

7. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. *J Am Diet Assoc.* 2008; 108: 832-839.
 8. 石黒 洋, 成瀬 達, 山本明子, 吉村邦彦, 辻一郎, 栗山進一, 菊田和宏, 下瀬川徹. 腭嚢胞線維症患者の栄養障害の実態と治療の現況. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性腭疾患に関する調査研究」平成23年度総括・分担研究報告書 2012; 359-364.
 9. 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: 813-820.
 10. 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: 957-969.
 11. 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.
 12. 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.
 13. Moss RB. Long-term benefits of inhaled tobramycin in adolescent patients with cystic fibrosis. *Chest.* 2002; 121: 55-63.
 14. 吉村邦彦. ピロカルピンイオン導入法. 腭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; 20-21.
 15. 中莖みゆき, 石黒 洋. 指先クロール試験. 腭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; 22-23.
 16. Naruse S, Ishiguro H, Suzuki Y, Fujiki K, Ko SB, et al. A finger sweat chloride test for the detection of a high-risk group of chronic pancreatitis. *Pancreas.* 2004; 28: e80-85.
 17. Naruse S, Ishiguro H, Shirota K, Nakakuki M, Yamamoto A, Kondo T. Sweat chloride measurement with a highly sensitive electrode. *Pancreas.* 2006; 33: 100.
- 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

Ⅲ. 瘳囊胞線維症
2) 各個研究プロジェクト

嚢胞性線維症に対する新たな薬物療法

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（国家公務員共済組合連合会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)はコーカサス系白人種に多い常染色体劣性遺伝性疾患であり、CFTR 遺伝子の変異に起因する。すでに1,930種以上の病的 CFTR 変異がデータベース上に登録されている。一方、わが国では極めて稀な疾患ではあるが、徐々に症例が蓄積されてきた。近年になり、わが国でも稀少疾患である CF 患者を対象とした欧米発の薬物療法の導入が図られつつある。

現在欧米では CF に対する薬物療法の進歩がめざましい。米国 Vertex 社の CFTR 蛋白“potentiator”である ivacaftor (VX-770)が、遺伝子変異 G551D(クラスⅢ変異)を少なくとも一方のアリルに有する CF 患者での二重盲検試験において、1秒量のベースラインからの変化量を有意に増加させることが示された。このほか、ivacaftor 群で急性増悪の危険性、自覚症状の改善、体重増加、汗中の Cl⁻ イオン濃度の改善、の面でも有意に優れた結果が示された。この成績をもとに、2012年1月末に CF 患者の治療薬として米国 FDA による承認を受け、Vertex 社は ivacaftor を KALYDECO™ として販売開始した。その後、同年7月にヨーロッパ、12月にカナダ当局の承認を受けるに至っている。

一方、同社は CFTR 蛋白の“corrector”として lumacaftor (VX-809)を開発し、CFTR F508del(クラスⅡ変異)ホモ接合体患者を対象とした単剤投与試験、ならびに ivacaftor との併用療法効果を検討する Phase II 試験を行い、併用で肺機能(1秒量)の改善が得られることを、2012年10月の北米 CF 会議で報告している。

上記成果から、わが国の CF 症例の一部にも同クラスに属する変異症例があり、これらに対しては上記の新規治療薬投与の恩恵が受けられる可能性もありうるため、今後検討を進める必要がある。

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コーカサス系白人種に頻度の高い常染色体劣性遺伝性疾患であり、多機能蛋白である CFTR をコードする遺伝子の突然変異に起因する^{1~4)}。

2013年1月現在1,930種の病的 CFTR 変異がデータベース上に登録されている⁴⁾。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きたが³⁾、徐々に臨床家の関心を得て症例が蓄積されて来ており、過去10数年にわたってわが国での CFTR 変異の状況が明らかにされてきた^{3,5)}。

研究協力者らは PCR-SSCP 法、直接シーケンシング法などによる 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27例の CF 症例において遺伝子変異を確認し得た⁵⁾。

一方、治療に関しては、近年になりわが国でも稀少疾患である CF 患者を対象とした欧米発の薬物療法の輸入が図られつつある。膵酵素製剤 LipaCreon、喀痰中の高濃度の DNA を分解し粘稠度を下げる吸入剤 Pulmozyme、抗生剤吸入剤 TOBI が厚労省により CF の治療薬として認可されるに至っている。

このなかで、現在欧米では CFTR 機能に特化した分子標的作用を有する薬物療法の進歩がめざましい。

今年度は新規 CF 薬の中で、2012年内に欧米で認可された ivacaftor (VX-770)、ならびに臨床試験中の lumacaftor (VX-809)に関して検証し、わが国の CF 症例に対するこれらの薬剤の

投与の可能性を検討した。

B. 研究方法

今年度の検討は、新規 CF 薬の中で2012年内に欧米で認可された ivacaftor, ならびに臨床試験中の lumacaftor (VX-809)に関する有効性、有用性に関して文献的に検証した。

C. 研究結果

まず、CF Mutation Database (CFMD) に2013年1月現在登録されている CFTR 遺伝子変異の変異カテゴリー別の変異数とその頻度を示したものを表1に示す⁴⁾。また、CFTR 変異は結果的に生じる CFTR 蛋白機能の質的・量的障害に基づいてクラス I～V に分類される

表1 これまでに CFMD に登録された CFTR 遺伝子変異のカテゴリー別総数と頻度

Mutation Type	Count	Frequency %
Missense	778	40.27
Frameshift	306	15.84
Splicing	226	11.70
Nonsense	161	8.33
In frame in/del	38	1.97
Large in/del	49	2.54
Promoter	15	0.78
Sequence variation	269	13.92
Unknown	90	4.66
Total	1,932	100.00

(文献4より引用, 一部改変; 2013年1月現在)

(図1)^{4,6)}。近年、この CFTR 機能障害をターゲットにした“modulator”薬が複数開発されるに至っている。米国の CF 財団(CFF)が中心となって発足した CF Therapeutic Development Network(CF-TDN)が臨床試験、その後の当局との交渉から承認までの過程への協力・後援などに力を注いでいる⁶⁾。

米国 Vertex Pharmaceuticals Inc.(Vertex社)が開発した CFTR 蛋白の“potentiator”である ivacaftor(VX-770)が、クラスIIIの CFTR 遺伝子変異 G551D を少なくとも一方のアリルに有する12歳以上の CF 患者での二重盲検臨床試験において、予測1秒量を投与開始後24週以上48週まで約10%増加させることが示された⁷⁾。このほか、ivacaftor 群で急性増悪の危険性が55%減ずること、自覚症状の改善、体重の平均3.1 kg の増加、汗中 Cl⁻ イオン濃度の - 48 mEq/L 改善(これにより平均濃度が55 mEq/L まで低下)、QOL(CFQ-R スコアで6ポイント改善)においても有意に優れた結果が示された⁷⁾。この成績をもとに、2012年1月末に CF 患者の治療薬として米国 FDA による承認を受け、Vertex社 は ivacaftor を KALYDECOTM として販売開始した。その後、同年7月にヨーロッパ、12月にカナダ当局の臨床使用承認を受けるに至っている。

一方、クラスIIの CFTR 遺伝子変異の代表

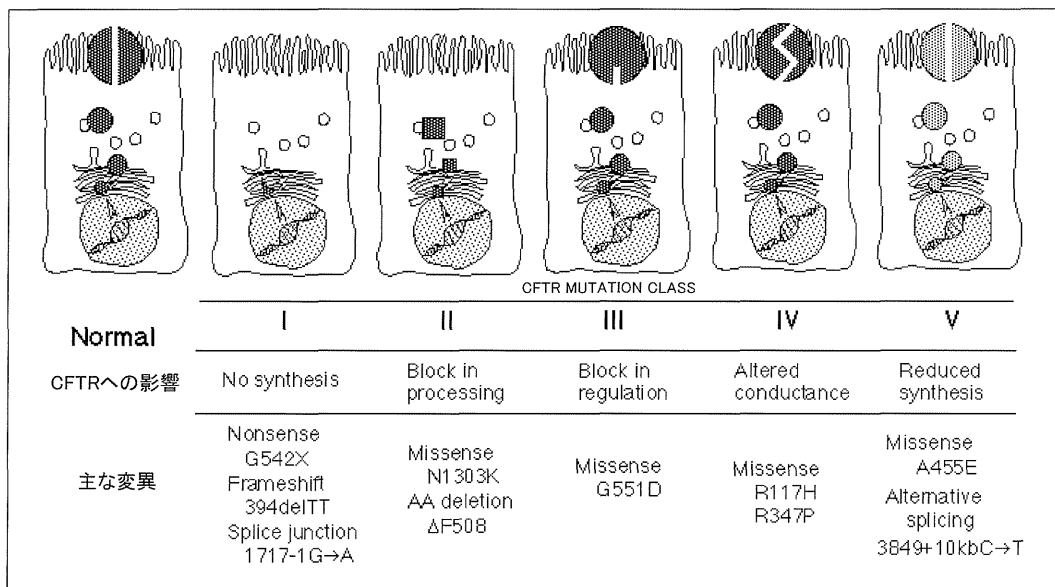


図1 CFTR 遺伝子変異の蛋白産生に及ぼす影響のクラス分類と代表的な変異

(文献4より引用, 一部改変)

格である F508del に対して、同様に Vertex 社の開発した CFTR 蛋白“corrector”である lumacaftor (VX - 809) の II a 相の CFTR F508del ホモ接合体患者を対象とした臨床試験では、lumacaftor 単剤での肺機能に対する有効性は確認されず、唯一汗中 Cl⁻ イオン濃度の僅かな低下 (- 8 mEq/L) が得られるに留まった⁸⁾。その後、lumacaftor と ivacaftor との併用療法効果を検討する Phase II 試験を CFTR F508del ホモ接合体患者を対象に行い、肺機能 (1 秒量) の改善 (予測 1 秒量の 6.1% の増加)、汗中 Cl⁻ イオン濃度の約 10 mEq/L 程度の低下得られることを、Boyle らが 2012 年 10 月の北米 CF 会議で報告している⁹⁾。

このほか、CF-TDN において進行中ないし計画中の CFTR 分子の調整薬とその進行状況を表 2 に示した²⁾。同様の CFTR 蛋白“corrector”である VX-661 と、premature termination codon に対する Ataluren の臨床試験も進行中であるが、本稿では詳細は割愛する。

D. 考察

今回引用・検討した CFTR 治療薬は、上述のように主として ivacaftor (VX - 770, KALYDECOTM) と lumacaftor (VX-809) であるが、いずれも CFTR 蛋白の機能を調整することで、肺機能の改善などの臨床効果を得るといふ、これまでの対症的 CF 治療薬にはない画期的な分子レベルの調整薬である⁶⁾。

表 2 に示した様に、ivacaftor は G551D に留まらずその他のクラス III の変異への臨床応用と、R117H, R347P などのクラス IV の変異へ治療効果も期待されている⁶⁾。

CFMD にこれまでに報告された 1,900 種以上の CFTR 変異に関して、全てが機能的欠損を正確に検討評価されている訳ではない。これはわが国において近年明らかにされつつある、きわめて世界的に稀な既報変異や、未だ報告のない新規の変異についても同様であり⁵⁾、その変異の機能的な解析が遅れている現状では、欧米で進められつつある分子レベルの調整薬のわが国の CF 症例に対する臨床応用への道は、未だ険しいと言わざるを得ない。わが国の CF 症例の一部にはクラス III, IV それぞれに属する変異が有りうるため、上記新規治療薬投与の恩恵が受けられる可能性も十分あり、今後機能を中心とした変異 CFTR の検討を進める必要があると考えられる。

ちなみに Vertex 社の Juhn 博士によると、2012 年 8 月の時点では、同社はわが国での ivacaftor を用いた臨床試験の予定はないとの報告であった (personal communication)。

E. 結論

今年度は 2012 年内に欧米で認可された ivacaftor (VX-770)、ならびに臨床試験中の lumacaftor (VX-809) に関して中心に検証し、わが国の CF 症例に対するこれらの薬剤の臨床応用の可能性につき検討した。

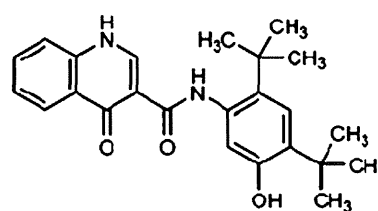


図 2 Ivacaftor の構造式

表 2 CF Therapeutics Development Network における進行中ないし計画中の CFTR に対する臨床試験

CFTR mutation	変異を有する患者 (%)	治験薬	状況
G551D/other	4	Ivacaftor	FDA 承認, 6 歳以上 3-5 歳計画中
Non-G551D gating/その他	1	Ivacaftor	Phase II/III
R117H/その他	5	Ivacaftor	Phase III
F508del/F508del	49	Lumacaftor + ivacaftor VX-661 + ivacaftor	Phase II; phase III 計画中 Phase II
PTC/その他	10	Ataluren	Phase III (primary endpoint 陰性)

CF, cystic fibrosis; CFTR, CF transmembrane conductance regulator; PTC, premature termination codon.

(文献 6 より引用, 一部改変)

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. 日本における嚢胞性線維症. 呼吸, 30(6): 535-545, 2011.
4. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
5. 吉村邦彦, 安斎千恵子. わが国における嚢胞性線維症症例の 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 難治性腎疾患に関する調査研究. 平成23年度総合研究報告書, p371-374, 2012.
6. Rowe SM, et al. Progress in cystic fibrosis and the CF Therapeutic Development Network. *Thorax*, 67: 882-890, 2012.
7. Ramsey BW, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med*, 365: 1663-1672, 2011.
8. Clancy JP, et al. Results of a phase IIa study of VX-809, an investigational CFTR corrector compound, in subjects with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Thorax*, 67: 12-18, 2012.
9. Boyle M. The investigational CFTR corrector, VX-809, co-administered with the oral potentiator ivacaftor improved CFTR and lung function in F508del homozygous patients: Phase 2 study results. Poster # 260 in the 2012 North American Cystic Fibrosis Conference.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉村邦彦, 安斎千恵子. わが国における嚢胞性線維症症例の 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 難治性腎疾患に関する調査研究. 平成23年度総合研究報告書,

p371-374, 2012.

- 2) 吉村邦彦, 江島美保. 嚢胞性線維症. 別冊日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No. 20, 先天代謝異常症候群(第2版)下. 一病因・病態研究, 診断・治療の進歩一, 821-830, 2012.
 - 3) 吉村邦彦. わが国の CF. 日本胸部臨床, 71(増刊号): S101-S109, 2012.
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

便中エラスターゼによる乳幼児の膵外分泌不全の診断

研究報告者 成瀬 達 みよし市民病院 院長

共同研究者

星野三生子（みよし市民病院小児科），若月 準（みよし市民病院小児科）
伊藤 治（みよし市民病院消化器科），中島 守（みよし市民病院消化器科）
木村 純（みよし市民病院消化器科），柴田時宗（みよし市民病院消化器科）
近藤志保（名古屋大学大学院健康栄養医学），中莖みゆき（名古屋大学大学院健康栄養医学）
山本明子（名古屋大学総合保健体育科学センター健康栄養医学），石黒 洋（名古屋大学総合保健体育科学センター）
藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部），北川元二（名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科）

【研究要旨】

便中エラスターゼは被験者の負担が全くないため、乳幼児でも測定が可能な膵外分泌機能検査であり、欧米では膵嚢胞線維症(CF)の膵外分泌不全の診断に用いられている。本法によりCF患者の膵外分泌機能を評価するため、1～6歳までの健常な保育園児における便中エラスターゼを測定した。103名の幼児の便中エラスターゼ中央値は544 $\mu\text{g/g}$ (最大値784～最小値174)であった。欧米人と同様に $>200 \mu\text{g/g}$ をカットオフ値とした場合、1名のみが異常低値を示した。便中エラスターゼは特異度の高い膵外分泌不全の診断法であり、幼児のCF患者における膵外分泌不全の診断が欧米人と同じ基準値で可能であると考えられた。

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)と命名されたクロライドイオンチャネル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¹⁾。CFTR遺伝子変異によりCFTRの機能が障害されると、粘稠な分泌液のため消化管をはじめ膵臓の導管や気管支の閉塞が起りやすくなる。新生児では粘調な胎便により腸閉塞がおこる。膵導管は閉塞により嚢胞状に拡張し、膵外分泌不全となる。その結果、脂肪などの消化吸収障害が起きるため脂肪便が生じる。このため患者は栄養障害や発育障害となる。気道では、反復する慢性気管支炎、細気管支炎や副鼻腔炎がおきる。

CFの診断には膵外分泌機能の評価が必要である。CFは膵外分泌不全の有無によりPancreatic Insufficient (PI)とPancreatic sufficient (PS)に分類される。この区分は臨床的に重要で、一般にPIの患者はPSに比べクロライドイオンチャネル機能低下が著しいCFTR遺伝

子変異を伴っており、生命予後も不良である^{2,3,4)}。わが国のCFの診断基準では、膵外分泌不全は、大量頻回の悪臭を伴う脂肪便を伴うか、またはPFD試験(BT-PABA試験)における尿中PABA排泄率や便中キモトリプシン活性の低下があることをもって診断することとなっている⁵⁾。ところが、便中キモトリプシン活性は検査試薬の販売が中止となった。また、PFD試験では検査薬を内服後、6時間にわたり蓄尿する必要があるため6歳以下の幼児に施行することは容易ではない。

膵腺房細胞から分泌されるエラスターゼは比較的安定な酵素で、消化管内で完全に分解されることはなく便中に排泄される⁶⁾。便中のエラスターゼの濃度は、膵外分泌機能を反映している⁷⁾。日本人の健常人および慢性膵炎や自己免疫性膵炎により高度の膵外分泌機能低下(セクレチン試験において液量、最高重炭酸塩濃度および総アミラーゼ排出量が低下)を有する患者における便中エラスターゼ試験の感度は、基準値を $>200 \mu\text{g/g}$ と設定すると、72.2%、特異

度は90.2%である⁸⁾。本法では軽度ないしは中等度の膵外分泌障害の診断はできないが、高度の膵外分泌を確実に捉えることが可能である。

便中エラスターゼの測定は被験者の負担が全くないため乳幼児でも測定が可能である。欧米ではCFの膵外分泌不全の診断に用いられている^{9,10)}。しかし、日本人の幼児の便中エラスターゼ濃度については限られた情報しかなく⁸⁾、欧米や成人の基準値をそのまま用いて良いかは不明である。そこで今回、保護者の同意のもとに健康な幼児の便を採取してエラスターゼ濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法^{8,11)}により測定し、小児における基準値を検討した。

B. 研究方法

みよし市天王保育園および明知保育園の1歳から6歳までの園児で、文書にて保護者の同意を得た125名を対象とした。前日もしくは当日の朝、発熱や下痢等の症状がない状態での排便時に、保護者が約100 mgの検体を採取した。2012年12月10日から12月21日までの12日間に、103名(男61名、女42名)の検体が提出された。検体は保育園で毎朝回収して4°Cで保存し、みよし市訪問看護テーションのスタッフが午前中に回収して、測定まで-20°Cで保存した。便中エラスターゼの測定には BIOSERV Diagnostics 社の Pancreatic Elastase ELISA キット (SK15)^{8,11)}を用いた。図1に標準曲線を示す。標準検体1(126 μg/g)および標準検体2(177 μg/g)のCVはそれぞれ1.4%および7.9%

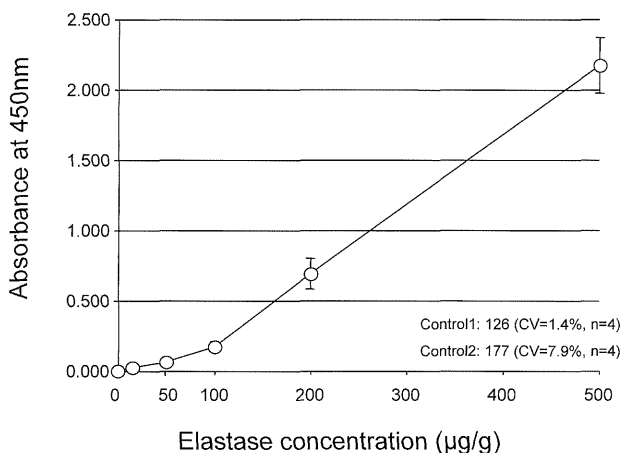


図1 Standard Curve of ELISA

(n=4)であった。測定は対で行い、結果は2つの平均値で示した。

(倫理面への配慮)

本研究はみよし市民病院倫理委員会の承認を受けた(2012年8月6日, 24み病第243号)。本研究に協力された保育園長に研究内容を文書および口頭で説明し、了解を得た。次に園長から保護者に口頭にて説明を行い、文書にて同意を示された保護者にのみ、検体採取を依頼した。本調査は通常の排便後に少量の便を採取するだけなので、身体への影響はない。また検体に付帯する情報は提供者の年齢、性、身長、体重のみであり、提供者の匿名性は守られている。

C. 研究結果

便中エラスターゼの分布

図2に健常保育園児の便中エラスターゼの分布を示す。103名の幼児の中央値は544 μg/g (最大値784~最小値174)であった。男児(n=61)の中央値549(778~238)は女児(n=42)の値542(784~174)と差はなかった。幼児全体の平均値は517 μg/gであり、平均値-2SDの値は209 μg/gであった。

年齢と便中エラスターゼ

対象幼児の1歳ごとの年齢分布は、1歳1名、2歳5名、3歳12名、4歳30名、5歳34名、6

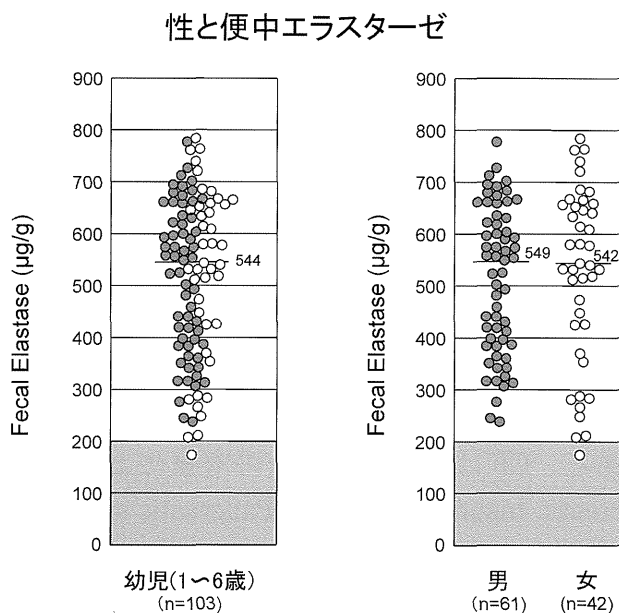


図2 性と便中エラスターゼ

年齢と便中エラスターゼ

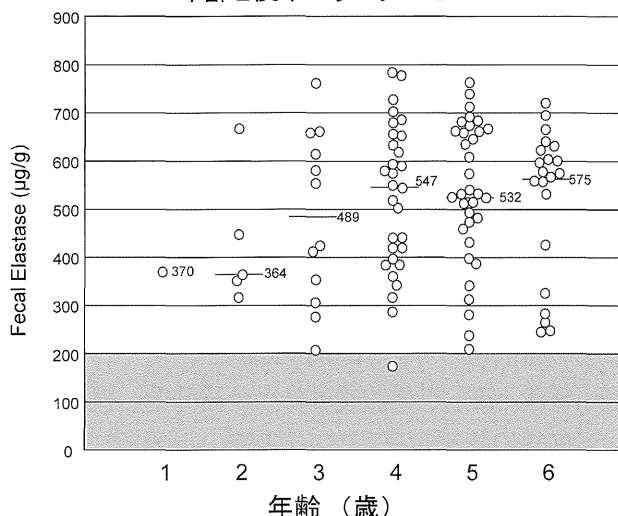


図3 年齢と便中エラスターゼ

体重と便中エラスターゼ

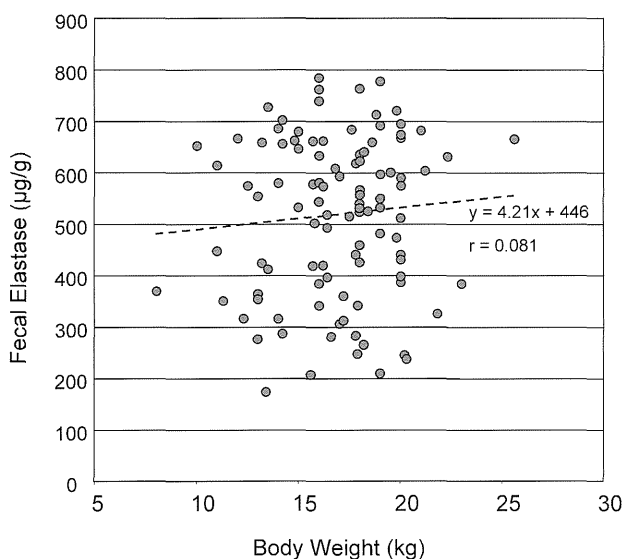


図4 体重と便中エラスターゼ

歳21名であった。図3は年齢別の便中エラスターゼの分布を示す。便中エラスターゼの中央値は3歳が489 $\mu\text{g/g}$ 、4歳は547 $\mu\text{g/g}$ 、5歳は532 $\mu\text{g/g}$ 、6歳575 $\mu\text{g/g}$ と3歳以上の幼児では大きな差はなく、分散もほぼ同じであった。検体数が少ないが、1歳児と2歳児の便中エラスターゼは3歳以上に比べ低い傾向を示した。

身長・体重と便中エラスターゼ

身長($R^2=0.004$)、体重($R^2=0.0066$) (図4)、Body Mass Index (BMI) ($R^2=0.0012$) いずれも便中エラスターゼと有意の相関関係を認めなかった。

D. 考察

みよし市の2つの保育園の協力を得て、125名の保護者の同意を得ることができた。12日間の採取期間内に103名の便検体を得た。両保育園の園児、保護者ならびに職員の皆様のご協力に深謝したい。検体を提供された園児の男女比は約3:2で男児が多かった。これは両保育園の園児全体(194名)の男女比(56:44)を反映していると推定される。便中エラスターゼの中央値ならびに分散には男女差は認めなかった(図2)ので、性差はないと考えられる。従って、解析は男女をまとめて行った。

保育園児が対象であるので、3歳から6歳の幼児が94%を占めた。3歳児以上の便中エラスターゼ濃度の中央値(図3)は日本人の健常成人の値(544 $\mu\text{g/g}$)に相当していた⁸⁾。身長、体重(図4)、BMIいずれも便中エラスターゼと有意の相関関係を認めなかったので、この年齢層では成人と同等の膵外分泌能があると推定される。全幼児の便中エラスターゼの平均値は517 $\mu\text{g/g}$ 、平均値-2標準偏差の値は209 $\mu\text{g/g}$ であり、これより低い値を示した幼児は2名(174と207 $\mu\text{g/g}$)であった。成人や欧米人の基準値>200 $\mu\text{g/g}$ を正常の膵外分泌機能とした場合、異常低値を示した幼児は1名であった。本法は擬陽性が少なく、特異度の高い検査である。

一方、検体数は少ないが、1歳児と2歳児の便中エラスターゼは3歳児以上に比べ低い傾向を示した。以前に検討した0歳児と1歳児でも、便中エラスターゼの中央値は200~300 $\mu\text{g/g}$ と低めであった⁸⁾。しかし、約1年後に再検すると中央値は444 $\mu\text{g/g}$ と有意に増加していた。その理由として乳幼児では便の水分含量が多いので見かけ上の低値となることが考えられる。キットのマニュアルには下痢便しか得られない時には、検体が正常の便形状になるまで55°Cで湯煎する方法が述べられている。この温度ではエラスターゼの変性はないとされている。2歳以下で異常低値が観察された場合には1年後に再検して、原因が外分泌不全であるか、それとも希釈効果によるものであるか確認する必要がある。

膵外分泌不全を伴う CF は CFTR の機能が 1%以下に低下していることが多く^{3,4)}、重症の患者が多い。便中エラスターゼは少量の採便で簡単に膵外分泌不全が測定できるので、小児の CF における有用な検査法である。検査マニュアルの判定基準は、便中エラスターゼ < 100 $\mu\text{g/g}$ は高度の膵外分泌不全は、100–200 $\mu\text{g/g}$ は中等度の膵外分泌不全、正常は > 200 $\mu\text{g/g}$ となっているが、今後、わが国の CF 患者において検証する必要がある。

CF 患者では閉塞性呼吸障害や繰り返す気道感染に伴う咳のためエネルギー消費が大きい。このため間食を含め、頻回の食事摂取が推奨されている¹²⁾。ところが、膵外分泌不全を伴う CF では、食事の度に消化酵素を補充しないと多量の脂肪便が生じる¹⁾。実際、膵嚢胞線維症全国疫学調査の二次調査の解析では、ほぼ全例が発育や栄養障害を示していた¹³⁾。18歳以上に達した成人10例でも BMI の中央値は 15.9 (13.5~18.5) と 9 名が BMI < 18 であった。医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議の結果を受けて高力価の消化酵素薬が承認されたので、少量の内服で十分な消化を得ることが可能になっている¹⁴⁾。今後、便中エラスターゼを測定することにより早期に膵外分泌不全の診断を行い、十分な消化酵素補充療法を行うことにより CF 患者の日常生活の質 (QOL) および栄養状態の改善が期待される。

E. 結論

便中エラスターゼは簡便で特異度の高い膵外分泌不全の診断法である。小児の CF における膵外分泌不全の診断は、日本人の成人や欧米人の CF 患者と同じ基準値 > 200 $\mu\text{g/g}$ で可能であると考えられる。

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. Kristidis P, Bozon D, Corey M, Markiewicz D, Rommens J, Tsui LC, Durie P. Genetic determination of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1178–1184.
3. Role of CFTR in airway disease. Pilewski JM, Frizzell RA. *Physiol Rev.* 1999; 79 (Suppl 1): S215–55.
4. Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Fujiki K, Hayakawa T. Cystic fibrosis and related diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 511–526.
5. 成瀬 達. 膵嚢胞線維症の診断基準. 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: 18–19.
6. Sziegoleit A, Krause E, Klör HU, Kanacher L, Linder D. Elastase 1 and chymotrypsin B in pancreatic juice and feces. *Clin Biochem* 1989; 22: 85–89.
7. Stein J, Jung M, Sziegoleit A, Zeuzem S, Caspary WF, Lembcke B. Immunoreactive elastase I: clinical evaluation of a new noninvasive test of pancreatic function. *Clin Chem* 1996; 42: 222–226.
8. Naruse S, Ishiguro H, Ko SB, Yoshikawa T, Yamamoto T, Yamamoto A, Futakuchi S, Goto H, Saito Y, Takahashi S. Fecal pancreatic elastase: a reproducible marker for severe exocrine pancreatic insufficiency. *J Gastroenterol.* 2006; 41: 901–908.
9. Cade A, Walters MP, McGinley N, Firth J, Brownlee KG, Conway SP, et al. Evaluation of fecal pancreatic elastase-1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29: 172–176.
10. Walkowiak J, Nousia-Arvanitakis S, Agguridaki C, Fotoulaki M, Strzykala K, Balassopoulou A, et al. Longitudinal follow-up of exocrine pancreatic function in pancreatic sufficient cystic fibrosis patients using the fecal elastase-1 test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 474–478.
11. Hahn JU, Bochnig S, Kerner W, Koenig H, Sporleder B, Lankisch PG, et al. A new fecal elastase 1 test using polyclonal antibodies for the detection of exocrine pancreatic insufficiency. *Pancreas* 2005; 30: 189–191.

12. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. J Am Diet Assoc. 2008; 108: 832-839.
13. 石黒 洋, 成瀬 達, 山本明子, 吉村邦彦, 辻 一郎, 栗山進一, 菊田和宏, 下瀬川徹. 膵嚢胞線維症患者の栄養障害の実態と治療の現況. 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23年度総括・分担研究報告書 2012: 0359-364.
14. 成瀬 達, 石黒 洋, 吉村邦彦, 辻 一郎, 栗山進一, 下瀬川徹, 菊田和宏. 膵嚢胞線維症の未承認薬の使用状況 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23年度総括・分担研究報告書 2012: 355-358.

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

わが国の Cystic fibrosis 患者における CFTR 遺伝子変異の特徴

研究報告者 石黒 洋 名古屋大学総合保健体育科学センター 教授

共同研究者

中莖みゆき, 山本明子, 近藤志保 (名古屋大学総合保健体育科学センター健康栄養医学)

藤木理代, 北川元二 (名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科),

洪 繁 (慶應義塾大学医学部システム医学), 成瀬 達 (みよし市民病院)

【研究要旨】

臨床症状と汗中 Cl⁻ 濃度の高値より Cystic fibrosis (CF) と診断された12症例の CFTR 遺伝子解析結果を報告する. 27エクソン部とその上下流の直接シーケンス, MLPA, 鼻粘膜 CFTR トランスクリプトの解析を行った. アジア人に特有な dele16-17b(6), E217G(1), L441P(1), 1540del10(1), Y517H(1), Q1042TfsX5(1), T1086I(1), exon1 欠損トランスクリプト(1)の8種の変異と, 欧米で報告例のある F508del(3), R1066C(2), 182delT(1), R75X(1), 1609delCA(1), G542X(1)の6種との合計14種の CF 原因変異を検出した(括弧内はアレル数). そのうち6種はナンセンスコドンを生じる変異であった. Y517H と Q1042TfsX5 は新規変異である. 2アレルでは CF 原因変異が検出されなかった.

A. 研究目的

嚢胞性線維症(Cystic fibrosis: 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. 当研究室では, 2007年以降, 臨床症状と汗中 Cl⁻ 濃度の高値より Cystic fibrosis (CF) と診断された12症例(表1)の 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, CFTR 全27エクソンとその上下流数百 bp 及びプロモーター部(5'上流約1,000 bp まで)の塩基配列を直接シーケンスした.

2. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)解析

表 1 CFTR 遺伝子解析症例

症例	年齢	性別	アレル1変異	アレル2変異	汗中 Cl ⁻ 濃度 (mmol/l)	腺外分泌不全	呼吸器症状	胎便性イレウス	家族歴
1	10ヶ月	女	1609delCA	G542X	156	○	○	無し	無し
2	1歳	男	dele16-17b	deletion/skipping of exon1 in the CFTR	122	○	○	○	無し
3	38歳	男	T1086I	dele16-17b	88	○	○	無し	○
4	19歳	男	R75X	dele16-17b	96	○	○	○	無し
5	20歳	男	E217G	ND	>60	○	○	無し	無し
6	2歳	女	dele16-17b	dele16-17b	238	(発育不全)	○	○	無し
7	6歳	女	p.Leu441Pro	ND	114	○	○	○	無し
8	3歳	女	182delT	[delta]F508	60	○	○	無し	無し
9	5歳	女	dele16-17b	[delta]F508	66	○	○	無し	無し
10	8ヶ月	男	R1066C	R1066C	235	○	○	○	無し
11	4ヶ月	男	[delta]F508	Q1042TfsX5	152	○	○	○	無し
12	10歳	女	1540del10	Y517H	53	○	○	無し	無し

MLPA は、数エクソンに渡る欠損や重複などの genomic rearrangement を定量的に検出する解析方法である。SALSA P091-C1 CFTR MLPA キット (MRC Holland) を用いた (詳細は、昨年度の報告書参照)¹⁾。

3. CFTR mRNA の解析

鼻粘膜拭い液より mRNA を抽出し、CFTR の複数のエクソンをまたぐように RT-PCR を行った^{2,3)}。

(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審査委員会にて承認済 (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

図 1 に示す CF 原因変異が検出された。症例 7~12 は、今年度解析した患者である (表 1)。アジア人に特有な E217G⁴⁾, L441P⁵⁾, 1540del10⁶⁾, Y517H, Q1042TfsX5, T1086I の 6 種、及び欧米で報告例のある 182delT⁷⁾, R75X⁸⁾, F508del⁹⁾, 1609delCA¹⁰⁾, G542X¹¹⁾, R1066C¹²⁾ の 6 種、合計 12 種の CF 原因変異が検出された (図 1)。そのうち 182delT, R75X, 1540del10, 1609delCA, G542X, Q1042TfsX5 の 6 種はナンセンスコドンを生じる変異である。図 2 (a) に、R1066C のホモ接合体 (症例 10) の波形を示す。Y517H と Q1042TfsX5 (図 2 (b)) は新規変異である。2 アレルでは CF 原因変異が検出されなかった (表 1)。

2. MLPA 解析

dele16-17b 変異は、MLPA を用いると、得

られた波形のエクソン 16, 17a, 17b に対応するピークの相対的な高さによって検出される¹⁾。

本研究では 24 アレル中 6 アレルに dele16-17b が検出されており、そのうち 1 症例がホモ接合体、4 症例は片方のアレルに dele16-17b を持っていた。欠損領域を挟み込む PCR²⁾を行い、得られた断片をシーケンスすることにより、正確な欠損領域を確認済である (c.2908+1085_3367+260del7201)。

MLPA kit には、F508del 変異を検出するために、c.1521_1523 の CTT を含む 12 塩基にハイブリダイズする probe が含まれている。F508del (c.1521_1523delCTT) 変異があるとハイブリダイズされず、F508 を示すピークが減少する。図 3 は症例 9 の MLPA 波形であるが、父親由来の F508del 変異と母親由来の dele16-17b 変異のヘテロ接合体であることを示している。

今回の検討では、その他の genomic rearrangement は認められなかった。

3. CFTR mRNA の解析

症例 2 の鼻粘膜拭い液より抽出した CFTR mRNA の RT-PCR により、exon1 欠損トランスクリプトを検出した (図 4)。症例 2 は、片方のアレルに dele16-17b 変異が検出されていたが (表 1)、もう一方の dele16-17b の無いアレル由来のトランスクリプトが exon1 を欠損していた³⁾。

D. 考察

今までに当研究室で CFTR 遺伝子解析を行った 12 症例 24 アレルのうち、アジア人種特有と思われる遺伝子変異が 13 アレルに検出され

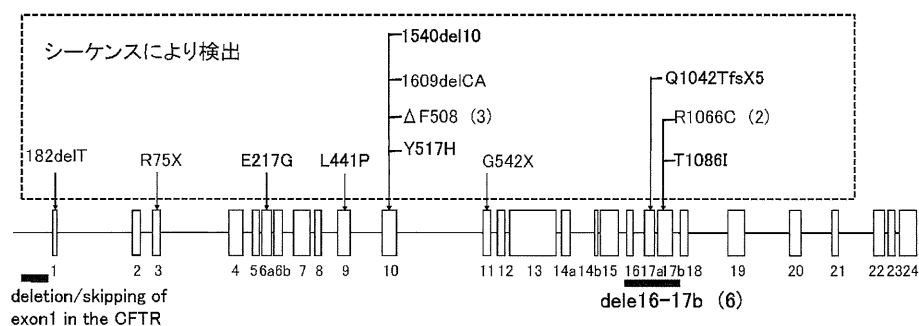


図 1 検出された CF 原因変異
アジア人に特有な CF 原因変異を太字で示した。
変異が複数のアレルで検出された場合、アレル数を括弧内に示す。

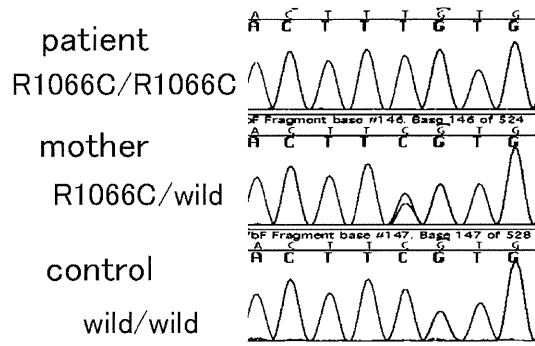


図 2(a) R1066C(exon17b)シーケンス波形 症例10
cDNAname: c.3196C>T

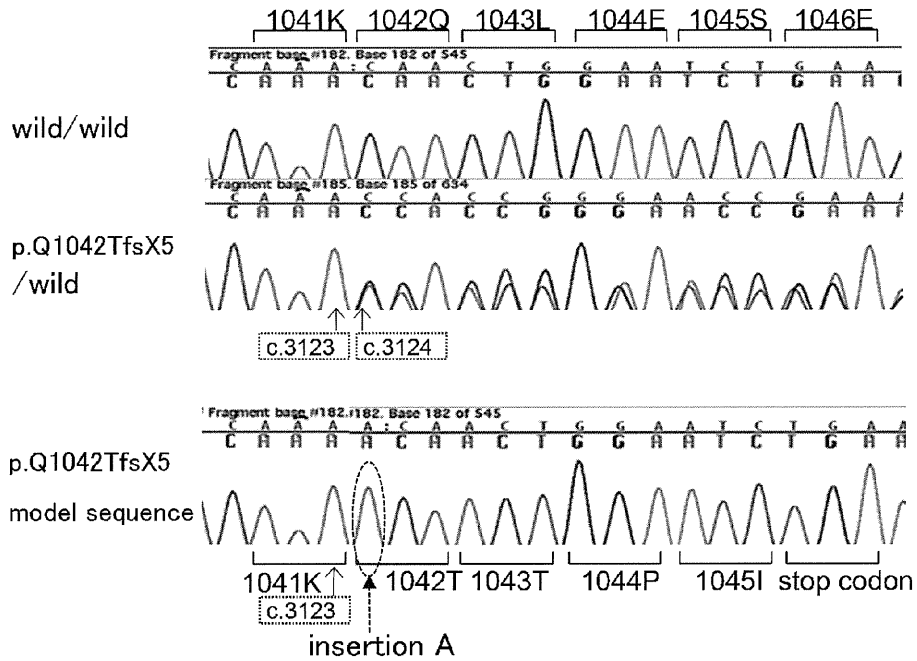


図 2(b) p.Q1042TfsX5(exon17b)シーケンス波形 症例11
cDNAname: c.3123_3124insA

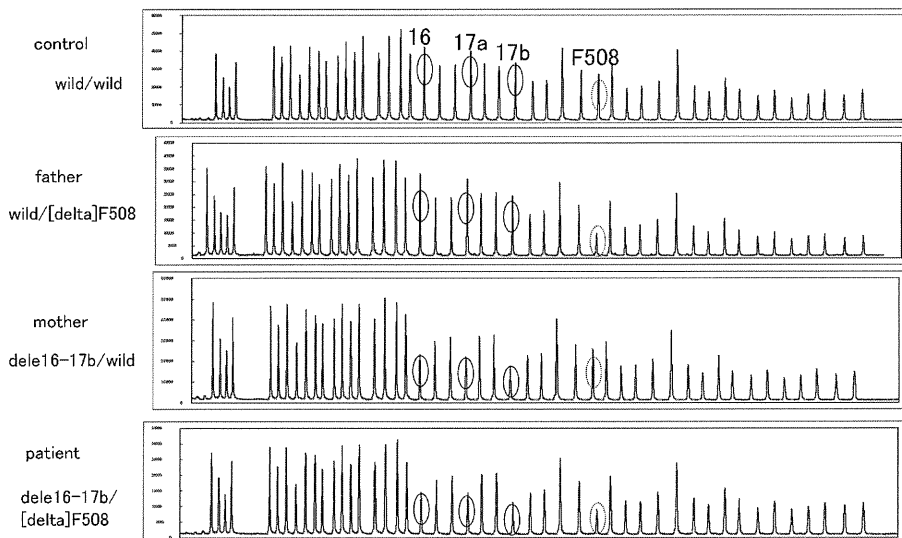


図 3 症例9の家系のMLPA解析波形

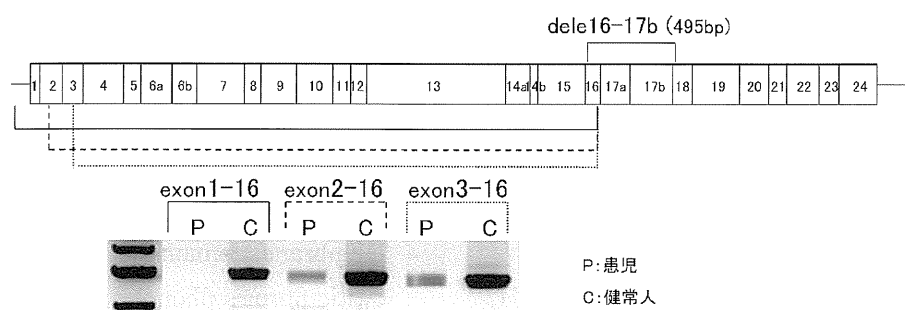


図4 deletion/skipping of exon1 in the CFTR transcript 症例2

た. そのうち2種の変異は新規に見つかった変異である. 今後も, CFTR全27エクソンの直接シーケンスを続ける必要がある.

現在CFTR遺伝子上のlarge genomic rearrangementは30種類以上報告されている¹³⁾. その中でdele16-17b変異は日本人のCF患者で最も頻度の高いCF原因変異である. dele16-17bが一方のアレルに存在する場合, ゲノムの直接シーケンスでは検出されず, MLPAあるいはdele16-17b検出用フラグメントテスト¹⁾²⁾³⁾を実施する必要がある. 特に, 直接シーケンス解析により, エクソン16から17bの領域にある遺伝子変異のホモ接合体と判定された場合, 実際にはその変異とdele16-17bのヘテロ接合体である可能性がある. 症例10は, dele16-17bが無いことを確認し, R1066C(エクソン17bにある)のホモ接合体と判定された. また, 今回の解析では24アレル中9アレルに欧米型の変異が検出されており, 今後の症例で, dele16-17b以外のlarge genomic rearrangementが検出される可能性がある.

片方のアレルにdele16-17bを持ち他方のアレルには遺伝子変異が検出されていなかった症例(症例2, 表1)について, 鼻粘膜スワブの解析により, 他方のアレル由来のCFTRトランスクリプトがエクソン1を欠くことが分かった. このスプライシング異常のメカニズムと原因, 一部欠損のあるCFTR蛋白が合成されているのか, CFTR活性が残っているのか, などは不明である. エクソン1欠損トランスクリプトの検出方法を確立する必要がある.

E. 結論

dele16-17b, E217G, L441P, 1540del10, Y517H, Q1042TfsX5, T1086I, exon1欠損トランスクリプトはアジア人種に特有なCFTR遺伝子変異であり, そのうちdele16-17bは日本人で最も頻度の高いCF原因変異である. 今後のCFTR遺伝子解析には, 全エクソンの直接シーケンスに加え, MLPA解析を行う必要がある.

F. 参考文献

1. 石黒 洋, 中荃みゆき, 山本明子, 近藤志保, 藤木理代, 北川元二, 洪 繁, 成瀬 達. わが国のCystic fibrosis患者におけるCFTR遺伝子解析 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性腭疾患に関する調査研究 平成23年度総括・分担研究報告書 2012; 367-370.
2. 石黒 洋, 中荃みゆき, 山本明子, 洪 繁, 藤木理代, 丸山真介, 柳元孝介, 伊藤 治, 中島守夫, 成瀬 達. 日本人嚥胞性線維症1症例のCFTR遺伝子解析 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性腭疾患に関する調査研究 平成22年度総括・分担研究報告書 2011; 319-324.
3. Nakakuki M, Fujiki K, Yamamoto A, Ko S, Yi L, Ishiguro M, Yamaguchi M, Kondo S, Maruyama S, Yanagimoto K, Naruse S, Ishiguro H. Detection of a large heterozygous deletion and a splicing defect in the CFTR transcripts from nasal swab of a Japanese case of cystic fibrosis. *J Hum Genet.* 2012; 57(7): 427-433.
4. Lee JH, Choi JH, Namkung W, Hanrahan JW,

- Chang J, Song SY, Park SW, Kim DS, Yoon JH, Suh Y, Jang IJ, Nam JH, Kim SJ, Cho MO, Lee JE, Kim KH, Lee MG. A haplotype-based molecular analysis of CFTR mutations associated with respiratory and pancreatic diseases. *Hum Mol Genet.* 2003; 12: 2321-2332.
5. Gee HY, Kim CK, Kim SW, Lee JH, Kim JH, Kim KH, Lee MG. The L441P mutation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and its molecular pathogenic mechanisms in a Korean patient with cystic fibrosis. *J Korean Med Sci.* 2010; 25: 166-171.
 6. 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 (ABCC7) gene mutations: M152R and 1540del10. *Hum Mutat.* 2000; 15(5): 485.
 7. Shackleton S, Hull J, Dear S, Seller A, Thomson A, Harris A. Identification of rare and novel mutations in the CFTR genes of CF patients in southern England. *Hum Mutat.* 1994; 3(2): 141-151.
 8. Will K, Dork T, Stuhmann M, von der Hardt H, Ellemunter H, Tummeler B, Schmidtke J. Transcript analysis of CFTR nonsense mutations in lymphocytes and nasal epithelial cells from cystic fibrosis patients. *Hum Mutat.* 1995; 5: 210-220.
 9. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245 (4922): 1066-1073.
 10. Chillon M, Palacio A, Nunes V, Casals T, Gimenez J, Estivill X. Identification of a frameshift mutation (1609delCA) in exon 10 of the CFTR gene in seven Spanish cystic fibrosis patients. *Hum Mutat.* 1992; 1: 75-76.
 11. Loirat F, Hazout S, Lucotte G. G542X as a probable Phoenician cystic fibrosis mutation. *Hum Biol.* 1997; 69: 419-425.
 12. Casals T, Pacheco P, Barreto C, Giménez J, Ramos MD, Pereira S, Pinheiro JA, Cobos N, Curvelo A, Vázquez C, Rocha H, Sécúli JL, Pérez E, Dapena J, Carrilho E, Duarte A, Palacio AM, Nunes V, Lavinha J, Estivill X. Missense mutation R1066C in the second transmembrane domain of CFTR causes a severe cystic fibrosis phenotype: study of 19 heterozygous and 2 homozygous patients. *Human Mutat.* 1997; 10(5): 387-392.
 13. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on>.
- G. 研究発表**
1. 論文発表
 - 1) Nakakuki M, Fujiki K, Yamamoto A, Ko S, Yi L, Ishiguro M, Yamaguchi M, Kondo S, Maruyama S, Yanagimoto K, Naruse S, Ishiguro H. Detection of a large heterozygous deletion and a splicing defect in the CFTR transcripts from nasal swab of a Japanese case of cystic fibrosis. *J Hum Genet.* 2012; 57(7): 427-433.
 2. 学会発表
 - 1) 中莖みゆき, 石黒 洋, 成瀬 達. わが国の嚢胞性線維症患者のCFTR遺伝子変異の特徴 ワークショップ「遺伝性肝胆膵疾患の病態と治療」 JDDW2012 神戸 2012年10月
 - 2) 中莖みゆき, 藤木理代, 山本明子, 山口誠, 近藤志保, 丸山慎介, 柳元孝介, 成瀬 達, 石黒 洋. 鼻粘膜スワブから抽出した転写体の解析により同定できた日本人嚢胞性線維症患者のCFTR遺伝子変異 日本人類遺伝学会第57回大会 東京 2012年10月
- 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

Genistein・Curcumin による日本人由来 T1086I 低活性 CFTR チャネルの 活性増強効果

研究報告者 相馬義郎 慶應義塾大学医学部薬理学 准教授

共同研究者

余 盈君, 安井正人 (慶應義塾大学医学部薬理学), 洪 繁 (慶應義塾大学医学部システム医学)
石黒 洋 (名古屋大学総合保健体育科学センター), 成瀬 達 (みよし市民病院)

【研究要旨】

日本人 CF 患者において検出された T1086I 変異は, F508del 変異と同様に, CFTR 蛋白の細胞膜へ輸送障害およびチャネル活性障害を引き起こす. 少量ではあるが細胞膜上に発現していると思われ, T1086I-CFTR のチャネル活性を増強できれば, CF 症状の改善につながると考えられる. 本研究では, isoflavonoid である genistein および turmeric である curcumin の T1086I-CFTR のチャネル活性に対する効果を whole-cell clamp 法を用いて調べた. その結果, genistein は, T1086I-CFTR の活性を著明に増強することが明らかになった.

A. 研究目的

日本人 CF 患者#1 から検出された新らたに発見された T1086I 変異 CFTR の機能解析 (Nakakuki *et al.*, 2012) およびそれに対する CFTR potentiator である genistein および curcumin (Sohma *et al.*, 2013) の効果を調べることを目的とした.

#1: この患者は, 生後直後に meconium ileus や肺炎等を呈し, 慢性気管支炎や汗 Cl^- 濃度上昇から CF と診断を受けた. CFTR の遺伝子解析の結果, 父親由来の massive deletion (del 16-17b) と母親由来の T1086I の変異を受けついでいた (Nakakuki *et al.*, 2012).

B. 研究方法

野生型 (WT-) および T1086I-CFTR を CHO 細胞に強制発現させ, ホールセルクランプ法を用いて CFTR 電流を測定した (Yu *et al.*, 2011). Forskolin ($10 \mu\text{M}$) にて CFTR をリン酸化 (活性化) したのち, genistein ($60 \mu\text{M}$) および curcumin ($30 \mu\text{M}$) の投与による CFTR 電流量の変化から, 薬物の作用を評価した.

C. 研究結果

最大活性化濃度である $10 \mu\text{M}$ Forskolin にて

活性化された WT-CFTR においては, $60 \mu\text{M}$ genistein および $30 \mu\text{M}$ curcumin は特に効果が及ぼさなかったが, T1086I-CFTR においては, genistein は CFTR 電流を約 3 倍増加させた. これは, T1086I-CFTR は, 通常の PKA 依存性リン酸化を受けても WT-CFTR に比較して低活性状態にあるが, genistein によって活性が増強されることを示唆している. curcumin については genistein ほどの活性増強効果は見られず, 増強・誘導されたホールセル電流の性質も CFTR に典型的なものではなかった.

D. 考察

T1086I は, チャネルポアとゲートがある Membrane Spanning Domain (MSD) と ATP の結合・加水分解によるチャネルゲート開閉のための機械的駆動力を発生している Nucleotide Binding Domain (NBD) をつないでいる Intra Cellular Loop (ICL) に位置している (相馬 & Hwang, 2010). CFTR チャネルのゲートは 2 つある NBD が 2 量体化することによって開き, genistein は 2 つの NBD の接合面に結合して 2 量体を安定化することにより, 開口時間を延長することにより活性増強することが示唆されている (Sohma *et al.*, 2013). このことか

ら、T1086I 変異は、何らかのメカニズムで NBD2 量体を不安定化させることによって CFTR のチャネル活性を低下させており、genistein によってその活性低下が緩和されている可能性が考えられる。また、curcumin の効果についてはさらなる研究が必要である。

- 2. 実用新案登録 該当なし
- 3. その他 該当なし

E. 結論

genistein は、T1086I 変異を持つ CF 患者に対する治療薬開発のためのリード化合物の候補として有用であると考えられる。

F. 参考文献

1. Nakakuki M, Fujiki K, Yamamoto A, Ko SB, Yi L, Ishiguro M, Yamaguchi M, Kondo S, Maruyama S, Yanagimoto K, Naruse S & Ishiguro H. (2012) Detection of a large heterozygous deletion and a splicing defect in the CFTR transcripts from nasal swab of a Japanese case of cystic fibrosis. *Journal of human genetics*, 57, 427-433.
2. Sohma Y, Yu Y C & Hwang T C. (2013) Curcumin And Genistein: The Combined Effects On Disease-Associated CFTR Mutants And Their Clinical Implications. *Current pharmaceutical design. in press*.
3. Yu Y C, Miki H, Nakamura Y, Hanyuda A, Matsuzaki Y, Abe Y, Yasui M, Tanaka K, Hwang T C, Bompadre S G & Sohma Y. (2011) Curcumin and genistein additively potentiate G551D-CFTR. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 10, 243-252.
4. 相馬義郎, Hwang T C. (2010) ABC トランスポーター・CFTR チャネルにおける NBD エンジン の動作メカニズム. *生物物理*, 50, 228-231.

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

Ⅳ. 自己免疫性膵炎
1) 共同研究プロジェクト

自己免疫性膵炎の実態調査(第3回全国調査)

研究報告者 下瀬川徹 東北大学病院 病院長・教授

共同研究者

菅野 敦（東北大学病院 消化器内科），正宗 淳（東北大学大学院 消化器病態学）
岡崎和一（関西医科大学内科学第三講座（消化器肝臓内科）），神澤輝実（東京都立駒込病院 消化器内科）
川 茂幸（信州大学総合健康安全センター），西森 功（西 森 医 院）
辻 一郎（東北大学大学院 公衆衛生学）

【研究要旨】

AIP の第3回全国疫学調査を実施した。全国の内科（消化器内科），外科（消化器外科）を標榜する診療科および救急救命センターから層化無作為抽出法により4,175診療科・センターを抽出した。調査は郵送法により行い，2011年の1年間に受診した新規および継続療養症例の男女別患者数について調査した。1,884診療科・センターより回答を得た（回答率45.1%）。男性1,462例，女性497例（男女比：2.9：1）が集計された。このうち新規罹患症例は544例（男性385例，女性159例），継続療養症例は1,415例（男性1,077例，女性164例）であり，各階層の回答率，抽出率から推計した年間受療者数は5,745人（95%信頼区間：5,325-6,164人），年間罹患患者は1,801人（95%信頼区間：1,597-2,018人）であった。有病率は人口10万人あたり4.6人（成人人口10万人あたり5.5人），罹患率は人口10万人あたり1.4人（成人人口10万人あたり1.7人）と推計された。自己免疫性膵炎の推計年間受療者は第2回調査より2.1倍に増加していた。今後，一次調査でAIP患者のある施設に二次調査を行う予定である。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎（Autoimmune pancreatitis: AIP）は，1995年に日本から初めて報告された疾患概念である¹⁾。発表後，約20年が経過したにもかかわらず，疫学，病態，治療法など，その実態について不明な点が多い。日本におけるAIP臨床診断基準は2002年に初めて公表され，2006年に改訂された。その臨床診断基準に基づいて，本研究班では過去に2回のAIP全国疫学調査（第一回；平成14-16年度，班長：大槻眞，第二回；平成20-22年度，班長：下瀬川徹）を行った²⁻⁵⁾。過去2回の全国調査を比較すると，AIPの年間受療者数，罹患患者数の増加を認め，疾患概念が浸透してきたことが推定された。その後，2010年に国際膵臓学会と日本膵臓学会のjoint meetingが開催され，AIPの国際コンセンサス診断基準（International Consensus Diagnostic Criteria, ICDC）が制定された⁶⁾。さらに，ICDCの公表を受け，2011年に日本のAIP臨床診断基準が改訂された⁷⁾。

新たな診断基準に基づき，第3回AIP全国疫学調査一次調査を行った。

B. 研究方法

全国の内科（消化器内科），外科（消化器外科）を標榜する診療科および救急救命センターから，研究班の所属科ならびに救命救急センターを特別階層とし，大学病院を除外した残りの病院を病床数により階層化した（表1）。

難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル⁸⁾に従い，階層毎に規定された抽出率により対象病院を無作為に抽出した（層化無作為抽出法）。

調査は郵送法により，AIPのほか急性膵炎，慢性膵炎の調査も同時に行った。一次調査票には平成23年1月1日から12月31日の1年間に受診した急性膵炎，慢性膵炎，AIPの症例数について，新規症例と継続療養症例数（各々男女の別）の質問項目を設けた。なお，AIPの診断は，自己免疫性膵炎臨床診断基準2011