

## 肺高血圧症に関する研究

担当責任者：小川 愛子 国立病院機構岡山医療センター・医師

### 研究要旨

日本の単一施設における特発性／遺伝性肺動脈性肺高血圧症症例の長期予後を調査した。本邦の症例は、高率に肺高血圧症特異的治療薬の投与を受けており、治療後に血行動態が著明に改善していた。多施設共同研究で本結果を検証することが必要である。

### A. 研究目的

肺動脈性肺高血圧症は、特定疾患に指定されている難病である。現在複数の治療薬が使用可能となったが、欧米からの報告では、その予後は依然不良とされている。基礎疾患や薬剤暴露歴を持たない特発性／遺伝性肺動脈性肺高血圧症（idiopathic/hereditary pulmonary arterial hypertension: I/HPAH）の日本人症例の予後については、これまでまとまった報告はなされていない。

### B. 研究方法

1998年10月から2012年12月までに当院で治療を行ったI/HPAH症例56例を対象として検討を行った。Kaplan-Meier法とログランクテストを用いて予後について検討した。生存に寄与する因子の検討にはCoxハザードモデルを使用した。

（倫理面への配慮）

本研究は、当院倫理委員会の承認を得て行った。

### C. 研究結果

56例のうち41例（73%）が女性で、診断時年齢は $32\pm 17$ 歳であった。診断からの平均生存期間は $14.9\pm 0.8$ 年（95% CI, 13.4-

16.4年）であり、1, 2, 3, 5, 10年生存率はそれぞれ98, 96, 96, 96, 78%であった。フォローアップカテーテル検査を施行した症例では、心係数が増加し、平均肺動脈圧が $63\pm 15$ から $35\pm 10$ mmHgと有意に低下していた。治療開始時にBNP高値、右房圧高値、酸素飽和度低値の症例では予後不良であった。肺高血圧症特異的治療薬は98%の症例で使用されていた。最も強力で高価なエボプロステノールは75%の症例で使用されていた。単変量解析で生存と相関するフォローアップ時の指標は、WHO機能分類I/II、平均肺動脈圧 $< 42.5$ mmHg、心係数 $> 2.5$  L/min/m<sup>2</sup>、BNP $< 52$  pg/mL、6分間歩行距離 $> 347$ mであった。

### D. 考察

過去20年ほどの間に、複数の肺高血圧症治療薬が使用できるようになり、無治療の場合と比較して予後が改善したとの報告が、欧米よりなされている。しかしながらその成績は、1, 3年生存率はそれぞれ85.7, 54.9%と決して満足できるものではない。今回の検討では、治療後に平均肺動脈圧は約28mmHg低下し、肺血管抵抗も有意に改善した。この血行動態の改善が予後の改善に寄与したと考えられる。治療開始前のデータで右心不全

が顕著である場合には予後不良であったことから、遅滞なく治療介入を行うことが重要と考えられる。また、治療前の血行動態指標はいずれも生存とは関連していなかったのに対して、治療後に運動耐容能や血行動態が改善することは予後と関連していた。日本では難病医療費支援制度により、非常に高価な肺高血圧症治療が多くの症例に使用されており、この点が欧米の先行研究と最も異なる点である。本疾患の予後を改善するためには、治療により血行動態を改善することが重要であることが示唆された。

#### E. 結論

本研究により、日本の I/HPAH 症例の長期予後が示された。初診時に右心不全を呈する症例では予後不良であった。高率に肺高血圧症特異的治療薬の投与を受けている日本人の I/HPAH 症例では、治療後に血行動態が著明に改善し、予後も改善していた。本研究は単一施設の少数例で行われていることから、多施設共同研究で本結果を検証する必要がある。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ogawa, A. and Matsubara, H. (2015) Balloon pulmonary angioplasty: a treatment option for inoperable patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Front Cardiovasc Med.* **2**, 1-7.
2. Matsubara, H. and Ogawa, A. (2014) Treatment of idiopathic/hereditary pulmonary arterial hypertension. *J. Cardiol.* **64**, 243-249.

##### 2. 学会発表

1. 小川愛子、「PVID の臨床診断」、第 2 回日本肺高血圧学会 (JPHS)・第 3 回日本

肺循環学会 (JPCS) 合同学術集会、大手町サンケイプラザ (東京)、2014 年 10 月 4 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 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

## HTLV-1 関連脊髄症（HAM）

担当責任者：山野 嘉久 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター・准教授

### 研究要旨

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は、HTLV-1 感染に起因して歩行障害や膀胱直腸障害をきたす難治性希少疾患である。HTLV-1 感染者の HAM 発症率は 0.003% であり、そのうち数%が急速に重症化するが、発症リスクや予後に個人差が生じる原因は解明出来ていない。本研究班では①HAM 発症のハイリスクキャリアの選別に向けた HAM 発症の遺伝素因の解明、②治療方針の決定や適切な臨床試験に必要な HAM の prognostic marker の同定を目指す。前者については、京都大学で行うゲノム網羅的関連解析用に、新たに HAM 患者 36 例、無症候性キャリア 38 例のゲノム DNA を提供した。後者については、本学を中心とした多施設共同前向き臨床試験を開始し、現在までの登録 55 例のうち約 30 例の末梢血単核球、血清、血漿、ゲノム DNA、RNA および 23 例の髄液検体を収集保存した。今後さらに患者登録を進め、収集された検体を用いて集約的オミックス解析を実施する。

### A. 研究目的

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）は HTLV-1 感染をベースに歩行障害や膀胱直腸障害を来す免疫性神経疾患である。また、根本的治療法がなく、日本全国で患者数約 3600 人という難治性希少疾患でもある。1986 年、本邦ではじめて HAM という疾患概念が確立し現在までに約 30 年経過しているが、希少疾患であるために、発症機序や予後予測など、いまだ不明な点が多い。

この不明な点の 1 つに、「どのような HTLV-1 感染者が HAM を発症しやすいか」という HAM 発症のリスクファクターに関する clinical question がある。HAM を発症するのは、限られたごく一部の HTLV-1 感染者であり、家族集積例もみられることから、HAM の発症には何らかの遺伝的素因が関係している可能性が高い。しかし、これまで HAM の大規模なゲノム解析はなされておら

ず、HLA 以外に発症に強く関連する遺伝因子が同定された例はない。

いまだ不明なもう 1 つ点として、「HAM の長期予後をどのように予測するか」という prognostic marker に関する clinical question がある。HAM の治療の最終目標は長期予後の改善であるが、HAM の経過は数十年と長いため、それを事前に予測することは、治療方針の決定や適切な臨床試験を実施する上で非常に重要である。これまで prognostic marker の候補として、末梢血 HTLV-1 プロウイルス量や髄液の CXCL9、CXCL10、ネオプテリン濃度が挙げられてきたが、全て後ろ向き・単施設での検討であり、前向き・多施設で検討された例はない。

難病 HAM に対するこれらの問題を解決するために、われわれは集約的オミックス解析を実施可能な本研究班と協力して、以下の研究を実施する。

## 1. HAM 発症の遺伝素因の解明

京都大学における GWAS 解析により実施される。そのために我々は出来る限り多くの HAM 患者および無症候性キャリアの臨床検体の提供に努めた。

## 2. HAM の prognostic marker の同定

本学を中心とした多施設共同前向き臨床試験により実施される。本臨床試験は、集約的オミックス解析による新規 prognostic marker の探索、後ろ向き研究で有望であることが示された marker の validation、および 2 分間歩行距離などの HAM に対する臨床的評価指標の検討を通じて、HAM の新薬の有効性評価指標を開発することを目的としている。すでにプロトコールを作成し、倫理委員会の承認を得た 10 施設で患者登録および検体収集を順次開始している。現在までの登録患者数など今年度の進捗を報告する。

## B. 研究方法

### HAM 発症の遺伝素因の解明

今年度も GWAS 解析を推進するため、倫理委員会で承認済みの同意書（承認番号：第 1646 号）を得て検体を収集し、PBMC、血清、血漿、DNA を分離して保存・バンク化した。同時に、患者の家族歴、重症度、治療内容や経過に関する詳細な臨床情報を蓄積した。

### HAM の prognostic marker の同定

#### ①プロトコル（図 1）

HAM の有効性評価指標（バイオマーカーおよび臨床的評価指標）を開発するために、多施設共同前向き臨床試験を計画し、プロトコル作成および UMIN 登録を実施した（UMIN 試験 ID 12874）。

#### ②倫理申請

本臨床試験については、「聖マリアンナ医

科大学 難病治療研究センター 病因・病態解析部門」を研究機関、「京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター 疾患ゲノム疫学解析分野」を共同研究機関の 1 つとして、本学の生命倫理委員会で承認を得ている（承認番号：第 2560 号）。

#### ③患者登録

目標症例数を 150 例とし、倫理委員会の承認を得た共同研究医療機関より順次、患者登録を開始している。

#### ④患者情報

登録患者ごとに登録票（氏名、生年月日、医療機関、同意取得日、初回検査日、治療歴など）および臨床情報（納の運動障害重症度、10m 歩行時間、2 分間歩行距離、治療状況、検査結果）を記録・保存している。

#### ⑤収集検体情報

登録患者より収集された臨床検体は、それぞれの目的に応じて細かく分注・保存している（図 2）。

下記の各項目については、検査報告書を作成し、共同研究医療機関を通じて登録患者へ情報が提供される仕組みとした。検査報告書に載せた上記 5 種のデータより、Mean, SD, Median, 25% 値、75% 値を算出し、今回登録された HAM 患者の感染率や脊髄炎症の程度について調べた（表 1）。

- PBMC 中 HTLV-1 プロウイルス量、
- 髄液細胞中 HTLV-1 プロウイルス量、
- 髄液 抗 HTLV-1 抗体価
- 髄液ネオプテリン濃度
- 髄液 CXCL10 濃度

（倫理面への配慮）

臨床検体の収集に際しては、本学の生命倫理委員会で承認された同意書を用いて、不利

益や危険性の排除などに関するインフォームドコンセントを行った(承認番号:第1646号および第2560号)。また検体は、個人情報

管理者により連結可能匿名化による番号化を行い、提供者を特定できないようにし、患者の人権擁護に努めた。

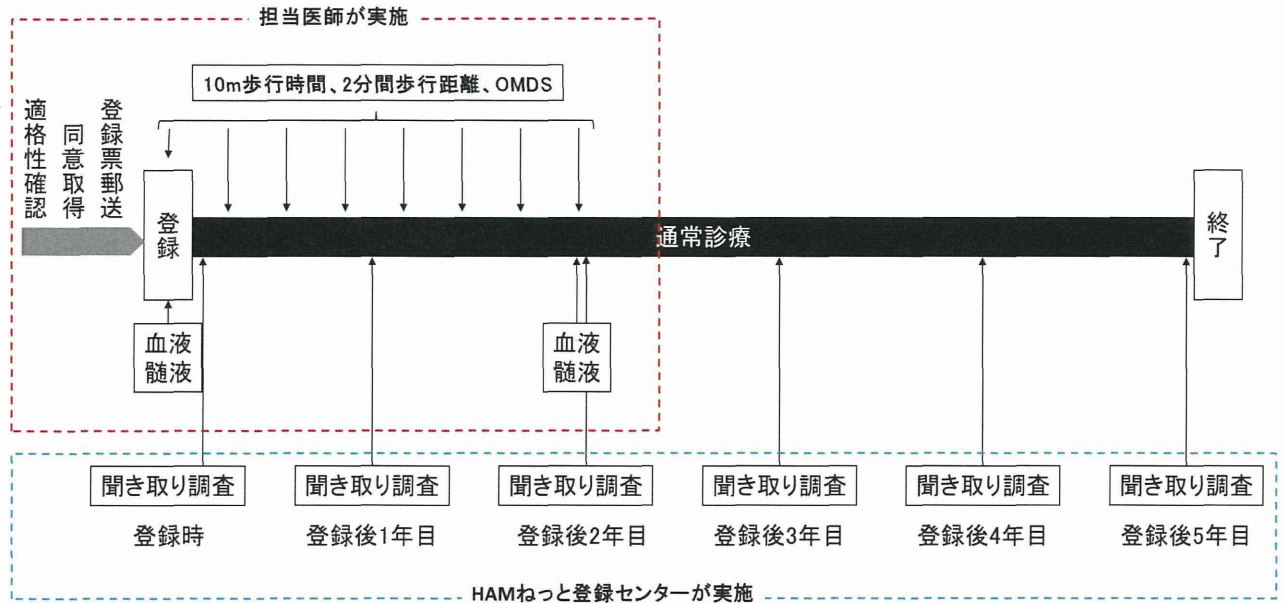


図1 前向き多施設共同研究のタイムライン

	採血管	処理方法
血液	ヘパリン加採血管 (10mL×2本)	PBMC 7.5E+5 cells/本×2本 → ゲノム DNA 抽出 → プロウイルス量測定 残り 1.0E+7 cells/本×2~3本、液体窒素タンク保存 → FACS 解析用
	血清分離剤入り採血管 (9 mL×1本)	血清 40 μL×2本 → 血清 CXCL9 40 μL×2本 → 血清 CXCL10 300 μL×1本 → 血清 sIL-2R 500 μL×1本 → プロテオーム解析 残り 500 μL×4本以上-80°C保存→予備および、その他解析用
	EDTA-2Na 加採血管 (7 mL×1本)	血漿 250 μL×1本 → プロテオーム解析 250 μL×2本 → ペプチド、脂質解析 残り 250 μL×9本-80°C保存→予備および、その他解析用
	PAXgene RNA 採血管	RNA total RNA 抽出 → トランスクリプトーム解析
髄液	髄液 (3 mL×1本)	液性成分 20 μL×2本 → 髄液 CXCL10 50 μL×1本 → 抗 HTLV-1 抗体価 70 μL×2本 → 髄液 CXCL9 120 μL×2本 → 髄液 CXCL13 300 μL×1本 → 髄液ネオプテリン 500 μL×1本 → プロテオーム解析 残り 250 μL×8本以上-80°C保存→予備および、その他解析用
		細胞成分 ゲノム DNA 抽出 → プロウイルス量測定

図2 前向き研究の検体処理方法一覧

表 1 検査データの要約

	Mean	SD	Median	25%	75%
PBMC中HTLV-1プロウイルス量 (copies/100 cells)	5.87	4.73	4.31	2.77	7.12
髄液細胞中HTLV-1プロウイルス量 (copies/100 cells)	12.80	6.47	11.27	8.06	15.24
髄液 抗HTLV-1抗体価 (倍)	125	120	96	40	128
髄液ネオプテリン濃度 (pmol/mL)	26	17	20	11	38
髄液CXCL10濃度 (pg/mL)	4251	3330	4305	1411	5843

### C. 研究結果

#### HAM 発症の遺伝素因の解明

今年度、新たに HAM 患者 36 例、無症候性キャリア 38 例のゲノム DNA (1 マイクログラム) を GWAS 解析のために提供することができた。

#### HAM の prognostic marker の同定

##### ①プロトコル (図 1)

分担医師は、文書同意を得て、患者登録レジストリ「HAM ねっと」の登録センター(聖マリアンナ医大難病治療研究センター)へ登録票を郵送する。また、血液・髄液検体の採取、納の運動障害重症度 (OMDS) 判定、10m 歩行時間、2 分間歩行距離の測定を実施する。以後、定期受診毎に 10m 歩行時間、2 分間歩行距離、OMDS の測定を 2 年間実施する。登録後 2 年目に、血液・髄液検体を採取する。

検体の測定は、血液と髄液の HTLV-1 プロウイルス量と各種炎症マーカー、プロテオミクス、水溶性低分子化合物、脂質、ペプチド、末梢血 RNA 発現、ゲノム解析等のマルチオミックス解析を行う。HAM ねっと登録センターは、登録書類を受領後、登録完了票を分担医師に郵送、初回は受領後速やかに電話による聞き取り調査(経過、OMDS、ADL・QOL 等)を実施し、以降 1 年毎に同様の調査を実施する。

##### ②倫理申請

現在までに、全国の共同研究医療機関での倫理委員会の承認が以下の 10 施設において

得られている。

- 聖マリアンナ医科大学病院
- やまのクリニック
- 医療法人三州会 大勝病院
- 国立病院機構 北海道医療センター
- 岩手医科大学
- 福岡大学
- 東北大学
- 岩手県立大船渡病院
- 京都府立医科大学附属北部医療センター
- 岩手県立久慈病院

##### ③患者登録

目標症例数 150 例に対し、57 例の登録が完了した。そのうち、2 例が脱落・対象外となったため、現時点 (2015 年 3 月 2 日現在) の有効登録数は 55 例である。

##### ④患者情報

登録が有効であった 55 例は、年齢 63 [34-78] 歳 (中央値 [範囲])、男女比 1:3.6 (男性 12 例、女性 43 例) となっている。

##### ⑤収集検体情報

これまでに保存した検体の種類と、それぞれの症例数は、以下の通りである。

- PBMCs 34 例
- 血清 33 例
- 血漿 31 例
- ゲノム DNA 34 例

- RNA 32 例
- 髄液 23 例

今回の多施設共同前向き臨床試験により prognostic marker を探索・同定していくためには、対象となる患者群の予後が一定であってはならない。そこでデータを要約し、検討した結果(表 1)、今回のコホートは PBMC 中の HTLV-1 プロウイルス量が  $5.87 \pm 4.73$  copies/ 100 cells (Mean  $\pm$  SD) で変動係数 80.6%、また髄液ネオプテリン濃度も  $26 \pm 17$  pmol/mL で変動係数 65.4%となっており、コホート内の感染率や脊髄炎症の程度は prognostic marker を調査するにあたって、十分なバラつきを有するものと考えられた。

#### D. 考察

##### HAM 発症の遺伝素因の解明

本邦に 100 万人以上いる HTLV-1 感染者は HAM や成人 T 細胞白血病 (ATL) といった重篤な疾患を発症するリスクを有する。また、平成 23 年度から HTLV-1 抗体検査が妊婦健康診査の標準的検査項目に組み込まれ、キャリアであることを告知される機会は増えている。それにも関わらず、いまだ発症予防法は確立されていないため、発症予防法の確立および発症予防が必要なハイリスクキャリアの同定は厚生行政上、極めて重要な課題である。本研究課題の目的の 1 つである「HAM 発症の遺伝素因の解明」は、この厚生行政上重要な HAM 発症のハイリスクキャリアの同定や発症予防法の確立において極めて有用な示唆を与えてくれるものである。そのため、われわれが検体提供に努めている現在進行中の GWAS 解析を完遂する必要性は高い。

##### HAM の prognostic marker の同定

HAM の治療の最終目標 (真の endpoint) は長期予後の改善であるが、HAM の経過は

数十年と長いため、それを元に臨床試験を組むことは現実的に不可能である。したがって、真の endpoint と科学的に関連が証明される代替マーカー (surrogate marker) が求められている。一般的に、surrogate marker は予後を反映する prognostic marker でなくてはならないと考えられている。その点で、やはり本研究課題で取り上げた「HAM の prognostic marker の同定」は、HAM に対する治験に有用な surrogate marker を同定するためにも必須な課題といえる。また、前向きかつ多施設の臨床試験で明らかとなった prognostic marker はエビデンスレベルが高く、難病 HAM に対するガイドライン作成や新薬の開発促進に寄与するものと考えられる。

この多施設共同前向き臨床試験を開始してから現在までに、目標 150 例に対し有効登録数 55 例となっているが、倫理審査の承認後間もない医療機関や、今現在、倫理審査中の医療機関もあることから、今後さらに登録が進んでいくものと思われる。その際、集められる患者群は、予後が異なる患者より構成される必要があるが、感染率および脊髄炎症マーカーのバラつきを調査した結果から、これまで集まった患者群に問題がないことが判明した。

#### E. 結論

HTLV-1 の高侵淫地域は、我が国以外は発展途上国であり、我が国が HTLV-1 感染症に対する集約的オミックス解析が可能な唯一の先進国である。したがって、日本主導で本研究課題を実施する意義は大きく、これによって、HAM の遺伝素因や prognostic marker が明らかとなれば、国内だけでなく、国際的にも貢献できるものと考えられる。

#### F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yamauchi, J., Coler-Reilly, A., Sato, T., Araya, N., Yagishita, N., Ando, H., Kunitomo, Y., Takahashi, K., Tanaka, Y., Shibagaki, Y., Nishioka, K., Nakajima, T., Hasegawa, Y., Utsunomiya, A., Kimura, K., Yamano, Y. (2015) Anti-CCR4 antibody mogamulizumab targets human T-lymphotropic virus type I-infected CD8+ as well as CD4+ T cells to treat associated myelopathy. *J. Infect. Dis.* 211, 238-248.
2. Araya, N., Sato, T., Ando, H., Tomaru, U., Yoshida, M., Coler-Reilly, A., Yagishita, N., Yamauchi, J., Hasegawa, A., Kannagi, M., Hasegawa, Y., Takahashi, K., Kunitomo, Y., Tanaka, Y., Nakajima, T., Nishioka, K., Utsunomiya, A., Jacobson, S. and Yamano, Y. (2014) HVLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J. Clin. Invest.* 124, 3431-3442.
3. Ishihara, M., Araya, N., Sato, T., Saichi, N., Fujii, R., Yamano, Y., Sugano, S. and Ueda, K. (2014) A plasma diagnostic model of human T cell leukemia virus-1 associated myelopathy Running head: Novel severity grade markers for HAM/TS. *Ann Clin Transl Neurol.* in press.
4. Coler-Reilly, A., Ando, H. and Yamano, Y. (2014) Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in human T lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Clin Exp Neuroimmunol.* 5, 108-109.
5. Kawamata, T., Ohno, N., Sato, K., Kobayashi, M., Jo, N., Yuji, K., Tanosaki, R., Yamano, Y., Tojo, A. and Uchimarui, K. (2014) A case of post-transplant adult T-cell leukemia lymphoma presenting myelopathy similar to but distinct from human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1)-associated myelopathy. *Springerplus.* 3, 581.
6. 山野嘉久, 2014、HTLV-1 関連脊髄症 (HAM)、*神経症候群 (第2版)* 30, 153-156.
7. 山野嘉久, 2014、HTLV-1 の神経障害、*内科* 113, 1431.
8. 山野嘉久, 2014、HTLV-1 関連脊髄症

(HAM) の分子病態に基づく治療戦略、*細胞* 46, 258-261.

9. 山野嘉久, 2014、ヒト細胞白血病ウイルス I 型関連脊髄症、*最新医学 別冊* 200-205.
10. 新谷奈津美・山野嘉久, 2014、HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) に対する分子標的治療薬開発の現状と将来、*血液内科* 68, 30-35.
11. 山野嘉久, 2014、希少な慢性進行性の神経難病 HAM における治療有効性評価モデルの探索、*臨床評価* 41, 504-508.

### 2. 学会発表

1. Ishihara, M., Araya, N., Sato, T., Fujii, R., Tatsuguchi, A., Saichi, N., Nakagawa, H., Yamano, Y. and Ueda, K. Quantitative membrane proteome profiling to discover therapeutic targets for adult T-cell leukemia (ATL). AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA. April 5-9, 2014.
2. 夙田まや子・平田誠・佐々木光穂・樋野村重希子・前畑みどり・高橋一朗・増井徹・山野嘉久・吉良潤一・米田悦啓・坂手龍一、「難病研究資源バンクにおける収集試料の HLA タイピング実施による難病研究の推進」、第 23 回日本組織適合性学会大会、長崎大学 (長崎)、2014 年 9 月 13~15 日
3. 余郷麻希子・大本周作・向井泰司・安部宏・相澤良夫・高橋利幸・山野嘉久・鈴木正彦、「慢性 C 型肝炎に対するインターフェロン療法後に・抗アクアポリン 4 抗体及び抗 HTLV-1 抗体陽性の脊髄長大病変を呈した 49 歳女性例」、第 210 回日本神経学会関東・甲信越地方会、砂防会館シェーンバッハ (東京)、2014 年 9 月 6 日
4. 佐藤知雄・新谷奈津美・安藤仁・山内淳司・國友康夫・高橋克典・斎藤祐美・石川美穂・八木下尚子・山野嘉久、「HAM における Th1 様異常 T 細胞の発生機構



- および病態への関与」、第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会・第 26 回日本神経免疫学会学術集会合同学術集会金沢歌劇座（金沢）、2014 年 9 月 4～6 日
5. 山内淳司・新谷奈津美・安藤仁・Ariella Coler-Reilly・國友康夫・高橋克典・八木下尚子・佐藤知雄・宇都宮與・山野嘉久、「HAM における抗 CCR4 抗体療法の有用性および CCR4+CD8+T 細胞の異常に関する検討」、第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会・第 26 回日本神経免疫学会学術集会合同学術集会、金沢歌劇座（金沢）、2014 年 9 月 4～6 日
  6. 山野嘉久・木村美也子・八木下尚子・鈴木弘子・石川美穂・小池美佳子・齊藤祐美・新谷奈津美・佐藤知雄・高田礼子、「HAM 患者登録システム「HAM ねっと」を用いた疫学的解析」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  7. 佐藤知雄・井上永介・新谷奈津美・高橋克典・國友康夫・Ariella Coler-Reilly・山内淳司・八木下尚子・山野嘉久、「HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の臨床的評価指標の有用性に関する検討」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  8. 新谷奈津美・佐藤知雄・安藤 仁・外丸詩野・Ariella Coler-Reilly・八木下尚子・山内淳司・長谷川温彦・神奈木真理・田中勇悦・宇都宮與・山野嘉久、「HTLV-1 による HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 病原性 T 細胞の発生機構の解析」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  9. 八木下尚子・有福厚孝・菊池崇之・木村未祐奈・佐藤健太郎・石川美穂・鈴木弘子・小池美佳子・齊藤祐美・新谷奈津美・佐藤知雄・木村美也子・高田礼子・山野嘉久、「HTLV-1 関連脊髄症(HAM)患者登録システム「HAM ねっと」の患者満足度調査」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  10. 山内淳司・新谷奈津美・安藤 仁・國友康夫・高橋克典・Ariella Coler-Reilly・八木下尚子・佐藤知雄・宇都宮與・山野嘉久、「HAM における抗 CCR4 抗体療法の有用性および CCR4+CD8+T 細胞の異常に関する検討」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  11. 遠藤寿子・中島孝・池田哲彦・大田健太郎・會田泉・米持洋介・山野嘉久、「HAM の歩行不安定症に対する歩行改善プログラムに関する検討」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  12. 寺田裕紀子、鴨居功樹、山野ちなみ、山野嘉久、「HTLV-1 キャリアに合併した関節リウマチに対する生物学的製剤の使用で HTLV-1 ぶどう膜炎と HTLV-1 関連脊髄症が悪化した 1 例.」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日
  13. 石原誠人・新谷奈津美・佐藤知雄・藤井理沙・最知直美・宇都宮與・山野嘉久・菅野純夫・植田幸嗣、「CD4 陽性 T 細胞を用いた膜プロテオーム解析による HTLV-1 関連脊髄症に対する新規治療標的分子の探索」、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日

14. 山野嘉久、「HAMの炎症慢性化における astrocyte を介した炎症悪性ループの重要性」、第55回日本神経学会学術大会、福岡国際会議場(福岡)、2014年5月21～24日
15. 菊池崇之・有福厚孝・木村未祐奈・佐藤健太郎・本橋隆子・木村美也子・網中雅仁・高田礼子・八木下尚子・山野嘉久、「患者QOLの改善に向けた患者レジストリの満足度調査」、第55回日本神経学会学術大会、福岡国際会議場(福岡)、2014年5月21～5月24日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

1. 特願 2014-226719、植田幸嗣・石原誠人・山野嘉久、ヒト T リンパ好性ウイルス-1 (HTLV-1) 関連脊髄症(HAM/TSP)の検査方法及び検査用キット、2014年11月7日
2. 特願 2014-209669、山野嘉久・清野研一郎・武藤真人、 $\gamma\delta$ T細胞の製造方法および医薬、2014年10月14日
3. 特許第 5552630 号、登録 2014年6月6日、特願 2008-274514、山野嘉久・新谷奈津美、出願 2008年10月24日、HTLV-I 関連脊髄症を治療または予防するための医薬、および HTLV-I 関連脊髄症の患者に対する抗体療法の効果を試験する方法

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

## IgG4 関連疾患に関する研究

担当責任者：千葉 勉 京都大学大学院医学研究科・教授

### 研究要旨

IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値と種々の臓器への IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とするが、その病態は不明である。本研究では、IgG4 関連疾患における網羅的な GWAS・オミックス解析により病態解明を目指す。これまでの研究により、複数の疾患関連遺伝子が明らかとなってきた。今後、罹患臓器ごとの関連遺伝子解析に加え、オミックス解析により、IgG4 関連疾患の全体像が明らかになるものと期待される。

### A. 研究目的

IgG4 関連疾患は、血清 IgG4 高値と種々の臓器への IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする全身性疾患である。これまでの研究により、本疾患への自己免疫機序の関与が示唆されているが、その病態には未だ不明な点が多い。本研究では、IgG4 関連疾患において網羅的なゲノム解析・オミックス解析を行うことにより、疾患関連遺伝子の同定、および診断・治療効果予測・再発リスク・予後予測などのマーカーを探索することを目的とする。

### B. 研究方法

#### Genome-Wide Association Study (GWAS)

臨床情報の明らかな IgG4 関連疾患症例の抹消血より DNA サンプルを集積し、次世代シーケンサーを用いた遺伝子多型解析により疾患特異的遺伝子の同定を行う。

#### Omics Study

新規に診断された IgG4 関連疾患患者において、副腎皮質ステロイド治療前・治療経過中・治療後あるいは再発時の採血検体の集積を行う。同検体において遺伝子発現アレイ・

ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリーを用いた網羅的解析を行う。

両解析とも、正常コントロールは京都大学の長浜コホートから、年齢と性をマッチさせた検体を用いる。

（倫理面への配慮）

本研究は、人体試料を用いたゲノム遺伝子解析研究であり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿った倫理申請を行い、京都大学医の倫理委員会において承認を得ている。また、抹消血サンプル採取の際には、全症例において、説明文書・同意書を用いた説明を行い、同意を得ている。

### C. 研究結果

#### Genome-Wide Association Study

これまでに本研究班において IgG4 関連疾患 917 例を集積した。これらの症例において全ゲノムシーケンス、および統計遺伝学的解析を行った。その結果、IgG4 関連疾患は、HLA 領域および Fcγ 受容体 IIb に強い相関を認め、これらの遺伝子が疾患関連遺伝子である可能性が示唆された。

## Omics Study

本研究班において 46 例の症例を集積した。現在、遺伝子発現アレイを用いた遺伝子発現解析、あるいはガスクロマトグラフィー・マスペクトロメトリーを用いた代謝物の網羅的解析を行っている。

### D. 考察

本研究における GWAS により、IgG4 関連疾患の疾患感受性遺伝子が得られてきた。IgG4 関連疾患においても、各種自己免疫性疾患の関連遺伝子として同定されている HLA が関連していることは、本疾患が自己免疫性疾患である可能性を示唆しているのかも知れない。一方、IgG4 は IgG の中でも抑制性の免疫グロブリンと考えられており、FcγR-IIb に親和性が最も強いことが明らかとなっている。今回同定された FcγR-IIb の多型が IgG4 の結合やその作用にどのような影響があるのか、極めて興味を持たれるところである。

### E. 結論

IgG4 関連疾患の疾患感受性遺伝子が明らかとなってきた。本研究における GWAS および Omics Study により、IgG4 関連疾患の病態が明らかとなる可能性がある。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Nishikawa, Y., Tsuji, Y., Isoda, H., Kodama, Y. and Chiba, T. (2015) Perfusion in the tissue surrounding pancreatic cancer and the patient's prognosis. *Biomed. Res. Int.* in press.
2. Ikeda, A., Aoki, N., Kido, M., Iwamoto, S., Nishiura, H., Maruoka, R., Chiba, T., and Watanabe N. (2014) Progression of autoimmune hepatitis is mediated by IL-18-producing dendritic cells and hepatic CXCL9

expression in mice. *Hepatology* 60, 224-236.

#### 2. 学会発表

1. 塩川雅広・上田樹・西川義浩・山内雄揮・栗山勝利・佐久間洋二郎・大田悠司・丸野貴久・澤井勇悟・辻喜久・宇座徳光・児玉裕三・千葉 勉、「自己免疫性膵炎患者の IgG の病原性」、第 51 回日本消化器免疫学会総会、京都大学医学部芝蘭会館（京都）、2014 年 7 月 10 日
2. 塩川雅広・上田樹・西川義浩・山内雄揮・栗山勝利・佐久間洋二郎・大田悠司・丸野貴久・澤井勇悟・辻喜久・宇座徳光・児玉裕三・千葉 勉、「自己免疫性膵炎と特発性血小板減少性紫斑病の関係」、第 51 回日本消化器免疫学会総会、京都大学医学部芝蘭会館（京都）、2014 年 7 月 10 日
3. 新井康之・渡邊智裕・山下浩平・高折晃史・千葉 勉、「Neutrophil extracellular traps による Plasmacytoid dendritic cell の活性化と IgG4 関連疾患」、第 51 回日本消化器免疫学会総会、京都大学医学部芝蘭会館（京都）、2014 年 7 月 10 日

### H. 知的財産権の出願・登録状況

#### 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

## IgG4 関連疾患に関する研究

担当責任者：三 森 経 世 京都大学大学院医学研究科・教授

### 研究要旨

IgG4 関連疾患（IgG4-RD）は血清 IgG4 濃度上昇と病変局所への IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする原因不明の多臓器硬化性疾患であり、自己免疫性膵炎、涙腺・唾液腺炎（ミクリッツ病）、後腹膜線維症、間質性腎炎などの多くの疾患が分類される。本研究では本疾患の病因・病態の解明、新たな治療ターゲットの追究、診断や予後予測に有用なバイオマーカー探索のために、網羅的オミックス解析を行うことを目的とする。すでに IgG4-RD 患者 674 例の DNA 検体について網羅的ゲノム SNP タイピングが終了し、第 6 染色体上の HLA 領域に加えて、第 1 染色体上に有意の関連を示す領域が検出された。さらに、DNA 検体を増やして結果を検証する。また、オミックス解析のために IgG4-RD 患者のステロイド治療前後の末梢血細胞および血漿検体を集積しつつあり、トランスクリプトーム解析やメタボローム解析を行う予定である。

### A. 研究目的

IgG4 関連疾患（IgG4-related disease: IgG4-RD）は、血清 IgG4 濃度上昇と、病変局所への IgG4 陽性形質細胞浸潤を特徴とする原因不明の多臓器硬化性疾患である。本疾患の概念により、これまでは互いに無関係と考えられてきた、自己免疫性膵炎、涙腺・唾液腺炎、後腹膜線維症、などの多くの疾患がこのカテゴリーに分類されることが判明している。本疾患は、その発見から疾患概念の確立、診断基準の制定へと常に日本が世界をリードしてきた。

しかし、IgG4-RD の真の原因は未だ不明である。既に本疾患の病因解明のために、H24-25 年度の厚生労働省「IgG4 関連疾患に関する調査研究班（千葉勉班長）」および H26 年度からの「IgG4 の病態解明と新規治療法確立に関する研究班（三森経世班長）」において DNA 検体が収集され網羅的遺伝子

解析が開始された。本研究ではこの研究をさらに発展させ、IgG4-RD の病因・病態を解明し、新たな治療ターゲットを追究するとともに、診断や予後予測に有用なバイオマーカー探索のために、網羅的オミックス解析を行うことを目的とする。

### B. 研究方法

全国 51 施設の研究協力施設に呼び掛け、IgG4-RD 包括診断基準または自己免疫性膵炎診断基準を満足する IgG4-RD 患者の末梢血白血球より DNA 検体を採取した。これらの DNA 検体を対象として、SNP アレイを用いて全ゲノム解析（GWAS）、および次世代シーケンサーを用いた Exome 解析を行う。さらに、新規未治療 IgG4-RD 患者の治療介入前後の末梢血細胞および血漿を採取保存し、トランスクリプトーム解析ならびにプロテオミクス・メタボローム解析を行う。こ

れら全ての情報と臨床情報とを統合したオミックス解析から、難病の病因・病態解明を進める。

コントロール群として、滋賀県長浜市民を対象とした「ながはま0次コホート事業」で収集したゲノムDNA、末梢血RNA、血漿検体を利用する。

(倫理面への配慮)

前年度までの厚労省IgG4関連疾患研究班において、IgG4関連疾患の病因・病態の解明、診断および治療法開発のための「IgG4関連疾患・自己免疫性膵炎における疾患関連遺伝子の解析」および「IgG4関連疾患のステロイド投与における免疫応答に関する網羅的オミックス解析」の両プロトコールが、既に京都大学医の倫理委員会から承認を得ている。本研究はその共同研究として行われる。対象者には十分な説明を行い、文書で同意を得る。共同研究者や一般研究班からの検体を受け入れる場合は、それぞれが所属する研究機関で倫理的承認を得ていることを確認する。

### C. 研究結果

1. IgG4-RDの基準を満たす674例のIgG4-RD患者DNA検体を用い、健常人1,848例を対照としてSNPアレイを用いてゲノム網羅的なSNPタイピングを行ったところ、第6染色体上のHLA領域に加えて、第1染色体上に有意の関連を示す領域が検出された。
2. 2014年12月末までに、ゲノム解析のためのDNA検体として896例が集積された(AIP532、涙腺・唾液腺炎382、IgG4関連腎症75例)。今後、中間解析で得られた疾患関連遺伝子の再現性の検証、感受性遺伝子の機能解析、IgG4-RDのサブタイプとの関連性の解析を行う。

3. オミックス解析のためのIgG4-RDステロイド治療前後の末梢血細胞および血漿50例(述べ94検体)が集積された。さらに検体を増やして、発現アレイを用いたトランスクリプトーム解析やメタボローム解析を行う予定である。

### D. 考察

IgG4-RDは今世紀に我国から発信された新たな疾患概念であり、多彩な臓器病変を含む。その病態としてアレルギーや自己免疫の機序が想定されているが、真の原因はなお不明であり、網羅的オミックス解析はその解明に重要な手掛かりを与えてくれることが期待される。

SNPアレイを用いたGWASにより、これまでに報告のあるHLA領域とともに、第1染色体上に新たな疾患関連遺伝子が同定された。今後IgG4-RDと関連する特定のHLA型を特定できれば、本疾患の診断や治療反応性、予後推定などに応用できる可能性がある。また、新たに見出された第1染色体上の遺伝子はオッズ比こそ低いものの、本疾患の病態との関連から新たな治療標的への手がかりが得られる可能性もある。

オミックス解析はまだ検体の収集段階ではあるが、着実に収集されつつあると考えられる。IgG4-RDの診断、予後予測、治療反応性に関わるバイオマーカーの同定を期待したい。

### E. 結論

IgG4-RDの病因病態解明、診断、予後予測にかかわる遺伝子とバイオマーカーを探索するための網羅的オミックス解析に必要な患者検体を集積中である。

### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Nakatsuka, Y., Handa, T., Nakamoto, Y., Nobashi, T., Yoshihujii, H., Tanizawa, K., Ikezoe, K., Sokai, A., Kubo, T., Hirai, T., Chin, K., Togashi, K., Mimori, T. and Mishima, M. (2014) Total lesion glycolysis as an IgG4-related disease activity marker. *Mod. Rheumatol.* in press.
2. Terao, C., Ohmura, K., Yamada, R., Kawaguchi, T., Shimizu, M., Tabara, Y., Takahashi, M., Setoh, K., Nakayama, T., Kosugi, S., Sekine, A., Matsuda, F., Mimori, T.; on behalf of the Nagahama Study Group (2014) An association between anti-nuclear antibody and HLA class II locus and heterogeneous characteristics of staining patterns: The Nagahama Study. *Arthritis Rheumatol.* **66**, 3395-3403.
3. Terao, C., Ohmura, K., Ikari, K., Kawaguchi, T., Takahashi, M., Setoh, K., Nakayama, T., Kosugi, S., Sekine, A., Tabara, Y., Taniguchi, A., Momohara, S., Yamanaka, H., Yamada, R., Matsuda, F., Mimori, T.; on behalf of the Nagahama Study Group (2014) Effects of smoking and shared epitope on the production of ACPA and RF in a Japanese adult population: The Nagahama Study. *Arthritis Care Res. (Hoboken)*. **66**, 1818-1827.
4. Tanaka, K., Terao, C., Ohmura, K., Takahashi, M., Nakashima, R., Imura, Y., Yoshifuji, H., Yukawa, N., Usui, T., Fujii, T., Mimori, T. and Matsuda, F. (2014) Significant association between CYP3A5 polymorphism and blood concentration of tacrolimus in patients with connective tissue diseases. *J. Hum. Genet.* **59**, 107-109.

### 2. 学会発表

該当なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 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

## 好酸球性消化管疾患に関する研究

担当責任者：木下 芳一 島根大学医学部・教授・

### 研究要旨

好酸球性消化管疾患の集約的オミックス解析を行うことで疾患の原因究明を行うとともに遺伝子診断を確立し、さらに疾患重症度、治療反応性のバイオマーカーを見出すことを目的として研究を行っている。消化器病の専門医を対象に好酸球性消化管疾患の説明会を行い、全国の専門施設のネットワークを形成し広く患者の臨床情報と検体を集積できるシステムを構築しつつある。また解析のためには300例の好酸球性消化管疾患の症例データと検体を集積することが必要であるが現在約70例の症例データとDNA、RNA、血液蛋白、代謝物解析のための検体の収集が完了し、検体の解析のための前処理と京都大学ゲノム医学センターでのストックが終了している。今後、専門施設のネットワークを広げ本研究への症例収集施設を増やし、症例の集積を加速する予定で作業を進めている。

### A. 研究目的

好酸球性食道炎と好酸球性胃腸炎を含む好酸球性消化管疾患の集約的オミックス解析を行うことで疾患の原因究明を行うとともに遺伝子診断を確立する。またメタボローム解析、プロテオーム解析、トランスクリプトーム解析データを用いて好酸球性消化管疾患の重症度、治療反応性のバイオマーカーを確立する。

### B. 研究方法

1. 好酸球性消化管疾患は頻度が高い疾患ではない。このため全国の専門施設のネットワークを形成し広く患者の臨床情報と検体を集積できるシステムを構築する。
2. 好酸球性消化管疾患の診断基準に沿って診断された患者の臨床情報と末梢血のDNA、RNA、蛋白、代謝物の包括的な測定を行うための検体を集積する。

DNA 以外の検体に関しては病勢の変化や治療への反応性を見ながら定期的に経過を追った検体の採取を行う。検体の採取を行う施設ではすべて施設の倫理委員会にてヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従って審査を受け、承認を得られた施設においてのみ検体と臨床情報の集積を行う。検体と臨床情報は検体採取施設において連結可能匿名化を行い、さらに京都大学ゲノム医学センターにおいて再度二次匿名化を行い患者の個人情報の保護には最大の注意を払う。

3. 検体は京都大学ゲノム医学センターにて解析を行う。

### C. 研究結果

まず集約的オミックス解析を好酸球性消化管疾患を対象として行うことを島根大学医学部医の倫理委員会において審査をうけ



承認された。その後、専門施設のネットワークを形成することを目的として好酸球性消化管疾患の診療を行っている消化器疾患の専門施設をリストアップし、本研究の詳細を説明し参加を依頼する検討会を開催した。検討会では好酸球性消化管疾患の診断基準、重症度判定基準、集約的オミックス解析の詳細と意義について解説し、参加と協力を求めた。その後、現在までに島根大学医学部に続いて、東北労災病院、松江市立病院、福岡大学筑紫病院、山形大学、大阪市立大学、東北大学において本研究の実施がそれぞれの施設の倫理委員会で承認されている。現在さらに4大学グループで倫理委員会での審議が進んでいる。

現在、集約的オミックス解析用の臨床データと血液検体が採取された例は70例で、目標の300例まで集積を続けるとともに、経時的な検体の採取を進めている。収集された血液検体については、DNA、RNA用の検体はDNA、RNAを抽出しその収量を検討したのちに京都大学ゲノム医学センターに集積した。またその他の血清、血漿検体に関しても、同様に京都大学ゲノム医学センターに集積している。収集された好酸球性消化管疾患のうち4分の3を好酸球性食道炎が占めており、好酸球性消化管疾患の中では好酸球性食道炎の発症率が高いことが分かる。また好酸球性食道炎は平均年齢50歳、82%が男性、症状がきわめて軽度な例が10%、アレルギー疾患の合併が75%、ヘリコバクター・ピロリ感染陽性率が低く30%であった。一方、好酸球性胃腸炎例は好酸球性消化管疾患例の4分の1を占めるより稀な疾患で、平均年齢52歳、男女ほぼ同数、症状は比較的強い重症型が多く、アレルギー疾患の合併は60%に認め、ヘリコバクター・ピロリの感染陽性者は好酸球性食道炎同様に低くわずか30%であることが分かっている。

#### D. 考察

好酸球性消化管疾患は主に食物をアレルゲンとする遅延型の消化管アレルギー反応であると考えられている。最近その増加が著しいため発症には環境要因が重要であると考えられるが、家族内発症例が報告されるとともに Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)、filaggrin、等の免疫や皮膚透過性に関与する遺伝子の多型が疾患の発症に関連性があるとする報告があり、好酸球性消化管疾患の発症にも遺伝的な負荷の関与があると考えられている。最近行われた一卵性双生児と二卵性双生児を対象とした疫学調査では、好酸球性消化管疾患のうち好酸球性食道炎の発症に対する遺伝的負荷の関与は20%強であると考えられている。本研究ではまず、遺伝的負荷を明確にするための原因遺伝子群を明らかにすることを目的に解析対象例の収集が進んでいる。今後DNAの多型解析を進め、健常者のデータと比較することで原因遺伝子群を同定し、遺伝子診断さらには発症リスクの算定が可能となるものと期待される。

一方、病勢の判定や治療反応性のバイオマーカーとなる血液中の物質を求めて47種類のサイトカインを血清を材料としてマルチプレックス測定で計測したが、これらの測定では診断にも病勢の判定にも、また治療反応性のバイオマーカーにもならないことが確認できた。そこで、経時的なメタボローム解析、プロテオーム解析、トランスクリプトーム解析データを詳細に検討することで上記のバイオマーカーを見出すことができるのではないかと期待している。

#### E. 結論

好酸球性消化管疾患の原因遺伝子群を明らかにして遺伝子診断への道を開き、集約的オミックス解析を行って重症度、治療反応性のバイオマーカーを見出すことを目的とし

て目標 300 例のうち 70 例の臨床データと血液検体の集積、前処理を行っている。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ishimura, N., Ishihara, S. and Kinoshita, Y. (2014) Gastro-esophageal acid reflux mainly occurs on right side of esophagus. *Gastrointest Endoscopy.* 79, 180-181.
2. Fukazawa, K., Furuta, K., Adachi, K., Moritou, Y., Saito, T., Kusunoki, R., Uno, G., Shimura, S., Aimi, M., Ohara, S., Ishihara, S. and Kinoshita, Y. (2014) Effect of mosapride on esophageal motor activity and esophagogastric junction compliance in healthy volunteers. *J. Gastroenterol.* 49, 1307-1313.
3. Oka, A., Ishihara, S., Mishima, Y., Tada, Y., Kusunoki, R., Fukuba, N., Yuki, T., Kawashima, K., Matsumoto, S. and Kinoshita, Y. (2014) Role of Regulatory B Cells in Chronic Intestinal Inflammation: Association with Pathogenesis of Crohn's Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 20, 315-328.
4. Fukuba, N., Ishihara, S., Tada, Y., Oshima, N., Moriyama, I., Yuki, T., Kawashima, K., Kushiya, Y., Fujishiro, H. and Kinoshita, Y. (2014) Prevalence of irritable bowel syndrome-like symptoms in ulcerative colitis patients with clinical and endoscopic evidence of remission: prospective multicenter study. *Scand. J. Gastroenterol.* 49, 674-680.
5. Shimura, S., Ishimura, N., Tanimura, T., Yuki, T., Miyake, T., Kushiya, Y., Sato, S., Fujishiro, H., Ishihara, S., Komatsu, T., Kaneto, E., Izumi, A., Ishikawa, N., Maruyama, R. and Kinoshita, Y. (2014) Reliability of symptoms and endoscopic findings for diagnosis of esophageal eosinophilia in a Japanese population. *Digestion.* 90, 49-57.
6. Ansary, Md. Mu., Ishihara, S., Oka, A., Kusunoki, R., Oshima, N., Yuki, T., Kawashima, K., Maegawa, H., Kashiwagi, N. and Kinoshita, Y. (2014) Apoptotic cells ameliorate chronic intestinal inflammation by enhancing regulatory B cell function. *Inflamm. Bowel Dis.* 20, 2308-2320.
7. Hanada, K., Adachi, K., Mishiro, T., Tanaka, S., Takahashi, Y., Yoshikawa, K. and Kinoshita, Y. (2015) Relationship between esophageal cardiac glonols and gastro-esophageal reflux disease. *Internal Medicine.* 54, 91-96.
8. Ishimura, N., Owada, Y., Aimi, M., Oshima, T., Kawada, T., Inoue, K., Mikami, H., Takeuchi, T., Miwa, H., Higuchi, K. and Kinoshita, Y. (2014) No increase in gastric acid secretion in healthy Japanese over past two decades. *J. Gastroenterol.* in press.
9. Matsushita, T., Maruyama, R., Ishikawa, N., Harada, Y., Araki, A., Chen, D., Tauchi-Nishi, P., Yuki, T. and Kinoshita, Y. (2015) The number and distribution of eosinophils in the adult human gastrointestinal tract: a study and comparison of racial and environmental factors. *Am. J. Surg. Pathol.* in press.
10. Kusunoki, R., Ishihara, S., Tada, Y., Oka, A., Sonoyama, H., Fukuba, N., Oshima, N., Moriyama, I., Yuki, T., Kawashima, K., Md. Mesbah Uddin Ansary, Tajima, Y., Maruyama, R., Nabika, T. and Kinoshita, Y. (2015) Role of milk fat globule-epidermal growth factor 8 in colonic inflammation and carcinogenesis. *J. Gastroenterol.* in press.
11. Ishimura, N., Shimura, S., Jiao, D. J., Mikami, H., Okimoto, E., Uno, G., Aimi, M., Oshima, N., Ishihara, S. and Kinoshita, Y. Clinical features of eosinophilic esophagitis: Differences between Asian and Western populations. *J. Gastroenterol Hepatol.* in press.
12. 木下芳一、2014、好酸球性食道炎、*日本医事新報*、4707、52.
13. 木下芳一、2014、序文、*好酸球性消化管疾患診療ガイドライン* (木下芳一編)、南江堂、東京、pp III.
14. 木下芳一、2014、好酸球性食道炎・胃腸炎の診断と治療、*日本気管食道科学会専門医通信*、48、6-10.
15. 宮岡洋一・塚野航介・上野さや香・山之

内智志・楠 龍策・伊藤聡子・藤代浩史・高下成明・大沼秀行・木下芳一、2015、クローン病に合併した好酸球性食道炎の1例、*Gastroenterological Endoscopy*、57, 128-133.

## 2. 学会発表

1. 木下芳一、「好酸球性胃腸炎と好酸球性食道炎の診療と研究の現状」、第100回日本消化器病学会総会(基調講演)、東京国際フォーラム(東京)、2014年4月25日
2. 大嶋直樹・石原俊治・木下芳一、「好酸球性食道炎の病態形成にIL-33は関与するのか?」、第51回日本消化器免疫学会総会(パネルディスカッション)、京都大学医学部芝蘭会館(京都)、2014年7月11日
3. 石村典久・石原俊治・木下芳一、「マイクロアレイ解析による好酸球性食道炎の病態解明」、第22回日本消化器病関連学会週間(ワークショップ)、ポートピアホテルほか(神戸)、2014年10月24日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 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

難病のオミックス解析-小児科遺伝性血液疾患の検体収集-に関する研究

担当責任者：小島 勢 二 名古屋大学大学院医学系研究科・教授・

**研究要旨**

効率よく遺伝子診断を行って臨床に還元し、検体の解析・収集を進めることを目的として、小児科遺伝性血液疾患の原因遺伝子約 200 遺伝子を対象としたターゲットシーケンスのシステムを構築した。臨床的に遺伝性骨髄不全症と診断された症例では、43/99 例（43%）について、原因遺伝子の同定に成功した。ほとんどの症例では、臨床診断とターゲットシーケンスによる遺伝子診断が一致した。しかしながら、不一致の例も複数例認められ、ターゲットシーケンスの臨床的有用性が示された。ターゲットシーケンスを含めた遺伝子解析システムを用いることで、効率よく遺伝子診断を行い、臨床への還元と検体の収集を進めることが可能であった。

**A. 研究目的**

従来の遺伝子診断では、小児遺伝性血液疾患の半数以上の症例では原因遺伝子が不明であった。より効率よく遺伝子診断を行って臨床に還元し、同時に研究的な検体の解析・収集を進めることを目的として、ターゲットシーケンスのシステムを構築した。

**B. 研究方法**

全国より送付された、遺伝子診断の得られていない検体を対象として、解析を行った。小児科遺伝性血液疾患の原因遺伝子として報告されている約 200 遺伝子を対象に、稀少小児血液疾患全体で 298 検体の解析を行った。SureSelect カスタム(Agilent)を用いて標的遺伝子領域の塩基配列を濃縮し、HiSeq 2500(Illumina)を用いてシーケンスを行った。American College of Medical Genomics (ACMG)のガイドラインに従って遺伝子診断を行った。

**(倫理面への配慮)**

遺伝子解析は、倫理委員会の承認が得られた臨床研究として書面に基づくインフォームドコンセントを得た上で、匿名化された状態で行った。

**C. 研究結果**

臨床的に遺伝性骨髄不全症と診断された症例では、43/99 例（43%）について、原因遺伝子の同定に成功した（表 1）。特に、Fanconi 貧血・Scwachman-Dimaond 症候群などは、既知の原因遺伝子で多くの症例が診断できており、特に有用であった。ほとんどの症例では、臨床診断とターゲットシーケンスによる遺伝子診断が一致した。しかしながら、不一致の例も複数例認められ、ターゲットシーケンスの臨床的有用性が示された。サンガー法による確認検査を行ったのうち、全国の施設の臨床医に解析結果を報告し、臨床現場への還元を行った。