

LTC4S-444A/C、MIF-173G/C、TGF  $\beta$  1-509C/T、CYP1A2 5521A/Gは2群間で有意差を認めなかった。(4) 血清中のIL-12濃度はCC: C/T: TT= 36.6 $\pm$ 15.9 : 54.2 $\pm$ 20.4 : 59.7 $\pm$ 36.7(pg/ml), とCC genotypeがC/T, TT genotypeと比較して有意に低値であった(p<0.01)。さらに寛解群と非寛解群の比較では寛解群: 非寛解群=45.5 $\pm$ 21.8 : 58.0 $\pm$ 28.0(pg/ml)と寛解群が非寛解群と比較して有意に低値であった(p=0.02)。(5) 血清IL-4濃度はIL-12B C3757TのSNP別で有意差を認めないが、寛解群: 非寛解群=0.09 $\pm$ 0.15 : 0.34 $\pm$ 0.31 (pg/ml)と非寛解群で有意に高値であり(p<0.01)、また血清IL-4/IL-12濃度比は寛解群: 非寛解群=0.003 $\pm$ 0.008 : 0.007 $\pm$ 0.007と有意に高値であった(p<0.01)。

### 3年目の研究

**研究1**・初診時血清総IgE値はCC genotypeがTT genotypeと比較して有意に低値であった(p<0.01)。また治療後の血清総IgE値、IgE低下率は寛解群が非寛解群と比較して有意に低値であった(p<0.01)。

**研究2**・(1) 採血を行った時期はICS中止時を0ヶ月として測定した。後に寛解群: 12.0 $\pm$ 4.3ヶ月、後に悪化群: 10.3 $\pm$ 4.9ヶ月、寛解群: 45.5 $\pm$ 16.8ヶ月であり、非寛解群は悪化後再治療中であった。(2)のちに悪化する群はのちに寛解する群と比較して末梢血好酸球数が有意に高値であり(p<0.01)、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞(%)は有意に低値であった(p<0.05)。またCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T細胞数、IL-10およびIL-5産生CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞(%)は差を認めなかった。

**研究3**・(1) LTC4s-444のCアレルはアトピー型で有意に多く、LTC4s-444のA/C, CCはAAと比較して有意に血清総IgE値が高かった。(2)Cアレル陽性症例はICS治療後のFEV1増加率が有意に高値であった(p<0.05)。ACh気道過敏性およびHist気道過敏性改善率はSNP別に有意差は認めなかったがCアレルの改善傾向が強かった。

### D. 考察

小児喘息の予後についての疫学調査はすでに多くの報告がなされており、Strachanらは7才までに喘息、喘息様気管支炎と診断された880症例の33才時までの予後を追跡し、7-33才までの完全寛解率は35%であると報告している。またTaylorらも小児喘息の予後を検討し、15才時の気道過敏性消失例からの再発症例は少ないと報告している。

成人喘息の予後についての報告は少なく、寛解・治癒はありうるかどうかだけでなく、治療薬減量・中止基準についても十分には解明されていない。これまでの我々の研究結果から成人喘息においても臨床的寛解群が存在することが明らかとなった。今回の結果から成人喘息における長期寛解・治癒の指標は、喘息初診時の臨床症状が軽症例(ICS一日使用量が低用量)、気道の好酸球性炎症が軽度、末梢気道病変が軽度である条件が必要であり、寛解・治癒の指標としては治療内容によらず喘息初診時の臨床所見により規定されることが明らかとなった。またICSを含めた治療中止後6-18ヶ月後の末梢血好酸球数低値であることも寛解因子であることが明らかとなった。一方で、喘息初診時の重症度が重症である症例、ICS導入の遅れ、長期罹病期間を有する症例はACh気道過敏性が正常化した後も閉塞性障害が残存し、ICSを含めた喘息治療薬の減量が難しいことも明らかとなった。この結果はおそらくリモデリングの存在を示唆しているものと思われる。

成人喘息の予後に関する遺伝子の報告は少ない。今回の結果から成人喘息における長期寛解についてIL-12B C3757TのSNPの関与が示唆された。IL-12Bに関するSNPの報告についてはIL-12Bプロモーター領域のSNP(-2703CTCTAA/-2403T:ハプロタイプ1)がコントロールと比較して小児喘息に多く、またPBMCに対するDelf1刺激によるIL-12産生量が低いという報告(Tatebayashiら Allergology International 2005;54:451)や同じSNPで重症喘息と関連するという報告がある(Morahanら Lancet 2002:360:455)。IL-12BのSNPに関しては1188Aアレルがアトピー性皮膚炎で少ないという報告がある(Tsunemiら J.Dermatol Sci 2002;30:161)が、IL-12B C3757Tに関する報告は我々の検索し得た限りでは認められなかった。今回の我々の結果では血清中IL-12濃度は寛解群、IL-12B C3757T CC genotypeでむしろ少ないという結果であった。IL-12はTh1 cytokinesであるが、アレルギー疾患との報告は血清中IL-18, IL-12が小児アトピー性皮膚炎で増加しており、重症度と相関するなどの報告がある(Aralら 2006)。我々の結果も非寛解群の方が寛解群と比較して血清中IL-12濃度が高く、寛解群、非寛解群でIL-4R $\alpha$  V50I (G/A)のSNPは有意差を認めないが、血清IL-4濃度も非寛解群で有意に高く、さらにIL-4/IL-12濃度比も非寛解群で有意に高かった。この結果から非寛解群は血清IL-12、

IL-4、IL-4/IL-12 濃度が高く、相対的に Th2 にシフトしており、寛解群は Th1 にシフトしていると考えられる。また IL-12B C3757T の SNP は初診時血清総 IgE 値低値と相関すること、また治療後の血清総 IgE 低下率と相関することが明らかとなり、成人喘息の予後を規定する因子として IL-12B C3757T の CC genotype が将来の喘息の寛解予測因子としてのテーラーメイドとして有用であることが示唆された。さらに LTC4s-444 の SNP の C アリルは ICS 治療後の FEV1 改善率が有意に大きく ICS の治療反応予測因子と成りうるということが明らかとなった。気道過敏性改善率は症例数が少なく、統計学的有意差を認めなかったが C アリルでより改善傾向を認めた。さらに症例を追加して検証する必要があると思われる。

## E. 結論

1・成人喘息においては長期罹病期間、ICS 導入の遅れはアセチルコリン気道過敏性正常化後も閉塞性障害が残存する症例が多く、その後も治療薬継続を必要とする症例が多い。2・成人喘息症例にも寛解・治癒予備群が存在し、寛解予知因子は喘息初診時の臨床症状が軽症例、気道の好酸球性炎症が軽度、末梢気道病変が軽度である、治療後の IgE 低下率が高値である、治療中止後の末梢血好酸球数が低値であるなどの条件が必要である。3・成人喘息の寛解予測因子として IL-12B C3757T の CC genotype が関与し初診時血清総 IgE 値低値と関連することが示唆された。4・LTC4S-444A/C SNP は ICS 治療反応予測因子となることが明らかとなった。以上の個々の研究結果は成人喘息の治療反応予測因子、寛解因子についてのテーラーメイド療法に応用が可能である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tsurikisawa N, Tsuburai T, Akiyama K, et al. Prognosis of adult asthma after normalization of bronchial hyperresponsiveness by inhaled corticosteroid therapy. *J Asthma*. 45 : 445-451(2008).
2. Tsurikisawa N, Akiyama K et al. Differences in regulatory T cells between

Churg-Strauss syndrome and chronic eosinophilic pneumonia with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 122 : 610-616(2008).

3. Tsurikisawa N, Akiyama K, et al. Bronchial hyperresponsiveness (BHR) to histamine correlates with airway remodeling whereas BHR to Ach reflects eosinophilic inflammation in airways in adult asthmatics. *Am J Resp Crit Care Med* 175 : A350(2007).
4. Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K, et al. Bronchial reactivity to histamine correlates with airway remodeling more than to acetylcholine in the airways of adult asthmatics. *Am J Resp Crit Care Med*. 177 : A499(2008).
5. 鈴木澤尚実、秋山一男. 小児喘息の成人へのキャリーオーバーの予防. *小児科*. 48 : 25-35(2007).
6. 鈴木澤尚実. ヒスタミン・メサコリン・アセチルコリンを用いた気道過敏性試験の相違. *アレルギーの臨床*. 27 : 163-168(2007).
7. 鈴木澤尚実. Q&A6 客観的指標である気道過敏性テストが正常化した患者さんの病態について教えてください. *丹水社Q&Aでわかるアレルギー疾患*. 3 : 236-238(2007).
8. 鈴木澤尚実. 気管支喘息、成人期への移行. *小児科臨床ピクシス、年代別アレルギー疾患への対応*. 中山書店. 5 : 180-183(2009).
9. 鈴木澤尚実、秋山一男. 重症喘息の病態生理. *アレルギー免疫*. 医薬ジャーナル. 16 : 1514-1522(2009).
10. 鈴木澤尚実、秋山一男、他. アセチルコリン気道過敏性とヒスタミン気道過敏性の heterogeneity に対する検討. *アレルギー* 56 : 330(2007).
11. 鈴木澤尚実、秋山一男、他. 成人喘息患者における気道リモデリングの指標と気道反応性の検討. *日呼学会誌*. 45 : 133(2007).
12. 鈴木澤尚実、秋山一男、他. 吸入ステロイド (ICS) 療法により Ach 気道過敏性が正常化した後、ICS の中止可能予測因子の検討. *アレルギー* 56 : 319(2007).
13. 鈴木澤尚実、秋山一男、他. 成人喘息において気道リモデリングが反映する指標は何か? - 気道反応性と病理組織像の対比検討 -. *アレルギー*. 56 : 1047(2007).

14. 釣木澤尚実、秋山一男、他. 成人喘息において気道リモデリングは改善するか?— 気管支粘膜生検を2回施行した重症例の検討— . アレルギー. 57 : 368(2008) .
15. 釣木澤尚実、秋山一男、他. 吸入ステロイド (ICS) 治療後 Ach 気道過敏性が正常化した成人喘息患者の予後を規定する因子の検討. 日呼学会誌. 46 : 304(2008).
16. 釣木澤尚実、秋山一男、他. 気道過敏性測定と今後の展望 (成人). アレルギー57 : 1324(2008).
17. 釣木澤尚実、松井永子、近藤直実、秋山一男、他. 成人喘息の長期寛解に対する IL12BC3757T の遺伝子多型の検討. アレルギー—57 : 1398(2008).

## 2. 学会発表

1. 釣木澤尚実、秋山一男、松井永子、近藤直実、他. 成人喘息の長期寛解に対する IL-12B C3757T の遺伝子多型と IgE 産生能の検討. 日本アレルギー学会秋季学術大会 (第 59 回)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
分担研究報告書  
アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化

分担課題名：重症持続型喘息の臨床背景と吸入ステロイド反応性予測因子の臨床的・遺伝学的検討

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

気管支喘息治療は、吸入ステロイド薬（ICS）の普及の結果、著しい進歩を遂げたが、高用量 ICS でも管理困難な重症持続型症例がいまだに存在する。重症持続型喘息、すなわち ICS 抵抗性喘息の臨床的、遺伝的背景は、そのコントロールの基盤となる情報であり、ICS の治療反応性予測因子を確立できれば、過剰治療を防止する事にもつながりうる。

本分担研究においては、2007 年度にまず重症持続型喘息症例の臨床的背景を明らかにした。さらに、2008-9 年度にかけて、ICS 治療反応性の予測因子を確立することを目的として、ICS 開始前の臨床検査値、臨床背景が明らかになっており、かつ遺伝子解析が可能な症例を対象とし、治療反応性との関連を retrospective に検討した。

重症持続型（Step 4）気管支喘息患者 31 例と、非 Step 4 患者 14 例を比較すると、Step 4 群では罹病期間は長期、呼気 NO 濃度は高値、QOL の日常生活スコアや経済面スコアが低値であった。Stepwise 重回帰分析では、QOL には ACT スコアが示す自覚的な喘息コントロール状態と胃食道逆流の寄与が大きいことが示唆された。Step 4 患者は、長期にわたる罹病期間のなかで日常活動や経済面での QOL が低下しており、合併症を高率に有していることが明らかとなった。

次に、ICS 治療反応性予測因子を確立することを目的として、1秒量が5%以上改善したResponder群（R群：n=30）、と改善が5%未満のNon-responder群（NR群：n=40）に分類し、初診時の臨床検査値、臨床背景、遺伝子多型との関連を検討した。R群では、末梢血好酸球比率、血清総IgE値が高く、治療前の1秒量が低値、気道過敏性が亢進しており、気道可逆性が高かった。ロジスティック回帰分析にてICS治療反応性への寄与を解析すると、気道可逆性が有意な寄与因子として抽出された。遺伝子多型の検討では、IFN- $\gamma$ R1 L467P多型ではICS反応性との有意な関連を認め、非野生型では、野生型に比して有意に1秒量の改善率が大きく、変異を有する場合、ICS反応性良好であることが示唆された。IFN- $\gamma$ R1 L467P多型は、アレルギー疾患患者のみで検出されること、多型を有する患者では血清IgE値が高値であることが既に報告されており、今回の検討でも、多型を有する非野生型では、IgE値が高値傾向を示した。また、R群で有意に血清IgE値が高かった背景には、IFN- $\gamma$ R1 L467P多型が関与している可能性も示唆された。以上の検討から、重症持続型喘息症例の臨床的背景を明らかにし、さらに複数のICS反応性予測因子を抽出することができた。これらの知見を臨床に応用し、より至適で個別化された喘息コントロールを目指していきたい。

### 研究協力者

長瀬 洋之 帝京大学医学部内科学講座  
釣木澤尚実 国立病院機構相模原病院  
院臨床研究センター  
足立 哲也 帝京大学医学部内科学講座  
松井 永子 岐阜大学大学院医学系研究科  
小児病態学  
近藤 直実 岐阜大学大学院医学系研究科  
小児病態学  
秋山 一男 国立病院機構相模原病院  
臨床研究センター

### A. 研究目的

気管支喘息治療は、抗炎症作用をもつ吸入ステロイド薬（ICS）の普及の結果、著しい進歩を遂げた。一方で、ICS を最大用量まで用いても管理困難な重症持続型症例がいまだに 10%程度存在し、医療経済的にも全喘息治療費に占める割合は大きい。重症持続型喘息、すなわち ICS 抵抗性喘息の臨床的、遺伝的背景は、難治性喘息コントロールの基盤となる情報である。さらに、ICS の治療反応性予測因子は完全には確立しておらず、予測因子を確立できれば、過剰治療を防止する事にもつながりうる。

本分担研究においては、まず重症持続型喘息症例の臨床的背景を明らかにすることを目的とし、2007年度は重症持続型喘息症例の臨床的背景の調査を行った。

さらに、2008-2009年度にかけて、ICS治療反応性の予測因子を確立することを目的として、臨床的検討および遺伝子多型解析を行った。これまで報告されているICS治療反応性予測因子としては、喘息家族歴あり、喀痰中好酸球分画増加、呼気NO濃度上昇、気道可逆性ありといった臨床背景の他に、CRHR1, TBX21といった遺伝子多型があるが、わが国においては十分に検証されていない。本研究では、ICSの治療反応性予測因子を見出すことを目的として、ICS開始前の臨床検査値、臨床背景が明らかになっており、かつ遺伝子解析が可能な症例を対象とし、治療反応性との関連をretrospectiveに検討した。

#### ○ 2007年度

#### 重症持続型喘息の臨床背景の検討

#### B. 研究方法

当院通院中の重症持続型 (Step 4) 気管支喘息患者 31 例 (58.1±2.8才、男性 12 例、女性 19 例、アトピー型 15 例、非アトピー型 11 例、不明 5 例) の臨床情報を収集した。喘息罹病期間、血液データ (IgE RAST, 末梢血好酸球数)、呼気 NO 濃度、胃食道逆流 (F-test)、睡眠時無呼吸症候群 (Epworth Sleepiness Scale: ESS)、心身症 (喘息の発症と経過に関する調査票) の合併率を調査した。さらに、現在のコントロール状況を把握する目的で、呼吸機能検査、喘息コントロールテスト (ACT) を施行した。QOL は AHQ-33 を用いて調査した。非 Step 4 患者の調査も併行して行い、14 例をコントロール群とした。

#### C. D. 結果および考察

Step 4 群の罹病期間は 23.8±2.0 年で、非 Step 4 群の 15.3±4.5 年に比較して有意に長期であった。また、Step 4 群の呼気 NO 濃度は 42.4±6.7 ppb で、非 Step 4 群の 23.1±4.7 ppb に比して有意に高値であった (図 1)。

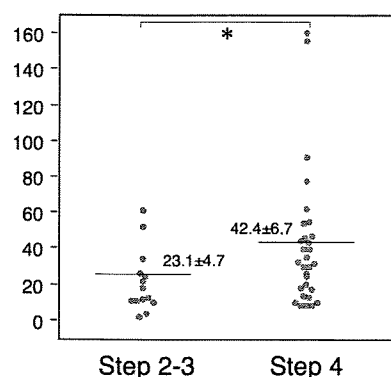


図 1. 呼気 NO 濃度 (ppb)

Step 4 群においては、胃食道逆流は 12 例、睡眠時無呼吸は 8 例で合併が示唆されたが、非 Step 4 群とスコアの有意差は認めなかった。一方、心身症は 20 例で合併が示唆されたが、スコアは非 Step 4 群より有意に低値であり (図 2 左)、Step 4 病態においては、心身面よりも器質的な病態関与が大きいことが示唆された。ACT は 18.9±1.1 点であったが、非 Step 4 群の 19.7±1.2 点との有意差は認めなかった (図 2 右)。

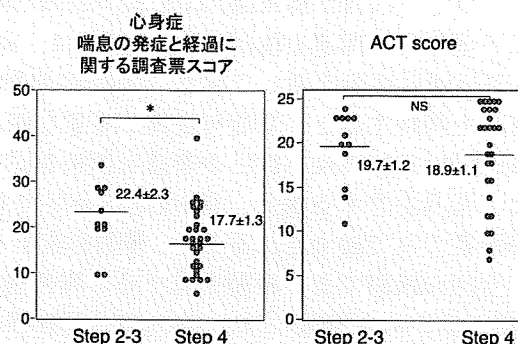


図 2. 心身症スコアと ACT スコア

Step 4 群では、非 Step 4 群と比して QOL の総点では有意差に達しなかったが (図 3 左)、日常生活スコア (1.33±0.22 vs 0.51±0.16)、経済面スコア (1.48±0.25 vs 0.46±0.27) が有意に高く (図 3 右)、日常活動や経済面での QOL が低いことが想定された。

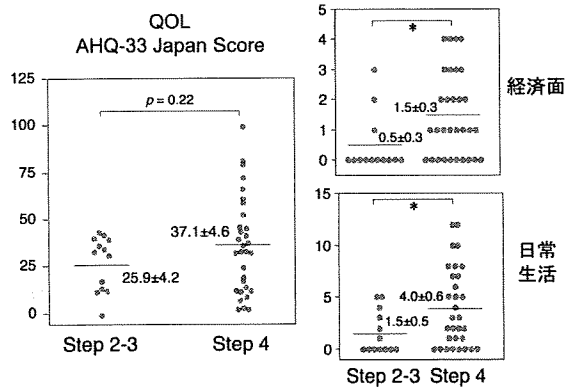


図 3. QOL スコア

また、QOL を規定する因子を検討するために、諸指標との相関を検討した。AHQ 総点は、ACT スコアと有意に逆相関を示したが (図 4 左)、%1 秒量、NO 値、睡眠時無呼吸スコア、心身症スコアとは有意には相関しなかった。また、AHQ 総点は胃食道逆流スコアと有意な正相関を示した (図 4 右)。

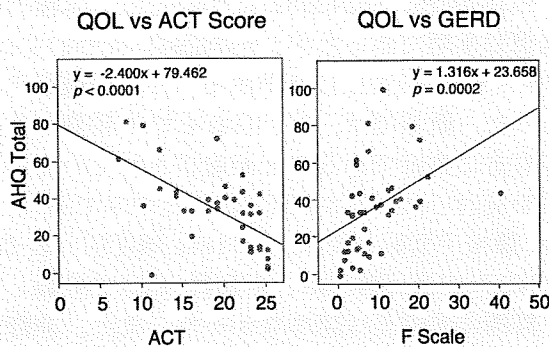


図 4. QOL スコアとの相関

さらに、Stepwise 重回帰分析では、AHQ 総点  $= -2.343 \times \text{ACT スコア} + 1.242 \times \text{F scale}$  ( $p < 0.0001$ ) と規定され、QOL には自覚的な喘息コントロール状態と胃食道逆流の寄与が大きいことが示唆された。

### E. 結論

Step 4 患者は、長期にわたる罹病期間のなかで日常活動や経済面での QOL が低下しており、呼気中 NO 濃度の解析から、気道炎症の残存が示唆された。経済面、日常生活動作を中心に QOL が障害されており、難治化を防止するための早期介入治療の必要性が示唆された。また、胃食道逆流の合併を積極的に診断する必要性も示唆された。

これらの Step 4 患者における遺伝的背景を今後

明らかにし、難治化防止の方策を樹立することが重要と考えられた。

○ 2008-9 年度

吸入ステロイド反応性予測因子の臨床的・遺伝学的検討

### B. 研究方法

国立病院機構相模原病院に通院中の気管支喘息患者で、未治療初診時および ICS 単独治療中の呼吸機能検査が施行されており、初診時の 1 秒率が 85% 未満である 70 例を対象とした。フォローアップ期間は 5 年以内とし、治療前後の呼吸機能検査で、1 秒量が 5% 以上改善した群を Responder 群 (R 群:  $n=30$ )、改善が 5% 未満の群を Non-responder 群 (NR 群:  $n=40$ ) として 2 群に分類し、初診時治療前の臨床背景、臨床検査値 (末梢血好酸球比率、血清 IgE 値、喀痰中好酸球)、気道可逆性、気道過敏性、遺伝子多型 (SNP) との関連を検討した。

ターゲットとして検討した遺伝子多型は、当研究班 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化」) で、過去に気管支喘息診断等で検討されてきた遺伝子多型に加えて、海外で ICS 反応性との関連が報告されている SNP について検討した。

### C. 研究結果

(1) 臨床背景 (表 1): R 群と NR 群で、年齢、性別、喫煙歴に有意差は認めなかった。R 群ではアトピー型喘息が、NR 群より多い傾向にあった。

	Responder n = 30	Non-responder n = 40	p
Age	48.0 ± 3.1	52.2 ± 2.2	0.383
Sex (M/F)	13/17	14/26	0.479
Smoking (C/Ex/Ne)	1 / 4 / 25	2 / 1 / 37	0.205
Atopic / Non-Atopic	18/12	16/24	0.097

表 1. 臨床背景

(2) 臨床検査値 (図 1): R 群では、有意に末梢血好酸球比率、血清総 IgE 値が高値であった。喀痰中好酸球スコアは R 群で高値傾向であった (2.79

二

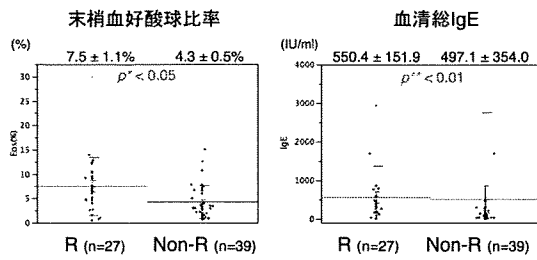


図 1. 臨床検査値

(3) 呼吸機能検査 (図 2) : R 群では、有意に%VC (97.5 ± 3.0\*\* : 114.8 ± 2.3%)、FEV1.0 (2.05 ± 0.12\*\* : 2.55 ± 0.08 l)、%FEV1.0 (77.9 ± 4.0\*\* : 101.3 ± 2.0%)、FEV1.0% (67.5 ± 2.2\*\* : 76.4 ± 0.7%)が低値であった。

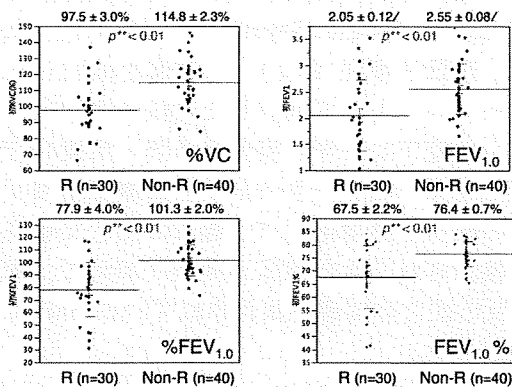


図 2. 呼吸機能検査

(4) 気道可逆性 (n= 11/19 (R/NR 群))、気道過敏性 (n= 30/40) (図 3) : R 群では、気道可逆性試験における改善率が有意に大きかった (15.9 ± 4.0\*\* : 5.4 ± 1.0%)。気道過敏性は R 群で有意に亢進していた (log<sub>2</sub>PC20 (Ach) : 13.09 ± 0.25\* : 13.48 ± 0.23)。

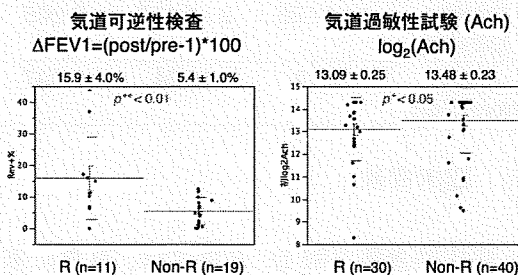


図 3. 気道過敏性/可逆性検査

2 群の比較で有意差を認めた上記の因子について、ロジスティック重回帰分析にて Response への寄与を多変量解析すると、気道可逆性 (改善率) が有意な寄与因子として抽出された (表 2)。

	Odds Ratio	95% CI	p
Eos (%)	1.26	0.98-1.88	0.069
%FEV <sub>1.0</sub>	0.93	0.81-1.03	0.178
ΔFEV1.0 (%)	1.69	1.17-3.14	0.0012**

表 2. ICS 反応性に寄与する因子

### (5) 遺伝子多型

まず、海外の報告で、ICS の治療反応性との関連が示されている corticotropin-releasing hormone receptor 1 (CRHR1) 多型について検討した。rs1876828, rs242939 については、本検討では全例野生型であったが、rs242941 については、20%がヘテロ (G/T)、1.4%がホモ (T/T) の遺伝子型であった。既報では、T/T のホモで 1 秒量の改善率が有意に良好であることが報告されているが、今回の検討では T/T は 1 例で認めただけであった。また、遺伝子型別 (表 3A)、allele 頻度別 (表 3B) に、ICS 反応良好群 (R)、不良群 (NR) で分類したが、群間に有意差は認めなかった。また、非野生型 (G/T+T/T) と野生型 (G/G) の ICS 使用前後の 1 秒量の比を検討したが、やはり有意差を認めなかった (p=0.11, 図 4)。

表 3. CRHR1: rs242941 と ICS 反応性

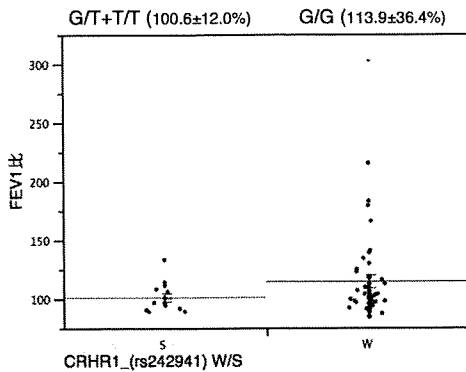
#### A. 遺伝子型と ICS 反応性 (p=0.22)

	G/G	G/T	T/T
R	25 (83%)	4 (13%)	1 (3%)
NR	30 (75%)	10 (25%)	0 (0%)

#### B. Allele 頻度と ICS 反応性 (p=0.65)

	G	T
R	54 (90%)	6 (10%)
NR	70 (87.5%)	10 (12.5%)

図 4. CRHR1: rs242941 と 1 秒量変化



また、T-box expressed in T cells (TBX) 21 は Th1 分化へ重要な役割を果たす遺伝子であり、海外では ICS による気道過敏性改善度との関連が報告されている。今回 rs2240017 について検討したが、遺伝子型別 (表 4A)、allele 頻度別 (表 4B) に、ICS 反応性で分類したが、やはり群間に有意差は認めず、ICS 治療前後での、1 秒量比や気道過敏性試験におけるメサコリン閾値濃度比にも群間で有意差を認めなかった (図 5)。

表 4. TBX21: rs2240017 と ICS 反応性

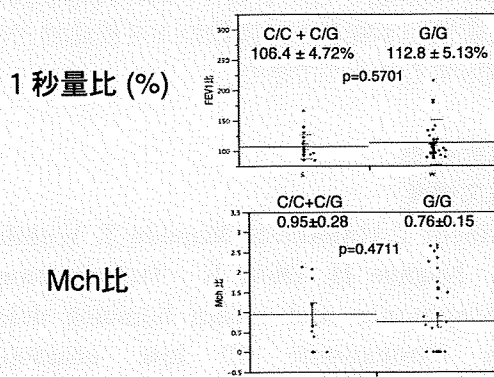
A. 遺伝子型と ICS 反応性 ( $p=0.76$ )

	G/G	G/C	C/C
R	23 (76.7%)	6 (20%)	1 (3.3%)
NR	28 (70%)	11 (27.5%)	1 (2.5%)

B. Allele 頻度と ICS 反応性 ( $p=0.63$ )

	G	C
R	52 (86.7%)	8 (13.3%)
NR	67 (83.8%)	13 (16.3%)

図 5. TBX21: rs2240017 と 1 秒量および気道過敏性閾値の変化



さらに、当研究班で、過去に気管支喘息診断や重症度との関連が検討されてきた SNP について検討した。LTC4S E4K, IL-12Rb1 R361W, IL-12Rb2 (H720R, A604V, R313G) は全例野生型で、ALOX E254K, IL-12 C16078T は SNP 頻度が 5%以下であった。

その他の SNP についての解析結果を表 5 に示す。今回検討した SNP の中で、IFN- $\gamma$  R1 L467P が ICS 反応性との有意な関連を認めた。ホモ+ヘテロ (Non-wild) 群では、野生 (Wild) 型に比して有意に治療後/治療前の 1 秒量比が高く (図 6: Non-wild vs Wild = 108.8 vs 140.2%)、変異を有する場合、ICS 反応性良好であることが示唆された。

IFN- $\gamma$  R1 L467P SNP を有する場合の臨床背景については、有意差には至らなかったが、Non-wild 群では、Wild 群に比して、血清 IgE 値が高く、1 秒率が低い傾向が認められた (表 6)。

表 5. SNP と ICS 反応性

		Wild	Hetero	Homo	$p$
IFN-g R1 L467PA/G	R	25	5	0	0.0083
	NR	36	0	1	
LTC4S -444 A/C	R	27	2	1	0.1084
	NR	26	9	2	
MIF -173 G/C	R	22	8	0	0.1406
	NR	23	11	3	
CRHR1 rs242941 G/T	R	25	4	1	0.216
	NR	30	10	0	
IL-13 R110QG/A	R	17	8	5	0.3394
	NR	14	15	6	
IL-12 3757 T/C	R	10	12	7	0.4507
	NR	7	18	9	
IL-12Rb1 365 T/C	R	9	16	5	0.7116
	NR	8	23	6	
TBX21 rs2240017 G/C	R	23	6	1	0.7595
	NR	28	11	1	
IL-4Ra V501 G/A	R	10	16	3	0.8838
	NR	11	19	5	
TGF-b1 -509 C/T	R	6	16	8	0.9014
	NR	9	19	9	
CYP1A2 5521 A/G	R	15	14	1	0.9852
	NR	19	17	1	

$p$  値は  $\chi^2$  検定による。



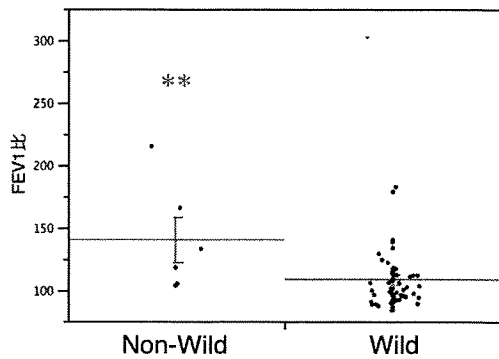


図 6. IFN -  $\gamma$  R1 L467P と 1 秒量変化

表 6. IFN -  $\gamma$  R1 L467P と臨床背景との関連

	Wild	Non-Wild	<i>p</i>
<i>n</i>	61	6	
初診時年齢	44.8±25.3	51.2±14.5	0.6603
ICS 開始 までの年数	4.8±9.1	7.3±8.0	0.5345
IgE (IU/ml)	512±1875	796±1099	0.26
EOS (%)	5.6±4.9	5.5±4.9	0.7787
痰 EOS (%)	2.4±1.5	2.8±0.5	0.7311
%VC	108.4±17.8	97.7±18.5	0.1535
log <sub>2</sub> Ach	13.4±1.38	13.0±1.1	0.2664
FEV1 (l)	2.35±0.60	2.15±0.92	0.3857
%FEV1	91.7±20.0	85.9±31.7	0.6526
FEV1%	72.7±9.8	67.9±7.6	0.0867
%V25	65.4±29.4	65.6±36.9	0.725
%V50	73.8±30.0	69.0±29.0	0.629
可逆性 (%)	9.2±10.3	10.7±8.4	0.39
FEV1 比	108.8±31.7	140.2±43.2	0.012
%FEV1 比	111.2±31.5	139.0±68.5	0.632

*p* 値は Kruskal-Wallis 一元配置検定による。

#### D. 考 察

ICS 治療反応良好群では、末梢血好酸球比率、血清総 IgE 値が高く、治療前の 1 秒量が低値、気道過敏性が亢進しており、気道可逆性が大きく、気道可逆性が最も治療反応性への寄与が大きかった。

今回の検討では、反応不良群の治療前 FEV1.0 は、良好群より有意に高値であった。治療前の呼吸機能が正常に近ければ、さらなる改善は得られにくいとも解釈できるが、反応不良群の半数は治療前の % FEV1.0 が 100% 未満であり、低値である層も存在している。さらに、反応良好群では、末梢血好酸球比率や総 IgE が有意に高値であり、初診時の呼吸機能のみで反応性が規定されているわけではないことも示唆された。既報では、喀痰好

酸球増加が反応性良好予測因子であることも報告されており、今回の検討とも一致して、アレルギー性炎症の表現形をもつ場合に ICS 反応性良好であることが示唆された。

また遺伝子多型と ICS 反応性の関連を検討し、IFN -  $\gamma$  R1 L467P SNP と ICS 反応性との間には、有意な相関が認められた。

海外で ICS 反応性との関連が報告されている CRHR1 および TBX21 SNP は日本人においても検出されたが、ICS 反応性との有意な相関は認められず、人種背景の違いが存在する事が推定された。

IFN -  $\gamma$  R1 L467P SNP と ICS 反応性との間には、有意な相関が認められ、G allele を持つと、5/6 例で ICS 反応性が良好であった。IFN -  $\gamma$  R1 L467P 多型は、健常人 72 例からは全く検出されず、アレルギー疾患の 6/89 例でのみ検出されること、多型を有する患者では、健常人に比較して血清 IgE 値が高値であることが、本研究班の近藤らによって既に報告されている (Aoki M, Matsui E, Kondo N et al. Int J Mol Med 2003;12:185)。

今回の検討でも、血清 IgE 値は非野生型では、平均 796 IU/ml (n=6) であり、野生型の 512 IU/ml (n=60) に比較して高値傾向であった。今回の臨床的背景の検討で、ICS 反応性良好群では有意に血清 IgE 値が高く (R 群: 550 ± 152 vs NR 群 497 ± 354 IU/ml)、その背景に IFN -  $\gamma$  R1 SNP が関与している可能性も示唆された。

#### E. 結 論

初診時の気道可逆性、血清 IgE 値、末梢血好酸球比率から吸入ステロイド反応性を予測できる可能性が示唆された。なかでも、初診時の気道可逆性が高いことは、ICS 反応性を最も良く予測する因子として抽出され、検査法としても即時性、簡便性の点から臨床応用が期待できる。さらに、IFN -  $\gamma$  R1 L467P 多型を有する場合、ICS 反応性良好である可能性が示唆され、複数の ICS 反応性予測因子を抽出することができた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Adachi T, Hanaka S, Masuda T, Yoshihara H, Nagase H, Ohta K : Transduction of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 into eosinophils attenuates survival, chemotaxis, and airway inflammation. J Immunol. 179 :

8105-11(2007)

2. Suzukawa M, Komiya A, Yoshimura - Uchiyama C, Kawakami A, Koketsu R, Nagase H, Iikura M, Yamada H, Ra C, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M : IgE- and FcepsilonRI-mediated enhancement of surface CD69 expression in basophils: role of low-level stimulation. *Int Arch Allergy Immunol.* 143 S1 : 56-9(2007) .
3. Tashimo H, Yamashita N, Ishida H, Nagase H, Adachi T, Nakano J, Yamamura K, Yano T, Yoshihara H, Ohta K: Effect of procaterol, a beta2 selective adrenergic receptor agonist, on airway inflammation and hyperresponsiveness. *Allergol Int.* 56 : 241-7 (2007) .
4. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. Suzukawa M, Iikura M, Koketsu R, Nagase H, Tamura C, Komiya A, Nakae S, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M : *J Immunol* 181 : 5981-9(2008) .
5. Suzukawa M, Koketsu R, Iikura M, Nakae S, Matsumoto K, Nagase H, Saito H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M : Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. *Lab Invest* . 88 : 1245-53(2008) .
6. Yamamura K, Adachi T, Masuda T, Kojima Y, Hara A, Toda T, Nagase H, Ohta K : Intracellular protein phosphorylation in eosinophils and the functional relevance in cytokine production. *Int Arch Allergy Immunol.* 149 S1 : 45-50(2009).
7. 竹澤智湖 : 気管支喘息と胃食道逆流との関連についての臨床的・実験的検討 QUEST 問診票に基づく胃食道逆流診断と治療的介入の効果. *帝京医学雑誌.* 31 : 75-86 (2008).
8. 長瀬洋之、大田 健 : 気管支喘息のモニタリングをめぐる呼気ガス 臨床免疫・アレルギー科. 52 : 194-8(2009) .
9. 原 麻恵 : 喘息コントロール状態と非侵襲的気道炎症マーカーとの関連. *帝京医学雑誌.* 33 : 39(2010).
2. 学会発表
  1. 長瀬洋之、山口正雄、矢野智湖、吉原久直、山村浩一、鈴木真穂、倉持美知雄、石田博文、足立哲也、大田健 : ウイルス性気道感染におけるマスト細胞の生体防御的役割の検討. 日本アレルギー学会総会(第57回)(2007年11月, 横浜)
  2. 矢野智湖、長瀬洋之、山村浩一、鈴木真穂、倉持美知雄、石田博文、足立哲也、大田 健 : 低 pH が気道上皮細胞からのサイトカイン・ケモカイン分泌に及ぼす影響. 日本アレルギー学会総会(第57回)(2007年11月, 横浜)
  3. 長瀬洋之、大田 健 : シンポジウム7 : アレルギー治療戦略の基礎的検証 : Toll-like 受容体を標的としたアレルギー治療戦略. 日本アレルギー学会秋季学術大会(第57回)(2007年11月, 横浜)
  4. 小島康弘、長瀬洋之、原 麻恵、矢野智湖、鈴木真穂、石田博文、中野純一、足立哲也、鈴木直仁、大田 健 : 喘息患者におけるピーズアレイシステムを用いた呼気凝縮液の検討. 日本アレルギー学会春季臨床大会(第20回)(2008年6月, 東京)
  5. 原 麻恵、長瀬洋之、小島康弘、鈴木真穂、石田博文、中野純一、足立哲也、鈴木直仁、大田 健 : 重症持続型喘息における胃食道逆流、睡眠時無呼吸症候群、心身症合併とQOLとの関連. 日本アレルギー学会春季臨床大会(第20回)(2008年6月, 東京)
  6. 原 麻恵、長瀬洋之、小島康弘、倉持美知雄、石田博文、足立哲也、鈴木直仁、大田 健 : 喘息コントロール状態と気道炎症マーカーとの関連. 日本アレルギー学会秋季学術大会(第58回)(2008年11月, 東京)
  7. 長瀬洋之、大田 健 : シンポジウム9 : アレルギー疾患の発症、悪化、自然経過に関する遺伝子多型の検討. 日本アレルギー学会春季臨床大会. (第20回)(2008年6月, 東京)
  8. 長瀬洋之 : イブニングシンポジウム10 : 喘息急性増悪の治療体系とそのエビデンス- JGL とGINAの比較-. 日本呼吸器学会学術講演会. (第48回)(2008年6月, 神戸)
  9. 長瀬洋之、大田 健 : ランチョンセミナー6 : アスリートと喘息. 日本臨床スポーツ医学会学術集会(第19回)(2008年11月, 千葉)
  10. 長瀬洋之、大田 健 : ワークショップ8

- 臨床：気管支喘息のモニタリングをめぐって W8-1 呼気ガス。日本アレルギー学会秋季学術大会（第 58 回）（2008 年 11 月，東京）
11. 長瀬洋之，大田 健：シンポジウム 1 遺伝子型研究とモデリングから。日本アレルギー学会秋季学術大会（第 58 回）（2008 年 11 月，東京）
  12. 長瀬洋之，釣木澤尚実，原 麻恵，小島康弘，倉持美知雄，新井秀宜，田下浩之，近藤直実，秋山一男，大田 健：ミニシンポジウム 4 気管支喘息の治療 1：吸入ステロイド（ICS）反応性予測因子の検討。日本アレルギー学会秋季臨床大会（第 21 回）（2009 年 6 月，岐阜）
  13. 原 麻恵，長瀬洋之，小島康弘，倉持美知雄，田下浩之，新井秀宜，山口正雄，鈴木直仁，工藤宏一郎，小林信之，大田 健：ミニシンポジウム 4-#4 気管支喘息- 診断と管理 1：喘息治療ステップダウン成功因子としての呼気凝縮液/FeNO の検討。日本アレルギー学会秋季学術大会（第 59 回）（2009 年 10 月，秋田）
  14. 長瀬洋之，釣木澤尚実，原 麻恵，松井永子，近藤直実，秋山一男，大田 健：ミニシンポジウム 12-#3 気管支喘息- 治療 1：遺伝子多型と吸入ステロイド（ICS）反応性との関連。日本アレルギー学会秋季学術大会（第 59 回）（2009 年 10 月，秋田）
  15. 戸田貴子，長瀬洋之，鈴木真穂，原 麻恵，小島 康弘，倉持美知雄，田下浩之，新井秀宜，山口正雄，大田 健：ミニシンポジウム 29-#2 好酸球と臨床・アレルギー病態 4：Th17 系サイトカインが好酸球からのサイトカイン放出に及ぼす影響。日本アレルギー学会秋季学術大会（第 59 回）（2009 年 10 月，秋田）
  16. 長瀬洋之，大田 健：シンポジウム 4 Innate Immunity とアレルギー 5 ウイルス・細菌真菌とアレルギー。日本アレルギー学会秋季学術大会秋田（第 59 回）（2009 年 10 月，秋田）
  17. Nagase H, Hirai K, Yamaguchi M, Ohta K International Symposium Session 3 Activation and signaling in inflammatory cells: Expression and Function of Toll-like Receptors in Allergic Inflammatory Cell. 日本アレルギー学会秋季学術大会（第 59 回）（2009 年 10 月，秋田）
  18. Nagase H, Noda K, Yamaguchi M, Yoshihara H, Yamamura K, Yano T, Ueki S, Ishida H, Ohbayashi O, Nakajima M, Adachi T, Ohta K: Diminished Airway Inflammation against Double-stranded RNA in Mast Cell-Deficient Mice. 64th AAAAI (oral session), San Diego, USA, Feb, 2007
  19. Yano T, Nagase H, Nakano J, Yoshihara H, Yamamura K, Ueki S, Ohbayashi O, Nakajima M, Adachi T, Ohta K: The Effect of Proton Pump Inhibitor on the Exhaled Breath Condensate pH and QOL in QUEST Questionnaire-Positive Asthmatics. 64th AAAAI (poster session), San Diego, USA, Feb, 2007.
  20. Nagase H, Takano H, Inoue K, Hara A, Kojima Y, Suzukawa M, Kuramochi M, Ishida H, Adachi T, Suzuki N, Ohta K. The Effect of Diesel Exhaust Particles on Pathogen-associated Molecular Patterns-induced Cytokine Generation from Bronchial Epithelial Cells. 2009 American Academy of Allergy Asthma & Immunol Annual Meeting (AAAAI), oral session, Washington DC, USA, 2009.
  21. Hara A, Nagase H, Kojima Y, Suzukawa M, Kuramochi M, Ishida H, Adachi T, Suzuki N, Ohta K. The relationships between the levels of cytokines and chemokines in exhaled breath condensate and the control status of asthma. 2009 AAAAI, poster session, Washington DC, USA, 2009.
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

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

アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化

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）は、喘息治療薬の中心的薬剤であり、その有効性が示されている。ICSにより喘息がコントロールされ、ステップダウン、中止の基準に関しては指針がない。本研究では、ICS治療により症状の完全コントロールが出来た場合に、ICSを中止する2つの前方視的長期観察研究をおこなった。その結果、気道過敏性が一定以上改善している場合にICSが中止可能かどうか、中止した場合の症状、気道過敏性の変化を前方視的に24ヶ月調査して、その変化に関わる要因に関して分析した。中止後50%の症例は無症状で経過し、軽症持続型までの重症度で維持しているのは86.7%であった。また、気道過敏性に関係なく、ICSを中止する研究は、現在も進行中であるが、脱落が多くなっている。

**研究協力者**

渡辺 博子 国立病院機構神奈川病院小児科  
 吉田 幸一 国立成育医療センター  
 第1専門診療部アレルギー科  
 大矢 幸弘 国立成育医療センター  
 第1専門診療部アレルギー科医長  
 大谷ゆう子 国立成育医療センター  
 第1専門診療部アレルギー科  
 斎藤 博久 国立成育医療センター  
 免疫アレルギー研究部部長  
 須田 友子 国立成育医療センター  
 第1専門診療部アレルギー科  
 成田 雅美 国立成育医療センター  
 第1専門診療部アレルギー科  
 松本 健治 国立成育医療センター  
 免疫アレルギー研究部室長

ろである。これまでもICS使用により臨床症状の改善した場合の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2つの前方視的観察研究を実施した。

**B. 研究方法**

プロトコル1: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100μg/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75名、女37名)、平均年齢11.6±3.9歳の喘息患者が登録された(表1)。

**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 2008 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鎮静化して症状が改善しているのか、気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鎮静化は一時的なものなのかは議論のあるところ

**対象患者**

総数	112名
男性:女性	75:37
平均年齢	11.6 ± 3.9 歳
重症度	軽症持続型 56 中等症持続型 50 重症持続型 6
喘息発症年齢	3.9 ± 2.7 歳

表1 プロトコル1の対象患者

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)。

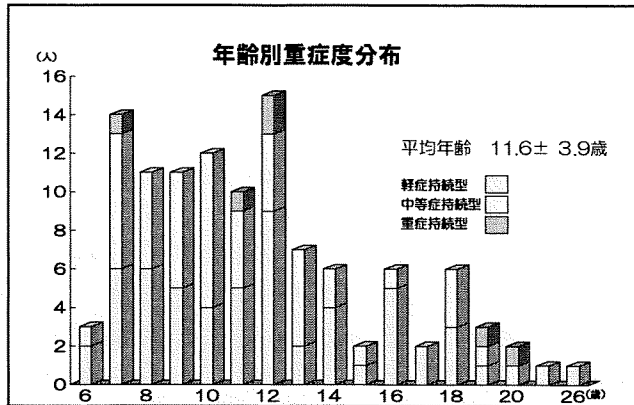


図1 年齢別重症度分布

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、24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。付加的評価項目として、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。

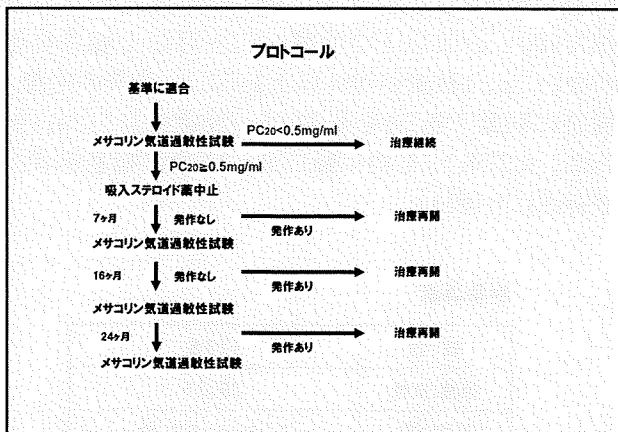


図2 プロトコル1のスケジュール

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(ATS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た群(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)、経過中に患者の意志により中止した脱落群(F)、気道過敏性PC20が0.5mg/ml以上でも患者の意志によりICSを中止しなかった群(G)、気道過敏性PC20が0.5mg/ml未満の群(H)に分類した。

### プロトコル2

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12ヶ月以上喘息発作がないこと、登録時点で6ヶ月以上ICSとしてプロピオン酸フルチカゾン(FP)単独で100μg/日以下で治療していること、1秒量が70%以上ある場合に、ICSを中止して呼吸機能、気道過敏性試験、呼気一酸化窒素濃度、血液検査等を指標に年1回繰り返し5年間経過観察することを計画し、今後の治療、検査に同意することを条件にエントリーした。

### C. 研究結果

#### プロトコル1

##### ①ICS 中止時の気道過敏性

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。

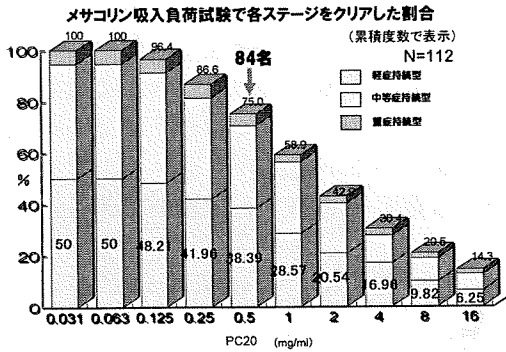


図 4 重症度別の PC20 の別の頻度

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 11 名をのぞいて、74 名が ICS を中止した。

##### ②ICS 中止後 16 ヶ月までの臨床経過

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 32 名 (50%:脱落群 F を除く)、間欠型 (C) までで維持できたのが 56 名 (87.5%) であった (図 5)。

#### 中止後 16 ヶ月までの経過

基準に適合 112名  
メサコリン気道過敏性試験 PC20<0.5mg/ml 治療継続 27名  
PC20≥0.5mg/ml 85名 治療継続 11名  
吸入ステロイド薬中止74名

74名		
A	全く発作なし	32
B	予期せぬ抗原曝露等で発作	22
C	間欠型	2
D	間欠型でEIAが起こりやすい	2
E	軽症持続型以上	6
F	脱落者	10

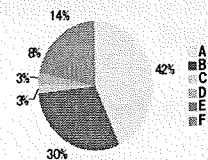


図 5 ICS 中止 16 ヶ月までの臨床症状の推移

##### ③ICS 中止後 24 ヶ月までの臨床経過

24 ヶ月まで経過の追えている 74 例について判定すると、全く発作なし (A) が 32 名 (50.8%:脱落

群 F を除く)、間欠型 (C) までで維持できたのが 51 名 (81.0%) であった (図 6)。

#### 中止後 24 ヶ月までの経過

基準に適合 112名  
メサコリン気道過敏性試験 PC20<0.5mg/ml 治療継続 27名  
PC20≥0.5mg/ml 85名 治療継続 11名  
吸入ステロイド薬中止74名

74名		
A	全く発作なし	32
B	予期せぬ抗原曝露等で発作	17
C	間欠型	2
D	間欠型でEIAが起こりやすい	3
E	軽症持続型以上	9
F	脱落者	11

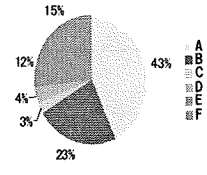


図 6 ICS 中止後 24 ヶ月まで野臨床症状の推移

前年度に脱落例として扱っていた症例に関して、今年度にかけて調査が終了した症例を加えて再検討を行った。24 ヶ月までフォローできた 74 例のうち、脱落した 11 例を除いて分析すると軽症持続型までを維持しているのは 16 ヶ月のときより減少し 86.7%であった。

##### ④各群間の比較

24 ヶ月後の経過により A~H 群まで分類し、性別、年齢、発症年齢、重症度、吸入ステロイド薬使用日数、無発作期間、血清総 IgE 抗体、ハウスダスト特異的 IgE 抗体、末梢血好酸球数を各群間で比較した。ICS 使用期間は、ABC 群が DE 群に比較して優位に長かった。血清 IgE 抗体は、A 群が H 群より少なかった。末梢血好酸球数は、A 群が EH 群に比べて少なかった。ICS 中止時メサコリン気道過敏性試験の値である PC20 は、AB 群が CDE 群に比べ高かった。

##### ⑤ICS 中止後の気道過敏性の変化

観察期間 24 ヶ月間全く発作がなかった A 群の気道過敏性 PC20 の変化を図 7 に示した。中止時から 7 ヶ月にかけて過敏性は優位な差をもって一時的に亢進し、16 ヶ月の時点で再び改善した。

#### 発作無群の吸入ステロイド薬中止後の気道過敏性の変化

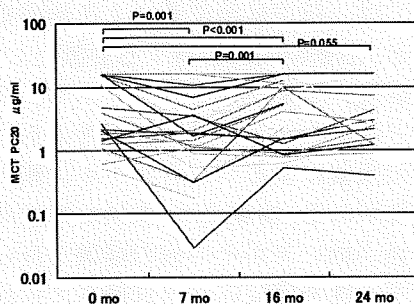


図7 無発作A群の気道過敏性の変化  
BC群の気道過敏性の変化を図8に示した。ICS中止後にA群と同様に亢進し、7ヶ月後に一時回復するがその程度は少なく、その後の改善もA群に比較して少なかった。

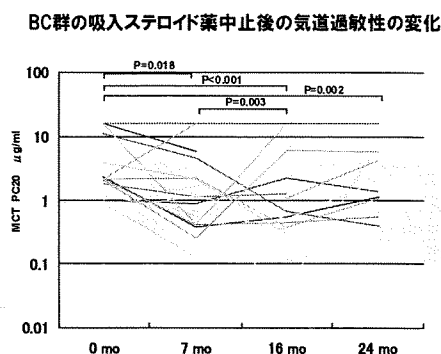


図8 BC群の気道過敏性の変化

#### プロトコル2

2009年10月までに30例エントリーし、9例がICS中止で脱落(症状あり5例、社会的事情4例)、21例がMCT実施後ICSを中止し、3ヶ月以上経過し9例が症状があり脱落した。

#### D. 考察

気管支喘息の治療薬が進歩し、症状の完全コントロールが出来るようになってきた。ある程度以上の症状のコントロールが出来た場合には、治療のステップダウンの可能性がある。

これは小児気管支喘息ではこれまでも寛解、治癒する症例があることが報告されていることから十分可能性のあることである。

しかし、これまで抗炎症治療薬のステップダウンの指標がなかったため本研究では、十分なコントロール後にICSを中止した後の経過を前方視的に評価している。プロトコル1では、完全コントロール後に、気道過敏性がある一定値以下であればICSを中止してもその後2年間は完全コントロールを維持することができることがわかった。この条件としては、抗炎症治療薬による治療期間が十分長いこと、治療期間に影響する要因としては、経過中の重症度、服薬コンプライアンス、アドヒアランスなどが関わってくることが考えられるので、抗炎症治療薬によるコントロール状態を長く維持する必要がある。検査では、末梢血好酸球数、血清総IgE値が低い方がその後の経過が良いことからアレルギー性炎症反応が十分押さえられてい

る必要があると考えられる。

プロトコル2では、気道過敏性にかかわらず、症状が完全コントロールされた場合での経過を観察している。

現在まで30例のエントリーがあり、21例が検査後ICSを中止しているが43%が3ヶ月で再発している。今後もプロトコル1より多くの再発が予想されるが、これが気道過敏性の違いによるものなのかを症例を増やして検討する必要がある。

本研究は、いずれも比較研究ではないため、抗炎症治療を実施の有無、治療の程度による差は見いだすことはできない。今後もそうした臨床試験の実施は困難であるが完全コントロールを目標にした場合の治癒率を予測することができると考える。

#### E. 結論

小児気管支喘息治療管理ガイドラインでは、症状の完全コントロールを目標にして治療をおこなっているが、コントロール後の治療薬減量の指標を見いだしていく必要がある。こうした研究は長期的なフォローが必要であるので適切なプロトコルで順次進めていく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 赤澤 晃、須田友子、明石真幸、成田雅美、大矢幸弘、萬木暁美、渡辺博子、熊木みゆき、松本健治、斎藤博久：小児気管支喘息治療における吸入ステロイド薬中止後の臨床経過の前方視的研究. アレルギー. 58 : 1407 - 1417 (2009)

#### 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

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  $\beta_2$  刺激薬を使用する機会は依然として多い。そこで  $\beta_2$  刺激薬であるプロカテロールの薬物相互作用に関連する代謝酵素である CYP3A4 と UGT1A1 の遺伝子多型と、作用を司る ADRB2 の遺伝子多型について、プロカテロールの代謝諸指標および生理作用との関連を検討した。対象は 20 歳以上の非喫煙学生ボランティア 93 名（49 名は 420 分まで観察し薬物代謝諸指標を算出）、プロカテロールを  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  体重の用量で、但し上限量を  $50 \mu\text{g}$  として内服させた。内服後、経時的に血中プロカテロール濃度、生理的諸指標を測定観察した。遺伝子多型に関して CYP3A4 については rs2246709 と rs4646437 を、UGT1A1 については、イリノテカン代謝との関連が証明されている UGT1A1\*28 と UGT1A1\*6 を、また頻度の多い tag SNP として rs12479045、rs4148328、rs4148329、rs4663971 rs12052787 を、ADRB2 については Arg16→Gly (rs1042713) と Gln27→Glu (rs1042714) をタイピングした。すべての遺伝子多型においても薬物代謝諸指標と相関を示すものは認めなかったが、主要な代謝酵素と考えられる UGT1A1 の個々の多型では血圧や手指震せん、血清カリウム値の変動などの生理的指標と相関し、本酵素がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の一部を担っている可能性が示された。一方 CYP3A4、ADRB2 はプロカテロール内服後の生理的指標と相関を示さなかった。調査した二つの SNP が機能的変異であることに関してやや疑念を感じさせる結果となった。以上より、UGT1A1 の遺伝子多型がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の主体である可能性が示唆された。

### A. 研究目的

成人喘息患者に対する長期管理の主薬は言うまでもなく吸入ステロイドである。しかし、吸入ステロイドの用量・効果相関はあまり明確ではなく、一定の吸入ステロイド使用によっても症状のコントロールが不良な患者では、吸入ステロイドを倍増するより他の薬剤を加えた方がより良いコントロールが得られることが証明されている。その中でもっとも強い効果を示すのは  $\beta_2$  刺激薬である。

$\beta_2$  刺激薬の作用は  $\beta_2$  アドレナリン受容体 (ADRB2) を介するが、その遺伝子には多数の一塩基多型 (SNP) があり、初期に見出されたいくつかの多型は  $\beta_2$  刺激薬による受容体の発現低下と相関していた。それを前提に多くの研究が過去に発表されているが、その結果は必ずしも一定していない。その理由として研究が喘息患者を対象としており、他の抗喘息薬の影響を完全に除外しているわけではない点などがある。そこで本研究では、純粋に薬物の影響が代謝や反応性の遺伝的個体差に基づくか否かを健常者で検討することを目的とした。

$\beta_2$  刺激薬であるプロカテロールの肝代謝に関与する CYP3A4 とプロカテロールをグルクロン酸

抱合する酵素である UGT1A1 の遺伝子多型と、プロカテロールの作用を司る ADRB2 の遺伝子多型について、プロカテロールの代謝諸指標および生理作用との関連を検討した。

### B. 研究方法

対象は 20 歳以上の非喫煙学生ボランティア 93 名（男 53 名、女 40 名、年齢中央値 23 歳 [20-33]）である。プロカテロール（メプチン顆粒®、プロカテロール  $1 \mu\text{g}/10 \text{mg}$  顆粒）を  $10 \text{mg}/\text{kg}$  体重の用量で、但し上限量を  $500 \text{mg}$  として、コップ 1 杯の水で、12 時間以上の絶食後、朝 9 時頃に内服させた。内服後、経時的（60 分、120 分、180 分、240 分）に血中プロカテロール濃度を測定した。49 名（男 20 名、女 29 名、年齢中央値 23 歳 [20-33]）については 420 分後まで採血し、半減期や AUC (0→t)、クリアランスなどの薬物代謝指標を算出した。内服前と内服後 60 分には呼吸機能を測定した。また内服前と内服後各採血時点の血圧、脈拍を測定するとともに、動悸、手指の震せんなどの副作用の有無を記録した。血清プロカテロール濃度は、HPLC 法により東レリサーチセンター（鎌倉市）に



て測定した。

遺伝子多型に関して代謝酵素の一つである CYP3A4 については ARMS 法により日本人の tag SNP である rs2246709 と rs4646437 を、ADRB2 については TaqMan probe<sup>®</sup> を用いて Arg16 → Gly (rs1042713) と Gln27 → Glu (rs1042714) をタイピングした。また UGT1A1 の多型のうち、イリノテカン代謝との関連が証明されている UGT1A1\*28 を直接シーケンス法により、また UGT1A1\*6 と tag SNP である rs12479045、rs4148328、rs4663971、rs12052787 を ARMS 法により、そして、rs4148329 は TaqMan probe<sup>®</sup> を用いてタイピングした。SNP によって分類した各測定値の差は、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。出現頻度の差は  $\chi^2$  検定で評価した。

#### (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

プロカテロール内服後の血清プロカテロール濃度中央値は、240 分までの対象では 1 時間後が 93 pg/ml、2 時間後 84 pg/ml、4 時間後 67 pg/ml、420 分までの対象では 1 時間後が 131 pg/ml、2 時間後 125 pg/ml、4 時間後 78.8 pg/ml、7 時間後 43.7 pg/ml と推移した。(図 1)。

UGT1A1 \*28 については内服 1 時間後のカリウムと内服前値の差 ( $P=0.01$ ) また内服 2 時間後のカリウムと内服前値の差 ( $P=0.02$ ) で有意な相関を認めた。血清カリウム値の変動はその時の血清プロカテロール濃度と相関していた (1 時間の  $r=-0.580$ 、 $p<0.0001$ 、図 2 ; 2 時間の  $r=0.501$ 、 $p<0.0001$ )。そこでプロカテロール濃度を制御変数として、血清カリウム変動値と UGT1A1 \*28 との偏相関係数を求めたところ、1 時間と 2 時間において有意な値が得られ、UGT1A1 \*28 が独立して血清カリウム値に影響することが明らかとなった (1 時間で  $r=-0.292$ 、 $p=0.006$  ; 2 時間で  $r=-0.321$ 、 $p=0.002$ )。UGT1A1\*6 については内服 2 時間後の血圧と内服前値の差 ( $P=0.02$ ) で有意な相関を認めた。rs4148328 については内服 3 時間後の procaterol 濃度 ( $P=0.04$ ) と有意な相関を認めた。

rs4663971 については内服 1 時間後の FEV1 と内服前値の差 ( $P=0.03$ ) と有意な相関を認めた。rs12052787 については内服 2 時間後の手指震顫 ( $P=0.01$ )、内服 3 時間後の手指震顫 ( $P=0.02$ ) と有意な相関を認めた (図 3)。

どの SNP も薬物代謝諸指標で有意な相関は認めなかった。

ADRB2 と CYP3A4 の遺伝子多型は、プロカテロールのいかなる薬物代謝指標や生理的指標の変動値とも相関を示さなかった。

### D. 考察

健常対象者 93 名で UGT1A1、CYP3A4、ADRB2 の遺伝子多型とプロカテロールの生理作用の関連、またそのうち 49 名では薬物代謝指標の関連を検討した。その結果、薬物代謝諸指標では有意な相関は認めなかったが、UGT1A1 遺伝子多型は血圧や手指震顫などの生理的指標と相関し、本酵素がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の主体である可能性が示された。一方で CYP3A4、ADRB2 はプロカテロール内服後の生理的指標と相関を示さなかった。調査した二つの SNP が機能的変異であることに関して疑念を感じさせる結果となった。

### E. 結論

UGT1A1 遺伝子多型がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の主体である可能性が示唆された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

1. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨時大会

### 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

図1 プロカテロール内服後の濃度推移

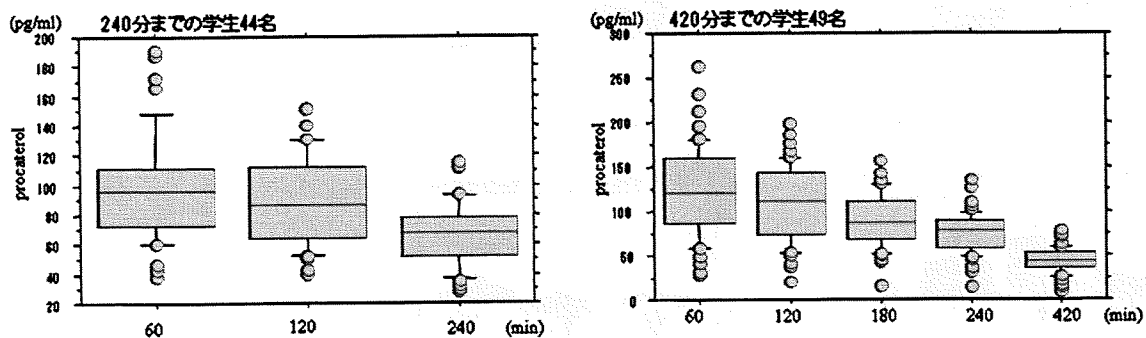


図2. 内服1時間後の血清プロカテロール濃度と、血清K+濃度の前値からの変動

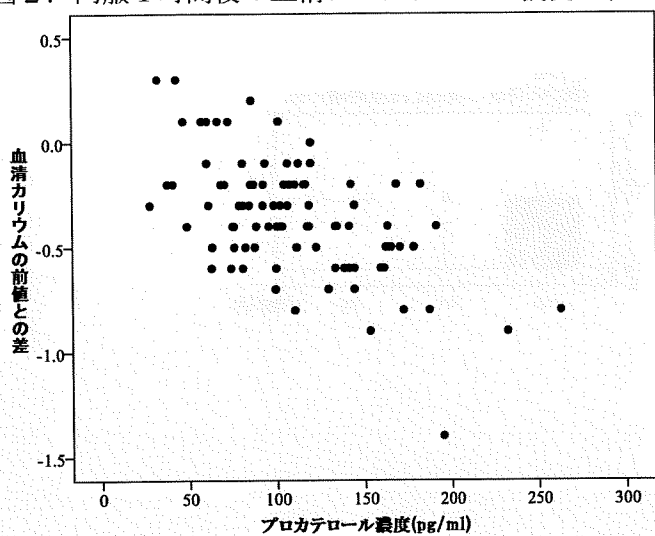
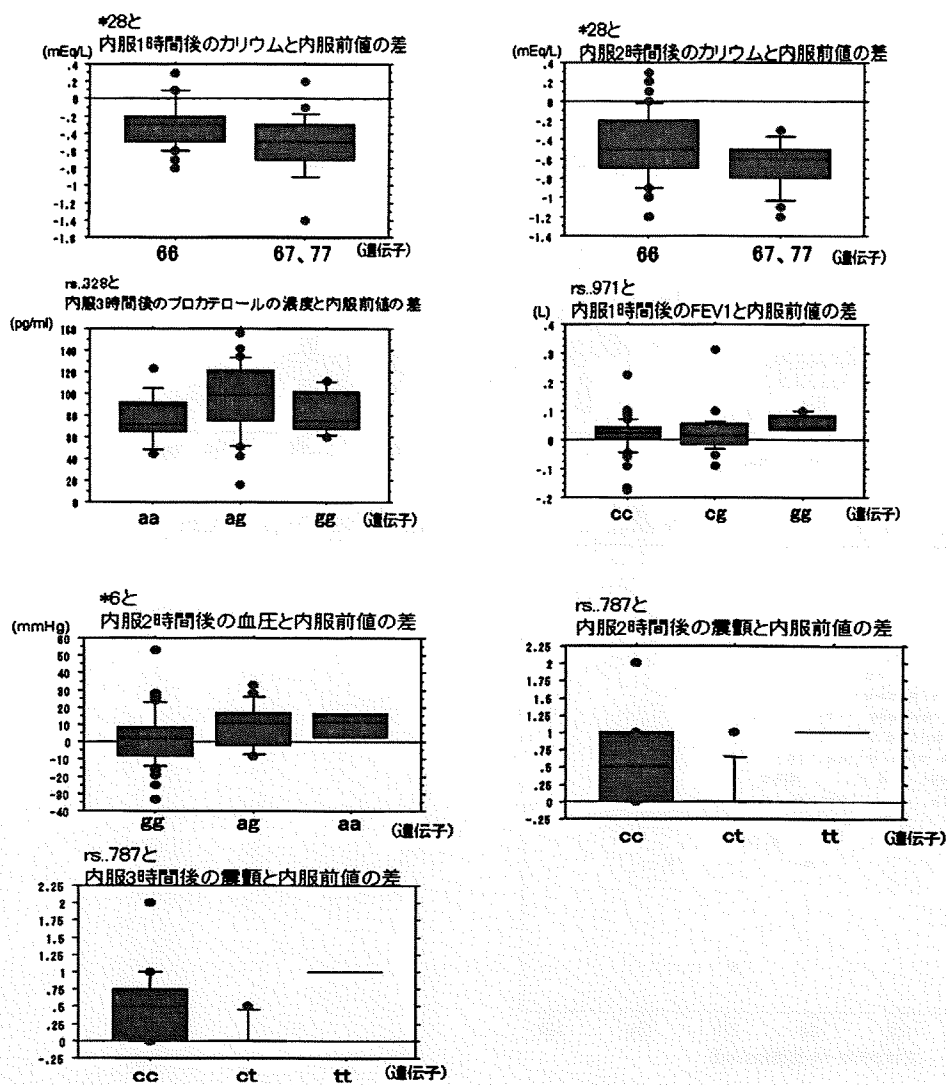


図3. 有意な相関を認めた UGT1A1 の多型と諸指標

(\*28, UGT1A1\*28 ; rs328, rs4148328 : rs971, rs4663971 ; \*6, UGT1A1\*6 ; rs787, rs12052787)



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

アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化  
分担課題名：アレルギー疾患における炎症マーカーと基礎疾患を有する患者の喘息診断について

分担研究者 森川 昭廣 社会福祉法人希望の家附属 北関東アレルギー研究所 所長

### 研究要旨

アレルギー疾患のテーラーメイド治療を行うためには種々の患者情報と薬物を始めとする治療への反応性を検討する必要がある。我々は症状を始め種々の患者情報に加えて、気道炎症のマーカーである呼気 NO (e-NO) ならびに呼気凝集液 (EBC) 中のサイトカイン等の測定をこころみた。その結果、e-NO については On-line 法と Off-line 法を一致させるための条件が明らかとなった。さらに喘息患者では高値を示し、また、治療により e-NO が減少することが判明した。一方、EBC については測定可能な物質と測定感度以下の物質があり、今後さらに薬物の反応性とこれらの指標の関連について検討の必要であることが判明した。

一方、疾患を有する患児（者）については時に、気管支喘息の診断が困難な場合がある。例えば、重症心身障害児（者）の気管支喘息を始めとするアレルギー性疾患の診断ならびに疫学的調査は行われていない。我々は入院中の重症心身障害児（者）について疫学的事項について調査を行うとともに、IgE、RAST、各種サイトカイン・ケモカインについて検討を行った。その結果、検査しえた 66 名中喘鳴のある者は 14 名、咳嗽のあるものは 10 名、陥没呼吸を呈する者 2 名であった。β2 刺激薬への反応は殆ど全例で効果があった。合併症として水様性鼻漏が 5 例にみられた。IgE のカットオフ値を 170IU/ml と定めると、12 例中 4 例が高値を示した。これらの患者で RAST (ダニ、スギ) 陽性 (+2 以上) の者は 3 例ずつであった。その他の Th1、Th2 サイトカインについては喘鳴群、非喘鳴群で有意差はなかった。

### 研究協力者

荒川 浩一	群馬大学大学院医学系研究科 小児科学教授
望月 博之	東海大学医学部専門診療学系 小児科学教授
村松 礼子	群馬大学大学院医学系研究科 小児科学
町田 裕一	社会福祉法人希望の家 療育病院院長
田中 宏子	社会福祉法人希望の家 療育病院診療部長

れる気道炎症の因子のうち、近年、気管支喘息において注目されている、呼気 NO (e-NO) や呼気凝集液中のサイトカインに注目した。しかし、その測定方法は必ずしも確立されておらず、的確な患者情報としては十分には利用しえない。そこで、今回これらの標準的測定方法の確立や薬物に対する反応性について検討した。

一方で、気管支喘息の病態が解明され、その治療も確立したが、その診断には特に乳幼児では苦慮することが多い。また喘鳴の多い疾患の患者では喘息の診断で困難なことが多い。特に重症心身障害児（者）では喘鳴や陥没呼吸、咳嗽が多く、また気道過敏性の測定などは困難であり、正確な診断が求められていた。しかし、その頻度調査や喘息診断基準については検討されていない。そこで、重症心身障害児（者）についてその診断基準作成のために症状、病歴、免疫学的検査を行った。

### (倫理面への配慮)

被験者ならびに患者の保護者には事前に検査の内容、意義等について説明し、自由参加であることを述べ、承諾を得た。

### A. 研究目的

気管支喘息を始めとするアレルギー性疾患は multi factorical な疾患であり、個体によって薬物の反応性も異なる。またその治療は長期にわたり副作用の少ない、かつ個体の薬物への反応性に沿った治療が求められる。さらに、アレルギー性疾患を有する患者の状態についての考慮も必要とされる。

すでに種々の疾患で個体の特性にあった治療、すなわちテーラーメイド治療が行われている。しかし、アレルギー疾患については十分な検討が行われていない。我々は患者から得られる種々の情報のうち、テーラーメイド医療に役立つと考えら