

秋田総合病院小児科，市立長浜病院小児科，市立砺波総合病院小児科，市立島田市民病院小児科，市立函館病院小児科，私学共済事業団東京臨海病院小児科，慈泉会相澤病院小児科，自衛隊中央病院小児科，東京警察病院小児科，鹿児島市立病院小児科，鹿児島大学医学部・歯学部附属病院小児科，社会保険中京病院小児科，社会保険徳山中央病院小児科，社会保険中央総合病院小児科，秋田赤十字病院小児科，秋田大学医学部附属病院小児科，住友病院小児科，春日井市民病院小児科，駿河台日本大学病院小児科，順天堂大学医学部附属順天堂医院小児科，順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院小児科，順天堂大学医学部附属練馬病院小児科，順天堂大学医学部附属静岡病院小児科，小樽市立小樽病院小児科，小田原市立病院小児科，小牧市民病院小児科，昭和会今給黎総合病院小児科，昭和大学横浜市北部病院小児科，昭和大学藤が丘病院小児科，昭和大学病院小児科，松江市立病院小児科，松江赤十字病院小児科，松山赤十字病院小児科，沼津市立病院小児科，常仁会牛久愛和総合病院小児科，信州大学医学部附属病院小児科，新潟県立がんセンター新潟病院小児科，新潟県立中央病院小児科，新潟市民病院小児科，新潟大学医歯学総合病院小児科，神戸市地域医療振興財団西神戸医療センター小児科，神戸市立医療センター中央市民病院小児科，神戸大学医学部附属病院小児科，諏訪赤十字病院小児科，吹田市民病院小児科，水戸済生会総合病院小児科，水戸赤十字病院小児科，成田赤十字病院小児科，星ヶ丘厚生年金病院小児科，星総合病院小児科，生長会ベルランド総合病院小児科，聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科，聖隷佐倉市民病院小児科，聖隷福祉事業団総合病院聖隷三方原病院小児科，聖隷福祉事業団総合病院聖隷浜松病院小児科，聖路加国際病院小児科，西尾市民病院小児科，誠光会草津総合病院小児科，青森県立中央病院小児科，青森市民病院小児科，青梅市立総合病院小児科，静岡県立総合病院小児科，静岡済生会総合病院小児科，静岡市立清水病院小児科，静岡市立静岡病院小児科，静岡赤十字病院小児科，石川県立中央病院小児科，仙台市立病院小児科，仙台

赤十字病院小児科，千葉県済生会習志野病院小児科，千葉大学医学部附属病院小児科，川口市立医療センター小児科，川崎医科大学附属川崎病院小児科，川崎医科大学附属病院小児科，川崎市立川崎病院小児科，浅ノ川浅ノ川総合病院小児科，船橋市立医療センター小児科，前橋赤十字病院小児科，蘇西厚生会松波総合病院小児科，倉敷中央病院小児科，壮幸会行田総合病院小児科，総合病院岡山赤十字病院小児科，総合病院釧路赤十字病院小児科，総合病院国保旭中央病院小児科，総合病院高山赤十字病院小児科，総合病院山口赤十字病院小児科，足利赤十字病院小児科，太田総合病院附属太田西ノ内病院小児科，袋井市立袋井市民病院小児科，大館市立総合病院小児科，大原総合病院小児科，大阪医科大学附属病院小児科，大阪厚生年金病院小児科，大阪市立大学医学部附属病院小児科，大阪大学医学部附属病院小児科，大阪府警察協会大阪警察病院小児科，大阪府済生会吹田病院小児科，大阪府済生会泉尾病院小児科，大阪府済生会中津病院小児科，大阪府済生会野江病院小児科，大阪府立急性期・総合医療センター小児科，大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター小児科，大阪府立精神医療センター松心園児童精神科，大崎市民病院小児科，大樹会総合病院回生病院小児科，大津市民病院小児科，大分県立病院小児科，大分大学医学部附属病院小児科，大和市立病院小児科，筑波メディカルセンター病院小児科，筑波記念会筑波記念病院小児科，長崎大学病院小児科，長野赤十字病院小児科，鳥取県立中央病院小児科，鳥取赤十字病院小児科，鳥取大学医学部附属病院小児科，津山慈風会津山中央病院小児科，津島市民病院小児科，鶴岡市立荘内病院小児科，帝京大学ちば総合医療センター小児科，帝京大学医学部附属溝口病院小児科，帝京大学医学部附属病院小児科，鉄蕉会亀田総合病院小児科，天理よろづ相談所病院小児科，島根県立中央病院小児科，島根大学医学部附属病院小児科，東海大学医学部附属病院小児科，東海大学八王子病院小児科，東京医科歯科大学医学部附属病院小児科，東京医科大学八王子医療センター小児科，東京医科大学茨城医療センター小児科，東京厚生年金病

院小児科，東京慈恵会医科大学附属第三病院小児科，東京慈恵会医科大学附属柏病院小児科，東京慈恵会医科大学附属病院小児科，東京大学医学部附属病院小児科，東京都済生会中央病院小児科，東京都立駒込病院小児科，東京都立広尾病院小児科，東京都立大塚病院小児科，東京都立豊島病院小児科，東光会戸田中央総合病院小児科，東大阪市立総合病院小児科，東邦大学医療センター大橋病院小児科，東邦大学医療センター大森病院小児科，董仙会恵寿総合病院小児科，藤枝市立総合病院小児科，藤田保健衛生大学病院小児科，徳洲会八尾徳洲会総合病院小児科，徳洲会福岡徳洲会病院小児科，徳島赤十字病院小児科，徳島大学病院小児科，那覇市立病院小児科，日本医科大学多摩永山病院小児科，日本医科大学千葉北総病院小児科，日本医科大学付属病院小児科，日本海員掖済会名古屋掖済会病院小児科，日本赤十字社医療センター小児科，日本赤十字社和歌山医療センター小児科，日本大学医学部付属板橋病院小児科，日本郵政東京逡信病院小児科，函館厚生院函館五稜郭病院小児科，函館厚生院函館中央病院小児科，飯田市立病院小児科，磐田市立総合病院小児科，彦根市立病院小児科，姫路赤十字病院小児科，富山県立中央病院小児科，富山赤十字病院小児科，富山大学附属病院小児科，武蔵野赤十字病院小児科，福井県済生会病院小児科，福井赤十字病院小児科，福井大学医学部附属病院小児科，福岡大学病院小児科，福山市民病院小児科，福島県立医科大学附属病院小児科，兵庫医科大学病院小児科，兵庫県立西宮病院小児科，兵庫県立淡路病院小児科，兵庫県立塚口病院小児科，平塚市民病院小児科，米沢市立病院小児科，芳賀赤十字病院小児科，豊橋市民病院小児科，豊川市民病院小児科，豊中市立豊中病院小児科，鳳生会成田病院小児科，北海道大学病院小児科，北九州市立八幡病院小児科，北里研究所メディカルセンター病院小児科，北里大学病院小児科，麻生飯塚病院小児科，枚方療育園小児科，名古屋市立大学病院小児科，名古屋大学医学部附属病院小児科，名古屋第一赤十字病院小児科，名古屋第二赤十字病院小児科，名鉄病院小児科，明芳会横浜旭中央総合病院小児

科，明芳会板橋中央総合病院小児科，明和会中通総合病院小児科，木下会千葉西総合病院小児科，淀川キリスト教病院小児科，洛和会音羽病院小児科，立川メディカルセンター立川総合病院小児科，琉球大学医学部附属病院小児科，労働者健康福祉機構岡山労災病院小児科，労働者健康福祉機構関西労災病院小児科，労働者健康福祉機構関東労災病院小児科，労働者健康福祉機構九州労災病院小児科，労働者健康福祉機構釧路労災病院小児科，労働者健康福祉機構大阪労災病院小児科，労働者健康福祉機構中国労災病院小児科，労働者健康福祉機構中部労災病院小児科，労働者健康福祉機構東北労災病院小児科，和歌山県立医科大学附属病院小児科，獨協医科大学越谷病院小児科，獨協医科大学病院小児科，盡誠会宮本病院小児科，茨城県立医療大学付属病院小児科，関西医科大学附属男山病院小児科，久留米大学医療センター小児科，近畿大学医学部堺病院小児科，国際医療福祉大学三田病院小児科，国際医療福祉大学熱海病院小児科，昭和大学附属豊洲病院小児科，東京慈恵会医科大学附属青戸病院小児科，東京女子医科大学附属八千代医療センター小児科，東邦大学医療センター佐倉病院小児科，日本医科大学武蔵小杉病院小児科，日本大学医学部付属練馬光が丘病院小児科，福岡大学筑紫病院小児科，北海道医療大学病院小児科，和歌山県立医科大学附属病院紀北分院小児科，あいち小児保健医療総合センター小児外科，栄寿会古賀小児科内科病院小児科，沖縄小児発達センター小児科，岩手愛児会もりおかこども病院小児科，宮城県立こども病院小児科，埼玉県立小児医療センター小児科，小児愛育協会附属愛育病院小児科，人天会鹿児島こども病院小児科，静岡県立こども病院小児外科，大日会太陽こども病院小児科，土屋小児病院小児科，藤本育成会大分こども病院小児科，たちばな会重症心身障害児(者)施設オレンジ学園小児科，ともえ会重症心身障害児施設子鹿学園小児科，はまぐみ小児療育センター小児科，ひのみね学園・ひのみね療育園小児科，ゆうかり学園ゆうかり医療療育センター小児科，ロザリオの聖母会聖母療育園小児科，わかば療育園小児科，愛知県心身障害者コロ

ニー中央病院小児科，愛知県立心身障害児療育センター第二青い鳥学園小児科，茨城県立こども福祉医療センター小児科，沖縄県社会福祉事業団沖縄療育園小児科，京都府立舞鶴こども療育センター小児科，熊本県こども総合療育センター小児科，鼓ヶ浦こども医療福祉センター小児科，五和会重症心身障害児施設名護療育園小児科，広島県立障害者リハビリテーションセンター医療センター小児科，高知県立療育福祉センター小児科，高邦福祉会柳川療育センター小児科，国立身体障害者リハビリテーションセンター病院小児科，埼玉療育友の会埼玉療育園小児科，三篠会重症心身障害児施設ソレイユ川崎小児科，三篠会重症心身障害児施設鈴が峰小児科，山形県立総合療育訓練センター小児科，志友会芦北学園発達医療センター小児科，志友会江津湖療育園発達医療センター小児科，慈永会重症心身障害児(者)施設はまゆう療育園小児科，滋賀県立小児保健医療センター小児科，重症心身障害児施設はんな・さわらび療育園小児科，重症心身障害児施設久山療育園小児科，重症心身障害児施設四天王寺和らぎ苑小児科，重症心身障害児施設千葉市桜木園小児科，松原愛育会石川療育センター小児科，新生会みちのく療育園小児科，大阪府立母子保健総合医療センター小児科，長崎県立こども医療福祉センター小児科，鳥取県立総合療育センター小児科，鶴風会東京小児療育病院・みどり愛育園小児科，東京都立東大和療育センター小児科，東京都立府中療育センター小児科，東京都立北療育医療センター小児科，東京都立東部療育センター小児科，福井県こども療育センター小児科，福島県総合療育センター小児科，母子愛育会総合母子保健センター愛育病院小児科，方城福祉会重症心身障害児(者)施設方城療育園小児科，北海道療育園美幌療育病院，北九州市立総合療育センター小児科，明和会ペリネイト母と子の病院小児科，陽光福祉会エコー療育園小児科，和歌山つくし医療福祉センター小児科。

膵嚢胞線維症の未承認薬の使用状況

研究報告者 成瀬 達 みよし市民病院 院長

共同研究者

石黒 洋（名古屋大学大学院健康栄養医学）、吉村邦彦（日本赤十字社大森赤十字病院呼吸器内科）
辻 一郎、栗山進一（東北大学大学院公衆衛生学）、下瀬川徹、菊田和宏（東北大学大学院消化器病態学）

【研究要旨】

平成22年度の医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議において海外で承認されている膵嚢胞線維症治療薬も取り上げられた。厚生労働省から開発企業の募集又は開発要請を行った医薬品のリストがより公表されたことをふまえ、これらの未承認薬の使用経験と今後の調査または治験等への参加希望につき、第4回膵嚢胞線維症全国疫学調査の付随調査としてアンケート調査を行った。11症例の主治医から回答を得、コリスチンは2症例、トブラマイシンは3症例、ドルナーゼ・アルファは1症例、パンクレアチンは6症例が使用経験有りであった。今後の調査等には7名の患者から協力可能との返答を得た。

A. 研究目的

膵嚢胞線維症（嚢胞性線維症 CF）は cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) の遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。本遺伝子は CFTR と命名されたクロールイオンチャンネルをコードしている。このイオンチャンネルは全身の外分泌腺におけるクロールイオンの分泌ならびにそれに伴う水分分泌を調節している。CFTR 遺伝子変異により CFTR の機能が著しく障害されると、粘稠な分泌液により消化管、膵管や気管支線の導管細胞が閉塞されやすくなる。その結果、新生児における腸閉塞（メコニウムイレウス）、膵外分泌不全による消化吸収障害、および反復する慢性気管支炎、細気管支炎および副鼻腔炎がおきる¹⁾。

本症の治療は消化酵素を補充することにより発育栄養障害を予防すると共に、繰り返す肺の感染症をコントロールすることである。これまで肺感染症のため多くの患者は生存期間が20年を越えることが稀であった。欧米人では CF は最も頻度の高い遺伝疾患であるため社会の関心も高く、様々な治療法が開発されている。その結果、患者の生存期待年齢の中央値が37.4歳に達しようとしている²⁾。CF はわが国では極

めて稀な疾患で、本研究班による全国調査では CF の発症頻度は150～200万人に1人、年間生存罹患者数は10名程度であると推計されている^{3,4)}。このため欧米で承認されている標準治療薬が、わが国では治験を行うに足る患者がいらないため、使用できない状態が続いてきた。

CF の治療薬には海外で開発承認され、医療上の効果が確立しているが、わが国では承認されていない薬が複数存在する。CF 患者の中には、やむにやまれぬ状況でこれらの未承認薬を個人輸入している人もいる。国内での一刻も早い承認を求める患者および家族の要請を受け、医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議では CF 治療薬も取り上げられた⁵⁾。この会議での検討結果を受けて本年5月には厚生労働省が開発企業の募集又は開発要請を行った医薬品のリストが公表された。このリストにはコリスチンメタンサルホン酸ナトリウム塩（CF の多剤耐性緑膿菌気道感染症の治療薬：吸入用製剤の剤形追加）、トブラマイシン（CF 患者の緑膿菌気道感染症の治療薬で吸入用製剤の剤形追加）、ドルナーゼ アルファ（CF の喀痰排泄促進作用および呼吸機能の改善薬）、パンクレアチン（CF 患者の脂肪吸収および栄養状態の改善薬）の4つの CF 治療薬（表1）が含まれて

いる。今後、これらの治療薬の承認に向け、治験などを開始する必要がある。そこで第4回膵嚢胞線維症全国疫学調査の付随調査として、治験に参加できる患者の数を把握するために、これらの未承認薬の使用経験と今後予定される開発企業の調査および治験に参加への意向を問うアンケート調査を行った。

B. 研究方法

1. アンケート調査の対象期間は2005年から2009年までの5年間とした。
2. 第4回膵嚢胞線維症全国疫学調査の一次調査で「症例有り」と回答された施設、②症例報告(論文発表および学会発表)がされている施設、③過去3回の全国調査で症例の回答のあった施設の主治医へアンケート(表2)を送付した。

(倫理面への配慮)

1. 本調査の第4回膵嚢胞線維症全国疫学調査は、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会、名古屋大学医学部生命倫理委員会およびみよし市民病院倫理委員会で承認されている。
2. 本調査に付随するアンケート調査(資料1)はみよし市民病院倫理委員会で承認されている。
3. アンケートの内容は患者の性と年齢および未承認薬の使用経験と今後の治験参加の希望の有無のみである。患者もしくはその家族の同意を得て主治医が記入するため患者の匿名性ならびに自由意志は守られている。

C. 研究結果

2005年から2009年までの5年間に生存が確認された30症例の主治医に未承認のCF治療薬の使用経験についてアンケートを送付し、11症例から回答を得た。コリスチンは2症例、トブラマイシンは3症例、ドルナーゼ・アルファは1症例、パンクレアチンは6症例が使用経験有りであった(表1)。今後の承認に必要な調査および治験には6~7名の患者から協力可能との返答を得た。

表1 平成22年医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議を受け開発企業の募集又は開発要請が行なわれたCF治療医薬品のリスト

未承認薬名	海外での販売名	使用経験あり	情報収集に協力可能	治験に参加可能
コリスチン	Colomycin	2	7	7
トブラマイシン	TOBI	4	7	7
ドルナーゼアルファ	Pulmozyme	1	6	6
パンクレアチン	Creon	6	7	7

D. 考察

今回のアンケート調査では11名の主治医より返答をいただくことができた。忙しい日常診療の中で患者およびその家族と面談の上、ご回答いただいたことにまず深謝したい。未承認薬の中で使用経験が最も多かったのは消化酵素薬のパンクレアチン(Creon)であった。CFでは膵外分泌不全のため消化酵素を補充しないと多量の脂肪便が生じる。患者の脂肪吸収および栄養状態の改善のためには消化酵素の補充が絶対に必要である¹⁾。わが国で承認市販されている消化酵素の常用量ではCFにおける膵外分泌不全には不十分であり、その数倍量を服薬する必要がある。日々の食事毎に必要な薬であることも使用経験が多い理由かもしれない。2名は個人輸入をしており月数万円の個人負担が生じている。わが国でもこの高力価のパンクレアチン製剤は治験が終了し、平成21年12月末に承認申請がされている。

トブラマイシンによる吸入量法(TOBI)は4名が経験されていた。本剤は個人輸入する場合にはかなり高価(約\$5,000)であり、間歇投与しても月額約26万円の負担となる。吸入療法は緑膿菌感染を制御できる高濃度のトブラマイシンを気道内にもたらし、一方で血中濃度の上昇を抑えることにより全身の副作用のリスクを下げるのが期待できる。本剤の間歇投与(4週投与/4週休薬)は肺機能を改善させ、緑膿菌量を減少させ、入院のリスクを減らし、かつ体重増加をもたらすことが知られており^{6,7)}、欧米における標準的な治療法の一つである^{8,9)}。わが国では注射薬が承認されているため、今回の調査でも特例として適応外使用されている例もあった。

コリスチンはわが国で開発された7つのアミノ酸からなる環状ペプチド系抗生物質である。細胞質膜を傷害することにより殺菌的に作用し、グラム陰性菌に対して優れた抗菌作用を示すが、腎毒性、神経毒性が強いため使用されなくなった。現在、注射薬は未承認の状態となっているが、緑膿菌感染症や細菌性赤痢に対して有効性が高いため、コリスチン点眼薬および内服薬として使用されている。近年、コリスチンは多剤耐性緑膿菌(MDRP)などの多剤耐性グラム陰性桿菌感染症に比較的有効な貴重な治療薬の一つとして欧米で見直されている。特にCFにおける緑膿菌の持続感染は多剤耐性菌を生みやすい病態である^{10,11)}。最近、わが国でもMDRP感染症の制御のために肺移植の術前後に治験審査委員会の承認を得てコリスチン使用したCF症例が報告されている¹²⁾。今回の公募は、トブラマイシンと同様に、吸入薬の開発要請であったが、残念ながら応募企業はなかった。今年になり、わが国でも多剤耐性アシネトバクターやNDM1耐性大腸菌検出されるようになり、コリスチンの承認を後押しする動きが見られる。コリスチンの吸入薬は注射薬に比べ全身の副作用が少ないことが期待できるので、同時に吸入薬が開発されればその恩恵が大きいと思われる。

CFにおける膿性粘稠痰の原因は多量に含まれるDNAが原因の一つと考えられている。実際、遺伝子組み換え型ヒトデオキシリボヌクレアーゼが痰の粘稠性を改善することが示され¹³⁾、本剤(ドルナーゼ アルファ)の長期連日エアロゾル投与は、肺機能低下の速度を遅らせ、重度の気道増悪の頻度を低下させることが示された^{14,15)}。痰の喀出を容易にする手段として標準的に用いられている^{8,9)}。今回の調査では本剤の使用経験は1例のみであったが、肺機能の改善のみならず日常生活の質(QOL)の向上が期待できる薬剤である。

E. 結論

本年、医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議で取り上げられたCF治療薬は欧米のガイドラインで重症のCF患者に対して強

く推奨されている標準薬である。今回のアンケート調査では、数名が個人輸入によりその恩恵にあずかっていることが明らかとなった。国内承認を得るための治験等に参加できるCF患者数は年間6~7名である。海外の治験にて承認され有効性が確立した治療薬を、国内で承認するために必要な条件を早急に決定する必要がある。

F. 参考文献

1. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班。膵嚢胞線維症の診療の手引き(大槻眞, 成瀬達編)。アークメディア 2008。
2. What is the life expectancy for people who have CF in the United States? Cystic Fibrosis Foundation-Frequently Asked Questions (<http://www.cff.org/AboutCF/Faqs/>)
3. 成瀬 達, 玉腰暁子, 林 櫻松, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞. 膵嚢胞線維症の診断基準と疫学調査. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性膵疾患に関する調査研究班」平成15年度研究報告書 2004: 231-235.
4. 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞 第3回膵嚢胞線維症全国疫学調査 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究平成17~19年度総合研究報告書 2008: 205-215.
5. 医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議. 厚生労働省関係審議会議事録等その他(医薬食品局) (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2010/04/s0427-12.html>)
6. Ramsey BW, Pepe MS, Quan JM, Otto KL, Montgomery AB, Williams-Warren J, Vasiljev-K M, Borowitz D, Bowman CM, Marshall BC, Marshall S, Smith AL. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group. N Engl J Med. 1999; 340: 23-30.
7. Moss RB. Long-term benefits of inhaled tobramycin in adolescent patients with cystic

- fibrosis. *Chest*. 2002; 121: 55–63.
8. Flume PA, O’Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ Jr, Willey-Courand DB, Bujan J, Finder J, Lester M, Quittell L, Rosenblatt R, Vender RL, Hazle L, Sabadosa K, Marshall B; Cystic Fibrosis Foundation, Pulmonary Therapies Committee. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 176: 957–69.
 9. Heijerman H, Westerman E, Conway S, Touw D, Döring G; consensus working group. Inhaled medication and inhalation devices for lung disease in patients with cystic fibrosis: A European consensus. *J Cyst Fibros*. 2009; 8: 295–315.
 10. Döring G, Conway SP, Heijerman HG, Hodson ME, Høiby N, Smyth A, Touw DJ. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J*. 2000; 16: 749–67.
 11. Conway SP, Brownlee KG, Denton M, Peckh. Antibiotic treatment of multidrug-resistant organisms in cystic fibrosis. *Am J Respir Med*. 2003; 2: 321–32.
 12. Yamamoto Y, Izumikawa K, Hara A, Fujita H, Amenomori M, Sakamoto N, Seki M, Kakeya H, Yanagihara K, Takasaki K, Miyazaki T, Tsuchiya T, Yamasaki N, Tagawa T, Nagayasu T, Kohno S. Importance of controlling drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection: experience from lung transplantation in a cystic fibrosis case. *Intern Med*. 2010; 49: 2353–8.
 13. Shak S, Capon DJ, Hellmiss R, Marsters SA, Baker CL. Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87: 9188–92.
 14. McCoy K, Hamilton S, Johnson C. Effects of 12-week administration of dornase alfa in patients with advanced cystic fibrosis lung disease. Pulmozyme Study Group. *Chest*. 1996; 110: 889–95.
 15. Quan JM, Tiddens HA, Sy JP, McKenzie SG, Montgomery MD, Robinson PJ, Wohl ME,

Konstan MW; Pulmozyme Early Intervention Trial Study Group. A two-year randomized, placebo-controlled trial of dornase alfa in young patients with cystic fibrosis with mild lung function abnormalities. *J Pediatr*. 2001; 139: 813–20.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

資料1

嚢胞性線維症（腭嚢胞線維症）の主治医ならびに患者の皆様へのお願い

この度は第4回嚢胞性線維症全国調査にご協力いただきありがとうございます。前回の全国調査では、本症の治療の進歩により長期に生存される方が増えていることがわかってまいりました。このことは大変喜ばしいことではありますが、2つの大きな問題があります。

まず、本症はわが国では極めて稀な疾患であるため、新しい治療法が開発されてもわが国では通常の治療を行うことができません。このため欧米で確立された治療薬であっても、未承認薬として保険診療の対象とはなっておりません。もし、未承認の治療薬や医療機器を個人輸入しようとするれば、患者さんの経済的負担は極めて大きくなります。第2に、本症の医療費は小児慢性特定疾患治療研究事業により公費負担となっておりますが、特定疾患治療研究事業対象疾患の認定を受けていないため、成人になると公費負担がなくなるという問題があります。

本年5月21日に厚生労働省より「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議での検討結果を受けて開発企業の募集又は開発要請を行った医薬品のリスト」が発表されました。幸いなことに、このリストに海外で本症に対する有効性が確立されている4つの治療薬が含まれております。今後、これらの薬剤がわが国で承認されるように、開発を担当していただく企業と共に早急に承認に必要なデータを集める予定であります。しかし、患者数が極めて少ないため、どの程度の皆様が治療・調査にご参加いただけるかを承認申請の計画策定の段階で把握する必要があります。

そこで、これらの治療薬の個人輸入などによる使用経験の有無、負担された金額、使用経験があった場合、開発企業からの情報収集に協力が可能か、将来、治療・調査が行われた場合に協力が可能かなど、アンケート調査にご協力をお願いします。また、患者の皆様のご自己負担もかなり高額になっていると思われまますので、今後、特定疾患治療研究事業対象疾患の認定を受けられるようにするため、入院や外来における医療費の負担額についてもお教えいただければ幸いです。尚、今回のアンケートで協力可能とお答えいただいた場合でも、将来、ご協力願えない状況が生じた場合には、遠慮なくお申し出ください。

お忙しい所、誠に恐れ入りますが、よろしく願いいたします。

平成22年5月

厚生労働省難治性疾患克服研究事業
難治性腭疾患に関する調査研究
研究代表者 下瀬川 徹
分担研究者 成瀬 達
研究協力者 石黒 洋

資料1 つづき

医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議

医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議での検討結果を受けて・開発企業の募集又は開発要請を行った医薬品のリスト（抜粋）

（公表日：平成22年5月21日）

1. 開発企業を募集する医薬品

No.5 コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム塩（販売名 Colomycin Injection）
吸入用製剤の剤形追加、腭嚢胞線維症の気道感染症

2. 企業に開発の要請を行った医薬品

No.52 トブラマイシン（販売名 TOBI）
吸入用製剤の剤形追加 腭嚢胞線維症患者の緑膿菌気道感染症の治療
ノバルティス ファーマ（株）

No.55 ドルナーゼ アルファ（販売名 Pulmozyme）
腭嚢胞線維症患者の喀痰排泄促進作用および呼吸機能の改善
中外製薬（株）

No.62 パンクレアチン（販売名 Creon）
腭嚢胞線維症患者の脂肪吸収および栄養状態の改善
アボット製薬（株）

照会先

厚生労働省医薬食品局審査管理課

厚生労働省医政局研究開発振興課

TEL 03-5253-1111（内線4221）

資料2

嚢胞性線維症（膵嚢胞線維症）の未承認薬に関するアンケート

施設名 _____ 主治医 _____

患者年齢 _____ 歳 性 1. 男 2. 女

1. コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム塩（販売名 Colomycin Injection）
使用経験 1. あり 2. なし
1.の場合 1. 個人輸入 2. その他（ ）
およその費用 月額 _____ 円
開発企業からの情報収集に協力 1. できる 2. できない
今後予定される治験・調査に協力 1. できる 2. できない
2. トブラマイシン（販売名 TOBI）
使用経験 1. あり 2. なし
1.の場合 1. 個人輸入 2. その他（ ）
およその費用 月額 _____ 円
開発企業からの情報収集に協力 1. できる 2. できない
今後予定される治験・調査に協力 1. できる 2. できない
3. ドルナーゼ アルファ（販売名 Pulmozyme）
使用経験 1. あり 2. なし
1.の場合 1. 個人輸入 2. その他（ ）
およその費用 月額 _____ 円
開発企業からの情報収集に協力 1. できる 2. できない
今後予定される治験・調査に協力 1. できる 2. できない
4. パンクレアチン（販売名 Creon）
使用経験 1. あり 2. なし
1.の場合 1. 個人輸入 2. その他（ ）
およその費用 月額 _____ 円
開発企業からの情報収集に協力 1. できる 2. できない
今後予定される治験・調査に協力 1. できる 2. できない

承認申請のための計画を7月中に立てる必要があります。6月末までに返送をお願いします。
患者さんがお亡くなりになっていた場合でも、使用経験があれば調査にご協力をお願いします。

Ⅳ. 臍嚢胞線維症
2) 各個研究プロジェクト

わが国の cystic fibrosis 患者における CFTR 遺伝子変異の解析状況

研究報告者 吉村邦彦 日本赤十字社大森赤十字病院呼吸器内科 部長

共同研究者

安斎千恵子（虎の門病院呼吸器センター内科）

【研究要旨】

嚢胞性線維症(cystic fibrosis, CF)は、従来わが国では稀な疾患と考えられていたが、その臨床的実態と原因遺伝子 CFTR の変異の様相は、本研究班の調査研究を中心として、次第に明らかにされつつある。古典的・典型的な CF は約80%の症例で膵外分機能障害(pancreatic insufficiency, PI)を伴い、大多数は呼吸機能不全で死亡する。PCR 増幅および直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出により、われわれはすでに昨年度までにわが国における24例の CF 患者においてその遺伝子変異を確認した。一部の症例では同一の遺伝子変異が共通に検出されてきている。今年度は新たに解析時2歳の女児症例において、これまですでに報告した2例のホモ接合体症例と同一の遺伝子変異 *dele16-17b* を確認したので、考察を含め25例目の症例として報告した。今後も引き続き日本人 CF および CFTR 関連疾患の症例を出来る限り多く集積・解析し、CFTR 遺伝子の病的変異の種類や頻度を明らかにしつつ、わが国独自の CFTR 遺伝子変異スクリーニングシステムを確立する努力を継続していく予定である。

A. 研究目的

嚢胞性線維症(cystic fibrosis, CF)は肺、膵臓、消化管などの全身の外分泌管腔臓器を冒す常染色体劣性遺伝性疾患であり、多機能蛋白である cAMP 依存性 Cl⁻ イオンチャネル CFTR をコードする遺伝子の突然変異に起因する¹⁻⁵⁾。CF は欧米白人種にきわめて高率に発症する疾患であるが、一方、日本人をはじめとする東洋人種における CF の発症頻度はきわめて低いと考えられている³⁾。わが国の CF 症例に関しては昭和57年からの厚生省特定疾患難治性膵疾患研究班による全国調査から29例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiro ら⁷⁾の報告によるとわが国ではこれまでに文献的に約120例の CF 臨床診断例が記載され、発症頻度も出生35万人あたり1人程度と推定された。これはハワイ在住の東洋人での CF 発症頻度(出生9万人以上あたり1人)と概ね矛盾しないため⁸⁾、わが国では、およそ出生10万人あたり1人程度の発症率と考えてよいと思われる。

わが国の患者における CFTR 遺伝子変異解析に関して、過去には DNA 検体の得られた患

者での“c.1521_1523delCTT (p.Phe508del)” (legacy name: $\Delta F508$)など欧米で頻度の高い数種の変異検索、あるいは限られた数のエクソンでの PCR 増幅解析などが検討されたが、これらの方法では有意な CFTR 遺伝子異常は確認されず、変異状況は長らく不明であった^{3,5,6)}。この主要な理由は、わが国の CF 患者における CFTR 変異が欧米患者と比較して、変異の頻度もさることながら、そのスペクトラムが全く異なっていることに起因する。しかしながら、このような経緯の中、約10余年前から漸くわが国での CFTR 変異の状況が明らかにされてきている^{3,6)}。著者らは PCR-SSCP 法、直接シーケンス法などによる27エクソン全ての変異検出体制を確立し、当研究班によるわが国での全国調査で集積された症例などを中心に CF 確診例ないし疑診例の CFTR 遺伝子変異検索を進め、昨年度までに合計24例の CF 症例において遺伝子変異を確認し得た⁶⁾。これらの中には、欧米でもきわめて稀な変異や、これまで国際的な CF Mutation Database (CFMD)に登録記載のない CFTR 変異が大半を占めてい

る^{9,10)}.

今年度は、在胎40週の満期出産で出生した2歳の女児症例において、反復性の呼吸器感染症、糞便イレウス、などの臨床症状からCFを疑われ、CFTR 遺伝子変異検索を行った。

B. 研究方法

今年度の解析対象は解析時2歳の女児であり、在胎40週、3250 g で出生した。両親は血族結婚ではない。兄が二人いるが、それぞれ肺炎の既往があるものの、現在は健康である。

生下直後の胎便イレウスはなかったが、生後4ヶ月時、発熱、嘔吐、哺乳不良で初診。血液ガス分析で pH 7.579, PaCO₂ 52.7 torr, BE 23.1, HCO₃⁻ -48.2, Na 127.4, Cl 71, K 2.7 と低 Cl 性の代謝性アルカローシスを認めた。以後1歳7ヶ月までに嘔吐症、脱水症、電解質異常、気管支喘息、喘息様気管支炎などの診断名で13回の入退院を繰り返した。2009年11月(1歳8ヶ月)より咳嗽、喘鳴、チアノーゼ、陥没呼吸のため、気管支喘息重積発作の診断で、済生会川内病院小児科(鹿児島市)に入院となった(図1A, B:入院時の胸部X線写真, CT スキャン)。呼吸器病態は治療で改善したが、入院中の2010年1月に小腸イレウスを合併し、鹿児島大学小児外科に転院の上手術施行した。小腸内の硬い便塊による閉塞性イレウスであった。同病変は“meconium ileus equivalent”といわれた胎便イレウス同等の病態であり、最近では distal intestinal obstruction syndrome (DIOS) と称されている。同時期に施行したピロカルピンによる発汗試験では、汗中の Cl⁻ 濃度が 207 mEq/L であった。その後、2010年

5月に咳嗽、呼吸困難を主訴に済生会川内病院に入院。人工呼吸管理なども甲斐なく、7月に感染症、肺出血、呼吸不全で永眠された。

倫理面への配慮:「虎の門病院 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理委員会」において「日本人嚢胞性線維症患者における CFTR 遺伝子変異の検索」研究の審査を受け、承認を得た研究計画(受付番号第2005-5号)に準じて、患児の死亡前に主治医から患児の両親に対し当該症例の CFTR 遺伝子変異検索の臨床的、遺伝学的意義を説明した上、同意を取得した。

C. 研究結果

CFTR 遺伝子の両アレルにおいて、エクソン16から17bにかけての広範な deletion がホモ接合体の状態を確認された。この変異は2000年に Chevalier - Porst と Bozon により legacy name “CFTRdele16-17b” としてすでに CFMD に報告されている変異であり、新しい cDNA name では “c.(?_2909)_(33367_?) del” と命名される。同変異は CFTR 遺伝子のイントロン15からイントロン17bに及ぶ7 kb の欠失で、これに包含されるエクソン16, 17a, 17b のコドン is in frame で欠落する⁵⁾(図2)。

D. 考察

今回報告した1症例は、DIOSによる小腸イレウス、難治性反復性の下気道感染症と呼吸不全を伴い、2歳2ヶ月で死の転帰をとった重症のCF症例である。生前の汗 Cl⁻ 濃度が高値で、上記の臨床症状を呈し、さらに遺伝子変異検索で、CFTR 遺伝子の両アレルに “c.(?_

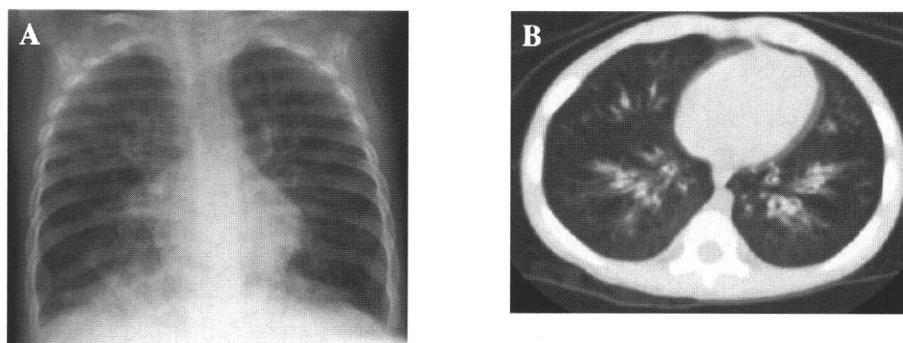


図1 呈示症例の胸部X線写真およびCTスキャン像

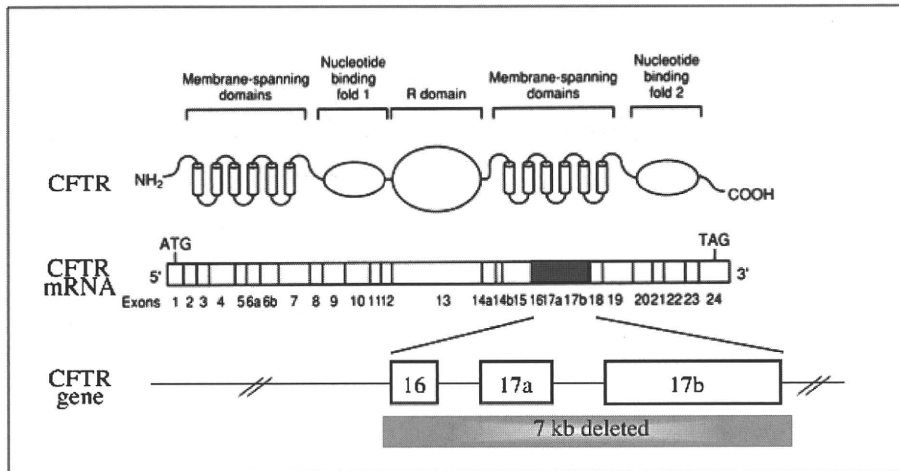


図2 Dclc16-17b 変異 : intron 15から intron 17b までの7 kb にわたる dclction

2909)_(33367_?)del?” 変異がホモ接合体として検出された。両親、兄2人の遺伝子検査は施行していないが、両親はともに同変異のキャリアーと推測される。また、兄2人の肺炎の既往などをみると、彼らも一方のCFTR遺伝子に同変異を有する可能性も示唆される。

CFTRdele16-17b [c.(?_2909)_(33367_?)del] 変異は必ずしも稀な変異ではなく、CFDMによるとCF患者の染色体では1/1500の頻度で見られるとの記載がされている。さらに、これまでわれわれが解析した25例のわが国のCF症例において、2例でこの“c.(?_2909)_(33367_?)del” 変異がホモ接合体で検出されており、いずれもすでに致死的な経過をとっている重症のCF症例であった⁶⁾。

全世界ではこれまでに1,800種以上のCFTR変異が報告されているが⁵⁾、近年わが国においてもCFTR変異検出体制が確立され、着実に変異の様相が明らかにされつつある^{3,6,9,10)}。しかしながらわが国のCF症例では欧米人CFの変異スペクトラムと全く様相を異にしており、きわめて稀な既報変異か、未だ報告のない新規の変異が大半を占めている⁶⁾。全ての対象疾患において、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異は検出され得ないため、現状ではそれぞれの症例において全エクソンの塩基配列を確認しなければ、変異の有無に関する結論が導き出せない。わが国の実情に合わせた変異検出システムの確立が焦眉である。

E. 結論

今年度は在胎40週の満期出産で出生した2歳の女兒症例において、反復性の呼吸器感染症、呼吸不全、糞便イレウス、などの臨床症状からCFを疑われ、CFTR遺伝子変異検索にて両CFTR遺伝子上にdele16-17b [c.(?_2909)_(33367_?)del] を確認しえた重症のCF症例を報告した。今後もわが国の日本人CF症例を出来る限り多く解析し、原因となるCFTR遺伝子の病的変異の種類、頻度を明らかにしたうえで、その変異検出システムを確立していきたい。

謝辞：症例の紹介・呈示を頂いた済生会川内病院小児科田中主美先生、鹿児島大学歯学総合研究科小児外科向井基先生に深謝する。

F. 参考文献

1. Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 7th edn. McGraw-Hill, New York, p3799-p3876, 1995.
2. Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science*, 256: 774-779, 1992.
3. 吉村邦彦. Cystic fibrosis. *日本胸部臨床*, 69 (8): 723-733, 2010.
4. Tsui L-C. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med*, 151: S47-S53, 1995.
5. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://>

www.genet.sickkids.on.ca/cftr/.

6. 吉村邦彦, 安齋千恵子. 日本人CF症例のCFTR遺伝子変異に関する検討. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成21年度 総括・分担研究報告書, P311-315, 2010.
7. Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Shioya T, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 24: 544-547, 1997.
8. 吉村邦彦. 日本人におけるCystic Fibrosisの実態とそのCFTR遺伝子変異. *Ther Res* 26: 1467-1475, 2005.
9. Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y. A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis. *Clin Genet*, 56: 173-175, 1999.
10. Morokawa N, Iizuka S, Tanano A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K. Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and 1540del10. *Hum Mutat (Online)*, May; 15(5): 485, 2000.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉村邦彦, 安齋千恵子. 日本人CF症例のCFTR遺伝子変異に関する検討. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成21年度 総括・分担研究報告書, P311-315, 2009.
- 2) 吉村邦彦. Cystic fibrosis. *日本胸部臨床*, 69(8): 723-733, 2010.

2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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

日本人嚢胞性線維症 1 症例の CFTR 遺伝子解析

研究報告者 石黒 洋 名古屋大学大学院健康栄養医学 教授

共同研究者

中莖みゆき, 山本明子 (名古屋大学大学院健康栄養医学)

洪 繁 (名古屋大学大学院医学系研究科消化器内科学), 藤木理代 (名古屋学芸大学管理栄養学部栄養学科)

丸山慎介, 柳元孝介 (鹿児島大学小児科)

伊藤 治, 中島守夫, 成瀬 達 (みよし市民病院)

【研究要旨】

胎便性イレウス, 肝機能障害, 気道感染に伴う呼吸不全から嚢胞性線維症(cystic fibrosis: CF)が疑われた1歳男児の cystic fibrosis transmembrane conductance regulator(CFTR)遺伝子解析を行った. 直接シーケンスにより, 125C 変異をヘテロに認めた. また, 患児の鼻粘膜拭い液より得られた CFTR 転写産物にエクソン 16-17b の欠損を認めた. 患児の CFTR ゲノムを再解析したところ, 片側のアレルにイントロン15-イントロン17b に渡る 7201bp の欠損型変異 c.2908+1085_3367+260del7201 が検出された. 数エクソンに及ぶ欠損型変異は, 欧米では数十種類検出されており, わが国でも本症例を含めて3例の報告がある. CFTR の遺伝子解析では, 欠損型変異を検出するシステムを加える必要があると考えられる.

A. 研究目的

嚢胞性線維症(CF)は, CFTR の遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である. 胎便性イレウス, 肝機能障害, 気道感染に伴う呼吸不全から嚢胞性線維症(cystic fibrosis: CF)が疑われた1歳男児の cystic fibrosis transmembrane conductance regulator(CFTR)遺伝子解析を行った.

B. 研究方法

1. ゲノム遺伝子の解析

末梢血より DNA を抽出し, 全27エクソンとその上下流数百 bp, およびプロモーター部(5'上流約 1000 bp まで)の塩基配列を直接シーケンスした.

2. CFTR mRNA の解析

鼻粘膜拭い液より RNA を抽出し(RNeasy Mini Kit, キアゲン), DNase 処理後, 逆転写反応を行い CFTR c.DNA を作成した(PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser, TaKaRa). 図1に示すように, 数エクソンを挟むようにしてプライマーを11セット作成し

(表1), PCR を行った. 予想されるサイズより短い位置にバンドが得られた PCR 断片(図2)を TA クローニングし(vector; pMD20-T, Mighty TA-cloning Kit, TaKaRa), シーケンス解析した.

3. ゲノムリアレンジメントの解析

CFTR mRNA でのエクソン16-17b の欠損が, スプライシング異常によるものか, ゲノム上の欠損によるものかを調べるため, エクソン15上とエクソン18上にプライマーを作成し, ゲノム DNA をテンプレートとして PCR を行った. 得られた PCR 産物を TA クローニングし, 徐々にプライマーの間隔を狭くして一度にシーケンス解析できる大きさの PCR 断片を得られるまで PCR を繰り返す, いわゆる「プライマーウォーキング」の手法で, 欠損箇所を挟む PCR 断片を得た. この PCR 断片をシーケンスした.

4. フラグメントテスト

今回検出したゲノム上での欠損を確認するプライマーセットを図5のように作成した. プライマー A とプライマー C の組み合わせでは

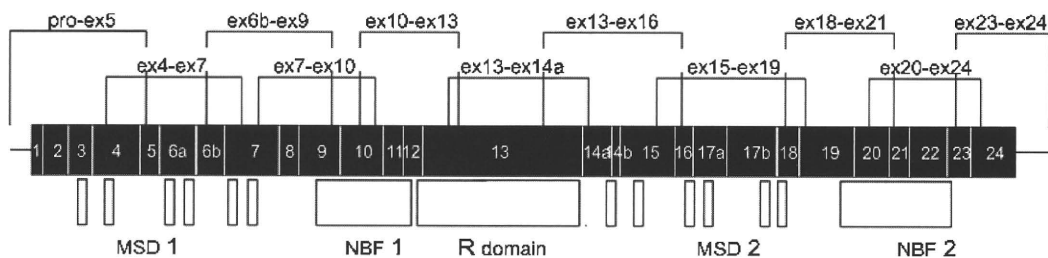


図1 CFTR mRNA の RT-PCR に用いたプライマーの位置と組み合わせ

表1 CFTR mRNA の RT-PCR に用いたプライマーの組み合わせと塩基配列

combination	position	sequence 5'-3'	fragment size
pro-exon5	80F	TTAGGAGCTTGAGCCCAGAC	615 bp
	694R	GGTTGTTGGAAAGGAGACTAA	
exon4-exon7	471F	CAAGGAGGAACGCTCTATCG	558 bp
	1028R	GCCTTCCGAGTCAGTTTCAG	
exon6b-exon9	946F	GTTAAGGCATACTGCTGGGAA	556 bp
	1501R	CAACCGCCAACAACACTGTCCT	
exon7-exon10	1142F	TCACCACCATCTCATTCTGC	560 bp
	1701R	TGCTTTGATGACGCTTCTGT	
exon10-exon13	1626F	GCCTGGCACCATTAAAGAAA	545 bp
	2170R	TCCAGGAGACAGGAGCATCT	
exon13-exon14a	2065F	ATGGGATGTGATTCTTTGACC	613 bp
	2677R	ATGTGTTCCATGTAGTCACTG	
exon13-exon16	2426F	AGGAGGCAGTCTGTCTGAA	668 bp
	3093R	CAGAAGGTCATCCAAAATTGC	
exon15-exon19	2992F	CATTCTGTTCTTCAAGCACCT	632 bp
	3623R	AAGACTCGGCTCACAGATCG	
exon18-exon21	3547F	ATCATGAGTACATTGCAGTGG	523 bp
	4069R	GATCACTCCACTGTTTCATAGG	
exon20-exon24	3942F	TGGTGTGTCTTGGGATTCAA	542 bp
	4483R	GAAAGAGCTTCACCCTGTCTG	
exon23-exon24	4309F	GCTGATTGCACAGTAATTCTC	473 bp
	4781R	ACTATTGCCAGGAAGCCATTT	

プライマーの位置は翻訳開始コドンの1文字目のAをc.DNAの+133として数えた。

欠損があるゲノムで PCR 断片が得られる。一方、プライマー A とプライマー B の組み合わせでは欠損のない正常なゲノムを検出できる。(倫理面への配慮)

「腭嚢胞線維症および関連疾患における CFTR 遺伝子解析」として、名古屋大学医学部生命倫理委員会にて承認済(650, 平成20年9月11日承認)である。

C. 研究結果

1. ゲノム遺伝子の解析

各エクソンとその近傍のシーケンス解析では、

125C 変異がヘテロに認められた。

2. CFTR mRNA の解析

鼻粘膜 RNA より作成した CFTR c.DNA の RT-PCR の結果を図2に示す。患児(P)では、エクソン7-10とエクソン15-19の RT-PCR で、予想されるサイズの PCR 断片と、より短い PCR 断片の2種類の断片が認められた。エクソン7-10の RT-PCR での短い断片は、健常人(C)にも認められ、エクソン9をスキップしたものであった。エクソン15-19の RT-PCR での短い断片は患児のみ(P)に認められ、シーケンスによりエクソン16-17b(495 bp)を欠い

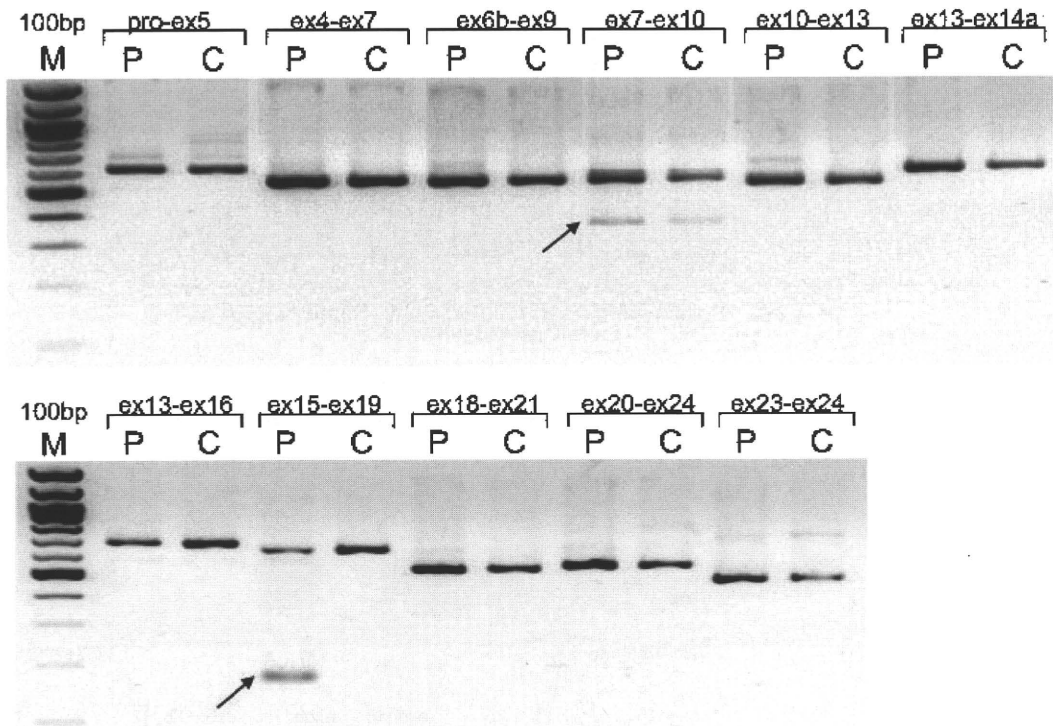


図2 CFTR mRNA の RT-PCR 電気泳動写真
P: 患児, C: 健常人. 患児に見られる短い PCR 断片の位置を矢印で示した.

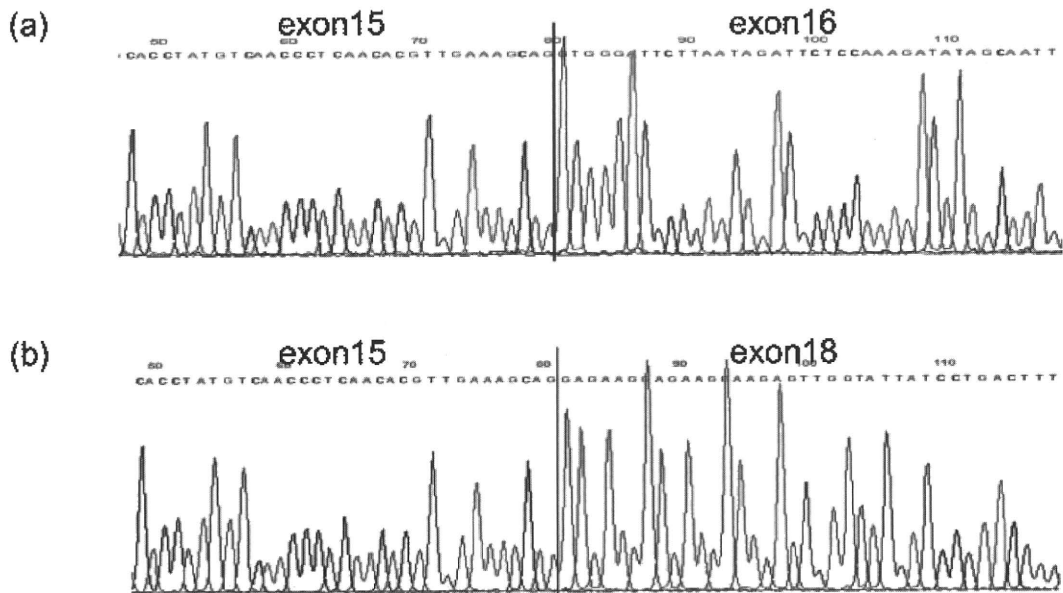


図3 exon15-exon19 の PCR 断片のシーケンス波形(部分)
(a): 全長の PCR 断片をシーケンスしたもの, (b): 短い PCR 断片をシーケンスしたもの
短い PCR 断片は, exon16-17b に相当する配列(495 bp)を欠損している.

た 173 bp の断片であることがわかった(図 3).

3. ゲノムリアレンジメントの解析

エクソン15上のプライマーとエクソン18上のプライマーを用いて, ゲノム DNA の PCR を行うと, 健常人では約11 kbp, 患児では約4 kbp のバンドを検出した. この4 kbp の PCR 断片を TA クローニングした後, プライマー

ウォーキングの結果得られた PCR 断片をシーケンスした. イントロン15上の c.2908+1086 (翻訳開始コドンの1文字目のAをc.DNAの+1とする.)からイントロン17b上の c.3367+259 までの7201 bp を欠損していた(図4). 欠損部分の塩基配列は, NT_007933のCFTR 遺伝子配列情報では148494から155694に相当

D. 考察

今回検出された CFTR 遺伝子変異(c.2908+1085_3367+260del7201)は、わが国では初めて検出された変異であり、フランスで韓国人の母親を持つ患者から確認された変異と同一である(Cystic Fibrosis Mutation Database, 1). 同じくエクソン16-17bを欠損する変異は、Porstらによるカナダの日系 CF 患者の報告(2), 吉村らによる日本人 CF 患者の報告(3, 4)があるが、欠損を起こしている範囲が本患児とは異なる。

CFTR 遺伝子の数エクソンに及ぶ欠損型変異は、欧米では34種類報告されており(1, 5~10), わが国でも本症例を含めて3例の報告がある。従来の直接シーケンスによるゲノム解析は、本患児のように欠損型変異をヘテロにもつ場合に検出できない。ゲノムの PCR により、欠損のないもう一方のアレルが増幅されてしまうからである。本患児の場合は、気道粘膜上皮における CFTR の発現を反映する鼻粘膜拭い液から抽出した CFTR mRNA を用いて、エクソン部の欠損の手がかりを得ることができた。CFTR の遺伝子解析では、欠損型変異を検出するシステムを加える必要があると考えられる。

E. 結論

嚢胞性線維症が疑われた1歳男児の CFTR 遺伝子解析を行った。エクソン16-17bを含む領域の欠損(c.2908+1085_3367+260del7201)と125C変異をヘテロにもつことが明らかになった。

F. 参考文献

1. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on>.
2. Chevalier-Porst F, Souche G, Bozon D. Identification and characterization of three large deletions and a deletion/polymorphism in the CFTR gene. *Hum Mutat* 2005; 25: 504.
3. 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. 日本人 cystic fibrosis 患者の CFTR 遺伝子変異解析. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究

事業)「難治性膵疾患に関する調査研究」平成15年度総括・分担研究報告書 2004; 239-243.

4. 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国における Cystic Fibrosis 患者の CFTR 遺伝子変異検索. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性膵疾患に関する調査研究」平成17年度総括・分担研究報告書 2006; 223-226.
5. Schneider M, Hirt C, Casaulta C, Barben J, Spinass R, Bühlmann U, Spalinger J, Schwizer B, Chevalier-Porst F, Gallati S. Large deletions in the CFTR gene: clinics and genetics in Swiss patients with CF. *Clin Genet* 2007; 72: 30-8.
6. Taulan M, Girardet A, Guittard C, Altieri JP, Templin C, Beroud C, des Georges M, Claustres M. Large genomic rearrangements in the CFTR gene contribute to CBAVD. *BMC Med Genet* 2007; 8: 22.
7. Niel F, Legendre M, Bienvenu T, Bieth E, Lalau G, Sermet I, Bondeux D, Boukari R, Derelle J, Levy P, Ruzsiewicz P, Martin J, Costa C, Goossens M, Girodon E. A new large CFTR rearrangement illustrates the importance of searching for complex alleles. *Hum Mutat* 2006; 27: 716-7.
8. Hantash FM, Redman JB, Starn K, Anderson B, Buller A, McGinniss MJ, Quan F, Peng M, Sun W, Strom CM. Novel and recurrent rearrangements in the CFTR gene: clinical and laboratory implications for cystic fibrosis screening. *Hum Genet*. 2006; 119: 126-36.
9. Paracchini V, Seia M, Coviello D, Porcaro L, Costantino L, Capasso P, Degiorgio D, Padoan R, Corbetta C, Claut L, Costantini D, Colombo C. Molecular and clinical features associated with CFTR gene rearrangements in Italian population: identification of a new duplication and recurrent deletions. *Clin Genet* 2008; 73: 346-52.
10. Svensson AM, Chou LS, Miller CE, Robles JA, Swensen JJ, Voelkerding KV, Mao R, Lyon E. Detection of large rearrangements in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator