

特集 ( 多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用 )

## びまん性汎細気管支炎 ( DPB ) の人種特異性と 疾患感受性遺伝子の探索

工藤 翔二

日本医科大学内科学第 4 教室

慶長 直人

東京大学医学部呼吸器内科

Racial dependency of diffuse panbronchiolitis and search for disease-susceptibility gene

Shoji Kudoh

Fourth Department of Internal Medicine, Nippon Medical School

Naoto Keicho

Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo

びまん性汎細気管支炎 ( diffuse panbronchiolitis, DPB ) は、わが国でその疾患概念と治療法 ( EM 療法 ) が確立した難治性の呼吸器疾患であるが、明確な遺伝形式は認められていない。しかしながら、本疾患は以下のような理由から、遺伝性要因の関与が従来から示唆されていた。すなわち、①家族発症がみられること ( 約 40% に慢性副鼻腔炎ないし副鼻腔気管支症候群が 2 親等以内に存在 )、②常染色体劣性遺伝疾患である cystic fibrosis、原発性線毛不動症などと同様に副鼻腔気管支症候群であり、系統的な気道粘膜防御系障害が

示唆されること、③症例対照研究で高度の家族制因子の寄与が認められること、④欧米からの報告例が少ないこと、⑤日本人症例で HLA-B 54 との高度の相関が認められること' などである。

われわれは厚生省研究班を中心として、過去 5 年間にわたって疾患の人種特異性および遺伝性要因の解明に関する研究を進めてきた。以下は、その概要である。

### 1. びまん性汎細気管支炎の人種特異性について 本疾患が東アジア地域に集積する人種依存性疾患で

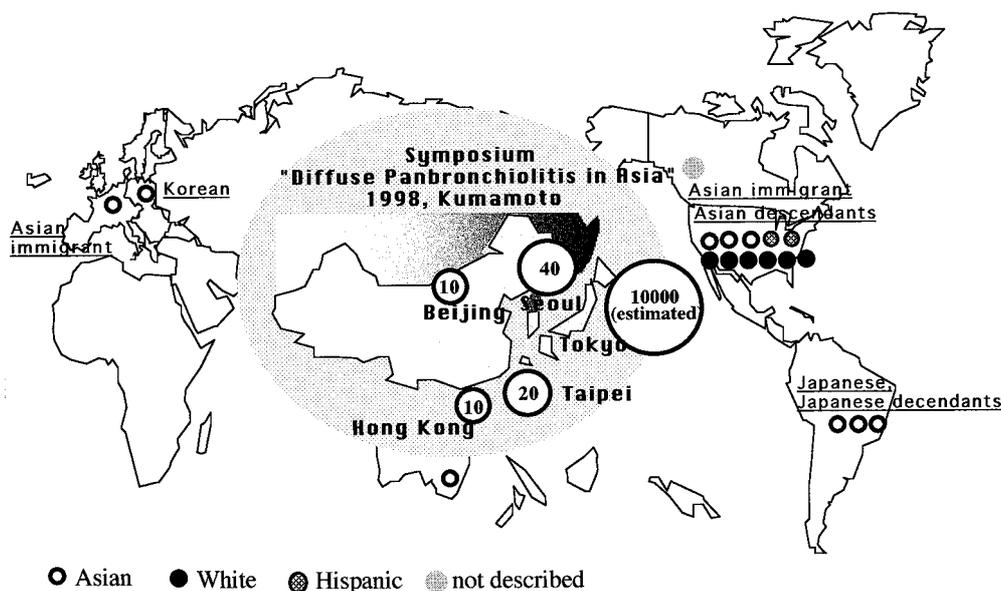


図 1 Diffuse Panbronchiolitis in the World

あることを、関係各国との研究交流を通じて明確にした。

すなわち、東アジア地域以外からの本疾患の症例報告は9編(98年12月現在),18症例ときわめて少なく、うち9症例が日本人、韓国人およびアジア系移民であること、またデンバークグループからの報告例<sup>2</sup>の2例の組織標本検討(97年2月,東京)では1例が他疾患、1例は非定型例であり<sup>3</sup>,さらに肺移植後症例、潰瘍性大腸炎合併症例などがDPBとして扱われていることなどが明らかとなった。

日本以外の東アジア地域からは韓国<sup>4</sup>,台湾<sup>5</sup>から若干の報告例があるものの、欧米諸国との関連からみて確かではなく、また中国大陸における実態は全く明らかでなかった。そのため、東アジア地域の実態を明らかにするために、1993年から調査活動を開始し、中国事前調査(北京,95年),日中合同DPB検討会(北京,96年),韓国事前調査(ソウル,97年)を経て、シンポジウム“アジアにおけるDPB”を開催(98年,熊本),これらの地域におけるDPBの実態を明らかにした<sup>6-8</sup>。

図1は、以上の結果をDPBの世界分布として示したものである。なお、本図における日本以外の東アジア地域の患者数は、著者らがこの間に直接把握している患者実数であり、全人口における有病率は明らかではない。

DPBの人種依存性に関わる今日まで明らかにされた実態は次のように総括できる。①DPBは、日本(10万対11.0)のみならず、韓国、中国、台湾、香港に数多くみられる。②一方、欧米からの報告例はきわめて少なく、その半数がアジア系人種であり、しかも報告された白人症例の一部には他疾患が混在している可能性がある。③類似疾患であるcystic fibrosisは、この間の調査において東アジア諸都市では見いだされなかった。以上から、DPBは欧米(Caucasian)におけるcystic fibrosisに対応する東アジア(Mongoroid)に集積する人種依存性疾患とみなすべきであり、東アジア集積国との共同研究をさらに強化する必要がある。

## 文 献

1. Sugiyama Y, Kudoh S, Maeda H, Suzuki H, Takaku F: Analysis of HLA antigens in patients with diffuse panbronchiolitis. *American Review of Respiratory Disease* 1990; 141: 1459-1462.
2. Fitzgerald JE, King TE Jr, Lynch DA, Tuder RM, Schwarz MI: Diffuse panbronchiolitis in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 497-503.
3. Schwarz MI: Non-smoking related affected lung disease in the USA. *Therapeutic Research* 1997; 18:

2480-2482.

4. Kim YW, Han SK, Shim YS, Kim KY, Han YC, Seo JW, Im JG: The first report of diffuse panbronchiolitis in Korea: Five case reports. *Internal Medicine* 1992; 31: 695-701.
5. Chu YC, Yeh SZ, Chen CL, Chen CY, Chang CY, Chiang CD: Diffuse panbronchiolitis: Report of a case. *J Formos Med Assoc* 1992; 91: 912-915.
6. Symposium “Diffuse Panbronchiolitis in Asia (President: Ando M, Chairpersons: Kudoh S, Zhu YJ)”, *日呼吸会誌*, 1998; 36(増): 103-108.
7. Hu H, Liu Y, Cai Z, Chen L: A case of diffuse panbronchiolitis. *Chin Med J* 1996; 109: 949-952.
8. Tsang KW, Ooi CG, Ip MS, Lam WK, Ngan H, Chan EY, Hawkins B, Ho CS, Amitani R, Tanaka E, Itoh H: Clinical profiles of Chinese patients with diffuse panbronchiolitis. *Thorax* 1998; 53: 274-280.

## II. びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子の探索

DPBのアジア集積性は、環境の違いか遺伝背景の違いによるものと推測される。DPB発症に関与する明確な外的要因は不明だが、遺伝要因に関しては1990年、杉山らにより、HLA-B 54抗原との強い関連性が報告された。われわれも多施設協力による関連研究(association study)を行い、HLA-B 54をコードするB\*5401が疾患と強い相関を示すことを確認した<sup>1</sup>。このことから、HLAとの関連でDPBの疾患感受性を規定する遺伝要因は、直接HLA B 54自体も含めてclass I抗原提示系の遺伝子である可能性と、B 54とは連鎖不平衡にあるB遺伝子座近傍の別の遺伝子である二つの可能性が考えられる。

前者の可能性に関して、近年class I抗原欠損症の本邦症例を含む複数の症例でDPB類似の上下気道症状を呈すること、さらにその原因遺伝子としてtransporter associated with antigen processing (TAP) 1, TAP 2遺伝子の異常が報告されたことから<sup>2</sup>, DPBでもその変異の有無を検討した。

次に、後者の可能性に関しては、韓国DPB症例がHLA-A 11と最も関連性が強いこと、HLA-BについてはB 54ではなく、B 55やB 62と弱い関連性を持つと報告されたことなどから<sup>3</sup>, 未知のDPB感受性遺伝子が、HLA-A座とB(C)座の間に位置する可能性が考えられる。そこで、HLA-A, B座のほぼ中間に位置し、非古典的HLAとして最近注目されるHLA-E遺伝子のプロモーター領域およびexon 3の多型性をPCR-SSCP法により検討した。さらにHLA-A, B間のマイクロサテライトマーカーを用いたハプロタイプの解析を試みた。

表1 対照およびDPB群で高頻度に見られるハプロタイプ

Control (n=93)								
B	-C	-m1	-m2	-m3	-m4	-m5	-A	HF
B52	-Cb1	-#11	-#08	-#04	-#03	-#21	-A24	12%
B44	-Cb1	-#01	-#02	-#09	-#13	-#05	-A33	9%
B07	-Cw7	-#16	-#15	-#12	-#13	-#20	-A24	4%
B46	-Cw1	-#09	-#07	-#06	-#03	-#19	-A02	3%
DPB (n=88)								
B	-C	-m1	-m2	-m3	-m4	-m5	-A	HF
B52	-Cb1	-#11	-#08	-#04	-#03	-#21	-A24	8%
B07	-Cw7	-#16	-#15	-#12	-#13	-#20	-A24	6%
B54	-Cw1	-#09	-#15	-#04	-#14	-#19	-A24	6%
B54	-Cw1	-#09	-#15	-#06	-#03	-#29	-A11	5%
B54	-Cw1	-#09	-#15	-#04	-#14	-#29	-A11	3%
B60	-Cw3	-#08	-#15	-#11	-#03	-#29	-A11	3%

(コンピュータ推定 3% 以上)

### 1. 対象および方法

1995年厚生省診断基準を満たす88例を疾患群とし、健康者93名を対照群とした。TAP1, TAP2遺伝子については、それぞれexonごとにプライマーを新規に設定した<sup>4</sup>。HLA-Eのexon3は既存のプライマーセットを利用し、プロモーター領域についてはプライマーを設定した。いずれもPCR-SSCP法により変異、多型性部位を検出した。HLA-A, B座間のマイクロサテライトマーカの蛍光プライマーセット(m1~m5)は東海大学猪子教授の研究室より供与を受けた。また、A座近傍のm6はD6S265として登録されているプライマーセットを使用した。各マーカのalleleは、TAMRA-500をサイズマーカとして、ABI PRISM 377 DNA シークエンサーを利用し、GeneScanプログラムにより解析した。いずれのマーカもリピート数の最大のallele名を#1として、リピート数の減少にしたがって#2, #3...と命名した。ハプロタイプの推定は第11回国際組織適合性ワークショップで報告されたHLA用ハプロタイプ推定プログラムを用いた。

### 2. 結果

#### (1) TAP 遺伝子の多型性

すでに多型性部位が報告されているTAP1遺伝子のexon4, 10, TAP2遺伝子のexon5, 9, 11のうち、TAP2 exon11のAla-665, Gln-687は疾患と正の相関が見られ、特にB54陰性群で有意であった。TAP2の他のexonにも新たな多型性部位が見いだされたが、いずれもsilent mutationがsplicing部位と離れた

intronの1塩基置換であった(データ省略)。

#### (2) HLA-E プロモーターおよびexon3の多型性

HLA-E プロモーターは検索した限りにおいては多型性は見いだされなかった。exon3は2種類のalleleが認められ、それらは塩基配列上、世界に広く分布しているGly/Arg-107多型であることが明らかになった。そのいずれもDPBと関連性は見いだされなかった(データ省略)。

#### (3) HLA-B, C, m1...m5, HLA-A のハプロタイプの推定(表1)

コンピュータ解析により3%以上の頻度で存在すると推定されるハプロタイプは健康群では4種類あり、その中にはDPBに抵抗性が予想されるHLA B44, A33を含むハプロタイプが含まれていた。一方、DPB群で3%以上見られるハプロタイプは6種類が推定され、B54を含むハプロタイプが3種類含まれており、それらはHLA-B54-Cw1-m1#09-m2#15を共有していたが、m3以降、HLA-A側では異なるalleleに分かれ、最終的にA11とA24を有するハプロタイプが形づくられているものと推測された。また、DPB群で頻度の高い6つのハプロタイプのうち、3つがm1#09、さらに5つがm2#15というalleleを保有していた。ちなみに対照群ではB7を含むひとつのハプロタイプだけがこれらを保有していた。

### 3. 考察および結論

抗原ペプチドをclass I分子へ受け渡すトランスポーターであるTAP遺伝子(TAP1, TAP2)は、今回の検討では、TAP2 exon11のAla-665, Gln-687多型の頻度が、特にB54陰性DPB症例において増加した。しかし、このalleleは、HLA-B54と弱い連鎖不平衡状態にあることから、未知の遺伝子が両者と連鎖不平衡にあるための2次的なassociationである可能性も考えられる。DPB感受性遺伝子のひとつがHLA-A, B両遺伝子座の間に存在する可能性をめぐっては、初めにA-B間に存在し、NK細胞の抑制系レセプターのリガンドであるHLA-Eの多型性を検討したが、DPBと有意な関連性は見いだされなかった。そこでDPB感受性遺伝子座を推定するため、HLA-A, B間の複数のマイクロサテライトマーカを用いたハプロタイプ解析を試みた。その結果、疾患感受性を有すると推定される複数のハプロタイプで共有されるマーカm2が、HLA-EよりB座よりのHLA-A, B(C)間に見いだされた。今後m2周辺の約400kbをさらに詳細に検討することにより、さらにこの仮説の妥当性は明確になるものと予想される。

本研究の一部は、東京大学人類遺伝学教室(大橋 順, 徳永勝士), 東海大学医学部分子生命科学2(田宮 元, 猪子英俊), 虎の門病院(中田紘一郎), 天理よろづ相談所病院(田口善夫), 日本医科大学(江見 充, 吾妻安良太)との共同研究である。

本研究の一部は、厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班研究費による。

### 文 献

- 1 . Keicho N, Tokunaga K, Nakata K et al: Contribution of HLA genes to genetic predisposition in diffuse pan-bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 846-850.
- 2 . Furukawa H, Murata S, Yabe T et al: Splice acceptor site mutation of the transporter associated with antigen processing 1 gene in human bare lymphocyte syndrome. *J Clin Invest* 1999; 103: 755-758.
- 3 . Park MH, Kim YW, Yoon HI et al: Association of HLA class I antigens with diffuse panbronchiolitis in Koreans. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 526-529.
- 4 . Keicho N, Tokunaga K, Nakata K et al: Contribution of TAP genes to genetic predisposition for diffuse panbronchiolitis. *Tissue Antigens* 1999; 53: 366-373.

( 受付 : 1999 年 8 月 18 日 )

( 受理 : 1999 年 8 月 23 日 )

---