である。

## E. 結論

MIF G-173C SNP において GG (野生型)では吸入ステロイド抵抗性患者が多かったことから、吸入ステロイドの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。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Meng J, Thongngarm T, Nakajima M, Yamashita N, Ohta K, Bates CA, Grunwald GK, Rosenwasser LJ.

Association of transforming growth factor-beta1 single nucleotide polymorphism C-509T with allergy and immunological activities. Int Arch Allergy Immunol. 138:151-160 (2005) .

2. Yamashita N, Tashimo H, Matsuo Y, Ishida H, Yoshiura K, Sato K, Yamashita N, Kakiuchi T, Ohta K.:Role of CCL21 and CCL19 in allergic inflammation in the ovalbumin-specific murine asthmatic model. J Allergy Clin Immunol. 117:1040-1046 (2006) .

## 2. 学会発表

1. 中島幹夫, 長瀬洋之, 足立哲也, 中野純一, 山下直美, 関谷剛, 山本寿子, 松尾由起子, 木原令夫, 平井浩一, 大田健. ミニシンポジウム 6 呼吸器疾患と遺伝子多型 2 気管支喘息の寛解と TGF- $\beta$ 1 の遺伝子多型 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会 幕張 2005 年 4 月

2. Nakajima M, Yamamoto T, Yamashita N, Kuwabara M, Nagase H, Adachi T, Ishii A, Uehara Y, Rosenwasser LJ, Ohta K. Outgrow of Asthma May Relate to the Genotype for TGF-b Promotor, -509 C/T American Thoracic Society (ATS) International Conference, San Diego, USA, May, 2005

3. 長瀬洋之, 山下直美, 檜澤伸之, 足立哲也, 山口正雄, 小林信之, 庄司俊輔, 塩原哲夫, 棟方 充, 西村正治, 近藤直美, 大田 健:喘息管理に要する吸入ステロイド容量と MIF G-173C 多型との関連. 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006.11.

4. 長瀬洋之、大田 健: シンポジウム 9: アレルギー性炎症病態の多様性: Toll-like receptor によるアレルギー性炎症の調節 第 18 回日本アレルギー学会春期臨床大会、東京、2006.6.

5. Nagase H, Yamashita N, Adachi T, Nakano J, Ohta K: Toll-like Receptor 3 (TLR3) Ligand Exacerbates

Pre-existing Allergic Airway Inflammation in Murine Asthma Model, 63<sup>rd</sup> AAAAI, Miami, USA, March, 2006.

## H. 知的所有権の取得状況

### 1、特許取得

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: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

分担研究者 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

研究要旨

吸入ステロイド薬(ICS)によって治療され一定期間無症状となった喘息患者での治療ステップダウンの基準は明確ではない。本研究では気道過敏性、環境因子、遺伝因子等を検討することにより症状および気道過敏性に及ぼす影響を検討した。112名の小児気管支喘息患者を対象として、メサコリン気道過敏性試験を実施してPC20が0.5mg/ml以上の者が75%であり。吸入ステロイド薬を中止して16ヶ月後に全く症状がなかったのは71%、間欠型まで維持できたのは91.8%であった。予後を予測する因子は見つからないが吸入ステロイド薬は適切に使用されれば中止することができることがわかった。

研究協力者

明石真幸 (同第1専門診療部アレルギー科)  
大矢幸弘 (同第1専門診療部アレルギー科医長)  
斎藤暁美 (同第1専門診療部アレルギー科)  
斎藤博久 (同免疫アレルギー研究部部長)  
須田友子 (同第1専門診療部アレルギー科)  
成田雅美 (同第1専門診療部アレルギー科)  
野村伊知郎(同第1専門診療部アレルギー科)  
松本健治 (同免疫アレルギー研究部室長)  
渡辺博子 (独 神奈川病院小児科)

道過敏性まで低下させているのか、さらにこの気道過敏性の沈静化は一時的なものなのかは議論のあるところである。これまでもICS使用により臨床症状の沈静化した場合のICSの減量中止(治療ステップダウン)に関しては、明確な指標、基準がない。この研究では、ICSを導入し、一定期間臨床的に発作が無い状態が続いた場合にICSのステップダウンが可能かどうかを気道過敏性、肺機能をはじめ遺伝的要因も含めて様々な危険因子との関係を分析し、ステップダウンの条件を見いだすことを目的として実施した。

A. 研究目的

吸入ステロイド薬(ICS)は、多くの気管支喘息患者の気道過敏性を低下させる作用があり現在の喘息治療の中心的薬剤である。小児気管支喘息治療管理ガイドライン2005においても気管支喘息発症早期からICSを導入し適切に使用することにより、発作頻度の減少、入院を要する重症発作の減少、日常生活(QOL)の改善がえられることが明らかになった。しかし、こうした改善効果は、ICS導入中は明かであるが臨床的に症状が無くなった場合に、ICSが一時的に気道炎症を沈静化して症状が改善しているのか、気

B. 研究方法

対象患者は、スパイロメータによる呼吸機能検査が実施できること、アレルギー専門医による環境調整指導、日常生活指導を受けていて、登録時点でICSとしてプロピオン酸フルチカゾン(FP)単独で100 $\mu$ g/日以下で治療して3ヶ月以上喘息発作がないこと、1秒量が70%以上あること、今後の治療、検査に同意することを条件に6~26歳の計112名(男73名、女39名)、

平均年齢11.6±3.9歳の喘息患者が登録された(表1)。

総数	112名
男性:女性	73:39
平均年齢	11.6 ± 3.9 歳
重症度 (小児気管支喘息治療 管理外ドライ2005に 基づいた分類)	軽症持続型 56名 中等症持続型 50名 重症持続型 6名
喘息発症年齢	3.9 ± 2.7 歳

表1 対象患者の年齢、性別、重症度

対象患者が過去最も重症だった時期の重症度で年齢別に分類すると、重症持続型が5.4%、中等症持続型44.6%、軽症持続型50%であった(図1)。

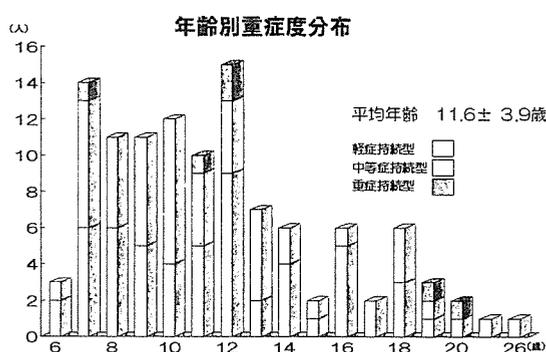


図1 年齢別重症度分布

対象患者は、24時間以上ICSを中止してからメサコリン吸入気道過敏性試験(MCT)を実施して、PC20(FEV1が20%以上低下したメサコリン吸入薬濃度)が0.5mg/ml未満の場合は、ICSによる治療を継続とし、それ以上の場合は患者および保護者にICSを中止する事を説明し同意がとれた場合にICSを中止した。ICS中止後は7ヶ月まで、16ヶ月までの主要評価項目として定期的肺機能検査、MCT検査、臨床症状調査を実施した。付加的評価小目として、血

清総IgE抗体、ダニ特異IgE抗体、家庭環境中のダニアレルゲン測定を行った(図2)。また、将来的な予後因子の判定基準作成のために遺伝子変異(SNPs)の測定を行うための採血を実施した。

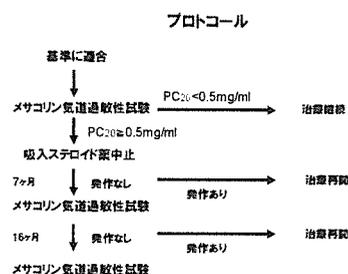


図2 研究のプロトコール

メサコリン吸入気道過敏性試験(MCT)は、米国胸部疾患学会の方法(AT5法)に準じて、メサコリン0.031mg/ml, 0.063mg/ml, 0.125mg/ml, 0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 4mg/ml, 8mg/ml, 16mg/mlの溶液を、LCネブライザー(Pari、)を使用して圧搾空気5L/min.で2分間吸入し、吸入後に2回スパイロメーターAS-300(ミナト医科機器、東京)で測定した。気道過敏性の判定は、ATS法に準じて、FEV1が、前値に比べて20%以上低下した場合あるいは明かな喘鳴、呼吸困難がある場合を陽性として判定し、PC20を図3の方法で計算し、気道過敏性の閾値とした。

$$PC_{20} = \text{antilog} \left[ \log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1)(20 - R_1)}{R_2 - R_1} \right]$$

C1 = second-to-last methacholine concentration  
(concentration preceding C2).  
C2 = final concentration of methacholine  
(concentration resulting in a 20% or greater fall in FEV1)  
R1 = percent fall in FEV1 after C1  
R2 = percent fall in FEV1 after C2

Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing—1999  
Am J Respir Crit Care Med Vol 161, pp 309–329, 2000

図3 メサコリン気道過敏性閾値PC20の算出式

予後判定の基準として、今回の観察期間であるICS中止後7ヶ月、16ヶ月のまでの間の喘息症状の有無をガイドラインの重症度を基準に次のように評価した。観察期間に全く発作、喘鳴がなかった群(A)、通常の生活で制限できていた抗原との予期せぬ接触により発作を起こしてしまっ群(B)、年に数回喘鳴、小発作を起こす間欠型の群(C)、間欠型で運動誘発喘息を起こす群(D)、軽症持続型以上の群(E)に分類した。

### C. 研究結果

対象患者112名の初回MCT検査でのメサコリン閾値PC20の頻度では、全員が0.063mg/ml以上であった。重症度とPC20閾値の人数を図4に示した。

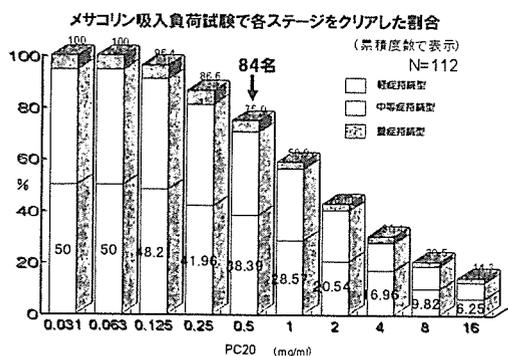


図4 重症度別のPC20の別の頻度

初回のPC20が16g/ml以上であったのは17名、0.5mg/ml以上が75%にあたる84名であった。このうちICSの継続を希望した12名をのぞいて、72名がICSを中止した。

### ICS中止後7ヶ月までの経過

全く発作なし(A)が56名(78%)、間欠型(C)で維持できたのは67名(93%)であった(図5)。

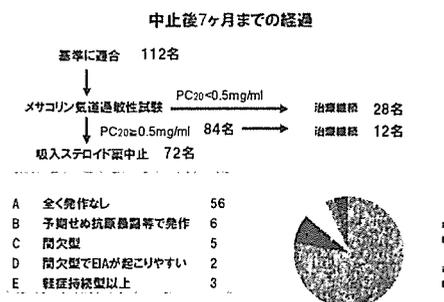


図5 ICS中止7ヶ月までの臨床症状の推移

ICSを中止した72名のうち7ヶ月時点でのMCT検査を実施した59名の経過では、MCT PC20が0.5mg/ml以下に低下した者が16名(27%)、PC20が0.5mg/mlに維持できて全く発作がなかった者が38名(63%)、間欠型以上に維持できた者が42名(71%)であった(図6)。

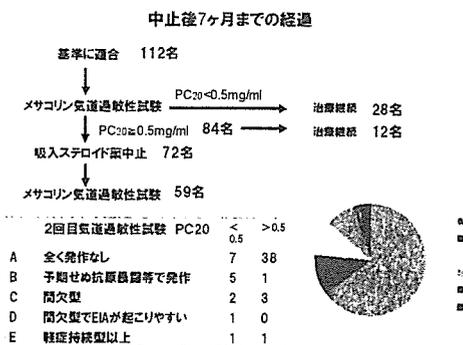


図6 ICS中止7ヶ月までの臨床症状、気道

過敏性の変化

ICS 中止後 16 ヶ月までの経過

吸入ステロイドを中止した 72 名の経過を示す。

全く発作なし (A) が 52 名 (72.2%)、間欠型 (C) までで維持できたのが 66 名 (91.7%) であった (図 7)。

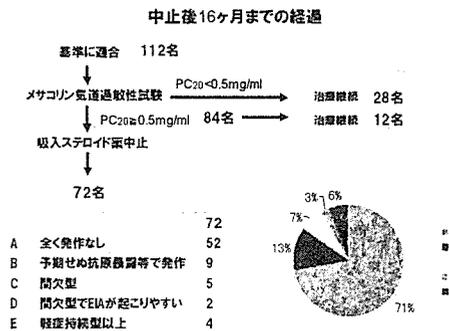


図 7 ICS 中止 16 ヶ月までの臨床症状の推移

ICS を中止した 72 名のうち 16 ヶ月の時点で MCT 検査を実施した 44 名の経過では MCT PC20 が 0.5mg/ml 以下に低下した者が 8 名 (18.2%)、PC20 が 0.5mg/ml に維持できて全く発作がなかった者が 30 名 (68.2%)、間欠型以上に維持できた者が 35 名 (79.5%) であった (図 8)。

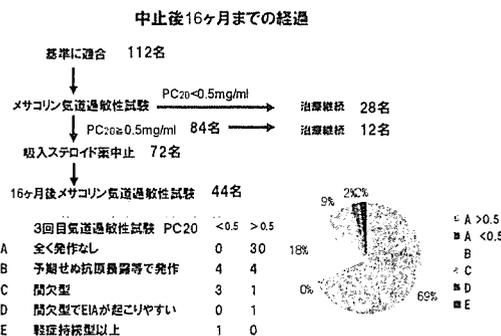


図 8 ICS 中止 16 ヶ月までの臨床症状、気道過敏性の変化

初回の MCT 実施時の PC20 が 0.5mg/ml 未満群と以上群での肺機能検査では、FEV1%, %V50, %V25 で両群に差はなかった (図 9)。

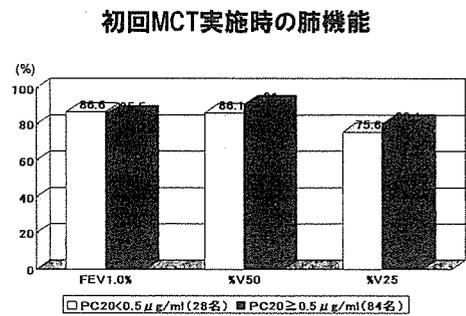


図 9、初回 MCT 実施時 PC20 と肺機能検査

初回 MCT 実施時の PC20 の値を 0.5mg/ml 未満と以上で分けたときの ICS 導入までの期間、罹病期間、最終の無発作期間、発症年齢に付いても有意差はなかった (図 10, 図 11)。

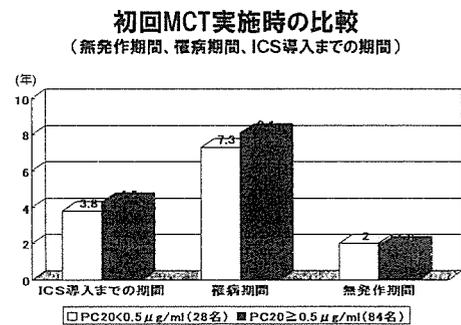


図 10 初回 MCT 実施時 PC20 と ICS 導入までの期間、罹病期間、最終無発作期間

### 初回MCT実施時の気道過敏性と発症年齢

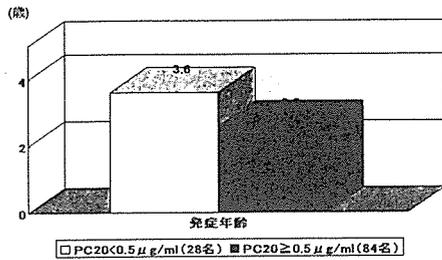


図 11 初回 MCT 実施時の PC20 と発症年齢

同様に、ICS を中止 7 ヶ月後の発作の有無と中止時の肺機能検査でも両群に差はなかった (図 12)。

### ICS中止後7ヶ月間での発作の有無を規定する因子

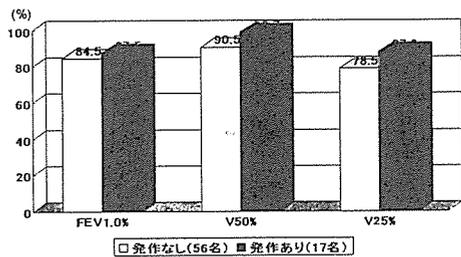


図 12 ICS 中止 7 ヶ月間の発作の有無と、中止時の肺機能の関係

同様に ICS 導入までの期間、罹病期間、最終の無発作期間での比較でも両群に差はない (図 13)。

### ICS中止後7ヶ月間での発作の有無を規定する因子

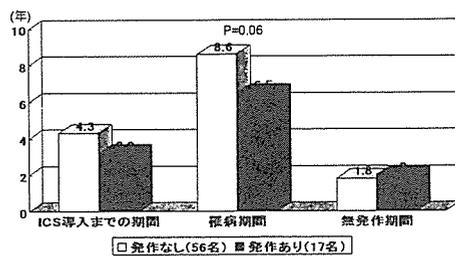


図 13 ICS 中止 7 ヶ月間の発作の有無と治療

の経過

末梢血血清 IgE 抗体と好酸球数も両群に差は認めなかった (図 14)。

### ICS中止後7ヶ月間での発作の有無を規定する因子

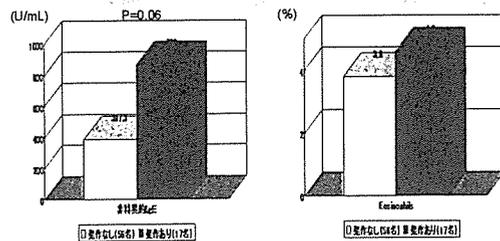


図 14 ICS 中止 7 ヶ月間の発作の有無と中止時の検査値

環境中のダニ濃度の測定も両群に差はなかった。

ICS を中止 16 ヶ月後の発作の有無と中止時の肺機能検査でも両群に差はなかった (図 15)。

### ICS中止後16ヶ月間での発作の有無を規定する因子

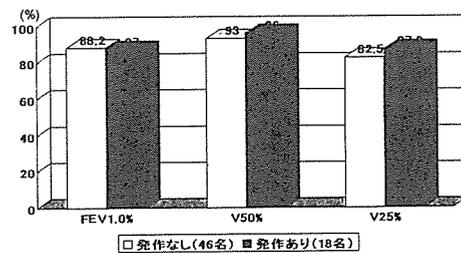


図 15 ICS 中止 16 ヶ月間の発作の有無と、中止時の肺機能の関係

同様に ICS 導入までの期間、罹病期間、最終の無発作期間での比較でも両群に差はない (図 16)。

ICS中止後16ヶ月間での発作の有無を規定する因子

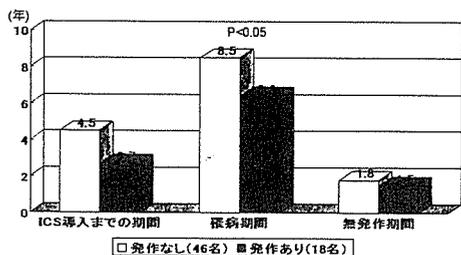


図16 ICS中止16ヶ月間の発作の有無と治療の経過

ICS中止後の気道過敏性PC20の変化を期間中の発作の有無別のグループで示したものが図17である。ICSを中止して16ヶ月間に発作がなかった群においてもICSを中止して7ヶ月までのメサコリン気道過敏性が一時的に亢進していた。その後16ヶ月時点で再び改善し、中止時点との差がなくなっている。発作群では、有意差はないものの過敏性が更新している例が多い傾向にあった。

吸入ステロイド薬中止7ヶ月・16ヶ月での気道過敏性の変化

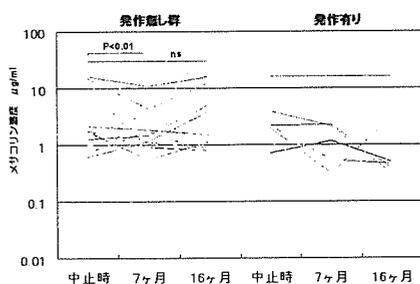


図17 ICS中止16ヶ月間のPC20の変化

D. 考察

気管支喘息における気道過敏性に関わる因子は、遺伝因子、環境因子、感染、治療的介入の時期、治療薬などさまざまである。現在の喘息治療管理ガイドラインに沿った治療を行い、吸入ステロイド薬など気道炎症を改善す

る薬剤を使用した場合には、ほとんどの患者で発作を起こさない状態にコントロールすることができる。吸入ステロイド薬によって気道炎症がどこまで沈静化できるのか、気道炎症が沈静化したあとに気道過敏性は改善するのか、気道過敏性が改善されれば抗炎症薬は不要になるのかという問題がある。

この研究で対象となる患者は、吸入ステロイド薬だけの使用になって3ヶ月間以上発作がない患者を対象としている。これは、小児気管支喘息治療管理ガイドライン2005に沿った治療をした場合に症状を観察する期間として3~6ヶ月が適当と考えられるからである。臨床的にも、気管支拡張薬の使用がなく、6歳以上で吸入ステロイド薬がフルチカゾン相当で1日100mcg以下であればさらなる減量中止を検討するタイミングである。

結果として、臨床上が改善していてもメサコリンに対する気道過敏性は、0.063mg/ml以上であるもののほぼ均等に分布していた。今回は、米国胸部疾患学会の基準でもPC20が1.0mg/ml以上は中等度過敏性がありという判断であるが、発作のないことを確認しているため0.5mg/ml以上であれば中止することにした。

臨床症状で、16ヶ月までに悪化した症例は、間欠型までを悪化とすると15.2%が悪化したことになる。

E. 結論

多因子性疾患である気管支喘息の治療には、環境因子のコントロール、吸入ステロイド薬が使用されている。これらの効果について予測できる因子の定量化をおこなうことが必要である。

今回の研究でも、予後を予測できる因子は明

確にはならなかったが、適切な治療がされている場合には、吸入ステロイド薬の減量中止は十分可能であることがわかった。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表 なし

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: 気管支拡張薬の代謝、効果、および副作用に関する遺伝学的研究

分担研究者 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

研究要旨

成人喘息治療において、気管支拡張薬であるテオフィリンを使用する機会は今日でも多い。本薬は一般的には安全かつ高い有効性が見込まれるが、低い確率で副作用が出現し、効果の程度には明らかな個体差が存在する。特に小児領域では催けいれん性を危惧するあまり、使用を制限する機運さえ存在する。そこで治療効果や副作用の予測を薬剤使用前に予知することが重要な課題のひとつである。効果や特に副作用は血中濃度と相関すると考えられる。我々は初年度の研究において、テオフィリンの主な代謝酵素である CYP1A2 の多型と喘息患者血清のテオフィリンピーク濃度との関連を見出した。それは既報の内容と概ね符合する結果であった。その後さらに精度を高めて検証すべく、他の薬物の影響を受けず被験者が比較的均一な非喫煙学生健常者 49 名を対象とし、テオフィリン静注後の薬物代謝諸指標と CYP 遺伝子多型との関連を検討した。その結果、CYP1A2 遺伝子 5'プロモーター領域に位置する一塩基多型(SNP)である -3594 (G/T)は、血清テオフィリン濃度のクリアランス値および半減期と有意な相関を示した。また -3860(A/G)は半減期と有意な相関を示した。一方テオフィリン代謝の一部を担っている CYP3A4 の 3 つの SNP は、いずれのテオフィリン代謝指標とも相関を示さなかった。以上よりテオフィリン代謝は、確かに CYP1A2 遺伝子多型の影響下にあることが示唆された。

A. 研究目的

成人喘息治療は、近年吸入ステロイドの普及や各種の新薬の上市により、中等症までの治療はほぼ完成の水準にある。しかし、それらの患者においても発作時には、あるいは重症患者においては、気管支拡張薬であるテオフィリンや  $\beta_2$  刺激薬を頻回に使用する。両薬は使用に際してよく知られている注意点を遵守すれば、安全かつ高い有効性が見込まれるが、テオフィリンについては依然として一定の頻度で悪心、動悸、痙攣などの副作用が出現し、また効果の程度には個体差が存在する。今日喘息治療は、より完成度の高い方法の確立が望まれており、そのために治療効果と副作用の予測を薬剤使用前に予知することが重要な課題のひとつである。そこで本件球ではまず喘息患者において、主要なテオフィリン代謝酵素である CYP1A2 の 3 つの多型について、血中テオフィリンピーク値との関連を検討するとともに、健常者を対象として CYP1A2 と CYP3A4 両遺伝子多型とテオフィリン代謝諸指標との関連を検討した。

B. 研究方法

研究 1

対象：当科で診療している喘息患者 44 名。  
方法：各種テオフィリン薬を内服後に血液を採取し、その中のテオフィリン濃度と内服後の時

間から、血中濃度のピーク値をベイス推定により求めた。分布より  $8 \mu\text{g/ml}$  以下の群とそれ以上の群に患者を分類し、それと CYP1A2 の 3 つの遺伝子多型、-3860 (A/G)、-2464 (T/del)、-164 (C/A)との関連を検討した。また -3860 (A/G)については、遺伝子型より 2 群に分けて、両群のピークテオフィリン濃度を Mann-Whitney 試験で検定した。

研究 2

対象：20 歳以上の非喫煙健常者（学生ボランティア 49 名、男 31 名、女 18 名、年齢中央値 22 歳 [21-25]）。

投与薬剤：テオフィリン（テオドリップ®、200 mg/200 ml 生食）を 3 mg/kg 体重の用量で、但し上限量を 200mg として、30 分かけて点滴静注した。

検査項目：点滴静注終了直後とその後経時的（点滴終了から 30 分、60 分、120 分、240 分）に血中テオフィリン濃度を測定し、PK Solutions®を用いて薬物代謝指標を計算した。テオフィリンの濃度は、ELISA 法により測定した。また同じ時間間隔で血清カリウム値を測定した。さらに全経過を通して動悸や胃腸症状などの副作用の有無を記録した。

遺伝子多型：肝チトクローム P450 分子種の中でテオフィリンは主として CYP1A2 により代

謝・分解される。2005年に Soyama らにより日本人におけるほぼすべての遺伝子多型が同定された。今回はそれらのうち比較的頻度の高い7つについて検討した。すなわち CYP1A2 については-3860 (A/G)、-3594 (T/G)、-163 (C/A)、2159 (G/A)、2321 (G/C)、5347 (C/T)、5521 (A/G) の7種についてタイピングをおこなった。各多型のうち5つについては TaqMan probe® を用いて、他の2つは SNP の各アリルに特異的なプライマーを用いた PCR 増幅を行い、増幅過程をリアルタイム PCR 法にてモニターし、増幅効率の差異から判定した (ARMS 法)。テオフィリンの一部は CYP3A4 によっても代謝を受ける。そこでその3つの SNP (rs4646437, rs2242480, rs2246709) についても TaqMan probe によりタイピングを行った。

各種薬物代謝指標は49名の被験者の中央値を境に、各個人を上群と下群に分類した。次いでその群別と各 SNP との相関を、 $\chi^2$  検定で評価した。血清のカリウムイオン濃度は、テオフィリン静注後に多くの例で上昇するが、前値と最大値との差を求め、その差の中央値を求めた。次にその値を境にそれ以上の被験者とそれ以下の被験者の2群に分けた。次いでこのような群別と各 SNP 遺伝子型頻度およびアリル頻度との相関を検討した。

有意な相関を示した指標については、SNP によって分類した指標値を遺伝子型が3群の場合は Kruskal-Wallis 試験で、2群の場合は Mann-Whitney 試験で検定した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は3省庁による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき研究計画を立て、本学の倫理委員会の承認を得た(本学倫理申請書受付番号261)。その際に作成した説明書を用いて被験者全員の同意を文書で得た。

### C. 研究結果

#### 研究1

-3860における(G/G)、あるいは-2464における(T/del)の遺伝子型を有する個体が、ピーク血中濃度 $8\mu\text{g/ml}$ 未満の群に多く認められた。特にテオフィリン内服量と体重で補正した血中テオフィリン濃度のピーク値は、-3858(GG)ではそれ以外の遺伝子型個体に比して、有意に低かった(図1)。

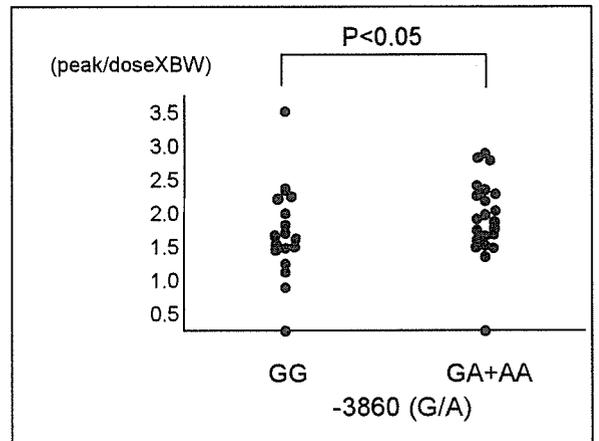


図1. 体重と投与量で補正したピーク血中テオフィリン濃度

#### 研究2

テオフィリン点滴静注後の血清テオフィリン濃度中央値は、直後が $11.2\mu\text{g/ml}$ 、30分後 $5.7\mu\text{g/ml}$ 、60分後 $5.3\mu\text{g/ml}$ 、120分後 $4.9\mu\text{g/ml}$ 、240分後 $4.3\mu\text{g/ml}$ と推移した。血中濃度平均半減期は731分と製造社報告値の510分より長く、平均クリアランスは $0.483\text{ml/min/kg}$ と製造社報告値の $0.633$ より低かった。

血清テオフィリン濃度の半減期との関連では、-3860 (A/G) が共優性モデルで $\chi^2$  検定により有意 ( $p=0.019$ ) に相関していた。

一方、AUC(血漿薬物濃度曲線下面積)と各 SNP との間には有意な関連は認められなかった。

テオフィリンのクリアランス値との関連では、-3594 (T/G) は共優性モデル ( $p=0.016$ ) および対立遺伝子頻度 ( $p=0.019$ ) について、 $\chi^2$  検定により有意な相関を示した。実際に遺伝子型 GG は GT に比べて、Mann-Whitney 試験でテオフィリンの半減期が有意に短く、クリアランスが有意に高かった(図2)。

血清のカリウムイオン濃度上昇値と有意な相関を示した SNP は存在しなかった。

テオフィリンによると考えられる副作用は、今回の検討では1例も出現せず、SNP との関連を検討し得なかった。

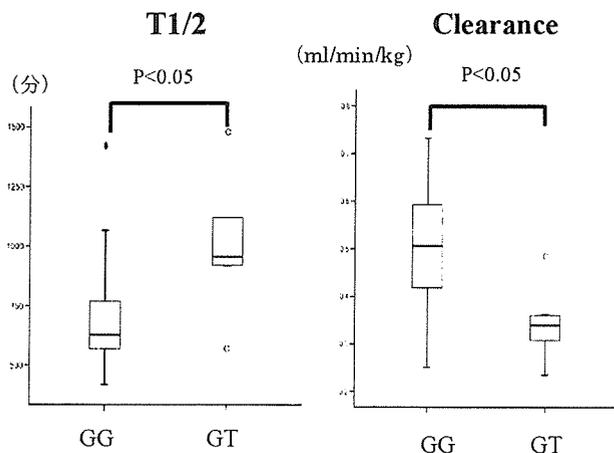


図 2. CYP1A2 -3594 (T/G)とテオフィリン半減期とクリアランスとの相関

#### D. 考察

1999年にNakajimaらは、テオフィリンと同様な構造を有し代謝過程が類似しているカフェインの分解が、CYP1A2\*1Cにより影響を受けることを喫煙者について報告した(Nakajima M, et al., J Biochem (Tokyo) 1999, 125(4):803-8)。その後Obaseらにより実際に同多型が喘息患者の推定テオフィリン血中濃度と相関することが報告された(Obase Y, et al., Clin Pharmacol Ther 2003, 73(5):468-74)。我々は、比較的少数ではあるが自験喘息患者を対象とした検討で、Obaseらの報告を大筋において追認できる結果を得た。さらに健常者を対象とし、かつ代謝が競合するカフェイン含有物の摂取を12時間以上絶った状態でのテオフィリン代謝を解析した。その結果、CYP1A2遺伝子5'領域に位置する-3594 (T/G)は、テオフィリンのクリアランス値や半減期と有意な相関を示した。-3594 (T/G)についてはこれまで報告がなく、新たにテオフィリン代謝を規定するSNPと考えられる。他のSNPとの連鎖不平衡は乏しく、独立した働きであると考えられる。一方既報のCYP1A2\*1Cに相当する-3860 (A/G)は半減期と相関しており、従来の報告を部分的に追認することができた。今後両SNPに関してハプロタイプ頻度の評価と、遺伝子プロモーター活性や実際の酵素活性の測定など詳細な機序の検討が必要とされる。

#### E. 結論

る-3594 (T/G)は、テオフィリンのクリアランス値や半減期と有意な相関を示した。一方既報のCYP1A2\*1Cに相当する-3860 (A/G)は半減期と相関している。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

<論文>

1. Hizawa, N., Yamaguchi, E., Takahashi, D., Nishihira, N., Nishimura, M. Functional Polymorphisms in the Promoter Region of Macrophage Migration Inhibitory Factor and Atopy. Am J Respir Crit Care Med 169:1014-1018, 2004.
2. Jiang, M., Ttsukahara, 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 Med J 11: 119-123, 2004.
3. Role of macrophage migration inhibitory factor in ovalbumin-induced asthma in rats. Kobayashi M, Nasuhara Y, Kamachi A, Tanino Y, Betsuyaku T, Yamaguchi E, Nishihira J, Nishimura M. Eur Respir J 27 (1): 1-9, 2006.
4. Polymorphisms in the muscarinic receptor 1 gene confer susceptibility to asthma in Japanese subjects. Am J Respir Crit Care Med. 174(10):1119-24, 2006.

<学会発表>

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願 なし
2. 実用新案 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）  
分担研究報告書

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

分担課題名：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

分担研究者：白川太郎 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨：アトピー性皮膚炎の遺伝子解析には、候補遺伝子の皮膚細胞における発現様式の解析が必須であるが、生検は危険性が高い。そこで、皮膚幹細胞の培養法の確立によりアトピー性皮膚炎患者の組織及び培養皮膚組織モデルを確立するため、本年度はその第一歩として、毛包の bulge 内の幹細胞を取り出し、ケラチノサイト培養法の変法を開発して皮膚培養細胞系の確立をおこなった

研究協力者

山崎暁子、毛暁全

（京都大学大学院医学研究科健康増進行動学）

玉利真由美、松田 彰、中島加珠子

（理化学研究所遺伝子多型センター）

玉置知子、喜多野征夫、笹原祐介

（兵庫医科大学）

成長を維持しており、bulge に存在する細胞が表皮、脂腺、毛包を形成している。bulge 内の幹細胞は生体内で膨大な増殖力を持ち、毛包の形態形成と再生を維持する多分化能幹細胞であると考えられる。そこで健常者のみならずアトピー性皮膚炎患者の毛包からの幹細胞に対して、ケラチノサイト培養法の変法を開発し、の樹立を行い、ケラチノサイト培養皮膚組織モデルを構築した。

C. 結果

毛包幹細胞に由来する表皮基底細胞の基本的な初代培養および継代培養の条件を検討した。その結果、コラーゲン培地を加えたケラチノサイト培養液を利用して、1本の毛包より6回の継代が可能で  $2.6 \times 10^7$  細胞を得ることができた。この培養法ですでに20歳代以上の健常者、アトピー性皮膚炎患者からの毛髪培養が可能であることが示された。

D. 考察

毛髪より培養された細胞はケラチン5, 14を発現しており、基底膜層に存在するケラチノサイトと同様のパターンを示し、かつCa添加にて分化誘導がかかるので、ケラチノサイト幹細胞と考えられる。

E. 結論

アトピー性皮膚炎有無に関係なくケラチノサイト幹細胞を培養することが可能になった。

A. 研究目的

本研究の目的は、皮膚幹細胞の培養法の確立によりアトピー性皮膚炎患者の組織及び培養皮膚組織モデルを確立し、組織学的、遺伝学的検討を行うことによって、アトピー性皮膚炎における病態(組織の剥落、バリア機能の阻害、サイトカイン等)の制御、そして制御に働く候補遺伝子を明らかにすることである。本年度はその第一歩として、皮膚培養細胞系の確立をおこなうことを目的とした。

B. 研究方法

毛包は、皮膚付属器でありながら、上皮の幹細胞を有する。上皮化過程は、一部の毛包細胞の表皮角化細胞への転換現象と説明することができる。クローン分析により毛包内の幹細胞は bulge と呼ばれる外毛根鞘上部の膨大部に存在する事が解明されている。bulge から毛球に向けて幹細胞が遊走しており、毛の

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1)Tomita Y, Tomida S, Hasegawa Y, Suzuki Y, Shirakawa T, Kobayashi T, Honda H: Artificial neural network approach for selection of susceptible single nucleotide polymorphisms and construction of prediction model on childhood allergic asthma. *BMC Bioinformatics*.2004; 5(1):120.
- (2)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, Tamura G, Shirakawa T, Maysubara Y: Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma. *Genes Immun*. 2004; 5(7):540-7.
- (3)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*. 2004; 34(8):1192-201.
- (4)Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kameda 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 bronchial asthma. *Hum Genet*.2004.
- (5)Fukuda S, Ishikawa H, Koga Y, Aiba Y, Nakashima K, Cheng L, Shirakawa T: Allergic symptoms and microflora in schoolchildren. *J Adolesc Health*. 2004;35(2):156-8.
- (6)Kiyohara C, Yoshimasu K, Shirakawa T, Hopkin JM: Genetic polymorphisms and environmental risk of lung cancer: a review. *Rev Environ Health*. 2004; 19(1):15-38.
- (7)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*. 2004; 49(7):370-5.
- (8)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*. 2004; 49:115-22
- (9)Nakajima T, Iikura M, Okayama I, Matsumoto K, Uchiyama C, Shiramkawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H: Identification of granulocyte subtype-selective receptors and channels by high-density oligonucleotide probearray. *J.Allergy Clin Immunol*.2004; 113:528-35.
- (10)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*. 2004; 114:503-9.
- (11)Peisong G, Mao XQ, Enomoto T, Feng Z, Gloria-Bottini F, Bottini E, Shirakawa T, Sun D, Hopkin JM: An asthma-associated genetic variant of STAT6 predicts low burden of ascaris worm infestation. *Genes Immun*.2004; 5:58-62.
- (12)Shimada T, Cheng L, Enomoto T, Yang X, Miyoshi A, Shirakawa T: Lysed enterococcus faecalis FK-23 oral administration reveals inverse association between tuberculin responses and clinical manifestations in perennial allergic rhinitis: a pilot study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004; 14(3):187-92.
- (13)Shimada T, Cheng L, Yamasaki A, Ide M,

Motonaga C, Yasueda H, Enomoto K, Enomoto T, Shirakawa T: Effects of lysed enterococcus faecalis FK-23 on allergen-induced serum antibody responses and active cutaneous anaphylaxis in mice. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34(11): 1784-8.

(14)Chinami M, Yano Y, Yang X, Salahuddin S, Turner H, Shirakawa T, Barford D, Adra CN: Binding of HTm4 to KAP/CDK2/Cyclin A complex enhances the phosphatase activity of KAP, dissociates cyclin A, and facilitates KAP dephosphorylation of CDK2. *J Bio Chem*. 2005; In Press

(15)Akamatsu R, Maeda Y, Hagihara A, Shirakawa T: Interpretations and attitudes toward healthy eating among Japanese workers. *Appetite*. 2005; 44(1):123-9.

## 2. 学会発表

### 国際学会

1. Taro Shirakawa: A whole genome SNP search for asthma in the Japanese population. 招待講演, The 6<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, 2004.10.4-7.
2. Lei Cheng, Tadao Enomoto, Tomomitsu Hirota, Makiko Shimizu, Mitsuteru Akahoshi, Akira Matsuda, Mayumi Tamari, Taro Shirakawa: TLR3 gene is associated with Japanese cedar pollinosis. The 6<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, 2004.10.4-7.
3. Lei Cheng, Tadao Enomoto, Tomomitsu Hirota, Akiko Yamasaki, Mitsuteru Akahoshi, Akira Matsuda, Mayumi Tamari, Taro Shirakawa: Association of the ADAM33 gene with Japanese cedar pollinosis. The 6<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, 2004.10.4-7.
4. Kazuko Nakashima, Shinsuke Kunimura, Mina Tsubouchi, Lei Cheng, Taro Shirakawa: Comprehensive research of allergic disease: mechanism of action from gene and trace elements kinetics. CAARI 2004,

University of North Texas, 2004.10.10-15.

### 国内学会

1. 白川太郎: 子供のアトピー, 基調講演, 第4回日本生理人類学会市民公開シンポジウム, 大阪朝日生命ホール, 1.24.2004.
2. 白川太郎: プロバイオティックスを用いたアレルギー予防の試み, 特別講演, 第8回腸内細菌学会, 東京大学弥生講堂, 6.3-4.2004.
3. 白川太郎: アレルギー・アトピー性疾患の疫学と遺伝子解析, シンポジウム, 第126回日本医学会シンポジウム, 日本医師会館, 6.24.2004.
4. 白川太郎: 遺伝子情報に基づく新しいアレルギー医療, 第21回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会ランチョンセミナー, 栃木県総合文化センター, 6.20.2004.
5. 玉利真由美, 白川太郎: アレルギー関連遺伝子—本邦の状況, シンポジウム, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
6. 嶋田貴志, 程 雷, 元永知恵, 榎本雅夫, 白川太郎: マウスの系統差研究, シンポジウム, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
7. 程 雷, 榎本雅夫, 山崎暁子, 三好彰, 白川太郎: 疫学と遺伝学からみた hygiene hypothesis, シンポジウム, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
8. 三邊武幸, 三好彰, 程 雷, 殷 敏, 時海波, 白川太郎, 稲川俊太郎, 中山名峰, 稲福繁, 中村晋: アレルゲンの暴露とアレルギー性鼻炎, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
9. 上田哲也, 新実彰男, 松本久子, 竹村昌也, 山口将史, 松岡弘典, 水口正義, 白川太郎, 三嶋理晃: 健常者におけるカプサイシン咳感受性トACE遺伝子多型, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
10. 鎌田文顕, 鈴木洋一, 青木洋子, 誤繁夫, 松原洋一, 長谷川耕一, 玉利真由美, 白川太郎: 補体系 C3, C3AR1, C5 遺伝子の多型は喘息発症リスクに影響する, 第54回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.

- 1 1. 鈴木洋一, 鎌田文顕, Chao Chenchen, 玉利真由美, 白川太郎, 松原洋一: 喘息発症における遺伝子検査の有用性の検討, 第 54 回日本アレルギー学会, パシフィコ横浜, 11.4-6.2004.
- 1 2. 三辺武幸, 三好彰, 程 雷, 殷 敏, 時海波, 白川太郎, 稲川俊太郎, 中山明峰, 稲福繁, 中村晋, 松井猛彦: アレルゲンの暴露とアレルギー性鼻炎, 第 41 回日本小児アレルギー学会, 都市センターホテル, 11.27-28.2004.
- 1 3. 鎌田文顕, 鈴木洋一, 青木洋子, 誤繁夫, 松原洋一, 長谷川耕一, 玉利真由美, 白川太郎: 補体系 C3, C3AR1, C5 遺伝子の多型は喘息発症リスクに影響する, 第 41 回日本小児アレルギー学会, 都市センターホテル, 11.27-28.2004.
- 1 4. 白川太郎: 乳酸菌によるアレルギー予防の試み, 特別講演, 日本学術会議・日本乳酸菌学会シンポジウム, 九州大学視聴覚ホール, 12.17.2004.

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 発明の名称: 培養皮膚細胞及びその用途と製造方法  
出願番号: K4053H01

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

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

分担課題名：テ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

分担研究者：白川太郎 京都大学大学院医学研究科 健康増進行動学 教授

研究要旨：毛髪バルジ細胞からケラチノサイトを培養し、それを用いて、アトピー性皮膚炎の診断を行う方法論を確立することにした。そのためにまず、マイクロアレイ法により、候補遺伝子を絞り込む作業を行い、36個の遺伝子を同定した。この中から、6個のサイトカイン遺伝子群をまず選定し、皮膚培養細胞に発現している遺伝子群を絞り込む作業を行った。

研究協力者

山崎 暁子 京都大学大学院医学研究科健康増進行動学  
中島加珠子 京都大学大学院医学研究科健康増進行動学  
松田 彰 京都府立医科大学眼科  
玉置 知子 京都府立医科大学眼科  
喜多野征夫 京都府立医科大学眼科  
笹原 祐介 兵庫医科大学  
吉川 良恵 宝バイオKK

ラスを使用することが可能であり、ノイズを減らした解析が可能である。今回このシステムを使用し、我々が検索を行った36個の候補遺伝子についてチップの作成を試みることにした。まず、刺激前後での患者培養細胞からのマイクロアレイ法の適応で、発現が変化する遺伝子群を同定する作業を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、皮膚幹細胞の培養法の確立によりアトピー性皮膚炎患者の組織及び培養皮膚組織モデルを確立し、組織学的、遺伝学的検討を行うことによって、アトピー性皮膚炎における病態(組織の剥落、バリア機能の阻害、サイトカイン等)の制御、そして制御に働く候補遺伝子を明らかにすることである。本年度はその培養系を用いて宝バイオ社と組んでDNAチップによるスクリーニング方の開発を開始した。

B. 研究方法

宝バイオの開発した新しいDNAチップ方式は、1本鎖cDNAを基本とする新規のチップであり、その構造から、共通性が低い設計を取り入れること、反応性の低いガ

C. 結果

現在、宝バイオと共同で、アトピー性皮膚炎に関する36個の候補遺伝子につき、適当なチップを作成する作業を行っており、今年度中には、第一次の遺伝子6個として関連が認められたサイトカイン遺伝子系から選定し(IL-13, IL-1R1, IL-1R2, IL-18, IL-18R, IL-12Rβ2)、皮膚細胞についての発現解析の条件を決定した。

D. 考察

アトピー性皮膚炎に関連したサイトカイン関連遺伝子についてDNAチップによるスクリーニングが可能となると予想される。毛髪からの皮膚細胞培養について新生児に適用すれば、非常に早期にアトピー性皮膚炎の診断が可能となり、予防的な介入実験が可能になると考えられる。今後これらの

6種の遺伝子における遺伝子型の組み合わせからいくつかのパターン化が可能かを検討する必要がある。

#### E. 結論

アトピー性皮膚炎における DNA チップ診断への第一歩が開かれた。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Nakashima K, Hirota T, Obara K, Shimizu M, Jodo A, Kameda M, Doi S, Fujita K, Shirakawa T, Enomoto T, Kishi F, Yoshihara S, Matsumoto K, Saito H, Suzuki H, Nakamura Y, Tamari M. An association study of asthma and related phenotypes with polymorphisms in negative regulator molecules of the TLR signaling pathway. *J Hum Genet.* 2006, Jan 24.

(2) Nakashima K, Takeuchi T, Shirakawa T: Differentiation, distribution, and chemical state of intracellular trace elements in LAD2 mast cell clone. *Bio Trace Elem Res.* 2005;108(1-3):105-14.

(3) Kutok JL, Yang X, Folkert RD, Imitola J, Raddassi K, Yano Y, Salahuddin S, Lawitts J, Imboden H, Chinami M, Shirakawa T, Turner H, Khoury S, Sayegh MH, Scadden D, Adra C:

The cell cycle association protein, HTm4, is expressed in differentiating cells of the hematopoietic central nervous system in mice. *J Mol Histol.* 2005; 36(1-2):77-87.

(4) Songjinda P, Nakayama J, Kuroki Y, Tanaka S, Fukuda S, Kiyohara C, Yamamoto T, Izuchi K, Shirakawa T, Sonomoto K: Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2005;69(3):638-41.

(5) Akahashi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Cheng L, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, Shirakawa T: Functional promoter polymorphism in the TBX21 gene associated with aspirin-induced asthma. *Hum Genet.* 2005; 117(1):16-26.

(6) Madden JA, Plummer SF, Tang J, Garaiova I, Plummer NT, Herbison M, Hunter JO, Shimada T, Cheng L, Shirakawa T: Effect of probiotics on preventing disruption of the intestinal microflora following antibiotic therapy: A double-blind, placebo-controlled pilot study. *Int Immunopharmacol.* 2005;5(6):159-64.

(7) Noguchi E, Yokouchi Y, Zhang J, Shibuya K, Shibuya A, Bannai M, Tokunaga K, Doi H, Tamari M, Shimizu M, Shirakawa T, Shibasaki M, Ichikawa K, Arinami T: Positional identification of an asthma susceptibility gene on human chromosome 5q33. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(2):183-8.

(8) Hirota T, Suzuki Y, Hasegawa K, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Cheng L, Takahashi N, Shimizu M, Doi S, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Nakamura Y, Kishi F, Shirakawa T, Tamari M: Functional haplotypes of IL-12B are associated with childhood atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 116(4):789-95.

(9) Cheng L, Hirota T, Enomoto T, Tamari M, Akahoshi M, Matsuda A, Shimizu M, Takahashi N, Enomoto K, Yamasaki A, Mao XQ, Hopkin JM, Shirakawa T: Lack of association between the IL 13 variant Arg110Gln and susceptibility to cedar pollinosis in a Japanese population. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005;139(1):25-30.

(10) Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Ebe K, Inomata N, Obara K, Hirota T,

Nakashima K, Shimizu M, Tamari M, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Nakashima H, Ikezawa Z, Shirakawa T: Association of the IL 12 RB1 promoter polymorphisms with increased risk of atopic dermatitis and other allergic phenotypes. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(21): 3149-59.

(11) Shimizu M, Matsuda A, Yanagisawa K, Hirota T, Akahoshi M, Inomata N, Ebe K, Tanaka K, Sugiura H, Nakashima K, Tamari M, Takahashi N, Obara K, Enomoto T, Okayama Y, Gao PS, Huang SK, Tominaga S, Ikezawa Z, Shirakawa T: Functional SNPs in the distal promoter of the ST2 gene are associated with atopic dermatitis. *Hum Mol Genet.* 2005;14(19):2919-27.

(12) Matsuda A, Hirota T, Akahoshi M, Shimizu M, Tamari M, Miyatake A, Takahashi A, Nakashima K, Takahashi N, Obara K, Yuyama N, Doi S, Kamogawa Y, Enomoto T, Ohshima K, Tsunoda T, Miyatake S, Fujita K, Kusakabe M, Izuhara K, Nakamura Y, Hopkin J, Shirakawa T: Coding SNP in tenascin-C Fn-III-D domain associates with adult asthma. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(19):2779-86.

## 2. 学会発表

1. 白川太郎: アレルギー疾患の遺伝子解析—過去・現在・未来, 特別講演, 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会, ホテルグランビア岡山, 6.2-4.2005.
2. 嶋田貴志, 白川太郎: 新規乳酸菌株 *Enterococcus casseliflavus* Shirakawa 株の死菌体(NP-04)のアレルギー予防効果について, 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会, ホテルグランビア岡山, 6.2-4.2005.
3. 三邊武幸, 三好彰, 程 雷, 白川太郎, 稲川俊太郎, 中山明峰, 稲福繁, 佐橋紀男: 中国産杉・柳杉により発症する日本人杉花粉症の一例, 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会, ホテルグランビア岡山, 6.2-4.2005.

- ギー学会春季臨床大会, ホテルグランビア岡山, 6.2-4.2005.
4. 白川太郎: アレルギー疾患予防への新展開, 特別講演, 第8回日本臨床腸内微生物学会, 北里大学薬学部, 9.10.2005.
  5. 国村伸祐, 白川太郎, 竹内亨: 好中球様に分化させた培養細胞を用いた酸化的DNA損傷誘発と鉄の関連, 第29回日本鉄バイオサイエンス学会, 鹿児島県民交流センター, 9.10-11.2005.
  6. 白川太郎: アレルギー疾患の遺伝子学的研究—その現状と将来展望—, 招待講演, 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会, 盛岡市民ホール他, 10.20-22.2005.
  7. 鎌田文顕, 新堀哲也, 邵 晨深, 青木洋子, 吳繁夫, 松原洋一, 鈴木洋一, 玉利真由美, 長谷川耕一, 広田朝見光, 清水麻貴子, 高橋尚美, 土居悟, 藤原寛, 宮武昭彦, 藤田きみゑ, 榎本雅夫, 河合 満, 佐々木聖, 森川利夫, 森川みき, 千葉 靖, 田村 弦, 白川太郎: GSTP1 遺伝子多型と気管支喘息との関連, 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会, 盛岡市民ホール他, 10.20-22.2005.
  8. 三邊武幸, 寺尾 元, 三好 彰, 程 雷, 殷 敏, 時 海波, 白川太郎, 稲川俊太郎, 中山名峰, 稲福 繁, 佐橋紀男: チベットにおけるスギ花粉陽性例の存在とヒノキ植生の確認, 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会, 盛岡市民ホール他, 10.20-22.2005.
  9. 坪内美樹, 時 海波, 程 雷, 三好 彰, 榎本雅夫, 嶋田貴志, 白川太郎: プロバイオティクスによる成人鼻アレルギー予防試験—熊本県小国町研究—, 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会, 盛岡市民ホール他, 10.20-22.2005.
  10. 白川太郎: アレルギー予防と乳酸菌, 第12回未病システム学会学術総会, KKR HOTEL OSAKA, 1.27-28,2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。