

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591143

研究課題名(和文) 薬剤性肺障害に関連する遺伝子多型の検討

研究課題名(英文) A study of gene polymorphism related to drug-induced lung disease

研究代表者

久保 恵嗣 (KUBO, Keishi)

信州大学・医学部・特任教授

研究者番号：80143965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、近年分子標的薬などの上市により増加傾向にある薬剤性肺障害の遺伝的背景を検討した。早期診断のために、薬剤性肺障害患者における遺伝子多型を検討したところ、複数の遺伝子多型と本症の関連があった。今後はさらなる症例数の蓄積と、遺伝子の機能的解析を進めることにより、薬剤性肺障害のさらなる病態の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated genetic background in patients with drug-induced lung disease, which has displayed an increasing trend in recent years. Upon considering gene polymorphism in patients with drug-induced lung disease for the purpose of early diagnosis, there were multiple relationships between gene polymorphism and the disease. Going forward, by means of the accumulation of an additional number of cases and genetic functional analysis, an even clearer understanding of the clinical conditions of drug-induced lung damage can be expected.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：遺伝子 ゲノム 薬剤性肺障害

1. 研究開始当初の背景

近年、薬剤による肺障害の報告が増加している。重症では呼吸不全から死の転帰をとることもあり、重大な疾患である。増加の理由としていくつか挙げられが、分子標的薬、新規抗リウマチ薬などの生物学的製剤、従来型抗がん薬の新規開発、など新薬の開発・上市が盛んとなっていることは大きな要因である。一方、国民の間でも薬剤性肺障害は「薬害」として認識されるようになり、社会的な関心が高まっている。また、同一の薬剤でもわが国では欧米に比し、薬剤性肺障害の発生頻度が高いのではないかという指摘がある。また同一民族間においても薬剤感受性・抵抗性が認められている。これらの事実は、薬剤性肺障害発症に遺伝的要因が関与している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、薬剤性肺障害に関与する各薬剤共通の遺伝的背景を検討することである。薬剤投与により薬剤性肺障害を起こした患者（発症群）と、薬剤性肺障害を発症しにくい薬剤を投与されたが、発症しなかった患者（非発症群）の遺伝的背景を比較することで、肺障害誘発に関与する候補遺伝子を検討し、肺障害発症機序を解明する。

3. 研究の方法

サンプル収集：主任研究施設および研究協力施設で診療された薬剤性肺障害患者を発症群とし、薬剤性肺障害を発症しやすい薬剤を1か月間以上投与されたが、薬剤性肺障害を発症しなかった患者を非発症群とした。薬剤性肺障害の診断は、薬剤性肺障害の評価、治療についてのガイドライン（日本呼吸器学会、2006）に則して、問診・身体所見・検査所見などより原病の増悪や、感染症などを除外して総合的に診断した。当研究への同意を得られた患者から、血液サンプルを収集、自動DNA抽出器（Quick Gene, FUJIFULM Co.）を用いてサンプル血液からDNAを抽出した。

（1）薬剤性肺障害関連遺伝子の抽出：H23年度までに収集したサンプルを加えて全ゲノム網羅的な相関解析（GWAS: Genome-Wide Association Study）を行う。過去の検討で薬剤性肺障害と相関を示した遺伝子である *HIVEP3*（Human immunodeficiency Virus Type I Enhancer-Binding Protein 3）と *NME7*（Nonmetastatic Cells 7）に注目し、再現性を検討する。Affymetrix社のGeneChip Human Mapping 500K Array set（500, 568 SNPs）を用いたGWASで強い相関を示した両遺伝子内の単塩基多型（SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms）と、今回新たに設定したSNPsを用いて発症群と非発症群に

おける相関解析を行った。SNPs タイピングにはABI TaqMan SNP genotyping assayを用い、TaqMan Real Time PCR（7500 Real Time PCR System, ABI）で行った。

（2）HLAの検討：これまでに、肺障害発症群、非発症群でHLA-Aローカスについて有意差を認めており、さらにサンプル数を増やして検討する。HLA-DNAタイピング: LABType SSO試薬（One Lamda Inc.）にてHLA-A*、-B*、-C*、-DRB1*、-DQB1*をLuminex法で検査した。

4. 研究成果

（1）発症例58例、非発症例66例で解析を行った。その結果、*HIVEP3* 遺伝子内に設けた3種類のSNPs(rs10493099, rs710235, rs2165303)は何れも肺障害発症に正の相関を示した（ $p < 0.0019$, $R.R. = 2.28$ ）。*HIVEP3*は300 kb以上で10個のエクソンからなる遺伝子であり、Zinc Finger プロテインファミリーに属すDNA結合蛋白である。この遺伝子は急性炎症や、アポトーシスなど免疫反応に中心的役割を果たす転写因子と競合的に作用し、転写因子を調節するといわれている。今回の検討では3種類のSNPsが統計学的に有意差を示したが、GWASでの解析よりP値とR.R.値が低下しており、今後の統計学的検討と機能的解析が必要である。

また、*NME7* 遺伝子についても、3種類のSNPsと強い正の相関を示した（rs3820056: $p < 6.03 \times 10^{-8}$, rs9633334: $p < 6.44 \times 10^{-5}$, rs6688038: $p < 7.63 \times 10^{-7}$ ）。*NME7* 遺伝子の機能については多くは不明であるが、細胞分裂時に働く重要な分子であると考えられている。また、遺伝子発現の減弱はがん抑制遺伝子の活性に影響するといわれている。GWASで発症群に強い相関を示したrs6688038は、今回TaqManを用いた検討でさらに強い相関を示した。症例数を増やした解析結果が、GWAS解析時より著しく強い相関を示したことから、この*NME7* 遺伝子と薬剤性肺障害の因果関係について機能解析を含めた、より詳細な解析が必要である。

（2）

発症群と非発症群の比較

発症例55例、非発症例35例で解析を行った。発症群と非発症群との比較においてアリル数が5以上で遺伝子頻度が2倍以上の相違を示したのは、HLA-B*54:01（発症群：6.36%、非発症群：12.86%）とHLA-DRB1*08:03（発症群6.36%、非発症群：15.71%）であった。また、アリル陽性者頻度で比較するとHLA-DRB1*08:03（発症群：12.7%、非発症群：28.6%）のみに相違がみられた。しかし、アリル頻度、アリル陽性者頻度について、両群間では統計学的有意差（ $p < 0.05$ ）を示すアリルは存在しなかった。

健常人の比較

健常人 201 例と発症群および非発症群におけるアリル陽性者頻度について比べ、² test による相関解析を行った。健常者と比較し、アリル陽性率で統計学的有意差を示したのは、発症群において HLA-DRB1*04:05 (OR: 2.10, p=0.022)、HLA-DQB1*04:01 (OR: 2.17, p=0.018)、HLA-C*01:02 (OR: 1.86, p=0.049) であった。また非発症群においては HLA-A*24:02 (OR: 2.51, p=0.012)、HLA-C*01:02 (OR: 2.10, p=0.047)、HLA-C*12:02 (OR: 2.59, p=0.039)、HLA-DRB1*15:01 (OR: 0.31, p=0.029)、HLA-DQB1*06:01 (OR: 2.10, p=0.047)、HLA-DQB1*06:02 (OR: 0.22, p=0.012) であった。今回の解析結果では、発症群で HLA class II 遺伝子である HLA-DRB1*04:05 と HLA-DQB1*04:01 が健常者と比較して、統計学的に有意に増加していた。したがって、この遺伝子が薬剤性肺障害発症に機能的な役割を果たしていることが示唆された。さらに非発症群では HLA-DRB1*15:01 と HLA-DQB1*06:02 のアリル保有率が有意に減少していた。しかし、発症群と非発症群間においては HLA のアリル頻度とアリル保有率に有意な相関はなかった。今後これら HLA 遺伝子が肺障害発症および非発症に機能的に関与しているかさらに検体数を増やした解析が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

花岡正幸、谷直樹、薬剤性肺障害の人種差と遺伝的素因、医学のあゆみ 248 巻、69-74、2014、査読無

久保惠嗣、弦間昭彦、酒井文和、徳田均、薬剤性肺障害、呼吸、32 巻、116-125、2013、査読無

久保惠嗣、花岡正幸、【薬剤性肺障害の臨床】急性の経過を呈する薬剤性肺障害、呼吸と循環、61 巻、325-334、2013、査読無

花岡正幸、【内科診療にガイドラインを生かす】呼吸器疾患 薬剤性肺障害、Medicina、50 巻、136-140、2013、査読無

久保惠嗣、花岡正幸、特集 薬剤性肺障害の手引き 序～薬剤性肺障害の重要性～、アレルギー・免疫、20 巻、341-346、2013、査読無

Kubo K, Azuma A, Kanazawa M, Kameda H, Kusumoto M, Genma A, Saijo Y, Sakai F,

Sugiyama Y, Tastumi K, Dohi M, Tokuda H, Hashimoto S, Hattori N, Hanaoka M, Fukuda Y, Consensus statement for the diagnosis and treatment of drug-induced lung injuries, Respir Invest, 51 巻、260-277、2013、査読有 DOI: 10.1016

〔学会発表〕(計 4 件)

池田麻里子、市山崇史、立石一成、横山俊樹、牛木淳人、漆畑一寿、山本洋、花岡正幸、久保惠嗣、抗リウマチ薬による薬剤性肺炎の臨床的特徴、第 53 回日本呼吸器学会学術講演、2013.4.19 21、東京

池田麻里子、市山崇史、立石一成、横山俊樹、牛木淳人、漆畑一寿、山本洋、花岡正幸、小泉知展、久保惠嗣、抗リウマチ薬による薬剤性肺炎の臨床的特徴(当科で経験した薬剤性肺炎の臨床的検討～抗リウマチ薬による特徴を中心に)、第 110 回日本内科学会総会・講演会 2013.4.12 13、東京

小林信光、花岡正幸、太田正穂、牛木淳人、伊東理子、平井一也、徳田均、巽浩一郎、河野修興、久保惠嗣、薬剤性肺障害における分子遺伝学的検討、第 52 回日本呼吸器学会学術講演会、2012.4.20-22、神戸市

伊東理子、花岡正幸、太田正穂、小林信光、徳田均、平井一也、巽浩一郎、河野修興、久保惠嗣、薬剤性肺障害における分子遺伝学的検討、第 109 回日本内科学会総会・講演会、2012.4.13-15、京都

〔図書〕(計 2 件)

久保惠嗣、花岡正幸、日本臨床社、医師・薬剤師のための医薬品副作用ハンドブック、2013、pp.411-413

久保惠嗣、医学書院、今日の治療指針私はこう治療している、2013、310 頁

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保 惠嗣 (KUBO, Keishi)
信州大学・医学部・特任教授
研究者番号：80143965

(2) 研究分担者

花岡 正幸 (HANAOKA, Masayuki)
信州大学・医学部・教授
研究者番号：20334899

太田 正穂 (OTA, Masao)
信州大学・医学部・准教授
研究者番号 : 50115333

伊東 理子 (ITO, Michiko)
信州大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 60569812