

- asthma.
Am J Respir Cell Mol Biol. 2011;44:787-93.
- 2) Tamari M, Tomita K, Hirota T. Genome-Wide Association Studies of Asthma. Allergol Int. 2011; 60(3):247-52.
- 3) Masuko H, Sakamoto T, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. Lower FEV(1) in non-COPD, nonasthmatic subjects: association with smoking, annual decline in FEV(1), total IgE levels, and TSLP genotypes. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2011;6:181-9.
- 4) Okada Y, Hirota T, Kamatani Y, Takahashi A, Ohmiya H, Kumasaka N, Higasa K, Yamaguchi-Kabata Y, Hosono N, Nalls MA, Chen MH, van Rooij FJ, Smith AV, Tanaka T, Couper DJ, Zakai NA, Ferrucci L, Longo DL, Hernandez DG, Witteman JCM, Harris TB, O'Donnell CJ, Santhi K, Ganesh SK, Koichi Matsuda K, Tsunoda T, Tanaka T, Kubo M, Nakamura Y, Tamari M, Yamamoto K, Kamatani N. Identification of nine novel loci associated with white blood cell subtypes in a Japanese population. PLoS Genet 2011;7(6):e1002067.
- 5) Tantisira KG, Lasky-Su J, Harada M, Murphy A, Litonjua AA, Himes BE, Lange C, Lazarus R, Sylvia J, Klanderman B, Duan QL, Qiu W, Hirota T, Martinez FD, Mauger D, Sorkness C, Szeffler S, Lazarus SC, Lemanske RF, Peters SP, Lima JJ, Nakamura Y, Tamari M, Weiss ST. Genome-wide association of GLCCI1 with asthma steroid treatment response. N Engl J Med 2011;365:1173-1183
- 6) Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai TK, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N, Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang MJ, Kwon JW, Soo-Jong Hong SJ, Inoue K, Goto Y, Yamashita F, Asada T, Iwai N, Tomoike H, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, Saito H, Matsumoto K. Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. PLoS Genet 2011 Jul;7(7):e1002170.
- 7) Hirota T, Takahashi A, Kubo M, Tsunoda T, Tomita K, Doi S, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Miyagawa T, Adachi M, Tanaka H, Niimi A, Matsumoto H, Ito I, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Taniguchi M, Lima JJ, C. G. Irvin, S. P. Peters, B. E. Himes, Litonjua AA, Tantisira KG, Weiss ST, Kamatani N, Nakamura Y, Tamari M. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for adult asthma in the Japanese population. Nature Genetics 2011;43(9):893-6.
- 8) Masuko H, Sakamoto T, Kaneko Y, Iijima

H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. An interaction between Nrf2 polymorphisms and smoking status affects annual decline in FEV1: a longitudinal retrospective cohort study.

BMC Med Genet. 2011;12(1):97.

9) Kinose D, Ogawa E, Hirota T, Ito I, Kudo M, Haruna A, Marumo S, Hoshino Y, Muro S, Hirai T, Sakai H, Date H, Tamari M, Mishima M. NOD2 Gene Polymorphism was associated with prevalence and severity in Japanese COPD patients.

Respirology 2012;17:164-71.

10) Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Ezaki H, Takeuchi S, Furue M, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M. Variants of C-C motif Chemokine 22 (CCL22) are Associated with Susceptibility to Atopic Dermatitis: Case-Control Studies. PLoS One 2011;6:e26987.

11) Chang WC, Lee CH, Hirota T, Wang LF, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Tomita K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Ebe K, Saeki H, Takeuchi S, Furue M, Chen WC, Chiu YC, Chang WP, Hong CH, His E, Hank Juo SH, Yu HS, Nakamura Y, Tamari M. ORAI1 genetic polymorphisms associated with the susceptibility of atopic dermatitis in Japanese and Taiwanese populations.

PLoS One 2012 in press.

日本語総説

12) 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

13) 広田朝光、富田かおり、玉利真由美 特集：呼吸器疾患とエイジング、綜説 薬剤の効果と遺伝要因 呼吸と循環 59 : 597-604, 2011

14) 広田朝光、富田かおり、玉利真由美 特集 II : 食物アレルギー研究の新たな展開、食物アレルギーの遺伝子多型 臨床免疫・アレルギー科 55 : 629-635, 2011

15) 玉利真由美、富田かおり、広田朝光 特集：インフラマソーム、インフラマソームの NLRP3 遺伝子多型とアレルギー疾患 生体の科学 62 : 233-236, 2011

16) 玉利真由美、富田かおり、広田朝光 特集：遺伝子解析からアレルギー疾患の治療戦略を考える、アレルギー疾患と大規模遺伝子解析 小児科 52 : 817-822, 2011

17) 玉利真由美、富田かおり、広田朝光 総説：他領域からのトピックス、アレルギー疾患の発症や重症化への遺伝子多型の関与 日本耳鼻咽喉科学会会報 114 : 477-484, 2011

18) 玉利真由美 特集：アトピー性疾患のゲノム研究 アップデート、序：アレルギー疾患の

病態解明・遺伝要因からのアプローチの現況
アレルギー・免疫 18 : 1283-1285, 2011

19) 広田朝光、富田かおり、田中翔太、玉利真由美 特集:アトピー性疾患のゲノム研究 アップデート、VII : 食物アレルギーのゲノム解明の現況 アレルギー・免疫 18 : 1330-1336, 2011

20) 玉利真由美、富田かおり、広田朝光 特集:気管支喘息包囲網ー喘息死ゼロへ向けた最後の10年へ、トピックス:自然免疫と気管支喘息 内科 108 : 485-488, 2011

2. 学会発表

1) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:アレルギー最新研究情報. アレルギー週間講演会 2011年2月 青山こどもの城

2) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:アレルギー疾患、好酸球関連疾患の遺伝子解析研究の現況. 第16回免疫アレルギーアカデミー 2011年2月 愛知医科大学

3) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:気管支喘息重症化のメカニズム 最新の知見から. 第9回大阪 Zensoku 懇話会 2011年3月 リーガロイヤルホテル大阪

4) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:気管支喘息の遺伝要因の研究最前線. 第42回御堂筋アズマネットワーク勉強会 2011年3月 大日本住友製薬株式会社本社

5) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:第一

回みんなで楽しく学ぼう!アレルギーっ子ライフ!. 2011年4月 大阪府立呼吸器アレルギー医療センター

6) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり:テーマ館フリータイムプログラム 鼻アレルギーの新たな知見 アレルギー疾患と遺伝子. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会 2011年5月 千葉幕張メッセ

7) 玉利真由美、広田朝光、富田かおり、田中翔太:アレルギー疾患関連遺伝子研究の現況. 第2回次世代医療システム産業化フォーラム 2011 2011年7月 シティプラザ大阪

8) 玉利真由美、広田朝光:喘息の修飾因子をめぐって 体質(遺伝)基礎. 第31回六甲カンファレンス 2011年7月 ウェスティン都ホテル

9) Mayumi Tamari, Tomomitsu Hirota. : Effects of genetic polymorphisms in allergic diseases. Open Speech in University 2011年9月 Kaohsiung Medical University, Taiwan

10) 玉利真由美、広田朝光:アレルギー疾患関連遺伝子解析. 第29回呼吸器免疫シンポジウム 2011年10月 Top of the square

11) Mayumi Tamari, Tomomitsu Hirota : Genetic analysis of bronchial asthma . India-Japan Symposium on Global Challenges in Health and Environment 2011年10月 Indian

Embassy Auditorium

12) 玉利真由美、広田朝光：教育講演 9 アレルギー疾患関連遺伝子・ゲノムワイド関連解析を中心に。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011 年 11 月 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール

13) 増子裕典、金子美子、飯島弘晃、内藤隆志、坂本透、野口恵美子、広田朝光、玉利真由美：一般演題 健常者における 1 秒量の経年変化と Nrf2 遺伝子多型の検討。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011 年 11 月 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール

14) 富田かおり、坂下雅文、広田朝光、藤枝重治、玉利真由美：一般演題 アレルギー性鼻炎患者における ORMDL3 (ORM1-like 3)の関連解析。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011 年 11 月 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール

15) 飯島弘晃、増子裕典、金子美子、坂本透、内藤隆志、広田朝光、玉利真由美、今野哲、西村正治、檜澤伸之：一般演題 血清 IgE および吸入抗原特異的 IgE を用いた感作パターン解析ー茨城県と北海道の比較ー。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011 年 11 月 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール

16) 広田朝光、富田かおり、田中翔太、玉利真由美：一般演題 ゲノムワイド関連解析による成人気管支喘息発症に関連する 3 つの新規ゲノム領域の同定。第 61 回日本アレルギー学会

秋季学術大会 2011 年 11 月 グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール

17) 玉利真由美、広田朝光：シンポジウム 3-1 アレルギー関連遺伝子と感染。第 48 回日本小児アレルギー学会第 16 回アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学会合同学術大会 2011 年 10 月 福岡国際会議場

18) 山出史也、真下陽一、下条直樹、有馬孝恭、森田慶紀、広田朝光、土居悟、岡本美孝、河野陽一、玉利真由美、羽田明、鈴木洋一：ミニシンポジウム M2-1 日本人における喘息とマトリックスメタロプロテアーゼ 12 遺伝子多型との関連。第 48 回日本小児アレルギー学会第 16 回アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学会合同学術大会 2011 年 10 月 福岡国際会議場

19) 玉利真由美 広田朝光 富田かおり 田中翔太：重症喘息のメカニズム TSLP を中心に。第 1 回重症喘息研究フォーラム SARF 2011 年 12 月 経団連会館

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特願 2011-151111(平成 23 年 7 月 7 日出願)

一塩基多型に基づく免疫疾患の検査方法

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

NSAIDs 過敏喘息における唾液中の CysLTs と LTB4 濃度

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長
研究協力者 小野恵美子 ハーバード大学 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
梶原景一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員
三井千尋 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師

研究要旨：

すでに尿中ロイコトリエン E4 濃度 (U-LTE4) は、生体内の CysLTs 産生を反映する最も適切な指標として広く認識されている。しかし尿中 LTE4 測定は、尿量による影響（クレアチニン補正が必要）、尿中測定阻害物質の存在、さらに月経時や排尿後に採取不能となるなど、幾つかの欠点も指摘される。さらにまた尿中における LTB4 濃度は正確には測定困難であった。そこで今回、我々は、それらの欠点を有せず、かつ非侵襲的に繰り返し採取可能な唾液中の CysLTs と LTB4 濃度に着目し、その濃度測定の可否や意義を、特にアスピリン喘息 (AIA) で明らかにすることを目的とした。AIA では唾液においても CysLTs 過剰産生が証明された。また CysLTs のうち LTC4 の有意な増加も初めて確認された。さらに従来不明であった LTB4 も AIA で産生亢進している可能性が示唆された。以上の結果は、①今後唾液が脂質メディエーター測定の有益なサンプルであることを示している。②従来 CysLTs 産生亢進だけが AIA の病態であるととらえられてきたが、LTB4 も増加、すなわち 5-リポキシゲナーゼ (5-LO) 系全体の産生亢進をきたしている可能性を示している。(Ono E et al. Allergol Int. 60(1): 37-43, 2011.)。

A. 研究目的

すでに尿中ロイコトリエン E4 濃度 (U-LTE4) は、生体内の CysLTs 産生を反映する最も適切な指標として広く認識されている。しかし尿中 LTE4 測定は、尿量による影響（クレアチニン補正が必要）、尿中測定阻害物質の存在、さらに月経時や排尿後に採取不能となるなど、幾つかの欠点も指摘される。さらにまた尿中における LTB4 濃度は正確には測定困難であった。そこで今回、我々は、それらの欠点を有せず、かつ非侵襲的に繰り返し採取可能な唾液中の CysLTs と LTB4 濃度に着目し、その濃度測定の可否や意義を、特にアスピリン

喘息 (AIA) で明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象：アスピリン負荷試験で確定診断した AIA 15 例および、年齢、性別、重症度をほぼマッチさせ負荷試験で NSAIDs 過敏が否定された非 AIA 11 例と健常人 10 例を対照とした。1-2 ml の唾液を午前中に採取後、-35 度で測定まで 0-2 ヶ月保存した。測定は既報の方法 (HPLC で精製後に Cayman の EIA キット) にて LTC4, D4, E4, B4 を測定した。

(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

【唾液中の CysLTs 濃度と LTB4 濃度測定可否と再現性】図 1, 2 に示すように、十分な測定感度をもって唾液中の CysLTs と LTB4 は測定可能であることが確認できた。また再現性も十分であった(データ省略)。【唾液中各 CysLTs 濃度とアスピリン過敏性】従来尿中ではとらえられなかった LTC4、D4 濃度も十分測定可能であることが判明した。また AIA では LTE4 だけでなく、LTC4 が非 AIA に比し有意に高値であった(図 1)。【唾液中の LTB4 濃度の比較】尿中では測定困難であった LTB4 濃度が唾液中で測定でき、かつ AIA での有意な増加が初めて確認された(図 2)。

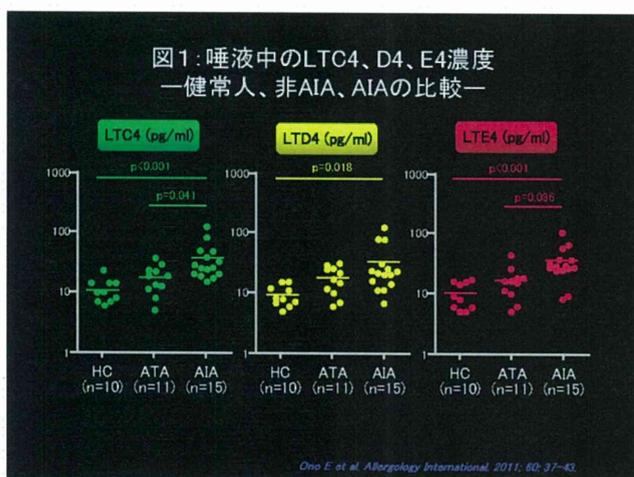
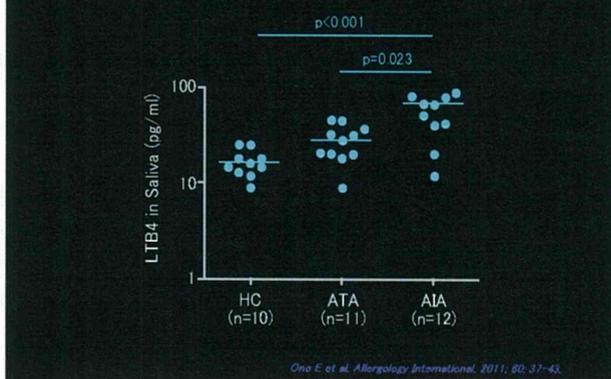


図 2: 唾液中の LTB4 濃度 健常人、非 AIA、AIA の比較



D. 考察

AIA では唾液においても CysLTs 過剰産生が証明された。また CysLTs のうち LTC4 の有意な増加も初めて確認された。さらに従来不明であった LTB4 も AIA で産生亢進している可能性が示唆された。以上の結果は、①今後唾液が脂質メディエーター測定の有益なサンプルであることを示している。②従来 CysLTs 産生亢進だけが AIA の病態であるにとらえられてきたが、LTB4 も増加、すなわち 5-リポキシゲナーゼ (5-LO) 系全体の産生亢進をきたしている可能性を示している。(Ono E et al. Allergol Int. 60(1): 37-43, 2011.)

E. 結論

- ①今後唾液が脂質メディエーター測定の有益なサンプルであることを示している。
- ②従来 CysLTs 産生亢進だけが AIA の病態であるにとらえられてきたが、LTB4 も増加、すなわち 5-リポキシゲナーゼ (5-LO) 系全体の産生亢進をきたしている可能性を示している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

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

アスピリン喘息では抗炎症性メディエーター（LXs）産生低下が特徴的である

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長
研究協力者 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床研究センター 病態総合研究室 研究員
梶原景一 国立病院機構相模原病院床研究センター 病態総合研究室 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
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床研究センター センター長

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。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。また AIA が重症である機序の本質にせまる今後の研究の一助となる。

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 AIA

15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	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 (NeogenI)

(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

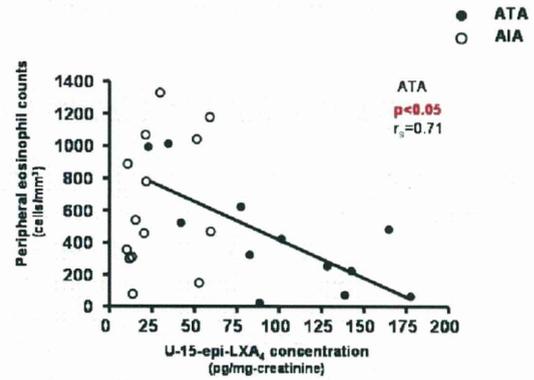
1) 尿中 LX 濃度は尿中 15-epi-LXA4 と正の相関が見られるが、腎臓での 15-PGDH の代謝を受け有意に低値で 15-epi-LX の方が、感度の面で尿のバイオマーカーとして有用である。

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, rs =0.45)

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)

【末梢血好酸球数と尿中15-epi-LXA₄濃度の相関】



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

(Yamaguchi et al. 2010 unpublished data)

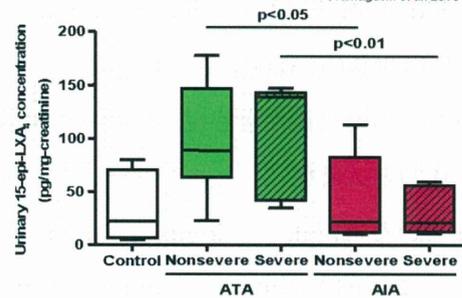
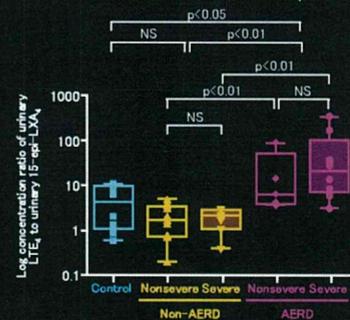
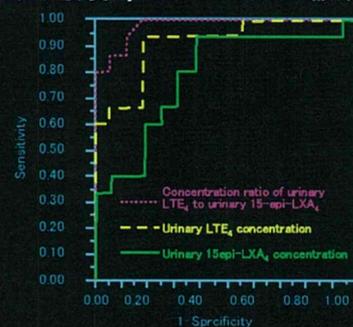


図3: Ratio of U-LTE4/U-15-epi-LXA4



Yamaguchi et al. Clinical Experimental Allergy, 2011 in press

図4:尿中濃度CysLTs/LXsはAIA診断に有用



Yamaguchi et al. Clinical Experimental Allergy, 2011 in press

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。今後 LX アナログが アスピリン喘息をはじめとする重症喘息群の治療薬となりう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

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

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

NSAIDs 過敏反応におけるマスト細胞の関与に関する研究

研究代表者 谷 口 正 実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長
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
三 田 晴 久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員
三 井 千 尋 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
梶 原 景 一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員

研究要旨：

我々は過去に、アスピリン喘息におけるアスピリン誘発反応には、好酸球活性化は生じないが、マスト細胞活性化が生じることを証明し報告してきた（CEA2003,2004,Allergy 2004 etc）。しかし、マスト細胞活性化の旧来の指標の増加はわずかであり、本当にマスト細胞活性化が生じているかは十分に解明されていなかった。さらに2010年に我々は新規マスト細胞活性化指標である2,3-dinor-9 α 11 β -PGF₂測定系をまず確立し、旧来の指標以上に新規指標は増加し、その増加とU-LTE4は強く相関し、アスピリン喘息におけるマスト細胞活性化が証明した（JACI 2010）。しかし、この増加幅は不十分であったため、今回さらなる新規代謝産物を同定し、検討した結果、アスピリン過敏には、マスト細胞活性化が確実に生じてることが確認できた（JACI 2011）これらの成績は国際的にも初めてであり、AIA機序の本質にせまる今後の研究の一助となる

A. 研究目的

喘息型 NSAIDs 不耐症（いわゆるアスピリン喘息（以下 AIA）は COX-1 阻害を有するすべての NSAIDs 投与により、気道収縮反応を誘発する。その反応の主役はマスト細胞と考えられているが、十分な証拠は得られていない。

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、病歴から AIA が疑われた 18 名を対象に、診断目的で行われたアスピリン負荷試験を行った。負荷試験の結果、AIA10 名と非 AIA8 名であった。アナフィラキシー (AN)発作群 8 名も同様に検討した

2) 負荷試験前後の尿を用いて、すべて HPLC による精製・抽出後 PGF₂ α , ent-PGF₂ α について EIA にて測定した。

（倫理面への配慮）

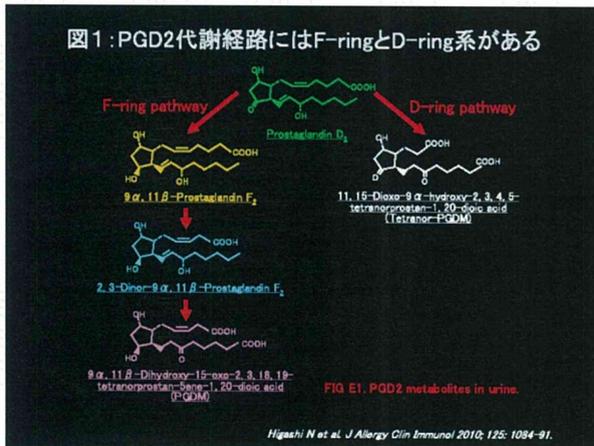
- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

1) AIA 群においては、2,3-dinor-9 α 11 β -PGF₂（新規マスト細胞活性化指標で PGD2 代謝産物）が著増することが判明した。

2) AIA 群も AN 発作群も尿中 LTE4 や尿中 PGD2 代謝産物には有意な正の相関が見られ

たが、その相関パターンは明らかに異なっていた。



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

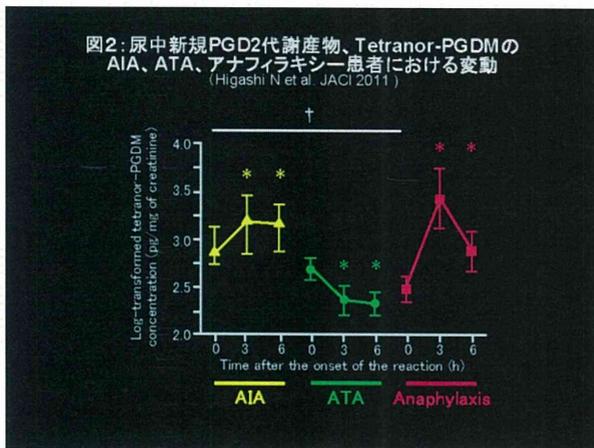
「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

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

D. 考察

アスピリン喘息では、アスピリン誘発時にマスト細胞が活性化し、CysLTs 産生の主役で有ることが証明された。さらに同様の反応を示すアナフィラキシーとは、病態が異なることが証明された。

E. 結論

アスピリン喘息において、新規バイオマーカーによる検討で、アスピリン過敏反応ではマスト細胞が強く関与していることが証明された。

NSAIDs 過敏喘息における好塩基球の関与

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長
研究協力者 小野恵美子 ハーバード大学 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
梶原景一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究室 研究員
三井千尋 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師

研究要旨：

アスピリン喘息は著明な Cys-LTs 産生亢進を示す病態でありながら、その産生源でありうる好塩基球の関与は全く不明であった。今回はアスピリン喘息における好塩基球の関与を証明することを目的とした。その結果、ヒト喘息では安定期でも好塩基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることがはじめて示された（Ono et al. JACI 2010）。また AIA と非 AIA の比較においては AIA のほうが有意に好塩基球の活性化細胞が少なく、アスピリン誘発時にはさらに減少する可能性が示唆された。これらの結果は少なくとも、ヒト喘息において、好塩基球が関与していること、さらにむしろアスピリン喘息では好塩基球活性化が抑制されている可能性を示唆している。

A. 研究目的

ヒト喘息において、好酸球や肥満細胞の活性化を中心としたアレルギー性炎症は広く研究され多くの確証が得られている。その一方で、末梢血中の好塩基球は、その重要性が以前から指摘されながらも、その役割はほとんど不明であった。すでに好塩基球はマスト細胞と並んでメディエーターの主要産生細胞であることが動物モデルにて報告されており、またヒトにおいては、喘息死剖検標本での好塩基球の気道への浸潤が報告されている。われわれは一般喘息において発作時に好塩基球の活性化を初めて証明した（JACI2010 小野恵美子ら）一方、アスピリン喘息は著明な Cys-LTs 産生亢進を示す病態でありながら、その産生源でありうる好塩基球の関与は全く不明であった。今回はアスピリン喘息における好塩基球の関与を証明することを目的とした。

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から、①喘息発作患者 24 例。安定喘息患者 16 例、健常者 11 例。②アスピリン喘息 14 例も追加検討した（安定期と発作時）。

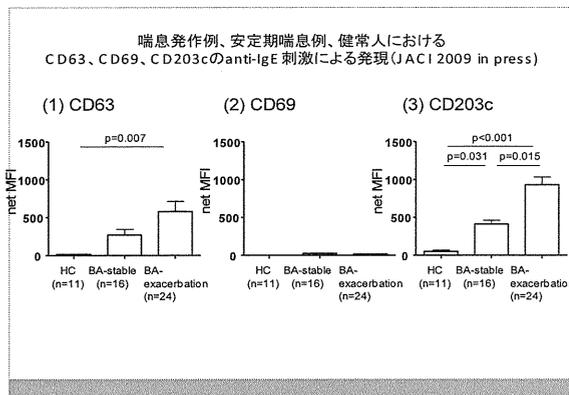
2) 方法：末梢血好塩基球の CD63、CD69、CD203c の各発現を flow cytometry を用いて測定した。また、anti-IgE, Derp1, IL-3, 15R-MePGD2 の各刺激に対する反応を測定した。

（倫理面への配慮）

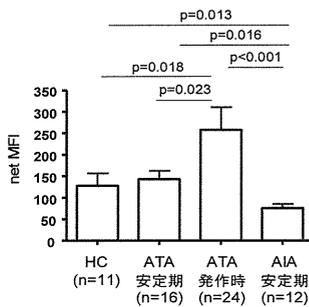
- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

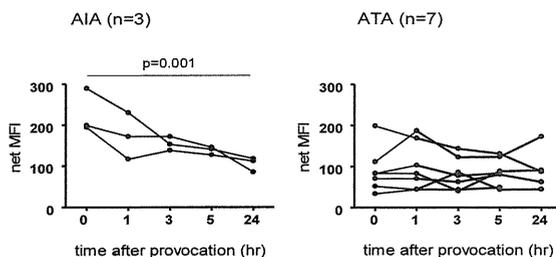
すでに JACI2010 に掲載されたとおり、一般喘息では好塩基球の活性化が発作時に生じていた (図上)。一方、AIA 安定期では、むしろ活性化が抑制されていた (図中)。また例数は不十分であるが、アスピリン過敏反応時の好塩基球はむしろ活性化が抑制もしくは末梢血から消退していることが示唆された (図下)。



AIA患者、ATA患者、健康人におけるCD203c発現の比較



アスピリン負荷試験時のCD203c発現の推移



D. 考察

今回の検討で、ヒト喘息では安定期でも好塩基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることがはじめて示された (図上: JACI 2010)。また AIA と非 AIA の比較においては AIA のほうが有意に好塩基球の活性化細胞が少なく (図中)、アスピリン誘発時にはさらに減少する可能性が示唆された (図下)。これらの結果は少なくとも、ヒト喘息において、好塩基球が関与していること、さらにアスピリン喘息では好塩基球活性化が抑制されている可能性を示唆しているが、特に後者の AIA に関しては今後の症例の集積が必要である。

E. 結論

1) ヒト喘息において安定期と発作時の好塩基球の活性化をはじめて証明した (JACI 2010)

2) AIA では、好塩基球活性化がむしろ抑制されている可能性がある

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

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

アスピリン喘息患者における難治性鼻茸の網羅的蛋白解析と機能解析

研究分担者 藤 枝 重 治 福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授
研究協力者 鈴木 弟 福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員
田 中 幸 枝 福井大学医学部分子生命化学 助教
春 名 眞 一 獨協医科大学耳鼻咽喉・頭頸部外科 教授
月 舘 利 治 獨協医科大学耳鼻咽喉・頭頸部外科 講師

研究要旨：

アスピリン不耐症(AIA) 患者における鼻茸の難治性・再発性の解明のために、我々はこれまで網羅的蛋白解析（プロテオーム解析）を行い、AIA 群において有意に発現亢進している 2 つの蛋白質 protein-X（仮称）と lysophospholipase を同定してきた。鼻茸組織において protein-X は好酸球細胞質に発現し、好酸球数と強い相関を占めていた ($r=0.75, p<0.0001$)。また、AIA 群、喘息群、喘息なし群の順に protein-X 陽性細胞数は有意に多く ($p<0.05$)、protein-X はアスピリン不耐症の診断・治療につながる可能性を示していた。

次に protein-X の機能解析のために、好酸球に分化させた EoL-1 に対し、好酸球関連サイトカインやロイコトリエンで刺激を行ったが、protein-X の発現は変化しなかった。次にアスピリンにて刺激をすると LTC₄ の mRNA 発現が亢進した。LPS 刺激では、protein-X の mRNA 発現とともに cysLT1R の mRNA 発現が亢進した。アスピリン不耐症患者の気管粘膜では、LTC₄ と cysLT1R の発現亢進が報告されており、非常に面白いと思われた。さらに protein-X の siRNA によってノックダウンすると EoL-1 の cysLT1R の発現が低下した。以上のことから protein-X が、AIA に関与している可能性が見出せた。しかし protein-X の機能はまだ不明な点が多く、今後さらなる検討が必要である。

また、これまでのプロテオーム解析で同定まではできなかったが、ゲルサイズを大きくし、等電点を広くすることにより、新たに 2 種類の蛋白が同定しえた。こちも今後機能解析を行う予定である。

A. 研究目的

アスピリン不耐症(AIA) 患者における鼻茸の難治性・再発性の解明のために、我々はこれまで網羅的蛋白解析（プロテオーム解析）を行ってきた。その結果、AIA 群で有意に発現が 2 倍以上亢進している 61 スポットと、発現が 0.5 倍以下に減少している 33 スポットを同定した。そのうち、AIA 群において有意に発現亢進している 2 つの蛋白質を同定できたが、そ

これらの鼻茸における機能はわかっていない。今回はそれらの機能、発現調節、アスピリンとの関係を検討することを目的とした。さらに、前回同定できなかった他の多数の蛋白質の更なる同定を目的とした。

B. 研究方法

好酸球における protein-X の機能解析を行

うために、apicidin で好酸球に分化誘導した好酸球様細胞株 EoL-1 を用いて実験を行った。好酸球の活性化・生存・浸潤に重要であるサイトカイン・ケモカイン (IL-4、IL-5、IL-13、RANTES、Eotaxin、TNF α)、LTB4、LTD4 にて刺激し、protein-X の発現変化を real time polymerase chain reaction (PCR)法で検討した。

次に、Lipopolysaccharide (LPS)とアスピリンが好酸球に及ぼす影響を、同じく EoL-1 細胞株を使用して検討した。LPS、アスピリンそれぞれの存在下、もしくは protein-X に対する siRNA 遺伝子導入後、EoL-1 細胞株における protein-X と CysLT1R の mRNA 発現変化を real time PCR 法にて測定した。

さらに、前回までのプロテオーム解析では、幾つかの蛋白質同定できなかった。そこで今回は、ゲルサイズをさらに大きくし、等電点も広く (4-10) する工夫を行った。さらに AIA 群 8例とコントロール群 8例のサンプルを各々等量ずつ混合することにより総蛋白質量を増やし、AIA 群とコントロール群をそれぞれの群全体で比較することにした。

(倫理面への配慮)

「慢性好酸球性炎症疾患の網羅的遺伝子解析と網羅的蛋白解析に関する研究」、「慢性副鼻腔炎に関する疫学調査と遺伝子解析研究」の題名で福井大学医学部倫理委員会の承認を受け、本研究を行った。またデータシートを作成は、個人を特定できる情報を削り、代わりに新しく符号を付けた。血清・血球の使用に関しては、実験に使用することを患者に十分説明し、文書で同意を得た。試料や診療記録は、分析する前に住所、氏名、生年月日などの個人を特定でき

る情報を削り、代わりに新しく符号を付け、どこの誰の試料かがわからないようにした上で厳重に保管し、研究に使用した。

C. 研究結果

分化誘導した EoL-1 細胞株を IL-4、IL-5、IL-13、RANTES、Eotaxin、TNF α 、LTB4、LTD4 で刺激しても、protein-X の mRNA 発現変化は認められなかった。しかし、LPS で刺激することにより、CysLT1R は発現が有意に増加し、protein-X の発現も増加傾向がみられた。またアスピリンの処理によって LTC4mRNA の発現は上昇した。次に protein-X の siRNA を導入すると LPS 刺激による CysLT1R mRNA の上昇は解除された。

一方、今回の新たなプロテオーム解析により、AIA 群で発現が増加していた蛋白質 3 種類が同定できた。うち 1 種類は、前回のプロテオーム解析での解析と同じ蛋白であった。逆に AIA 群で発現が減少していた蛋白質は 5 種類存在し、うち 4 種類同定できた。AIA 群で発現が減少していた蛋白質のうち 1 種類 (protein-Y と仮称) は、プロテオーム解析では AIA 群で全く発現が認められない蛋白質であった。

D. 考察

好酸球様細胞株 EoL-1 を LPS で刺激することにより、CysLT1R 及び protein-X の発現が増加した。CysLT1R は AIA で発現が亢進しており、AIA 発症に重要な因子の一つである。このことは EoL-1 細胞における LPS 刺激が AIA の in vitro モデルになる可能性が見出された。さらに、protein-X の発現は CysLT1R 発

現に関連しており、protein-Xがアスピリン不耐症に重要な役割を担っていることが示唆された。また、今回のプロテオーム解析で新たに同定した protein-Y は、AIA 群では全く発現しておらず、protein-Y を誘導することで AIA 発症阻止、もしくは予防に結びつく可能性があると考えられた。

E. 結論

protein-X や protein-Y は AIA 発症に重要な役割を担っている可能性が高いが、その機序解明や役割はまだ不明である。現在、EoL-1 細胞株に protein-X 及び protein-Y の強制発現もしくは発現抑制を行い、CysLT1R 発現と PGE₄、LTE₄ などアラキドンサン代謝物を測定することと、好酸球の活性化を調べることを検討中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yamada T, Saito H, Kimura Y, Kubo S, Sakashita M, Susuki D, Ito Y, Ogi K, Imoto Y, Fujieda S: CpG-DNA suppresses poly(I:C)-induced TSLP production in human laryngeal arytenoid fibroblasts. *Cytokine*. 57(2):245-50, 2012.2.

2) Chang WC, Lee CH, Hirota T, Wang LF, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Tomita K,

Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Ebe K, Saeki H, Takeuchi S, Furue M, Chen WC, Chiu YC, Chang WP, Hong CH, Hsi E, Juo SH, Yu HS, Nakamura Y, Tamari M: ORAI1 genetic polymorphisms associated with the susceptibility of atopic dermatitis in Japanese and Taiwanese populations. *PLoS One*. 7(1):e29387. 2012.1.

3) Yamada T, Jiang X, Kubo S, Sakashita M, Narita N, Yamamoto H, Sunaga H, Fujieda S: B type CpG-DNA suppresses poly(I:C)-induced BlyS expression and production in human tonsillar fibroblasts. *Clin Immunol*. 141:365-71, 2011.12.

4) Yoshimura K, Kawata R, Haruna S, Moriyama H, Hirakawa K, Fujieda S, Masuyama K, Takenaka H: Clinical epidemiological study of 553 patients with chronic rhinosinusitis in Japan. *Allergol Int*. 60(4):491-6, 2011.12

5) Higashino M, Takabayashi T, Takahashi N, Okamoto M, Narita N, Kojima A, Hyo S, Kawata R, Takenaka H, Fujieda S: Interleukin-19 downregulates interleukin-4-induced eotaxin production in human nasal fibroblasts. *Allergol Int*. 60(4):449-57, 2011.12.

6) Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, Ebihara T,

- Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Noguchi E, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M: Variants of C-C motif chemokine 22 (CCL22) are associated with susceptibility to atopic dermatitis: case-control studies. PLoS One. 6(11):e26987. 2011.11
- 7) Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N, Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang MJ, Kwon JW, Hong SJ, Inoue K, Goto Y, Yamashita F, Asada T, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, Saito H, Matsumoto K: Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. PLoS Genet. 7(7):e1002170. 2011.7.
- 8) Okubo K, Kurono Y, Fujieda S, Ogino S, Uchio E, Odajima H, Takenaka H, Baba K: Japanese Society of Allergology: Japanese guideline for allergic rhinitis. Allergol Int. 60(2):171-89, 2011.3.
- 9) Yamamoto H, Yamada T, Takabayashi T, Sunaga H, Oh M, Narita N, Kojima A, Fujieda S: Platelet derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase enhanced human IgE production. Allergol Int. 60(1):79-85, 2011.3.
- 10) Matsumoto Y, Noguchi E, Imoto Y, Nanatsue K, Takeshita K, Shibasaki M, Arinami T, Fujieda S: Upregulation of IL17RB during natural allergen exposure in patients with seasonal allergic rhinitis. Allergol Int.;60(1):87-92, 2011.3.
- 11) Imoto Y, Kojima A, Osawa Y, Sunaga H, Fujieda S: Cough reflex induced by capsaicin inhalation in patients with dysphagia. Acta Otolaryngol. 131(1):96-100, 2011.1.
- 12) 藤枝重治、鈴木弟、扇和弘：副鼻腔炎と合併する気管支喘息の病態と治療戦略を探る。大田健（編）抗体治療時代の気管支喘息治療の新たなストラテジー 先端医学社 86-93, 2011.2
- 13) 藤枝重治：鼻副鼻腔炎。山口徹，等（編）：今日の治療指針。2012，医学書院，1258, 2011.12
- 14) 藤枝重治：アレルギー性鼻・副鼻腔炎 2) 病態・診断・疫学 小児科臨床 63(12):2659-2664, 2010.12.
2. 学会発表
- 1) 鈴木弟、田中幸枝、月舘利治、伊藤有未、能美希、児玉悟、鈴木正志、山田武千代、出原賢治、春名眞一、藤枝重治：鼻茸組織におけるアスピリン不耐症特異的蛋白の検索。アスピリン不耐症・難治性喘息研究会 2011.11. 東京
- 2) 鈴木弟、田中幸枝、月舘利治、伊藤有未、

能美希、児玉悟、鈴木正志、山田武千代、
出原賢治、春名眞一、藤枝重治：アスピリン不
耐症と慢性副鼻腔炎における鼻茸の相違
第 50 回日本鼻科学会学術講演会
2011. 12. 岡山

3. その他
なし

3) Fujieda S, Sakashita M, Hirota T, Osawa
Y, Harada M, Yoshimoto T, Tamari M:
Association between genetic variant of
interleukin-33 and seasonal allergic rhinitis
in the Japanese population. Collegium
Oro-Rhio-Laryngologygicum Amicitiae
Sacrum 2011.9. Bruges, Belgium

4) Fujieda S: New clinical marker for
allergic rhinitis. 14th International
Rhinology Society & 30th International
Symposium on Infection and Allergy of the
Nose 2011.9. Tokyo, Japan

5) Fujieda S: New therapeutic strategy for
allergic rhinitis. 11th Japan-Taiwan
Conference on Otolaryngology-Head and
Neck Surgery 2011.12. Kobe, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

アスピリン喘息における分子標的治療
（出願予定）

2. 実用新案登録

なし