

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakashima T, Yokoyama A, Onari Y, Shoda H, Haruta Y, Hattori N, Naka T, Kohno N. Suppressor of cytokine signaling 1 inhibits pulmonary inflammation and fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 121:1269-76, 2008.
- 2) Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Tanaka S, Nishino R, Yoshioka K, Ohshimo S, Fujitaka K, Ohnishi H, Hamada H, Arihiro K, Kohno N. Usefulness monitoring of circulating KL-6 in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with gefitinib therapy. *Int J Cancer* 122:2612-20, 2008.
- 3) Nakashima T, Yokoyama A, Ohnishi H, Hamada H, Ishikawa N, Haruta Y, Hattori N, Tanigawa K, Kohno N. Circulating KL-6/MUC1 as an independent predictor for disseminated intravascular coagulation in acute respiratory distress syndrome. *J Intern Med* 263:432-9, 2008.
- 4) 石川暢久, 河野修興. 間質性肺炎のマーカー・KL-6. 日本胸部臨床 67: S26-30, 2008
- 5) 服部登, 河野修興. 間質性肺炎の血清マーカー. 呼吸器科: 297-302, 2008
- 6) 服部登, 河野修興. バイオマーカーの有用性と問題点. 呼吸器科14: 104-108, 2008.
- 7) 石川暢久, 河野修興. 薬剤性肺障害. リウマチ科40: 363-370, 2008.
- 8) 石川暢久, 河野修興. 腫瘍マーカーのバイオ

マーカーとしての臨床的意義. 医学のあゆみ「肺癌UPDATE」224: 1159-1163, 2008.

- 9) 服部登, 河野修興. BALの臨床応用. 「気管支肺胞洗浄「BAL」の手引き」. 日本呼吸器学会, びまん性肺疾患学術部会, 克誠堂出版, 東京, 5-7, 2008.

2. 学会発表

- 1) 吉岡宏治, 石川暢久, 友田義崇, 金原正志, 風呂中誠, 稲田順也, 藤高一慶, 春田吉則, 村井博, 服部登, 河野修興. Gefitinib 治療を受けた非小細胞肺癌患者における血清KL-6値及びsialyl Lewisaを発現したKL-6値の検討. 第49回日本肺癌学会総会, 2008年11月, 北九州.
- 2) 田中惣之輔, 石川暢久, 妹尾直, 長尾早江子, 藤高一慶, 春田吉則, 村井博, 服部登, 河野修興. 75歳以上の進行非小細胞肺癌の検討. 第49回日本肺癌学会総会, 2008年11月, 北九州.
- 3) 田中惣之輔, 石川暢久, 吉岡宏治, 藤高一慶, 服部登, 河野修興. 肺癌の血清バイオマーカー, 治療標的としてのKL-6/MUC1. 第67回日本癌学会総会, 2007年10月, 名古屋市.
- 4) 吉岡宏治, 石川暢久, 田中惣之輔, 稲田順也, 藤高一慶, 服部登, 河野修興. EGFR-TKI 治療を受けた非小細胞肺癌患者における血清KL-6およびsialyl Lewisaが発現したKL-6値の臨床的意義. 第67回日本癌学会総会, 2007年10月, 名古屋市.
- 5) 河瀬成穂, 服部登, 峠岡康幸, 妹尾直, 谷本琢也, 風呂中誠, 石川暢久, 藤高一慶, 春田吉則, 河野修興. プレオマイシン肺線維症モデルに対するアンプロキソールの抑制効果. 第48回日本呼吸器学会総会, 2008年6月, 神戸市.

- 6) 妹尾直, 服部登, 谷本琢也, 風呂中誠, 石川暢久, 藤高一慶, 春田吉則, 峠岡康幸, 河野修興, プレオマイシン肺線維症モデルマウスにおける, RNA干渉を利用したPAI-1の発現抑制による抗線維化作用の検討. 第48回日本呼吸器学会総会, 2008年6月, 神戸市.
- 7) 石川暢久, 服部登, 横山彰仁, 吉岡宏治, 田中惣之輔, 河瀬成穂, 藤高一慶, 濱田泰伸, 河野修興, Gefitinib使用患者における血清KL-6値モニタリングの意義. 第48回日本呼吸器学会総会, 2008年6月, 神戸市.
- 8) Kohno N. Krebs von den Lungen-6 (KL-6) is a Serologic and Prognostic Biomarker and a Possible Therapeutic Target for IPF. The 48th Annual Meeting of the Japanese Respiratory Society. Kobe, 2008.
- 9) Yoshioka K, Hattori N, Ishikawa N, Tanaka S, Akita S, Kawase S, Fujitaka K, Taooka Y, Haruta Y, Kohno N. The 48th Annual Meeting of the Japanese Respiratory Society. Kobe, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし.
2. 実用新案登録
なし.
3. その他
なし.

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究 分担研究報告

薬剤性肺障害における遺伝子学的検討、HLAの解析

研究分担者 太田 正穂
信州大学医学部法医学教室 講師

研究要旨

薬剤服用により、喘息、間質性肺炎、好酸球性肺炎、肺水腫、胸膜炎など多様な肺病変を示す薬剤性肺障害は、使用する薬剤により人種間で障害度に差異が指摘されてきた。また、同一民族間においても薬剤性肺障害に対して感受性・抵抗性を示す遺伝的素因の存在が疑われている。今回、薬剤性肺障害誘発に関与する遺伝的要因の検索のためHLA (Human Leukocyte Antigen)、薬剤代謝酵素 (CYP3A, CYP2C19) および薬物の体内動態に関与するABC(ATP binding cassette)トランスポーターファミリーの一員であるMDR1(multidrug drug resistance)遺伝子多型について解析した。解析には、薬剤投与により薬剤性肺障害を誘発した患者群(9人)と薬剤障害が認められなかったコントロール群(10人)から得たDNAを用いた。その結果HLAでは、患者群にHLA-A*0206アリル頻度が有意に高く(55.6% vs 0%, $p=0.011$)見られた。代謝酵素であるCYP2C19では636(G/A, exon4)と681(G/A, exon5)の変異に基づいた遺伝子型においてコントロール群で*3アリルの上昇(50% vs 0%, $p=0.033$)が見られた。MDR1遺伝子であるABC1のプロモーター領域とABCG2の421位(C/A, Q141K)における多型については、両群のアリル頻度で有意差は見られなかった。今回の解析では、試料収集が困難なことから用いた試料数は少なかったが、HLAと代謝酵素の多型に患者群とコントロール群に有意な相違が認められた。特に、HLA-A*0206アリル頻度は一般健常日本人では8.99%であるが、患者群では27.78%と高い値を示している。今後更に症例数を増やした検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

本研究は日本人における薬剤性肺障害が遺伝的要因に影響されるか検討した。そのために、Gefitinibなどの薬剤により肺障害を発症した患

者群9人と無症状のコントロール群10人から得たDNAを用いて、遺伝子多型(HLA, CYP3A5, CYP2C19, ABCB1, ABCG2)を検査した。解析に用いたサンプル数は統計学的解析を行うにはあまりにも少なかったが、本解析結果から薬剤性肺障

害に影響を及ぼす遺伝要因について検討した。

B. 研究方法

① 解析サンプル

薬剤による肺障害を起こした9例と無症状であった10例について詳細な情報を表1に示した。これらのサンプル血液から自動DNA抽出器 (Quick Gene, FUJIFILM Co.) を用いてDNAを得た。

② HLA-DNAタイピング

HLA-DNAタイピングは、LABType SSO試薬 (One Lambda Inc.)にて、HLA-A*, -B*, -DRB1*, -DQB1*をLuminex法で検査した。

③ 薬物代謝酵素CYP2C19, CYP3A5の遺伝子タ

イピング

CYP2C19の遺伝子変異は、本来この酵素の基質薬物であるS-メフェトイン(S-Mep)の代謝能に影響を及ぼす重要な変異であるCYP2C19*3 (G636A, exon4)とCYP2C*2 (G681A, exon5)についてPCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism)法を用いて行った¹⁾。

CYP3A5遺伝子多型については、この酵素蛋白の欠損の原因であるCYP3A5*3 (A6986G, intron4)とCYP3A5*6(G14690A, exon7)をPCR-RFLP法にて検査した²⁾。

④ 薬物排出に関与するABCトランスポーターMDR1遺伝子多型 (図1)は、ABC1遺伝子プロモーター領域内にある4種類のSNPs

表1 解析サンプルの詳細

	年齢	性別	診断	薬剤	
患者群	P1	64	♂	関節リウマチ	エンブレル
	P2	63	♂	関節リウマチ	リウマレックス
	P3	77	♂	非小細胞肺癌	ジェムザール, erlotinib
	P4	76	♂	間質性肺炎	?
	P5	77	♂	非小細胞肺癌	ジェムザール
	P6	81	♂	関節リウマチ	エンブレル
	P7	63	♂	膵臓癌	ジェムザール
	P8	74	♂	不整脈	ペブニコール
	P9	79	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
コントロール群	C1	48	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C2	74	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C3	43	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C4	46	♀	非小細胞肺癌	erlotinib
	C5	66	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C6	58	♀	非小細胞肺癌	erlotinib
	C7	70	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C8	59	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C9	65	♂	非小細胞肺癌	erlotinib
	C10	70	♂	非小細胞肺癌	erlotinib

表2 HLA-DNAタイピング結果

Sample Name	A*	B*	DRB1*	DQB1*					
患者群	P1	0206	2402	4032	5401	0405	1501	0401	0802
	P2	0206	2402	1518	3801	0401	0410	0301	0402
	P3	0206	2402	5201	4001	1101	1502	0301	0301
	P4	2402	2601	4402	4801	0405	1301	0401	0303
	P5	0206	3101	5101	5801	0405	1501	0401	0302
	P6	1101	3301	5801	1501	0405	1302	0302	0304
	P7	2402	2601	5201	4032	0301	1501	0302	0303
	P8	1101	3101	5201	5516	0303	1502	0301	0301
	P9	0201	0206	4601	4001	0303	1101	0303	0302
コントロール群	C1	2402	2601	3501	5601	0302	1101	0301	0402
	C2	0301	3101	4001	4402	1301	1202	0301	0303
	C3	2402	2402	4006	5801	0405	0301	0401	0303
	C4	2402	2402	5201	5502	0405	1502	0401	0301
	C5	2402	3301	4403	5201	1302	1502	0304	0301
	C6	1101	2402	3501	6701	1501	0301	0302	0303
	C7	0201	2402	4601	4001	0303	1201	0301	0301
	C8	0201	2402	1501	5201	1405	1502	0301	0301
	C9	1101	3101	4001	4032	0405	0405	0401	0401
	C10	0201	1101	3501	4601	0403	0303	0302	0301

表3 CYP2C19遺伝子エクソン4,5のタイピング結果

	CYP2C19			
	Sample Name	Exon4	Exon5	Genotype
患者群	P1	1/1	1/1	1/1
	P2	1/1	1/1	1/1
	P3	1/1	1/1	1/1
	P4	1/1	1/2	1/2
	P5	1/1	2/2	1/2
	P6	1/1	1/2	1/2
	P7	1/1	1/2	1/2
	P8	1/1	1/2	1/2
	P9	1/1	1/2	1/2
コントロール群	C1	1/1	1/1	1/1
	C2	1/1	2/2	1/2
	C3	1/3	1/2	3/2
	C4	1/1	1/1	1/1
	C5	1/3	1/2	3/2
	C6	1/3	1/1	3/1
	C7	1/1	1/1	1/1
	C8	1/1	1/1	1/1
	C9	1/3	1/2	3/2
	C10	1/3	1/2	3/2

表4 CYP3A5*3,*6のタイピング結果

	Sample Name	*3	*6	Type
		P1	1/3	1/1
患者群	P2	1/3	1/1	1/3
	P3	1/3	1/1	1/3
	P4	3/3	1/1	3/3
	P5	1/3	1/1	1/3
	P6	1/3	1/1	1/3
	P7	1/3	1/1	1/3
	P8	1/3	1/1	1/3
	P9	3/3	1/1	3/3
	C1	1/1	1/1	1/1
コントロール群	C2	1/1	1/1	1/1
	C3	1/3	1/1	1/3
	C4	3/3	1/1	3/3
	C5	3/3	1/1	3/3
	C6	3/3	1/1	3/3
	C7	3/3	1/1	3/3
	C8	1/1	1/1	1/1
	C9	3/3	1/1	3/3
	C10	1/3	1/1	1/3

表5 ABCB1 ABCG2のSNPsタイピング結果

	ABCB1							ABCG2
	m10692 C66T	m11292 G87A/T	m21389 G21C	m21854 -11AG	m27264 -145G>A	m8531 -1517T>C	primary linkage	m22114 42CA (Q44R)
患者群	CC	GG	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	CC
	CC	GG	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	CC
	CC	GG	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	CC
	CT	T/A	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	CC
	CT	T/A	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	CC
	CC	GG	CT	A/A	AG	CT	2/4	AC
	CT	T/G	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	CC
	CT	GT	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	AC
コントロール群	CT	GG	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	AC
	CC	GG	T/T	A/A	AA	T/T	4/4	CC
	T/T	T/T	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	AC
	CC	G/A	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	AC
	CT	T/G	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	CC
	T/T	T/T	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	AC
	CT	T/G	T/T	A/A	AG	T/T	1/4	CC
	CT	T/A	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	CC
CT	T/A	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	AC	
T/T	T/T	T/T	A/A	GG	T/T	1/1	AC	
CC	G/A	CT	AG	GG	CT	1/2	AC	

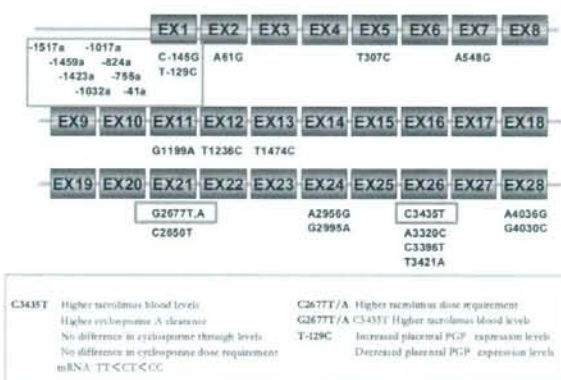


図1 ABCB1遺伝子の構造と主なSNPs

(-1459G>A, -1517T>C, -129T>C, -41A>G)とエクソン内にある2種類のSNPs (G2677AT, exon21, C3535T, exon26)、およびABCG2遺伝子421C>AをTaqMan SNP genotyping assay kit (AB1)を用いてTaqMan Real Time PCRで判定した。

C. D. 研究結果と考察

① HLAタイピング

薬剤性肺障害発症を患者群、非発症をコントロール群におけるHLAアレル判定結果を表2に示した。各群のアレル保有率をdominant modelにて χ^2 検定を行うと、HLA-A*0206アレルが統計学

的有意に増加していた(55.6% vs 0%, $p=0.011$, Fisherの補正)。他のアレルに有意差は認められなかった。HLA-A*0206は、HLA-A*02のサブタイプであり、日本人におけるアレル頻度は8.99%である。最も高頻度に見られるサブタイプはA*0201で10.71%を示す。今回の解析はサンプル数が少ないが、患者群におけるA*0206アレル頻度は27.78%で一般健常日本人のアレル頻度と比べても有意に高い値($p=0.021$ Yatesの補正)を示している。

HLAと薬剤感受性に関しては、tiopronin(肝機能改善薬)やticlopidine(抗血小板剤)による肝障害とHLA-A*3303との相関が報告されている^{3,4)}。また、アメリカFDAの報告(2007年12月14日)によるとcarbamazepine(てんかん治療薬)の服用により、Stevens-Johnson症候群を引き起こす遺伝的要因としてHLA-B*15025)の関与を示している。この薬剤副作用の危険率は民族的相違が見られ、白人では1~6人/10,000人で、アジア人では10~60人/10,000人である。今回の薬剤性肺障害を発症する患者群にはA*02のサブタイプであるA*0201でなくA*0206アレルが多く見られたのは、HLAアレルの構造的相違が薬剤との関わりに寄与している可能性も考えられる。因みにA*0201とA*0206はHLA分子の中で、一個所9番目のアミノ酸がPhenylalanineとTyrosineで異なっている。

② 薬物代謝酵素CYP2C19, CYP3A5の遺伝子タイピング

CYP2C19遺伝子は、染色体上10q24にあり、9つのエクソンから構成されている。この遺伝子のなかには多くのSNPsが報告されているが、そのなかでもエクソン4の636位のguanineからadenineの変異CYP2C19*3 (G636A)とエクソン5の681位にあるguanineからadenineの変異CYP2C*2

(G681A)は、stop codonとsplicing defectを生じ、mutant型*3/*3,*2/*2,*2/*3型では酵素欠損者となる。今回、コントロール群では、エクソン4にmutant(*3アリル:adenine)が多かった(50% vs 0%, p=0.033)。また、コントロール群では酵素欠損者が4人見られたが、患者群では0人であった。因みに日本人では、約23%が酵素欠損者である。酵素非欠損者は、薬剤の代謝能が高いことから、薬剤の血中濃度が高度となると推測される。患者群が総て酵素非欠損者であるのと、薬剤性肺障害の発症には何らかの関連性が示唆された。

CYP3A5遺伝子は7番染色体上の存在するCY3Aのサブファミリーで、肝臓に発現している。この遺伝子の一塩基変異によりスプライシング異常を起こし、酵素蛋白の欠損を招く多型CYP3A5*3(A6986G, intron4)とCYP3A5*6(G14690A, exon7)について調べた結果を表4に示す。CYP3A5はGがmutantでアリル*3を示し、*1がwild typeである。また、*6はwild typeを示す。CYP3A5が、*3/*3の人は酵素欠損者であり、CYP3A分子の発現が見られず、ある種の薬剤は代謝されにくいと考えられる。それに対して、*1アリル保有者は、CYP3Aにより代謝された薬剤のクリアランスが高く、薬剤による毒性から逃れられる可能性が高いと考えられる。尚、一般日本人では*3/*3は60%、*6/*6は0%と報告されている²⁾。今回の解析結果をみると、*3/*3はコントロール群で5人見られたのに対し、患者群では2人であった。

③ ABCトランスポーターMDR1遺伝子タイピング

プロモーター領域内にある4種類のSNPs(-1459G>A,-1517T>C,-129T>C,-41A>G)とエクソン内にある2種類のSNPs(G2677AT,exon21,C3535T,exon26)および、ABCG2遺伝子421C>Aのタイピング結果を表4に示す。薬物輸送に関与するABCトランスポーターABCB1とABCG2は

最近、薬剤性障害と関連することが報告されている。ABCB1多型はDocetaxel(ドセタキセル)によるアンドロジェン非依存性前立腺癌患者への薬剤障害⁶⁾が、ABCG2多型はGefitinib(ゲフィチニブ)経口投与による下痢障害と⁷⁾を引き起こすとの報告がある。

本解析では、両群においてABCB1, ABCG2遺伝子多型において肺障害発症との相関は認められなかった。

今回、HLA、一部の薬物代謝酵素、薬物トランスポーターの遺伝子多型と薬剤性肺障害発症との関連を調べ、統計学的有意差を示す遺伝要因が認められた。しかし、解析のサンプル数の少なさと診断基準の規格に曖昧さから、この統計解析が検出力、効果量で十分な威力を発揮しているかは疑問である。今後、更に検体数を増やして解析をする必要があると考える。

E. 参考文献

1. Kimura M, et al. Genetic polymorphisms of cytochrome P450, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Ther. Drug. Monit.* 20: 243-247, 1998.
2. Fukuen S, et al. Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the CYP3A5 SNPs, CYP3A5*3 and *6, in a Japanese population. *Pharmacogenetics* 12:331-334, 2002.
3. Kurosaki M, et al. HLA-A33/B44/DR6 is highly related to intrahepatic cholestasis induced by tiopronin. *Dig. Dis. Sci.* 45:1103-1108, 2000.
4. Hirata K, et al. Ticlopidine-induced hepatotoxicity is associated with specific human leukocyte antigen genomic subtypes in Japanese

patients: a preliminary case-control study. Pharmacogenomics J. 8:29-33, 2008.

5. Chung WH, et al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. Nature 428: 486, 2004.
6. Sissung TM et al. ABCB1 genetic variation influences the toxicity and clinical outcome of patients with Androgen-independent prostate cancer treated with Docetaxel. Clin. Cancer Res. 14:4543-4549, 2008.
7. Cusatis G, et al. Pharmacogenetics of ABCG2 and adverse reactions to Gefitinib. J. Natl. Cancer Inst. 98:1739-1742, 2006.

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hanaoka M, Droma Y, Ota M, Ito M, Katsuyama Y, Kubo K. Polymorphisms of human vascular endothelial growth factor gene in high-altitude pulmonary oedema susceptible subjects. Respirology 14:46-52, 2009.
2. Droma Y, Ota M, Hanaoka M, Katsuyama Y, Basnyat B, Neupane P, Ariyal A, Pandit A, Shama D, Ito M, Kubo K. Two hypoxia sensor genes and their association with symptoms of acute mountain sickness in Sherpas. Aviat Space Environ Med. 79: 1056-1060, 2008.
3. Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Hatayama O, Sato E, Katsuyama Y, Fujimoto K, Ota

M. The Association of Transforming Growth Factor Beta 1 Gene Polymorphisms with the Emphysema Phenotype of COPD in Japanese. Intern Med, 47:1387-9134, 2008

4. Droma Y, Hanaoka M, Basnyat B, Arjyal A, Neupane P, Pandit A, Sharma D, Ito M, Miwa N, Katsuyama Y, Ota M, Kubo K. Adaptation to high altitude in sherpas: association with the insertion/deletion polymorphism in the Angiotensin-converting enzyme gene. Wilderness Environ Med. 19: 22-29, 2008.
5. Hanaoka M, Yu X, Urushihata K, Ota M, Fujimoto K, Kubo K. Leptin and Leptin Receptor Gene Polymorphisms in Obstructive Sleep Apnea Syndrome. Chest. 133:79-85. 2008.

2. 学会発表

- 雲登卓馬、花岡正幸、Buddha Basnyat、伊東理子、太田正穂、久保恵嗣、小林俊夫：シェルバ族の高地適応における分子遺伝学的検討。2008年度日本登山医学会学術集会・第28回日本登山医学シンポジウム、2008年5月31日～6月1日、富山
- Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Yasuo M, Tanabe T, Komatsu Y, Katsuyama Y, Fujimoto K, Kubo K, Ota M. Toll like receptor 4 gene polymorphisms and COPD in Japanese population. 2008 American Thoracic Society International Conference, May 16-21, 2008, Toronto, Canada

G. 知的財産権の出願・特許状況

なし

薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究 分担研究報告

日本人の薬剤性肺障害の遺伝学的研究

研究分担者 萩原 弘一
埼玉医科大学 呼吸器内科 教授

研究要旨

Gefitinib, Erlotinibによる薬剤性肺障害のように、日本人に高頻度で見られ、海外での頻度がごく低い薬剤性肺障害は、日本人に高頻度で存在する遺伝因子が原因となっている可能性が高い。近年の高密度SNP アレイを用いると、全ゲノムレベルでSNP解析が可能であり、日本人の薬剤性肺障害に想定されるhigh-riskで高頻度（Gefitinibの薬剤性肺障害の頻度より5%以上と推定される）なアレルは100例程度の患者サンプルから同定可能と推定される。本研究は、このような遺伝学的解析のためのサンプルを収集し、解析の一部を開始することを目的としている。本年は約20例の薬剤性肺障害サンプルの収集が終了した。さらにデータ保存用のwebページを開設した。

A. 研究目的

本研究は、薬剤性肺障害および特発性肺線維症急性増悪に関する遺伝因子の同定を目的としている。

近年、日本人肺の脆弱性が指摘されている（Azuma A, Hagiwara K, Kudoh S. *Am J Respir Crit Care Med.* 177:1397, 2008）。（1）薬剤性肺障害が他国（西洋や他のアジア人）より高頻度で見られ、高率に致死的な経過をたどること（Azuma and Kudo, *JMAJ* 50:1-7, 2007; 表1）、（2）肺線維症を有する患者で他国より高頻度に急性増悪が起こり、高い致死率を示すと推定され

ること（Azuma et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 177:1397, 2008）が典型例である。これ以外にも（3）皮膚筋炎に伴うびまん性肺胞障害（DAD）型の急性間質性肺炎は海外では非常に少ない（Kameda et al. *J Rheumatol* 34:1719, 2005 及び亀田私信）、（4）肺線維症合併肺手術後の肺線維症急性増悪は海外にはあまり見られない（工藤私信）などがある。日本人は、特定の条件下で、びまん性肺胞障害（DAD）を起こしやすいようだ。

病態に明確な民族差がある場合、民族特異的な遺伝因子があると考えられる。好例は「下戸の遺伝子」(ALDH2の変異遺伝子：アルコール代謝

	日本での頻度 (調査症例数)	海外での頻度 (調査した全症例数)
ゲフィチニブ	3.98% (4,473)	0.3% (23,000)
エロチニブ	2.7% (約1800)	0.2% (アジア人872名)
レフルノミド	1.81% (3,867)	0.017% (861,860)
プレオマイシン	0.66% (3,772)	0.01% (295,800)

表1 薬剤性肺障害発症頻度の国際比較
(Azuma and Kudoh JMAJ 50:1-7, 2007 および中外製薬データ)

機能が低下する)である。「酒が飲めない人」は東洋人に限られる。「下戸の遺伝子」は中国で生じ、地域で広がったものだからである (Goeddel et al. Hum Genet 88:344, 1992)。日本には弥生時代に渡来人がもたらした。日本に入って2000年程度という新しい遺伝子だが、現日本人に高率に見いだされる (Shibuya et al. Am J Hum Genet 43:741, 1988)。特殊な状況(「下戸の遺伝子」ではアルコール摂取)のみで明確になる遺伝子は通常の生活では選択を受けないため、集団内に広がりやすい。

薬剤性肺障害や特発性肺線維症急性増悪に関与する遺伝因子は多数あると想定されるが、その中でも特に強く関与する遺伝因子を1つ想定する(下戸におけるALDH2のように)と、民族差を説明しやすい。その遺伝因子が過去の日本で生じたと仮定すると、日本は島国であるため、日本でのみ高率に見られる疾患が生じる。肺の防御力を弱める遺伝因子なら、薬剤性肺障害や特発性肺線維症急性増悪等の共通の原因にもなりうるだろう。

この考察を支持するものとして、集団の中で良く見られる疾患でも、一人の先祖から生じ集団内に広がった遺伝因子が関与しているという「common disease-common variant-common origin 仮説」がある(図1)。呼吸器では $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症、嚢胞性線維症がこの仮説に当てはまる。近年、この仮説は広く多因子疾患に当てはまることが分かって来た。現在施行され

ている疾患遺伝子解析の多くは、この仮説に基づいて開発された全ゲノム関連解析(genome-wide association study:GWAS)を用いて行なわれている。呼吸器でも「ドイツのサルコイドーシスに関与する遺伝子 (Hoffman et al. Nat Genet 40:1103, 2008)」「ヨーロッパの肺癌に関与する異常ニコチン受容体遺伝子 (Thorgerirsson et al. Nature 452:638, 2008)」が見つかった。

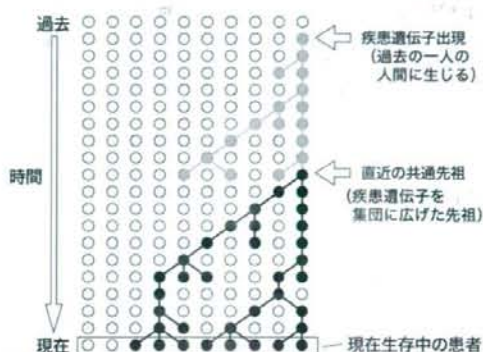


図1 common disease-common variant-common origin 仮説:多くの人に見られる疾患でも、元をたどれば一人の人間に生じた疾患遺伝子が原因、とする仮説。多因子疾患と考えられる疾患にも当てはまることが分かって来た。疾患遺伝子の起源は古くても、疾患遺伝子を社会に拡散した先祖は、比較的近い時期に存在することが多い。

研究代表者(萩原)は、肺胞微石症責任遺伝子の同定 (Huqun et al. Am J Respir Crit Care Med 175:263, 2007)以来、疾患遺伝子解析を行っている。その過程で、効率的な疾患遺伝子解析手法であるホモ接合ハプロタイプ法を開発 (Miyazawa et al. Am J Hum Genet 80:1090, 2007)し、さらに発展型である「ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析」を開発した(文部科学省特定領域研究「ゲノム」合同班会議発表)(図2)。「ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析」は、通常的全ゲノム関連解析より少ない症例数で疾患遺伝子を同定できる。疾患遺伝子既知の多因子疾患(守秘義務があり疾患名は記載できない)100名名分のデータを用いた「練習」

でも、明確に疾患遺伝子を同定できた(図3)。

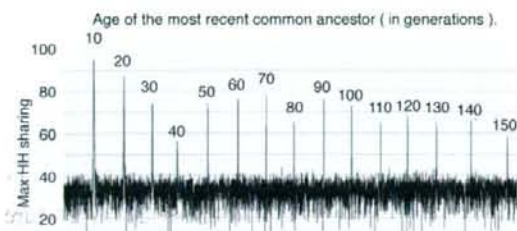


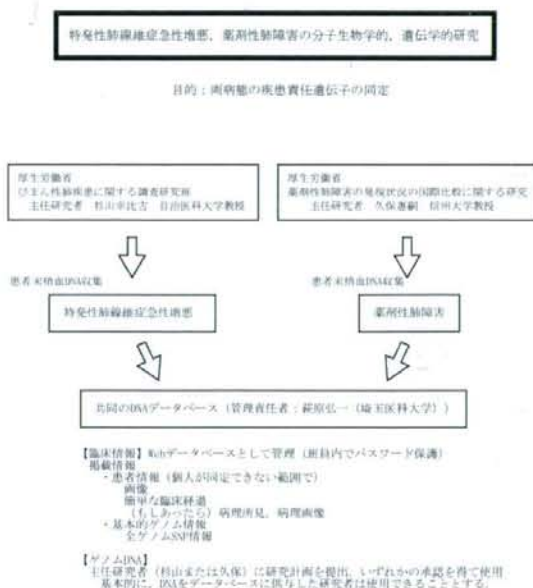
図2 ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析

100名の健常被験者の常染色体(1番-22番)上に、直近の共通先祖(図1参照)が10世代前、20世代前、...160世代前の疾患遺伝子を並べ、検出可能かどうか検討したシミュレーション。160世代前(1世代20年として3200年前)の共通先祖由来の遺伝子を検出できている。

本研究では、(1) 薬剤性肺障害に関与する遺伝因子が「common disease-common variant-common origin 仮説」に従い日本人に広がった、(2) 特発性肺線維症急性増悪に関与する遺伝因子も「common disease-common variant-common origin 仮説」に従い日本人に広がった、という作業仮説のもと、両者が同一である可能性、異なる可能性を共に考慮に入れながら、「ホモ接合ハプロタイプ法を用いた全ゲノム関連解析」を始めとする各種解析手法により、両者の遺伝因子を特定する。両者の遺伝因子が同一か否か、比較対照しながら平行して研究するために、材料となる臨床検体を収集し、そのデータバンクを作成することを目的とする。

B. 研究方法

●研究組織図示



●研究参加希望の施設に配布する研究計画書研究計画書

「びまん性肺疾患に関する調査研究班」

主任研究者：杉山幸比古

「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」

主任研究者：久保惠嗣

による、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害の遺伝因子に関する共同研究

目的：特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害の原因となる遺伝因子の同定

研究形態：「びまん性肺疾患に関する調査研究班」、
 「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」(以後「研究班」と称する)を中心とする多施設共同研究

共同研究の内容：

1. 患者試料収集
2. 収集試料の「研究班」内での共同解析
3. 基本的解析結果の「研究班」内での共有

研究の進め方：

1. 「研究班」を中心に患者DNA
試料の収集を行なう。特発性肺線維症急性増悪：「研究班」を中心に呼びかける
薬剤性肺障害：「研究班」とともに、製薬会社に試料収集協力を呼びかける
2. DNA 試料は試料収集責任者を中心に収集、管理する。
3. 「研究班」主任研究者、分担研究者、研究協力者より研究施行者を募る。研究施行者は同時に試料提供者（患者DNAを提供した施設の所属者）であることが望ましい。主任研究者が研究施行者を承認する。研究施行者全体を研究グループと称する。
4. 試料収集責任者は、研究グループで共有し利用する基本的なDNA情報（患者全ゲノムSNP情報、個人情報に消去した患者画像、簡単な病歴）を収集し、研究グループ内にwebで公開する（研究グループ内のパスワード保護）。
5. 試料収集責任者は、研究施行者の要請に応じ、収集したDNA試料を研究施行者に配布する。
6. 研究施行者は、各自の戦略に基づき解析を行う。
7. 研究施行者は、研究結果を主体的に論文発表するとともに主任研究者に報告する。論文発表の際は、謝辞に「研究班」の研究であることを明記するとともに、可能な範囲で試料提供施設を記載する。

付記：薬剤性肺障害試料の収集について

薬剤性肺障害試料は、「研究班」内部での収集

では不十分であり、広く全国に呼びかける必要がある。薬剤性肺障害発生情報は、製薬会社に早期の段階で入ることが多いため、以下のように製薬会社に協力を依頼する。

1. 薬剤性肺障害発生時、製薬会社担当者は主治医に協力文書（添付）を渡し、本計画への協力を依頼する。
2. 主治医は、試料収集責任者に連絡を取り、試料を送付する。

●製薬会社より薬剤性肺障害患者発生施設に配布している依頼書
平成20年7月10日
各施設担当医各位
厚生労働省

薬剤性肺障害の発現状況の国際比較に関する研究

主任研究者 久保恵嗣

信州大学教授

厚生労働省びまん性肺疾患に関する調査研究班

主任研究者 杉山幸比古

自治医科大学教授

厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」

薬剤性肺障害研究へのご協力をお願い

（薬剤性肺障害患者末梢血検体収集）

近年、イレッサ(Gefitinib)、タルセバ(Erlotinib)、アラバ(Leflunomide)、さらにベルケイド(Bortezomib)などの薬剤による肺障害[間質性肺疾患(ILD: Interstitial Lung Disease)]が注目を集めています。これらの薬剤性肺障害の発生頻度は、日本人では投与患者の約5%程度ですが、海外ではほとんど認められないことが明らかになりつつありま

す。日本人に薬剤性肺障害が頻発する理由は日本人に特有の遺伝因子が原因であるという仮説に基づき、厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」では薬剤性肺障害に関する遺伝因子の検索を行っています。現在、上記の目的で、薬剤性肺障害発現症例の末梢DNAサンプルを収集しています。貴施設に薬剤性肺障害発現症例がおられましたら、本研究にご協力いただきたくお願い申し上げます。本研究にご協力いただける場合、検体収集責任者（埼玉医科大学 呼吸器内科 教授 萩原 弘一）に電話、FAX、またはE-mailでご連絡ください。折り返し、本研究の概要、ヒトゲノム解析研究倫理指針に沿った検体収集手順を説明させていただきます。

◆検体収集責任者

萩原 弘一

（埼玉医科大学 呼吸器内科 教授）

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

Tel 049-276-1319

FAX 049-287-1635

E-mail hagiwark@saitama-med.ac.jp

日々の診療でお忙しいと存じますが、本研究へのご協力を何卒よろしくお願い申し上げます。

【研究組織、手順の概略】

本研究では、貴施設の検体を使用してヒトゲノム・遺伝子解析研究を行います。そのため、倫理指針に準拠し、以下の研究組織を設定し、以下の手順にて解析を行います。

〔研究組織〕

研究施設：貴施設（貴施設患者検体の解析の部分は、貴施設が研究の主体となります）

研究の形態：多施設共同研究

検体保存場所：埼玉医科大学（共同研究施設）

〔手順〕

1. 埼玉医科大学倫理委員会承認書類（別途送付致します）を用いて患者同意を取得します。これは、患者さんの「ヒトゲノム・遺伝子解析研究」協力意思確認のためのものです。本同意をもって「ヒトゲノム・遺伝子解析研究」を承認するか否かは、各施設倫理委員会の判断を仰ぐこととなります。この場合、迅速審査も可能です（指針第2の9（5））。
2. 末梢血20 mlをヘパリン採血。検体は、この時点でヒトゲノム・遺伝子解析研究への協力同意の取れたA群資料となります（指針第4の13（3））。
3. 検体を埼玉医科大学にクール宅急便にて搬送（着払い）後、埼玉医科大学にて保存します。リンパ球不死亡の患者同意のある検体では、患者リンパ球を不死亡して保存します。この時点では遺伝子解析研究は行わず、施設倫理委員会の承認、または前述の迅速審査の結果を待ちます。施設倫理委員会の審査結果では、同意の再取得などが必要になるかもしれません。
4. 施設倫理委員会承認を確認します。
5. 遺伝子解析を開始します。

薬剤性肺障害患者検体は貴重な検体です。薬剤性肺障害の予防、治療の手がかりを得るため、ぜひ収集にご協力ください。

●びまん性肺疾患に関する調査研究班に配布した依頼書

分担研究者 殿

研究協力者 殿

「びまん性肺疾患に関する調査研究班」

主任研究者：杉山幸比古

「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」

主任研究者：久保恵嗣

特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害試料収集のお願い

「びまん性肺疾患に関する調査研究班」, 「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」では、特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害の原因となる遺伝因子を同定するために、両病態患者の末梢血、または組織DNAの収集を行ないます。ご協力をお願い致します。

1. まずは、倫理委員会申請書離型（添付）を用い、各施設倫理委員会の倫理審査を受けてください。

2. 倫理審査終了後、患者が発生したら、同意取得の上、20 mlの末梢血をヘパリン採血で採取し、4℃のクール宅急便で下記（試料収集責任者）にご送付ください（着払）。

試料収集責任者

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

埼玉医科大学呼吸器内科 萩原弘一

TEL 049-276-1319

FAX 049-276-1635

3. 収集されたDNAの解析研究に参加をご希望される方は、主任研究者（杉山または久保）にお申し出ください。主任研究者の承認の上、DNAを配布し、webへのパスワードをお渡しします。

（付記）PMXの対象患者は、本研究の良い対象

となる患者さんです。本研究への参加もご考慮ください。

【倫理委員会承認前の試料収集も可能です（厚労省確認済み）】

特に薬剤性肺障害などは、発生施設で倫理委員会承認が取れていない場合があると考えられます。この場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、以下の手順で試料を収集致します。

1. 他施設の倫理委員会で承認された書類で、患者、または患者家族の同意を取得します。この時点で試料はA群試料となります。

倫理指針 第6 16-(19)-ア

A群試料等：試料等の提供時に、ヒトゲノム・遺伝子解析研究における利用が利用目的として提供者に明示され、当該目的に利用することに対して同意が与えられている試料等をいう。

2. 20mlの末梢血をヘパリン採血で採取し、4℃のクール宅急便で下記（試料収集責任者）にご送付ください（着払）。ここでは保存のみを行ない、解析は開始しません。

試料収集責任者

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38

埼玉医科大学呼吸器内科 萩原弘一

TEL 049-276-1319

FAX 049-276-1635

3. 倫理委員会に迅速審査を依頼し、その承認をもって解析を行います。

第4 13-(3)細則 研究を行う機関の長及び研究責任者は、A群試料等が提供された時点における同意が、当該試料を利用して新たに行おうとするヒトゲノム・遺伝子解析研究の研究目的と同じ研究目的に対して与えられたものであることを確認することとする。

第2 9-(5)倫理審査委員会は、その決定により、委員長があらかじめ指名した委員又はその下部組織による迅速審査手続を設けることができる。

【迅速審査に関する細則】

共同研究であって、既に主たる研究を行う機関において倫理審査委員会の承認を受けた研究計画を、機関特有の問題がなく、他の共同研究機関が実施しようとする場合の研究計画の審査

●研究参加希望施設の倫理委員会提出用研究計画書ひな形

実施計画書

- 1 課題 特発性肺線維症急性増悪と薬剤性肺障害の遺伝学的比較研究
- 2 研究等の目的 特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害の疾患関連遺伝子同定
- 3 実施施設

○○○○ ○○○○ 検体収集、解析（貴施設の名前と研究責任者名を書いてください）

自治医科大学杉山幸比古 検体収集、解析

東北大学病院貫和敏博 検体収集、解析

埼玉医科大学萩原弘一 検体収集、解析

日本医科大学吾妻安良太 検体収集、解析

4 対象疾患

特発性肺線維症、家族性肺線維症、特発性肺線維症急性増悪または薬剤性肺障害

5 実施計画

5-1 実施期間

2008年8月から2013年7月まで

5-2 解析人数

特発性肺線維症100例、特発性肺線維症急性増悪100例、家族性肺線維症40例、急性薬剤性肺障害患者100例、正常対照患者200例の計540例。このうち正常対象患者200例のデータは、既存の健康日本人データを使用する予定である。

5-3 対象疾患

(1) 特発性肺線維症、(2) 家族性肺線維症、(3) 特発性肺線維症急性増悪、(4) 薬剤性肺障害を収集対象とする。すなわち、特発性肺線維症急性増悪の基礎となる特発性肺線維症、および家族性肺線維症も合わせて検体収集、解析を行う。これは、(1) 特発性肺線維症急性増悪の診断確定が難しい場合がしばしばあり、また、肺線維症患者のかなりの部分で急性増悪が見られるため、肺線維症のみの時点での検体採取が適当と考えられる。(2) 急性増悪のない特発性肺線維症、家族性肺線維症と特発性肺線維症急性増悪を比較することが、同定した遺伝子が特発性肺線維症急性増悪に関連したものであることを確認するために不可欠、の二つの理由による。

5-4 患者材料

患者末梢血リンパ球、不活化末梢血リンパ球、および病理組織（臓器は問わない）。患者からの同意が得られた場合、末梢血リンパ球をEpstein-Barrウイルスで不活化し、本研究のためDNA、RNAを継続的に採取できるよう保存。

5-5 採取場所

本研究に参加する各施設

5-6 同意取得の手順

各施設倫理委員会承認取得前、取得後の二つに分けて記載する。以下の手順は、本研究が対象とする疾患が急速に進行することを考え、各施設倫理委員会承認前でもヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従って検体収集を可能とするため、厚生労働省厚生科学課と協議の上、設定したものである。

A：各施設倫理委員会承認取得前

I) 本研究に関し、既に倫理委員会承認のされている施設の説明書・同意書を用いて患者同意を取得する（埼玉医科大学の書類を添付）。この同意をもって患者採血を行う。患者試料は、この時点で「ヒトゲノム・遺伝子解析研究における利用を含む同意が与えられている試料（A群試料）」となる（ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針4-13-(3)）。

II) 患者試料を検体収集責任施設（埼玉医科大学）に輸送、保存。

III) 患者説明書、同意書を各施設倫理委員会に提出し、倫理委員会の承認をもって遺伝子解析を開始する。

B：各施設倫理委員会承認取得後

I) 各施設倫理委員会承認の説明書・同意書を用いて患者同意を取得する。

II) 患者試料を検体収集責任施設（埼玉医科大学）に輸送、保存。

III) 遺伝子解析を開始する。

検体収集責任施設は、遺伝子解析の開始とともに、氏名、IDなど個人同定につながる情報を削除した患者胸部X線写真、CT写真を収集する。診断の妥当性、病型の再分類などを後から確認可能とし、より正確な解析を可能とするためである。

5-7 遺伝子解析の具体的手順

解析場所：本研究実施機関内で、最も解析に適する技術を有している施設にて行う。共同研究施設

内で十分な解析が行えない場合、秘密保持契約を締結した上で、企業に受託して解析を行う場合もある。いずれの場合も、後述のように匿名化が行われているため、患者情報保護上の問題はない。患者DNA、不死化細胞株は研究実施機関内でのみ使用し、本研究実施機関外への譲渡は行わない。解析方法：患者末梢血リンパ球の不死化の同意が得られた場合、EBウイルスを使用して患者末梢血B細胞を不死化し、細胞株とする。DNAは細胞株から抽出する。その他の検体の場合、通常の方法を用いて染色体DNAを患者材料から直接抽出する。DNA中の単塩基多型(SNP)部位(3,000,000以下)を高密度単塩基多型同定アレイを用いて検索する。データ解析には既存の全ての遺伝子解析アルゴリズムを使用する可能性があるが、主としてホモ接合ハプロタイプ法、全ゲノム関連解析法を使用する。また、疾患遺伝子である可能性が高いと考えられる遺伝子の各個解析も別途行う。本研究で、詳細な塩基配列決定による遺伝子探索を行う対象とする遺伝子は以下のものである。(1) SNP 検索にて同定した疾患遺伝子の存在候補領域にある遺伝子、(2)他の研究者の発表から、研究対象疾患の疾患遺伝子候補と考えられた遺伝子。実験データ解析：実験データは共同研究施設内で共有、複数の解析を行うことでデータの有効利用を図る。共同研究機関外へのデータ譲渡は行わない。後述のように匿名化が行われているため、データを共有しても患者情報保護の上での問題はない。収集症例数の妥当性：特発性肺線維症急性増悪、薬剤性肺障害は海外では少なく、日本人に高頻度で見られることより、疾患遺伝子の相対危険度は高いと予想される。現在の全ゲノム関連解析法では、相対危険度の高い(例えば相対危険度8)疾患遺伝子では約100例のサンプルが必要と考えられるため、各疾患100例で設定した。家族性肺線維症では家族集積という情報があり、ホモ接合ハ

プロタイプ法が有効に働くと考えられるため、同法で解析可能な50例に設定した。正常対照症例数は、既存の200例の健常日本人データが使用できると考えられるため、200例に設定した。

5-8 実施場所

研究実施施設（上記）に記載の各施設

6 実際に際しての倫理的配慮について

6-1 研究等の対象とする個人の人権への対策

解析を開始する前に、検体や診療情報から住所、氏名などを削り、代わりに新しく符号をつけて匿名化する（符号化）。匿名化は連結可能匿名化とし、対応表は参加各施設の個人情報管理責任者が管理する。これは、本研究で対象とする肺線維症、薬剤性肺障害の分類が未だ流動的であるため、将来の再解析や患者への情報還元などが必要となる可能性があるためである。学会、論文、その他の方法での研究結果の公表の際には、全く個人が同定できないよう配慮する。また、不参加による被験者の不利益がないよう配慮する。実験、解析施行者は、氏名を削ったサンプルを解析するため、個人を同定できない。患者胸部X線写真、CT写真は氏名、IDなど、個人同定につながる情報を削除して収集する。

6-2 被験者に理解を求め同意を得る方法：

被験者各人、または被験者の親族（被験者死亡の場合）、または被験者本人および被験者の親族（被験者が未成年の場合）に書面で説明し、各人の署名入りの同意書を保管する。

6-2-1 説明の具体的内容

別紙のように説明する。

6-2-2 被験者が未成年者の場合、成年者でも十分な判断力のない場合、又は病名に対する配慮が

必要な場合などにおける対処方法。

A 未成年者で本人、および親権者の合意の得られない場合、B 成年者でも十分な判断力のない場合、C 成年者で意識がなく、配偶者または直系親族の合意の得られない場合、の3者は研究の対象としない。

6-3 研究等によって被験者に生じうる危険と不快に対する配慮

1) 採血は可能な限り一般の採血と併せて行い、採血時の痛みの軽減を図る。

2) 検体採取時には患者の状態に細心の注意を払う。

6-4 研究等によって生ずる個人への利益・不利益

疾患関連遺伝子が発見された場合、研究の成果は、疾患の原因の究明、治療法の開発に直接結びつく可能性があり、その結果、患者と同じ病気に苦しむ人の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになる可能性がある。疾患関連遺伝子に基づいた治療法の開発は患者自身のみならず、患者子孫の利益となる可能性がある。しかしながら、その遺伝子の疾患発生・進展における関与の仕方によっては、遺伝因子の同定が患者の不利益になる可能性がある。だが、本研究が対象とする病態では、有効な治療法が確立されておらず、疾患の原因に迫ろうとする本研究は、患者の被る不利益よりも患者の得る利益の方が遥かに大きなものとなると考えられる。また、本研究ではヘテロ接合が10%以上存在する単塩基多様性(SNP)部位を検索の対象とするため、偶然他の特定遺伝子の機能欠損を指摘することになる可能性は極めて低い。また、これらの情報は6-1の項に述べた手法を用いて管理されるため、個人の不利益にはつながらない。患者検体は患者末梢血、または剖検材

料を用いて行なうため、患者の健康に対する危険性はない。

7 医学上の貢献の予測

本研究は、現時点で原因の明らかにされていない病態に関する関連遺伝子を明らかにしようとするものであり、研究が成功した場合には、同病態の理解、治療法の開発に多大の貢献をすると考えられる。

8 遺伝子解析の結果の個人への還元方法

患者、患者家族、陰性対照検体提供者には、それぞれの求めに応じ、解析の途中経過、最終結果を知らせる。その場合、説明は各施設の研究責任者を通じて行う。ただし研究期間（解析結果保持期間）を過ぎた場合は結果を保管できない場合がある。

9 研究結果の公表

学会や学術雑誌およびデータベース上で発表する。

10 知的財産権

遺伝子解析の結果として特許権などの知的財産権が生じた場合、その権利は国や民間企業には所属せず、特許申請者に帰属する。また、検体の提供者には所属しない。その特許権により経済的利益が生じた場合も同様である。

11 遺伝子解析終了時の検体廃棄

研究期間（2013年7月まで）終了時にはDNA検体、不死化リンパ球は焼却処理することにより破棄する。

12 遺伝子解析の費用負担

全て研究費負担とする

13 遺伝カウンセリングの体制

患者、患者家族、および正常対照サンプル提供者より遺伝カウンセリングの要請があった場合は、各施設の研究責任者が患者が適切な遺伝カウンセリングを受けられるよう手配する。遺伝カウンセリングは各施設の遺伝カウンセリングの体制にしたがって行う。遺伝カウンセリングを行う場合は、各施設の遺伝カウンセリング用カルテ管理規則に従い、カルテを厳重に管理する。

14 付記

本研究ではEBウイルスで不死化した細胞株を使用する。この細胞は、自然状態において個体に成育する能力を欠き、平成16年2月19日施行の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」で規制されている「生物」には該当しない（施行細則第一条第二項）。よって、同法の適応を受けない。

【患者への説明同意書】

（説明文書）

ヒト遺伝子研究の説明と協力をお願い（末梢血検体）

《遺伝子とは》

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気に罹りやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。ほとんど全ての生物では、遺伝子の本

体は「DNA」という物質です。「DNA」は、A、T、G、Cという四つの塩基の連続した鎖です。塩基がいくつもつながって遺伝子になります。

一つの細胞の中には約3万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていますが、細胞の一つ一つにすべての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、遺伝子は精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は、分裂を繰り返してふえ、一個一個の細胞が、「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

《遺伝子と病気》

ほとんどすべての病気は、その人の生まれながらの体質（遺伝素因）と病原体、生活習慣などの影響（環境因子）の組み合わせで起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや動脈硬化などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

《遺伝子解析研究への協力について》

この研究では、疾患の発症に関係があるかもしれない遺伝子や、何らかの理由で関係を疑われている遺伝子について、その構造や機能を解析し、実際に関係があるかどうかを調べます。

まず、研究の内容を含め、同意していただくための説明を行います。この説明を十分理解し、研究に協力して血液等を提供しても良いと考えられ

た場合には、「ヒト遺伝子研究への協力についての意思の確認書」に署名することにより、同意したということをはっきり示すようお願いいたします。

《研究に協力するかどうかを考えるために》

(1) 研究に協力するかどうかは任意です。取り消しも自由です

研究協力するかどうかは自由意志で決めてください。強制いたしません。協力されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供いたします。

一旦同意された場合でも、いつでも取り消すことができますので、説明担当者にご連絡下さい。その場合は採取した血液や遺伝子解析の結果は廃棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合など、血液や遺伝子を調べた結果を廃棄できないことがあります。

(2) 研究の実施計画は、以下の通りです

研究題目：特発性肺線維症急性増悪と薬剤性肺障害の遺伝学的比較研究

機関名：〇〇〇〇（貴施設の名前を書いてください）

自治医科大学

東北大学

埼玉医科大学

日本医科大学

なお、これに加えて、厚生労働省「びまん性肺疾患に関する調査研究班」および「薬剤性肺障害の発生状況の国際比較に関する研究」研究分担者および研究協力者の所属施設がいくつか加わる可能性があります。また、特発性肺線維症急性増悪と急性薬剤性肺障害検体収集の協力を、ひろく呼び

かける予定ですが、それらの検体提供施設は全て研究協力施設となります。

研究責任者氏名：○○○○（貴施設の責任者の名前を書いてください）

対象とする疾患名：(1)特発性肺線維症、(2)家族性肺線維症、(3)特発性肺線維症急性増悪、(4)薬剤性肺障害

調べる遺伝子あるいは遺伝子群の名称：(1)特発性肺線維症急性増悪、(2)薬剤性肺障害、これら2疾患を引き起こす可能性がある、本研究の施行により考えられた遺伝子、および、解析時点で他研究者の発表などにより、当該疾患を引き起こす可能性があると考えられた遺伝子。

調べる組織：患者より採取した末梢血および病理解剖によって保存された組織。

解析結果保持期間：5年間（2008年8月より2013年7月まで）

バンク事業への参加：公的バンクへの参加はない。

問い合わせ先：○○○○○○（貴施設の住所を書いてください）

電話番号：○○○○○○（電話番号を書いてください）

本説明書作成日：2008年7月4日

研究目的：

この研究の目的は、現在いまだ同定されていない特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の疾患関連遺伝子を同定することです。両疾患を同時に研究する理由は、両者とも他国の人々と比較

して日本人に高頻度で発生し、びまん性肺胞障害を主徴とする疾患であることより、同一、または密接に関連した遺伝因子がその発症に関与している可能性が考えられるためです。疾患に関連する遺伝子を同定することで、特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の原因が明らかとなり、将来、より正確な診断やより有効な治療ができるようになることが期待されます。

研究方法：

あなたの末梢血を20mlほど採取し、そこから白血球を分離してDNAを抽出します。あなたの同意が得られる場合、さらにリンパ球を何回も分裂させてDNAを採取できるように、EBウイルスというウイルスで不死化します。これは、採取したリンパ球に対して行うので、あなたの健康に影響は生じません。再度のDNA抽出が必要になる場合は、この不死化リンパ球から抽出します。末梢血から直接抽出したDNAは、いろいろな原因で分解して利用不能になることがあるため、不死化リンパ球にして保存するのです。不死化リンパ球は解析結果保持期間終了時に焼却処分されます。不死化リンパ球は(4)で述べるように匿名化してから作成し、末梢血DNAと同様、厳重に管理されるので、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。よって、あなたの不利益になることはありません。この研究で調べる対象は、DNAの中の単塩基多型といわれる部分で、これを手がかりに特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の責任遺伝子の位置を推定していきます。本研究は多施設共同研究であるため、他の施設で実験を行った方が良い場合は検体を他の施設に運搬して検索します。現時点では埼玉医科大学で検体保存を行ないませんが、将来研究組織内の別の研究機関に保存場所が移る可能性があります。検体運搬時には(4)にあるように、検体を匿名化して

から運搬いたしますので、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。なお、特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害の病型分類は現在流動的であり、病型の正確な同定・確認や将来の再分類に備えて胸部レントゲン写真、胸部CT写真の一部を同時に収集いたします。この場合も、氏名やID番号など個人同定につながる情報はコンピュータで消去して収集するため、あなたの情報が他の施設に漏れる危険性はありません。

研究計画などを見たいとき：

希望があれば、この研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合にはそれを用意し、説明いたします。

(3) 検体を提供した人にとっての利益および不利益

本遺伝子解析研究の結果、疾患関連遺伝子が同定された場合、本人、家族または血縁者がその結果を知ることが有益であると判断され、倫理委員会も同様に考えた場合に限り、診療を担当する医師や研究担当者から本人や血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。本研究では、すべての情報は特発性肺線維症急性増悪および薬剤性肺障害に關与する遺伝子を同定することのみ使用されるため、ご本人やご家族が不利益を被る可能性はないと考えられます。

研究の成果は、疾患の原因の究明、治療法の開発に直接結びつくものです。その結果、将来、同じ病気に苦しむ方々の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになるかもしれません。

本研究では、誰の遺伝子を解析した結果であるか分からないように、(4)に述べる匿名化を行って、個人情報を厳重に管理しています。しかし遺

伝子解析の結果によっては、就職・結婚・保険への加入などに関して、現時点では予測できないような不利益が生じる可能性がないとはいえません。思いがけず遺伝子解析により血縁関係がないと判定されることもあります。

(4) 個人情報は他人には決して漏らしません

個人の情報を保護することは、刑法で定められた医師の義務です。遺伝情報は最も厳重に管理されます。遺伝カウンセリングを行った場合、そのカルテは他のカルテと異なった独立の鍵のかかる場所に保管され、持ち出しは禁止されています。

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるため、他人に漏れないよう、慎重に取扱います。解析を開始する前に、あなたの検体や診療情報から住所、氏名などを削り、代わりに新しく符号を付けます(匿名化)。あなたとこの符号とを結びつける対応表は、各施設の個人情報管理責任者が管理します。こうすることによって、あなたの遺伝子の解析を行なう者には符号しか分からず、誰の検体を解析しているのかわからなくなります。

(5) 遺伝子解析の結果の伝え方

本研究は、多くの方々の協力を得て、疾患関連遺伝子を同定しようとするものです。希望があれば解析の途中経過、最終結果をお知らせいたします。解析結果保持期間内に申し出てください。それ以後は結果を保管できない場合があります。

同じ遺伝子を受け継いでいるかもしれない血縁者への連絡については、了解のもとに担当医または担当研究者が行うことも可能です。

なお、ご家族が結果を知らないでいたいと最初あるいは途中から表明した場合、遺伝子解析の結果はお伝えしません。