

- 4) Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Itakura S, Kamitani S, Kato J, Nagase T. Clarithromycin inhibits fibroblast migration. *Respir Med* 2008; 12: 1769-1776.
- 5) Mitani A, Nagase T, Fukuchi K, Aburatani H, Makita R, Kurihara H. Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif is essential for normal alveolarization in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 326-338.
- 6) Saito RA, Watabe T, Horiguchi K, Kohyama T, Saitoh M, Nagase T, Miyazono K. Thyroid transcription factor-1 inhibits transforming growth factor-beta-mediated epithelial-to-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2009; 69: 2783-2791.
- 7) Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Itakura S, Kamitani S, Desaki M, Kawasaki S, Nagase T. Procatenol inhibits lung fibroblast migration. *Inflammation* 2009; 32: 387-392.
- 8) Nakajima T, Kubota N, Tsutsumi T, Oguri A, Imuta H, Jo T, Oonuma H, Soma M, Meguro K, Takano H, Nagase T, Nagata T. Eicosapentaenoic acid inhibits voltage-gated sodium channels and invasiveness in prostate cancer cells. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 420-431.
- 9) Kikuchi K, Kohyama T, Yamauchi Y, Kato J, Takami K, Okazaki H, Desaki M, Nagase T, Rennard SI, Takizawa H. C-reactive protein modulates human lung fibroblast migration. *Exp Lung Res* 2009; 35: 48-58.
- 10) Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Kamitani S, Kawasaki S, Nagase T. Histamine stimulates human lung fibroblast migration. *Mol Cell Biochem* 2010; 337: 77-81.
- 11) Yamauchi Y, Kohyama T, Takizawa H, Kamitani S, Desaki M, Takami K, Kawasaki S, Kato J, Nagase T. Tumor necrosis factor-alpha enhances both epithelial-mesenchymal transition and cell contraction induced in A549 human alveolar epithelial cells by transforming growth factor-beta1. *Exp Lung Res* 2010; 36: 12-24.
- 12) Narumoto O, Horiguchi K, Horiguchi S, Moriwaki Y, Takano-Ohmuro H, Shoji S, Misawa H, Yamashita N, Nagase T, Kawashima K, Yamashita N. Down-regulation of secreted lymphocyte antigen-6/urokinase-type plasminogen activator receptor-related peptide-1 (slurp-1), an endogenous allosteric alpha7 nicotinic acetylcholine receptor modulator, in murine and human asthmatic conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398: 713-8.
- 13) Ihara Y, Kihara Y, Hamano F, Yanagida K, Morishita Y, Kunita A, Yamori T, Fukayama M, Aburatani H, Shimizu T, Ishii S. The G protein-coupled receptor T-cell

death-associated gene 8 TDAG8 facilitates tumor development by serving as an extracellular pH sensor. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 17309-14.

14) Sumida H, Noguchi K, Kihara Y, Abe M, Yanagida K, Hamano F, Sato S, Tamaki K, Morishita Y, Kano M R, Iwata C, Miyazono K, Sakimura K, Shimizu T, Ishii S. LPA4 regulates blood and lymphatic vessel formation during mouse embryogenesis. Blood 2010 in press.

## 2. 学会発表

特になし

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

（出願準備中 1件）

発明者：栗原裕基、大内尉義、長瀬隆英、

山口泰弘

発明の名称：筋ジストロフィー症の病態モデル哺乳動物、及びその製造方法

### 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

アスピリン喘息と NSAIDs 蕁麻疹/血管浮腫における遺伝的背景（遺伝子多型の検索）

研究分担者 玉利真由美 理化学研究所ゲノム医科学研究センター チームリーダー  
研究協力者 広田朝光 理化学研究所ゲノム医科学研究センター リサーチアソシエイト

研究要旨：

本研究は遺伝子多型解析を用いてアスピリン喘息と NSAID s 蕁麻疹/血管浮腫関連遺伝子群を同定し、病態の科学的な解明を通してより良い予防法、治療法を確立することを目的とする。我々は inflammasome の構成分子である NLRP3 遺伝子多型 (rs4612666) と成人アスピリン喘息との関連を見いだした。さらに成人気管支喘息 1500 症例のゲノムワイド関連解析 (GWAS) のサブ解析として、アスピリン喘息の有無についての検討を行なった。1 次解析 (GWAS) において P value<0.0001 を満たす 72SNPs を同定し、現在 2 次解析を行なっている。

**A. 研究目的**

アスピリン喘息は NSAID の投与に起因する全身性の急性アレルギー症状の一つである。遺伝子多型の情報基盤の整備や高速大量タイピング法の確立など近年のゲノム解析技術の進歩は目覚ましく、候補遺伝子解析やゲノムワイド関連解析 (GWAS; Genome-wide association study) により様々な疾患において遺伝要因の解明が急速に進んでいる。本研究では、アスピリン喘息の遺伝要因の探索を目的とし、NLRP3 遺伝子多型とアスピリン喘息発症との関連を検討し、成人気管支喘息 1500 症例を用いた GWAS のサブ解析として、アスピリン喘息の有無についての検討を行なった。

**B. 研究方法**

アスピリン喘息症例は少なくとも 2 回以上の非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による喘息発作の既往のある症例とした。NLRP3 遺伝子については HapMap database により抽出した 15 個

の TagSNP を用い、TaqMan 法を用いてタイピングを行なった。

GWAS は 153 例を疾患群 (AIA+BA) とし、コントロールは NSAID による喘息発作の既往のない 940 例の気管支喘息患者 (AIA-BA)、および気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の既往のない 730 人 (control) をコントロールとした。遺伝子型タイピングは、Illumina HumanHap610K\_Quad (=約 60 万 SNPs を解析) を用いて実施した。集団の構造化についての検討 (PCA 解析) を行い、2 例の outlier を除去し、GWAS を行なった。

**(倫理面への配慮)**

本研究は三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して行い、当該実施機関の倫理委員会の承認を受けたうえで研究を行っている。

### C. 研究結果

NLRP3 遺伝子の intron 7 に存在する SNP rs4612666 とアスピリン喘息発症との間に有意な関連が認められた ( $P=0.018$ ,  $OR=1.55$ ,  $95\%CI$  1.08-2.24, AIA+BA vs. AIA-BA;  $P=0.0096$ ,  $OR=1.60$ ,  $95\%CI$  1.12-2.29, AIA+BA vs. control)。THP-1 を用いた Luciferase assay の結果、関連を示した rs4612666 のリスクアレルは NLRP3 遺伝子の mRNA の転写活性を増強する方向に作用していた。EMSA (Electrophoretic mobility shift assays) においてリスクアレルを含む領域に何らかの核タンパクの結合が認められた。

GWAS は Cochrane-Armitage trend test を行い、 $P$  value  $<0.0001$  の SNP、72 個を抽出した。最も強い関連を示した SNP は Protein arginine N-methyltransferase 6 (PRMT6) 遺伝子上にある rs9887893 であった ( $P=2.53 \times 10^{-8}$ )。現在、独立に収集されたアスピリン喘息 91 例と非アスピリン喘息 1109 例について 2 次解析を行なっている。

### D. 考察

NLRP3 遺伝子多型はその発現量に影響を与え、より強い inflammasome の活性化を通してアスピリン喘息発症に関与する可能性が示唆された。さらにこの遺伝子多型は食物アナフィラキシーの発症とも強い関連を認めており (リスクアレルも一致)、NLRP3 inflammasome の活性化はこれら重篤な即時型全身性アレルギー反応に関与する可能性が考えられた。GWAS に関しては、現在、replication study を行なっているが、今後、他の人種においても AIA

喘息集団による関連の検証が望ましい。現在、韓国との共同研究を予定している。

### E. 結論

NLRP3 の遺伝子多型 rs4612666 とアスピリン喘息発症との間に強い関連を認めた。(JACI 2009;124(4):779-85)。GWAS を用いてアスピリン喘息の関連解析を行なった。1 次解析は終了し、現在、日本人の第 2 集団において 2 次解析が進行中である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Wakahara K, Tanaka H, Takahashi G, Tamari M, Nasu R, Toyohara T, Takano H, Saito S, Inagaki N, Shimokata K, Nagai H. Repeated instillations of Dermatophagoides farinae into the airways can induce Th2-dependent airway hyperresponsiveness, eosinophilia and remodeling in mice Effect of intratracheal treatment of fluticasone propionate. Eur J Pharmacol. 2008;578: 87-96.

2) Hirota T, Harada M, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Noguchi E, Saito H, Nakamura Y, Tamari M. Genetic polymorphism regulating

- ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 769-770.
- 3) Hirose I, Tanaka H, Takahashi G, Wakahara K, Tamari M, Sakamoto T, Kojima S, Inagaki N, Nagai H. Immunomodulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides on house dust mite-induced airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;147:6-16.
- 4) Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, Suzuki Y, Tamari M, Otsuka F, Fujieda S, Arinami T, Noguchi E. Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and case-control study. *J Hum Genet.* 2008;53:615-21.
- 5) Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Shimojo N, Hasegawa K, Hirota T, Doi S, Kameda M, Miyatake A, Kohno Y, Okamoto Y, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Association study of the C3 gene with adult and childhood asthma. *J Hum Genet.* 2008;53:728-38.
- 6) Sakashita M, Yoshimoto T, Hirota T, Harada M, Ohkubo K, Osawa Y, Fujieda S, Nakamura Y, Yasuda K, Nakanishi K, Tamari M. Association of serum IL-33 level and the IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1875-1881.
- 7) Matsumoto K, Tamari M, Saito H. Involvement of eosinophils in the onset of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 26-27.
- 8) Imada Y, Fujimoto M, Hirata K, Hirota T, Suzuki Y, Saito H, Matsumoto K, Akazawa A, Katsunuma T, Yoshihara S, Ebisawa M, Shibasaki M, Arinami T, Tamari M, Noguchi E. Large scale genotyping study for asthma in the Japanese population. *BMC Res Notes.* 2009;2:54.
- 9) Tamari M, Harada M, Hirota T, Nakamura Y. Host defense molecular mechanisms against *Chlamydomonas pneumoniae* and genetic studies of immune-response-related genes in asthma. *Recent Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2009;3:17-35
- 10) Harada M, Hirota T, Jodo AI, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Yoshihara S, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. Functional analysis of the polymorphisms of the TSLP gene in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;40:368-74
- 11) Shimokawa N, Nishiyama C, Hirota T, Tamari M, Hara M, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. Functional analysis of a polymorphism in the promoter region of the IL-12/23p40 gene. *Clin Exp Allergy* 2009;39:228-235

- 12) Otsuka K, Takeshita S, Enomoto H, Takahashi T, Hirota T, Tamari M, Ebe K, Otsuka F, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E. SMAD3 as an atopic dermatitis susceptibility gene in the Japanese population. *J Dermatol Sci.* 2009;55:200-2.
- 13) Kawai T, Takeshita S, Imoto Y, Matsumoto Y, Sakashita M, Suzuki D, Shibasaki M, Tamari M, Hirota T, Arinami T, Fujieda S, Noguchi E. Associations between decay-accelerating factor polymorphisms and allergic respiratory diseases. *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1508-14.
- 14) Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, Imai T, Komata T, Hirota T, Harada M, Sakashita M, Suzuki Y, Shimojo N, Kohno Y, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Nakamura Y, Tamari M. Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:779-85.
- 15) Sakashita M, Hirota T, Harada M, Nakamichia R, Tsunoda T, Osawa Y, Kojima A, Okamoto M, Suzuki D, Kubo S, Imoto Y, Nakamura Y, Tamari M, Fujieda S. Prevalence of Allergic Rhinitis and Sensitization to Common Aeroallergens in a Japanese Population *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;151:255-261
- 16) Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, Imai T, Komata T, Hirota T, Harada M, Sakashita M, Suzuki Y, Shimojo N, Kohno Y, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Nakamura Y, Tamari M. Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma *J Allergy Clin Immunol.* 2009 ; 124:779-85.
- 17) Harada M, Obara K, Hirota T, Yoshimoto T, Hitomi Y, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Fukutomi Y, Nakanishi K, Nakamura Y, Tamari M. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180:1048-55.
- 18) Isada A, Konno S, Hizawa N, Tamari M, Hirota T, Harada M, Maeda Y, Hattori T, Takahashi A, Nishimura M. A functional polymorphism (-603A --> G) in the tissue factor gene promoter is associated with adult-onset asthma. *J Hum Genet.* 2010;55:167-74.
- 19) Imoto Y, Enomoto H, Fujieda S, Okamoto M, Sakashita M, Suzuki D, Okada M, Hirota T, Tamari M, Ebe K, Arinami T, Noguchi E. S2554X mutation in the filaggrin gene is associated with allergen sensitization in the Japanese population. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:498-500.

- 20) Undarmaa S, Mashimo Y, Hattori S, Shimojo N, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Kohno Y, Okamoto Y, Hirota T, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Replication of genetic association studies in asthma and related phenotypes. *J Hum Genet.* 2010;55:342-9.
- 21) Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. TSLP promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010 in press.
- 日本語総説
- 22) 玉利真由美: ゲノム医学の進歩とアレルギー疾患の解明. *アレルギー免疫*, 15:881-883, 2008.
- 23) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: アレルギー疾患関連遺伝子の全ゲノム解析. *最新医学*, 64:894-898, 2009
- 24) 人見祐基、原田通成、広田朝光、玉利真由美: 成人喘息の関連遺伝子. *アレルギーの臨床*, 29:216-220, 2009
- 25) 広田朝光、原田通成、人見祐基、坂下雅文、玉利真由美: 日本人における気管支喘息関連遺伝子. *呼吸*, 28:603-608, 2009
- 26) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 気管支喘息の病態と自然免疫関連遺伝子. *アレルギー*. 58:766-771, 2009
- 27) 原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美: 小児気管支喘息と遺伝子多型. *喘息*. 22:154-158, 2009
- 28) 原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美: アレルギーの遺伝要因. *実験医学* 羊土社 (2009年 増刊 27巻20号3360-3371)
- 29) 原田通成、広田朝光、玉利真由美: 気管支喘息と自然免疫関連遺伝子. *感染炎症免疫* (2009年 in press)
- 30) 原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美: 遺伝子多型とアレルギー疾患. *アレルギーの臨床* 30:164-167, 2010
- 31) 玉利真由美、広田朝光: 基礎医学とのダイアログ、SNP解析を用いた稀少疾患の解明. *THE LUNG perspectives* 18:164-168, 2010
- 32) 玉利真由美、広田朝光: Topic/Science、慢性好酸球性肺炎の病態研究の現況. *ヒューマンサイエンス誌* 31:18-21, 2010
- 33) 玉利真由美、広田朝光: 呼吸器疾患感受性-遺伝的背景- 気管支喘息. *日本胸部臨床* 69:687-694, 2010
- 34) 広田朝光、富田かおり、玉利真由美: 特集:

アレルギー疾患に対するオーダーメイド医療、  
I. アレルギー疾患の遺伝子と遺伝学. アレルギー・免疫 17:1652-1660, 2010

35) 玉利 真由美、富田かおり、広田 朝光:  
III. 診断の進歩、ゲノムワイド関連解析と呼吸器多因子疾患. Annual Review 呼吸器 2011 140-146

## 2. 学会発表

1) Harada M, Hirota T, Jodo AI, Ziegler SF, Tamari M. : (1) Functional SNP in Promoter of TSLP Gene Is Associated with Susceptibility to Childhood Atopic Asthma. ATS 2008 The American Thoracic Society's International Conference, Poster Discussion Session, [C101] GENETIC ASSOCIATION AND NOVEL POLYMORPHISMS IN CHILDHOOD AND ADULT OBSTRUCTIVE LUNG DISEASES. 2008年3月 Metro Toronto Convention Centre

2) Tamari M, Harada M, Hirota T, Miyatake A, Fujita K, Nakanishi K, Yoshimoto T, Nakamura Y. : (2) Polymorphisms in the IL-18 Gene Are Associated with Severity of Adult Asthma. ATS 2008 The American Thoracic Society's International Conference, Poster Discussion Session, [C101] GENETIC ASSOCIATION AND NOVEL POLYMORPHISMS IN CHILDHOOD AND ADULT OBSTRUCTIVE LUNG DISEASES. 2008年3月 Metro Toronto Convention Centre

3) 玉利真由美、広田朝光、原田通成：特別講

演 アレルギー疾患と感染症. 中国地区上気道アレルギー研究会 2008年2月 リーガロイヤルホテル広島

4) 玉利真由美、広田朝光、原田通成：アレルギー関連遺伝子研究と創薬. 日本アレルギー協会 アレルギー研修会2008トピックス 2008年3月 市ヶ谷私学会館

5) 原田通成、広田朝光、玉利真由美：(1) シンポジウム3 ウイルス感染とアレルギー TSLP遺伝子多型とウイルス感染による気管支喘息発症への関与機構. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 2008年6月

6) 玉利真由美、原田通成、広田朝光：(2) シンポジウム9 アレルギー疾患の遺伝子と分子生物学 遺伝子多型を用いた病態解析(気管支喘息を中心に). 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 2008年6月

7) 玉利真由美、原田通成、広田朝光：遺伝子多型 - 最近の話題. 第8回喘息 Early Intervention研究会 2008年6月 東京ドームホテル

8) 玉利真由美、原田通成、広田朝光：シンポジウム6 自然免疫と臨床疾患 II 成人気管支喘息重症度とIL-18遺伝子多型の相関解析. 第73回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会／第19回日本生体防御学会学術総会／第45回補体シンポジウム 2008年7月 北海道大学学術交流会館

9) 玉利真由美、原田通成、広田朝光：特別講



演 アレルギー体質の研究 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 適切な薬剤選択をめざして. 日本薬学会東海支部 2008年7月 岐阜薬科大学 大学院講義室

10) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 一般演題 24. 多型(多因子病)(1) IL-18遺伝子多型の成人気管支喘息における相関解析. 第53回日本人類遺伝学会 2008年9月 パシフィコ横浜

11) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 感染症と気管支喘息、遺伝素因との関連. 第9回愛宕小児アレルギー研究会 2008年10月 東京慈恵会医科大学

12) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: (1) 教育講演 8 気管支喘息の病態と自然免疫関連遺伝子. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008年11月 東京国際フォーラム

13) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: (2) 特別シンポジウム アレルギー疾患に関連する遺伝子の解明 SS5-4 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008年11月 東京国際フォーラム

14) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 上気道・下気道リレーショナルシップ わかりやすい遺伝子研究の最先端 感染とアレルギーの謎に迫る. 第8回 Kinki Hokuriku Airway disease Conference (KIHAC) 2009年4月 リーガロイヤルホテル大阪

15) 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基: 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析. 独立行政法人理化学研究所「ゲノム医科学研究センター」/文部科学省「オーダーメイド医療実現化プロジェクト」SNPから疾患遺伝子解明へ 2009年4月 品川インターシティーホール

16) 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基: (1) シンポジウム7 アレルギー免疫における分子生物学 分子遺伝学の臨床応用 Translational Research TSLPとアレルギー疾患. 第21回 日本アレルギー学会春季臨床大会 2009年6月岐阜都ホテル

17) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 特別講演 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析. 第8回愛知免疫アレルギーを語る会 2009年7月 ホテルキャッスルプラザ

18) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: 特別講演 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析. 第54回大分耳鼻咽喉科臨床研究会 2009年9月 大分東洋ホテル

19) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: (1) 一般演題 口演 12 免疫遺伝学 OC102 IL-13遺伝子多型と成人気管支喘息発症との関連解析. 日本人類遺伝学会第54回大会 2009年9月高輪プリンスホテル

20) 人見祐基、海老澤元宏、広田朝光、原田通成、鈴木洋一、中村祐輔、玉利真由美: (2) 一般演題 口演 12 免疫遺伝学 C115 Inflammasome形成に関与するNLR family 遺伝

子多型と食物アナフィラキシーとの関連解析.  
日本人類遺伝学会第54回大会 2009年9月高輪  
プリンスホテル

21) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐  
基: 特別講演 遺伝子多型を用いたアレルギー  
疾患の病態解析. 水戸地区耳鼻科医会 2009  
年10月 ホテル テラス ザガーデン水戸

22) Mayumi Tamari, Tomomitsu Hirota,  
Michishige Harada, Yuki Hitomi, Akihiko  
Miyatake, Yoichi Suzuki, and Yusuke  
Nakamura: (1) Poster Board #512 Genetic  
association studies of IL-13 gene in adult  
asthma in Japanese populations. The 59th  
Annual Meeting of The American Society of  
Human Genetics 2009年10月 The Hawaii  
Convention Center,

23) Yuki Hitomi, Motohiro Ebisawa,  
Tomomitsu Hirota, Michishige Harada, Yoichi  
Suzuki, Yusuke Nakamura, Mayumi Tamari: (2)  
Poster Board #518 Associations of  
functional polymorphisms in NLR genes with  
susceptibility to food-induced anaphylaxis.  
The 59th Annual Meeting of The American  
Society of Human Genetics 2009年10月 The  
Hawaii Convention Center,

24) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐  
基: (1) Poster教育セミナー10 ウイルス感染  
による喘息増悪の機序とSFCの作用 遺伝子研  
究の立場から. 第59回日本アレルギー学会秋  
季学術大会 2009年10月秋田ビューホテル

25) 原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由  
美: (2) Posterワークショップ12 アレルギー  
病態解析のジェノミクスとサイトミクス  
W12-2 ジェノミクス 各論-遺伝子多型を用  
いたアレルギー疾患の解析. 第59回日本ア  
レルギー学会秋季学術大会 2009年10月秋田ビ  
ューホテル

26) 人見祐基、海老澤元宏、富川盛光、今井孝  
成、小俣貴嗣、広田朝光、原田通成、鈴木洋一、  
下条直樹、河野陽一、玉利真由美: (3) MS39-#5  
NLR family 遺伝子多型と食物アナフィラキ  
シーとの関連解析. 第59回日本アレルギー学会  
秋季学術大会 2009年10月秋田ビューホテル

27) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐  
基: 特別講演1 気管支喘息とCOPDの病因病態  
について 疾患遺伝子の観点より. 第54回山口  
アレルギー疾患研究会 2009年11月 宇部全日  
空ホテル

28) 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐  
基: II. シンポジウム: 喘息の難治化機序を考  
える 2) 喘息難治化に関与する遺伝子. アスピ  
リン不耐症・難治性喘息研究会 2009 2009年  
11月ベルサール西新宿

29) 玉利真由美、原田通成、広田朝光: 特別講  
演 気管支喘息の遺伝子解析-SNP解析と発現  
解析、気道上皮細胞を中心に. アレルギー・気  
道上皮細胞研究会 第13回学術大会 2009年  
12月 シェーンバッハ・サボー

30) 玉利真由美、原田通成、広田朝光:  
プレナリーシンポジウム「喘息サブタイプ」

1. 喘息サブタイプと遺伝子多型. The 17th Symposium of Asthma in Tokyo 2009年12月 千代田放送会館 2階ホール

2. 実用新案登録  
なし

31) 玉利真由美、広田朝光: 特別講演 遺伝子解析を用いた気管支喘息およびCOPDの病態の解明. 第42回北陸呼吸器シンポジウム (FITs) 2010年2月 金沢都ホテル

3. その他  
なし

32) 玉利真由美、広田朝光: シンポジウム「アレルギー疾患のオーダーメイド治療」研究者からの発信: 第22回日本アレルギー学会春季臨床大会 2010年5月 国立京都国際会館

33) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり: ランチョンセミナー 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析. 第20回 日本耳科学会総会 学術講演会 2010年10月 松山ひめぎんホール

34) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:

(1) シンポジウム11 食物アレルギーをめぐる新たな進展・「食物アレルギーの遺伝子多型解析」. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会 2010年11月 東京国際フォーラム

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

NLRP3遺伝子の多型に基づくアレルギー疾患劇症化の検査方法

玉利真由美、中村祐輔、人見祐基、広田朝光

2009-173252(平成21年7月24日出願)

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

NSAIDs 不耐喘息ではリポキシン産生が低下しており、尿中 LXs は診断に有用である

|       |              |   |
|-------|--------------|---|
| 研究代表者 | 谷口正実         | 国立病院機構相模原病院 外来部長<br>(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長併任)              |
| 研究協力者 | 山口裕礼<br>三田晴久 | 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科 医師<br>国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室<br>研究員 |
|       | 梶原景一         | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室<br>研究員                              |
|       | 東 憲孝         | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員                                       |
|       | 石井豊太         | 国立病院機構相模原病院耳鼻咽喉科 医長   |
|       | 小野恵美子        | ハーバード大学 研究員   |

研究要旨：

アスピリン喘息の特徴は Cys-LTs の過剰産生病態に有る。しかし我々はアスピリン喘息以外にも Cys-LTs 過剰産生病態が生じること、にもかかわらず喘息病態が生じないことを見出した (Ono et al ERJ 2009, CEA2009, その他投稿中)。そこで Cys-LTs 以外にも重要な病態がアスピリン喘息にも隠されている可能性を想定し、今回の検討を行った。その結果、AIA においては 炎症メディエーター (LT) と抗炎症メディエーター (LX/15epi-LX) の imbalance が アスピリン過敏体質に大きく関わっている可能性が示唆された。またこの数値はアスピリン喘息にかなり特異的で診断方法に用いることが可能である。これらの成績は国際的にも初めてであり、非常に価値が有ると考える。

A. 研究目的

アスピリン喘息の特徴は Cys-LTs の過剰産生病態に有る。しかし我々はアスピリン喘息以外にも Cys-LTs 過剰産生病態が生じること、にもかかわらず喘息病態が生じないことを見出した (Ono et al ERJ 2009, CEA2009, その他投稿中)。そこで Cys-LTs 以外にも重要な病態がアスピリン喘息にも隠されている可能性を想定し、今回の検討を行った。

アラキドン酸カスケード内で産生される脂質メディエーターの 1 つ Lipoxin / 15-epi-Lipoxin (LX/15-epi-LX) は、1) 炎症細胞の局所への浸潤を抑制する、2) LT 受容体に対して拮抗作用を示す、ことから、抗炎症性脂質メディエーターとして注目されつつある。さらに、近年、生体内における LX

産生能が低いことが重症喘息と密接にかかわることが、喀痰・気管支肺胞洗浄液を用いた検討により報告されている。初年度、喘息型 NSAIDs 不耐症 (いわゆるアスピリン喘息 (以下 AIA) 群は、有意な LX 合成能の低下が示唆された。今回、さらに症例を増やし、検討を行った。

B. 研究方法

1) 国立病院機構 相模原病院アレルギー科受診患者のうち、アスピリン負荷試験にて陽性であった AIA15 名 (12 例、重症持続型) を対象とした。対照群として 非 AIA (ATA) 患者 16 名 (うち重症持続型は 8 名) Healthy control (HC) 群 10 名も追加検討した。

2) サンプルは 午前中に採取した随時尿とし、すべて HPLC による精製・抽出後に測定した。

| 測定項目 | マーカーの意義         | Methods                                  |
|------|-----------------|--|
| LTE4 | CysLTs の主要な代謝産物 | Empore C18 >HPLC > EIA (Cayman chemical) |
| LX   | 腎臓由来            | Empore C18 >HPLC > ELIA (Neogen1)        |

(倫理面への配慮)

- ・ 倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努める。
- ・ 患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

1) 尿中 LX 濃度は尿中 15-epi-LXA4 と正の相関が見られるが、腎臓での 15-PGDH の代謝を受け有意に低値で 15-epi-LX の方が、感度の面で尿のバイオマーカーとして有用である。

2) 尿中 15-epi-LX 濃度は、末梢血好酸球数と有意に負の相関を示した ( $p=0.03$ ,  $r_s = 0.45$ ) (図無し)

3) 尿中 15-epi-LX 濃度は、AIA 群は非 AIA 群と比較して有意に低値 (median, 21.5 pg/mg-cre vs 95.3 pg/mg-cre,  $p<0.05$ ,)、LTE4/15epi-LX 比は有意に高値であった (14.5 vs 1.9,  $p<0.01$ )。

4) 重症持続型の 2 群比較においても尿中 15-epi-LX 濃度は AIA 群で有意に低値であった。(26.7 pg/mg-cre vs. 100.7pg/mg-cre,  $p<0.05$ )

5) U-LTE4 と U-15 epi-LTA4 の比は、図中に示すように、アスピリン喘息で顕著に低下した。

AERD patients show a significant decrease in 15-epi-LXA4 concentration in urine in comparison with ATA patients.

(Yamaguchi et al. 2010 unpublished data)

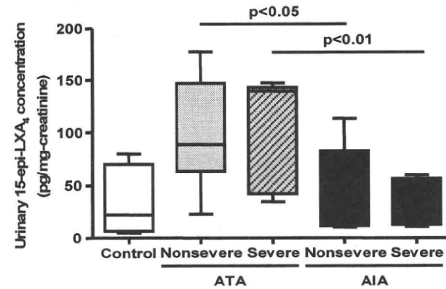


図2: ATAとAIAにおける尿中LTE4/15-epi-LTA4

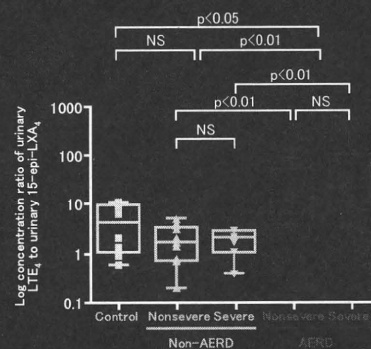
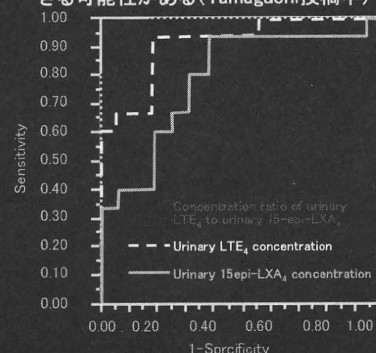


図3尿中LTE4/15-epi-LTA4はアスピリン喘息の診断に使用できる可能性がある(Yamaguchi投稿中)



#### D. 考察

AIA においては 炎症メディエーター(LT)と 抗炎症メディエーター(LX/15epi-LX) の imbalance が アスピリン過敏体質に大きく関わっている可能性が示唆された。LX/15epi-LX は従来の報告のとおり、 気管支喘息の好酸球性炎症に対して抗炎症作用を示す可能性が本研究でも示された。また本症例は高用量の吸入ステロイド±全身性ステロイドを使用しながらも難治性の喘息患者群であり、ステロイド抵抗性喘息の病態の1つの側面を表している可能性がある。(投稿中)

#### E. 結論

アスピリン喘息では LXs が低下していることが初めて証明できた。さらに LX と U-LTE4 の比がアスピリン喘息の診断に有用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

「総合研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

##### 2. 学会発表

「総合研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

#### 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

アスピリン喘息の NSAIDs 過敏性とロイコトリエン過剰産生には鼻茸が強く関与している

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院 外来部長  
(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長併任)  
研究協力者 東 憲孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員  
山口裕礼 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科 医師  
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室  
研究員  
梶原景一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室  
研究員  
石井豊太 国立病院機構相模原病院耳鼻咽喉科 医長  
小野恵美子 ハーバード大学 研究員  
秋山一男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長

研究要旨：

アスピリン喘息 (AIA) の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎 (以下鼻茸) がある。すでにわれわれは、鼻茸の手術により、生体内のシステニルロイコトリエン (Cys-LTs) 産生の指標である尿中 LTE4 (U-LTE4) が有意に減少することを見出した (JACI 2004, AI 2008 など)。その結果をふまえ、今回は、内視鏡下副鼻腔手術が、アスピリン感受性に影響を与えるか否か、以上の3つの研究内容を全て前向きに検討した。

その結果、安定期の AIA において、鼻茸手術により、U-LTE4 は著明に減少し、鼻茸は Cys-LTs の重要な産生源であることが証明された。また鼻茸の手術により、アスピリン感受性も顕著に抑制された。この成績から、鼻茸から産生された Cys-LTs が、AIA の Cys-LTs 過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性をも調整している可能性が初めて示された。

A. 研究目的

アスピリン喘息 (AIA) の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎 (以下鼻茸) がある。すでにわれわれは、鼻茸の手術により、生体内のシステニルロイコトリエン (Cys-LTs) 産生の指標である尿中 LTE4 (U-LTE4) が有意に減少することを見出した (JACI 2004, AI 2008 など)。その結果をふまえ、今回は、内視鏡下副鼻腔手術が、アスピリン感受性に影響を与えるか否か、以上の3つの研究内容を全て前向きに検討した。

B. 研究方法

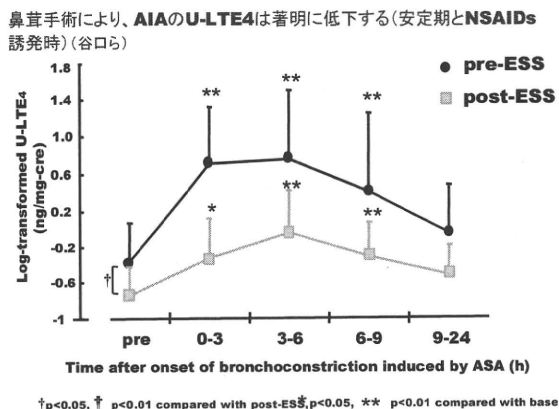
内視鏡下副鼻腔手術をした安定期の AIA 16 例において、手術直前と2週間後にアスピリン感受性と負荷時の U-LTE4 産生亢進を検査し、その変化を内科的治療内容を変えずに前向きに検討した。

(倫理面への配慮)

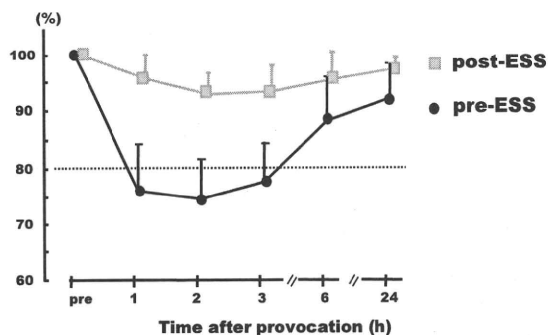
- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努めた。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得た。また検体は通常の手術で得られる検体であり、新たに採取や処理はしない。

### C. 研究結果

AIA 14例の鼻茸手術後において、アスピリン負荷時の肺機能低下が全例で著明に抑制されることを確認した（平均1秒量最大低下が25%→6%）。さらにU-LTE4の上昇も著しく抑制された（ $p < 0.01$ ）。



鼻茸手術により、NSAIDs誘発気道収縮は減弱する(谷口ら)



### D. 考察

安定期のAIAにおいて、鼻茸手術により、U-LTE4は著明に減少し、鼻茸はCys-LTsの重要な産生源であることが証明された。また鼻茸の手術により、アスピリン感受性も顕著に抑制された。この成績から、鼻茸から産生されたCys-LTsが、AIAのCys-LTs過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性をも調整している可能性が示唆された。

この事実はアスピリン喘息の病態の本質は、鼻茸に有ることを示している。

### E. 結論

AIAにおける上気道病変（鼻茸）は、Cys-LTs過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性亢進に強く影響しており、本症の本質的病態と推定される。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

「総合研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

#### 2. 学会発表

「総合研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

### 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

ロイコトリエン過剰産生を伴うアレルギー・炎症疾患の病態解明

|       |       |  |
|-------|-------|--|
| 研究代表者 | 谷口正実  | 国立病院機構相模原病院 外来部長<br>(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長併任) |
| 研究協力者 | 小野恵美子 | ハーバード大学 研究員  |
|       | 関谷潔史  | 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師                               |
|       | 谷本英則  | 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師                               |
|       | 三井千尋  | 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師                               |
|       | 三田晴久  | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室<br>研究員                 |
|       | 梶原景一  | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室<br>研究員                 |
|       | 東憲孝   | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員                          |
|       | 福富友馬  | 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員                            |

研究要旨：

SRS-A (Slow reacting substance of anaphylaxis) の本態がシステニルロイコトリエン (CysLTs) であることが Samuelsson らにより報告されて以来 30 年余りが経過した 1)。この間に、CysLTs のヒトアレルギー・炎症病態における生理作用は徐々に明らかとなりつつある。特にプラシルカストやモンテルカストなどの CysLT 1 受容体拮抗薬の効果から、ヒトアレルギー病態における CysLTs の関与は明らかになった印象があるが、実はいまだ不明の点も多い。喘息患者でのアレルゲン誘発時において Cys-LTs の有意な増加と LTRA の強い抑制を認める。スギ花粉症では鼻閉が強い例で有意に U-LTE4 が増加。ヒトアナフィラキシーにおいても、マスト細胞の活性化に応じて U-LTE4 が著増。好酸球性肺炎でも好酸球性活性に応じて U-LTE4 が著増。CSS でも他の血管炎でも U-LTE4 が増加を証明した。以上のように Cys-LTs は好酸球性炎症やアスピリン喘息だけでなく、マスト細胞炎症（アナフィラキシー、即時型気道反応、過敏性肺炎）にもつよく関与し、さらに血管炎のような由来不明の炎症病態にも関与することが初めて明らかとなった。

A. 研究目的

SRS-A (Slow reacting substance of anaphylaxis) の本態がシステニルロイコトリエン (CysLTs) であることが Samuelsson らにより報告されて以来 30 年余りが経過した 1)。この間に、CysLTs のヒトアレルギー・炎症病態における生理作用は徐々に明らかとなりつつある。特にプラシルカストやモンテルカストなどの CysLT 1 受容体拮抗薬の効果から、ヒトアレルギー病態における CysLTs の関与は明ら

かになった印象があるが、実はいまだ不明の点も多い。本研究では、実際のヒト炎症病態におけるロイコトリエンの関与について、U-LTE4 や局所 Cys-LTs の検討で得られた成績から病態を明らかにする。

B. 研究方法

- 1) 抗原吸入誘発反応
- 2) 花粉症の症状悪化時

3) アナフィラキシー時

4) 好酸球性肺炎

5) アレルギー肉芽腫性血管炎

以上における病態と Cys-LTs の関与を U-LTE4 や局所 Cys-LTs 濃度から証明する

(倫理面への配慮)

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

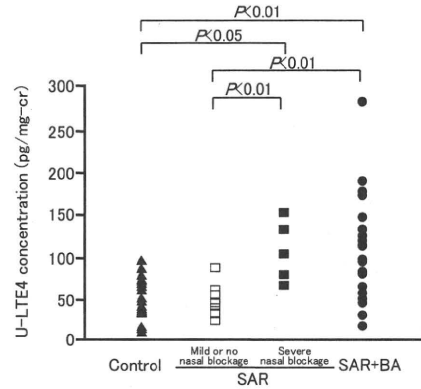


図3

C. 研究結果

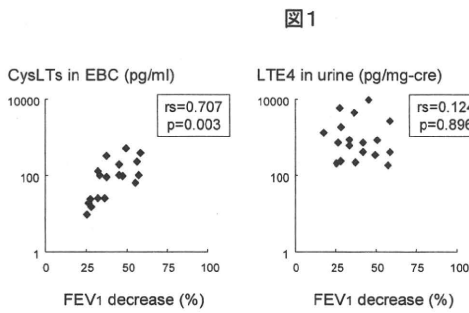


図1

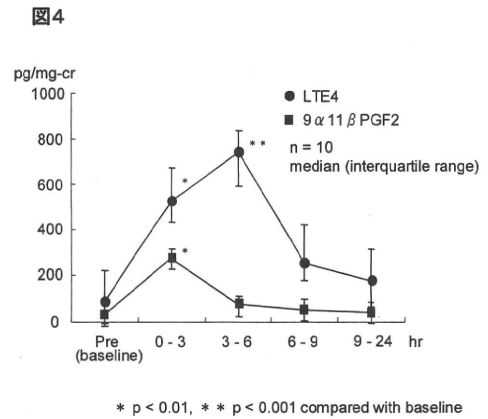


図4

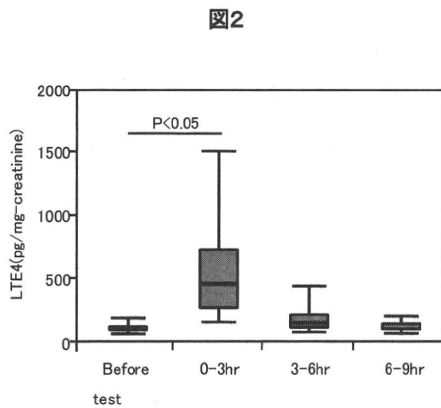


図2

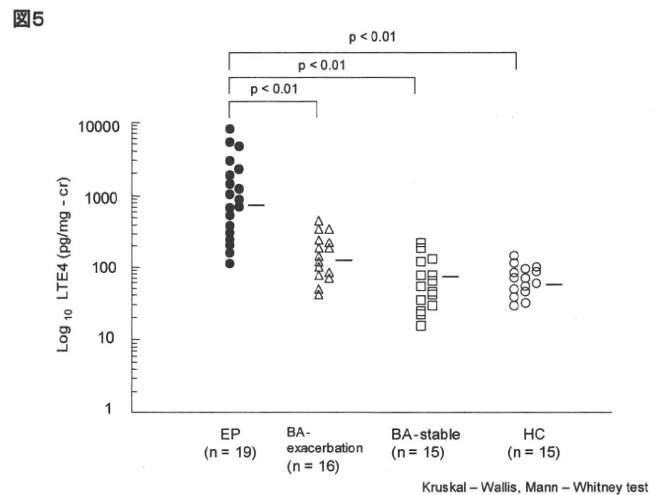


図5

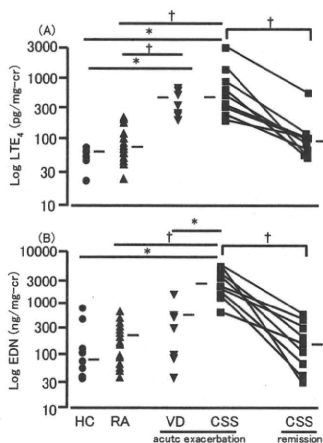


図6

1) 喘息患者でのアレルゲン誘発時において Cys-LTs の有意な増加と LTRA の強い抑制を認める。

2) スギ花粉症では鼻閉が強い例で有意に U-LTE4 が増加。

3) ヒトアナフィラキシーにおいても、マスト細胞の活性化に応じて U-LTE4 が著増。

4) 好酸球性肺炎でも好酸球性活性に応じて U-LTE4 が著増

5) CSS でも他の血管炎でも U-LTE4 が増加

#### D. 考察

好酸球性炎症だけでなく、マスト細胞炎症（アナフィラキシー、即時型気道反応、過敏性肺炎）でも Cys-LTs 産生亢進が生じる、さらに血管炎のような由来不明の炎症病態でも Cys-LTs がぞうかすることが初めて明らかとなった。

#### E. 結論

Cys-LTs は好酸球性炎症、マスト細胞の活性化だけでなく血管炎のような炎症病態にも深く関わっている可能性が有る。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表

「総合研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

「総合研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

#### 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

NSAIDs 過敏喘息では上下気道のリモデリングをきたしやすい

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院 外来部長  
(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長兼任)  
研究協力者 秋山一男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長  
東憲孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員  
石井豊太 国立病院機構相模原病院耳鼻咽喉科 医長

研究要旨：

アスピリン喘息の特徴は Cys-LTs 過剰産生があり、重症喘息が多いことにある。また臨床的に我々は日本人成人における持続的気流制限にアスピリン過敏が大きく関与していることを証明した。そこで組織学的なリモデリングが本症に生じているか検討した。その結果、AIA 群では、下気道における不可逆的な気流制限、すなわち臨床的リモデリングが高頻度にみられた。同時に、上気道においても好酸球性炎症を介し高度の基底膜肥厚像を来すことが明らかとなった。AIA の病態に早期にリモデリングが進行する分子細胞学的機序が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

アスピリン喘息の特徴は Cys-LTs 過剰産生があり、重症喘息が多いことにある。また臨床的に我々は日本人成人における持続的気流制限にアスピリン過敏が大きく関与していることを証明した。そこで組織学的なリモデリングが本症に生じているか検討した。、上気道における気道リモデリングの程度を手術検体の病理組織から定性的に評価し、上・下気道の気道リモデリングの関連性を検証する

2. AIA, non-AIA, Control の 3 群間の臨床不安定期の  $\beta 2$  刺激薬吸入前後のスパイロメトリーデータを統計解析した。

3. 副鼻腔組織標本を、1. 有意な好酸球性細胞浸潤の評価 (mild, moderate, severe の 3 段階評価) および基底膜の肥厚像 (normal to mild, moderate, severe の 3 段階評価) で評価、AIA 群と non-AIA 群の 2 群間で統計解析した。なお、同一患者から複数の検体が提出された場合は、最も好酸球浸潤の程度が高度な標本での各評価を用いた。

B. 研究方法

1. 国立病院機構相模原病院にて治療目的にて内視鏡的副鼻腔手術 (ESS) が施行された患者のうち、ESS 術前に診断未確定で、気道可逆性試験を施行した 52 例を対象とした。

(倫理面への配慮)

・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努める。  
・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

{ 非活動性 n=11  
{ 活動性 n=41 — 好酸球性副鼻腔炎 n=36 (AIA n=10 and non-AIA n=26)  
                  — 非好酸球性副鼻腔炎 n=5 (後鼻漏・非喘息症例: Control)