

学位論文題名

気管支喘息の病態における
 β_2 アドレナリン受容体遺伝子多型の意義

学位論文内容の要旨

〔研究目的〕 β_2 アドレナリン受容体(β_2 AR)遺伝子において塩基レベルで9つの多型が報告され、気管支喘息の臨床像との関係が報告されている。そのうちヌクレオチド46(16番目のアミノ酸がArg→Gly)、ヌクレオチド79(27番目のアミノ酸がGln→Glu)の多型については、変異頻度が高く、in vitroにおいてArg16→Glyの変異はアゴニストの長期暴露による β_2 ARのdown regulationを促進し、Gln27→Gluの変異はそれを抑制することが明らかにされた。また、気管支喘息の臨床像との関連では、アミノ酸16については、Gly16/Glyの患者にはステロイド治療や脱感作療法を受けている割合が多いこと、夜間喘息患者では変異アリールGly16の頻度が高いことが報告されている。アミノ酸27については、Glu27/Gluの患者では気道過敏性がGln27/Glnに比して低下していること、Gln27/Glnの患者は血清IgEが高いことが報告されている。 β_2 刺激薬は気管支喘息の治療として重要な役割を占めているが、耐性や喘息死との関連なども報告されており、その使用法については議論の余地のあるところである。このような観点から、気管支喘息と β_2 AR遺伝子多型の関係を検討することは非常に重要であると考えられるが、本邦においてはこれまで報告がない。そこで我々は、以下の3つを目的として研究を行った。

- (研究1) 日本人における β_2 AR遺伝子多型(Arg16→GlyとGln27→Glu)の頻度を調べる。
- (研究2) β_2 AR遺伝子多型が、気管支喘息の臨床像にどのような影響を与えているか検討する。
- (研究3) β_2 刺激薬の定期吸入が引き起こすとされる気道過敏性の亢進、 β_2 刺激薬による気道収縮予防作用の低下が、 β_2 AR遺伝子多型により影響されるかを検討する。

〔対象と方法〕 (研究1) 対象は喘息患者178名と健常者150名。遺伝子型の決定にはamplification refractory mutation system (ARMS)法を用いた。(研究2) 研究1で遺伝子多型の検討を行った178名の喘息患者について、retrospectiveに気道過敏性、血清IgE値、治療内容、重症度について検討した。(研究3) 対象は軽症または中等症の気管支喘息患者19名。サルブタモール(β_2 刺激薬)200 μ gを1日4回、2週間定期吸入し、その前後に1秒量、サルブタモール400 μ g単回吸入前後のメサコリン気道過敏性などを測定した。 β_2 刺激剤による気道収縮予防効果は、サルブタモール単回吸入前後の気道過敏性の改善の程度を指標とした。

〔結果〕 (研究1) アミノ酸16の遺伝子頻度は、野生型：変異型=0.51：0.49であった。欧米の報告では、野生型：変異型=0.3：0.7であり、日本人は欧米人に比して変異型が有意に少なかった。アミノ酸27については、野生型：変異型=0.91：0.09であり、野生型：変異型=0.5：

0.5 とする欧米の報告と比較すると、日本人においては変異型が有意に少なかった。β₂AR 遺伝子多型には人種差があることが判明し、特にアミノ酸 27 については日本人においては変異型が著しく少なかった。（研究 2）血清 IgE、気道過敏性は、各遺伝子型の間で差はみられなかった。アミノ酸 16 の多型と重症度についての検討では、軽症群と中等症以上群に分けて検討すると、中等症以上の喘息患者には、軽症に比べて Gly16/Gly の割合が有意に多かった。（研究 3）（1）サルブタモール定期吸入療法前後の 1 秒量の減少量を各群で比較すると、Gly16/Gly 群は、Arg16/Arg 群に比して有意に減少量が大きかった。（2）気道過敏性については、定期吸入前後で比較すると、Arg16/Gly 群、Gly16/Gly 群で気道過敏性が有意に亢進していたが、Arg16/Arg 群では有意差は認められなかった。（3）β₂ 刺激薬による気道収縮予防効果については、定期吸入前後では変化がなく、遺伝子型によっても差は認められなかった。（4）サルブタモール定期吸入前は、全ての群においてサルブタモール単回吸入後に有意な血清 cAMP の上昇を認めた。しかし、定期吸入後は、Arg16/Arg と Arg16/Gly 群では有意な上昇であったが、Gly16/Gly 群では有意差は認められなかった。定期吸入後の単回吸入前後での cAMP の差を各群で比較したところ、Gly16/Gly 群での差は Arg16/Arg 群での差に比して有意に小さかった。

〔考察〕日本人においても β₂AR 遺伝子のアミノ酸 16, 27 の多型が存在するが、その遺伝子頻度は欧米と異なり、特にアミノ酸 27 については、日本人では変異型 homozygote の患者が圧倒的に少なかった。これは down regulation の観点から見ると、日本人には、β₂ 刺激薬の使用により β₂AR の down regulation を受けやすい患者が圧倒的に多いことになり、喘息の病態や β₂ 刺激薬に対する反応性が、日本人と欧米人で異なっている可能性が示唆された。今後、国際間で、同一基準を用いた重症度の判定や、β₂ 刺激薬の反応性や副作用を比較する研究が必要となってくるであろう。気管支喘息の治療において、短時間作用型の β₂ 刺激薬は、現在でも最も効果的な気管支拡張薬と位置づけられている。我々の検討では、β₂ 刺激薬の定期吸入による 1 秒量の低下、気道過敏性の亢進は、特定の遺伝子型を持ったグループにのみ認められた。β₂AR 遺伝子多型の人種差と合わせて考えると、このことが β₂ 刺激薬の長期使用の是非を検討した報告から一定の結論が得られない原因の一つかもしれない。β₂AR の遺伝子型をそろえて検討することが必要であろう。更に、我々の結果は、気管支喘息の治療ストラテジーを考えるうえで重要なことを示唆している。Arg16/Arg を有する患者では、β₂ 刺激薬の定期吸入が気管支喘息の悪化を引き起こす可能性は少ないが、Gly16/Gly を有する患者では、それが気道過敏性の亢進を増強させ、1 秒率を低下させ、気管支喘息をより重症化させる可能性がある。将来的には、β₂AR 遺伝子の型を決定し、それに基づいてより適切な治療法を決定していくことが必要になってくるであろう。

〔結語〕（1）β₂ アドレナリン受容体遺伝子のヌクレオチド 46（アミノ酸 16）、ヌクレオチド 79（アミノ酸 27）の遺伝子多型頻度は、欧米と本邦では有意な人種差を認めた。特に、受容体 down regulation を抑制する Glu27/Glu 型は、日本人において極端に少なかった。（2）中等症以上の気管支喘息患者には、軽症に比してアミノ酸 16 の Gly/Gly 型を有する割合が多く、Arg16→Gly の変異は重症度に関連していた。（3）Gly16/Gly 型を有する気管支喘息患者は、Arg16/Arg 型を有する患者に比して、β₂ 刺激薬の定期吸入により喘息管理に好ましくない影響が出やすいことが示唆された。（4）以上の結果から、β₂ アドレナリン受容体遺伝子多型が喘息患者の病態や治療反応性を規定している可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 上 義 和
副 査 教 授 菅 野 盛 夫
副 査 教 授 葛 巻 暹

学 位 論 文 題 名

気管支喘息の病態における

β_2 アドレナリン受容体遺伝子多型の意義

近年、 β_2 アドレナリン受容体(β_2 AR)遺伝子多型の Arg16→Gly, Gln27→Glu と気管支喘息の関係が注目されている。In vitro において Arg16→Gly, Gln27→Glu はアゴニストの長期暴露による β_2 AR の down regulation をそれぞれ促進, 抑制する。気管支喘息の臨床像との関連では, アミノ酸 16 については, 夜間喘息患者では変異アレル Gly16 の頻度が高いこと, アミノ酸 27 については, Glu27/Glu の患者では気道過敏性が Gln27/Gln に比して低下していることなどが報告されている。しかし, 本邦ではこれらの検討の報告はない。申請者は, 気管支喘息患者 178 名と健常者 150 名を対象に amplification refractory mutation system (ARMS) 法を用い, β_2 AR 遺伝子多型 (Arg16→Gly と Gln27→Glu) の頻度を調べた。アミノ酸 16, 27 の遺伝子頻度は, いずれも日本人は白人に比して変異型が有意に少なかった。特にアミノ酸 27 については, 日本人においては変異型が著しく少なかった。次に, この 178 名の気管支喘息患者について, retrospective に気道過敏性, 血清 IgE 値, 治療内容, 重症度について検討した。その結果, 中等症以上の喘息患者には, 軽症に比べて Gly16/Gly の割合が有意に多かった。さらに, 軽症または中等症の気管支喘息患者 19 名を対象にサルブタモール (β_2 刺激薬) 200 μ g を 1 日 4 回, 2 週間定期吸入し, その前後に 1 秒量, サルブタモール 400 μ g 単回吸入前後のメサコリン気道過敏性, cAMP などを測定し, β_2 刺激薬の定期吸入による影響が β_2 AR 遺伝子多型によって差があるか否かについて検討した。その結果, サルブタモール定期吸入療法前後の 1 秒量の減少量を各群で比較すると, Gly16/Gly 群は, Arg16/Arg 群に比して有意に減少量が大きかった。また, 気道過敏性については, 定期吸入前後で比較すると, Arg16/Gly 群, Gly16/Gly 群で気道過敏性が有意に亢進していたが, Arg16/Arg 群では有意差は認められなかった。サルブタモール定期吸入前は, 全ての群においてサルブタモール単回吸入後に有意な血清 cAMP の上昇を認めた。しかし, 定期吸入後は, Arg16/Arg と Arg16/Gly 群では有意な上昇であったが, Gly16/Gly 群では有意差は認められなかつ

た。Gly16/Gly 型を有する気管支喘息患者は、Arg16/Arg 型を有する患者に比して、 β_2 刺激薬の定期吸入により喘息管理に好ましくない影響が出やすいことが示唆された。以上の結果から、 β_2 AR 遺伝子多型が喘息患者の病態や治療反応性を規定している可能性が示唆された。

発表後、副査葛巻暹教授より、アミノ酸 27 の著明な人種差の結果より、日本人には白人に比して重症型の気管支喘息患者が多いのではないかとの質疑があった。申請者は、国際間で同一の基準にて重症度を比較した報告がないので正確にはいえないが、*in vitro* の実験にてアミノ酸 16, 27 両方の多型を同時に形質導入した実験で、アミノ酸 16 の影響がより強いという結果を引用し、アミノ酸 27 の多型の結果からは、白人に比して日本人に重症患者が多いとはいえないと回答した。次に、アレルゲンに対する反応やサイトカインと β_2 AR 遺伝子多型の関連について質疑があったが、申請者の施設においても文献的にも検討した報告がないと回答した。次に、副査菅野盛夫教授より、複数の変異が同一人に起こりうる可能性についての質疑があり、これに対しては、自験の未発表データを引用し、複数の多型が起こりうること、その場合も重症度、定期吸入前後の結果には影響がなかったと回答した。さらに、多型による *down regulation* の差の機序につき質疑があった。申請者は、文献を引用し、現時点では受容体の蛋白の分解の違いによると考えられていると回答した。最後に、主査川上義和教授より、本研究のみから真に人種差が存在するといえるかとの質疑があり、これに対して、直接シーケンスにて ARMS 法の特異性は確認していること、対象が 250 名と多いこと、日本の他施設からも自験と同様の結果が得られていることから、申請者の結果が日本人全体を反映している可能性が高く、真に人種差が存在していると回答した。

この論文は、本邦において初めて β_2 アドレナリン受容体遺伝子多型と気管支喘息の関係を検討し、更に、将来の気管支喘息の治療における遺伝子診断の重要性を示唆したものとして高く評価され、今後の臨床的な展開が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。