

学 位 論 文 題 名

Association between high serum total IgE levels and D11S97 on chromosome 11q13 in Japanese subjects

（日本人における血清総IgE値と染色体11q13の遺伝子マーカーD11S97との関連）

学位論文内容の要旨

研 究 目 的

アトピー素因が遺伝することは多くの家族研究や双生児研究から明らかである。

しかしその遺伝の様式や機構については何も知られていない。1989年オックスフォード大学グループは総IgE値、抗原特異的IgE抗体価さらには皮膚試験の結果からアトピー素因を定義し、英国家系を対象とした分離解析と連鎖解析を施行した。この結果はアトピー素因が常染色体優性に遺伝し、染色体11q13（以下11q13と略す）にアトピー素因を規定する腫瘍遺伝子が存在する可能性を推測させた。しかし我々を含めた多くの施設による同様の検討は彼らの結果を追認できていない。オックスフォード大学グループはさらに検討を進め、11q13のアトピー遺伝子は母親から子供に伝わった時のみにその作用が現れ（ゲノム刷り込み現象）、11q13に存在する高親和性IgE受容体β鎖（以下FcεRI β鎖と略す）遺伝子がアトピー遺伝子の本態である可能性を示した。彼らは同遺伝子にアミノ酸変異を伴う遺伝子変異を見だし、アトピー素因との間に有意な関連を報告している。そこで我々は日本におけるアトピー素因の遺伝支配を明らかにするため、アトピー素因と11q13との連鎖及び関連の有無を検討した。さらに英国で報告されたFcεRI β鎖遺伝子の遺伝子異変の有無を日本人で検討した。

対 象 と 方 法

対象は当院通院中のアトピー性気管支喘息患者を発端者とする14家系の構成員107名。一方血縁関係のない一般集団として63名の気管支喘息患者、3名の花粉症患者、3名の慢性湿疹の患者、アレルギー疾患を有さない健常人51名からなる合計120名、血清総IgE値高値、抗原特異的IgE抗体の上昇、皮膚プリック試験陽性の少なくとも1つの条件を満たす場合、アトピー素因があると判定した。11q13の遺伝子型はマーカー遺伝子D11S97とFcεRI β鎖遺伝子において決定した。D11S97ではミセライト領域をザン法で、FcεRI β鎖遺伝子では第5エクソンのC/A/G Tマイクロサテライト領域をpolymerase chain reaction（以下PCRと略す）とポリアクリルアミド電気泳動を用いて、それぞれ対立遺伝子を同定した。

14家系の構成員107名においてアトピー素因の有無または血清総IgE値とD11S97及びFcεRI β鎖遺伝子との関連につき検討した。さらに120名の非血縁一般集団においても同様の関連を検討した。11q13とアトピー素因との連鎖の有無は尤度比検定法及びAffected pedigree member法（以下APM法と略す）にて検討した。尤度比検定法においてはアトピー素因の遺伝モデルとしてゲノム刷り込み現象を想定、また遺伝子頻

度は0.25、ヘテロ接合体の浸透率は0.6とした。

英国でアトピー素因との関連が報告されたFcεRIβ鎖遺伝子のアミノ酸変異 (Ile181→Leu181) の有無をamplification refractory mutation system (以下ARMSと略す) を用いて検討した。さらにARMSにて正常型のヘテロ接合体と判定された遺伝子DNAをダイゲキシン法を用いてその塩基配列を決定し、ARMSの結果と比較検討した。

結 果

家系集団において、アトピー素因と正常者との間にはD11S97及びFcεRIβ鎖遺伝子の対立遺伝子の分布に有意な偏りはなかった。一方血清総IgE値高値 (100IU/ml以上) の者と正常者との間にD11S97の対立遺伝子の分布に有意な偏りが認められた ($\chi^2=18.4$, $p=0.01$)。特にD11S97の0.96kbの対立遺伝子 (以下D11S97/0.96kbと略す) を持つ者の総IgE値の平均は782IU/ml (標準誤差259) で持たない者の平均は381IU/ml (標準誤差119) であった。120名の一般集団においても同様に総IgE値が高い者に対立遺伝子0.96kbが有意に多く認められた ($\chi^2=9.7$, $p=0.019$)。

検討した14家系でアトピー素因は各世代に出現し、片親がアトピー素因の子供の約50%がアトピー素因を有していた。これは優性遺伝形式に矛盾せず、尤度比検定法は優性遺伝でゲノム刷り込み現象の存在を想定し行なった。11q13領域での位置スコアはD11S97で最大-35まで低下しこの領域とアトピー素因との間に連鎖はなかった。血清総IgE値のみでアトピー素因を規定した場合も結果は同様であった。さらに遺伝モデルの設定を必要としないAPM法で連鎖を検討したが、家系内のアトピー素因と判定された者同士の間有意な対立遺伝子の偏りはなかった。

ARMSにて家系集団及び非血縁集団の227人、計454本の染色体についてFcεRIβ鎖遺伝子のアミノ酸変異 (Ile181→Leu181) の有無を検討したが、全例において変異特異的プライマーを用いたときにPCR産物は増幅されなかった。さらに実際に検討した塩基配列はARMS結果と一致した。

考 察

英国の検討で用いられた方法でアトピー素因を定義し、同様の遺伝モデルを用いて尤度比検定法による連鎖解析を行なったが全く異なった結果が得られた。さらに尤度比検定法で用いた遺伝モデルが日本人集団で不適当な可能性があり、遺伝モデルを必要としないAPM法による連鎖解析も行なったが、11q13とアトピー素因との連鎖は得られなかった。従って日本人には11q13アトピー素因を単独で規定する主要遺伝子の存在は考えにくい。一方我々が検討した107名家系構成員及び120名の非血縁集団のいずれにおいても血清総IgE値と遺伝子マーカーD11S97との間に有意な関連が認められ、D11S97近傍に総IgE値に何らかの影響を与える遺伝子の存在が推測された。D11S97/0.96kbを有するものは、それを有さない者に比べ総IgE値有意に高いが、両群での総IgE値の分布は大きく重なり合い、D11S97近傍の遺伝子の働きはIgEが高値を示すのに必要かつ十分な条件ではないことがわかる。従って日本人では11q13に総IgE値に影響を与える遺伝子が存在するとしても、その寄与度は小さく、連鎖解析によって検出できる程ではないと考えられる。

我々の検討に加え、アメリカ、オーストラリア、ヨーロッパなど多くの集団でも同様の検討が行われたが一定の見解は得られておらず、アトピー素因の遺伝支配には民族間で大きな違いがあることが推測される。実際、英国でアトピー素因との有意な関連が報告されたFcεRIβ鎖遺伝子のアミノ酸変異が日本人にはないことが我々を含め複数の施設で確認されており、少なくとも日本と英国とではアトピー素因の遺伝支配にかなりの違いがあると思われた。

結 語

日本人集団ではアトピー素因と遺伝子座11q13との間にはガム刷り込み現象を考慮しても連鎖は得られなかった。またFcεRI β鎖遺伝子のアミノ酸変異も認められなかった。しかし同遺伝子座と血清総IgE値との間に有意な関連が認められ、日本人においても寄与度は小さいながらアトピー素因に関与する遺伝子が遺伝子座11q13に存在する可能性がある

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 上 義 和

副 査 教 授 葛 巻 暹

副 査 教 授 上 出 利 光

学 位 論 文 題 名

Association between high serum total IgE levels and D11S97 on chromosome 11q13 in Japanese subjects

(日本人における血清総IgE値と染色体11q13の遺伝子マーカーD11S97との関連)

目的：アトピー素因が遺伝することは多くの家族研究や双生児研究から明らかだが、その遺伝機構の本態については知られていない。1989年英国で大規模な家系調査からアトピー素因が染色体11q13の主要遺伝子によって常染色体優性に遺伝する可能性が示された。さらにその遺伝子が母親から子供に伝わる時に作用し（ゲム刷り込み現象）、高親和性IgE受容体 β 鎖（Fc ϵ RI β 鎖）遺伝子が11q13に存在し同遺伝子の遺伝子変異（Leu181）がアトピー素因と有意に関連することが報告された。一方これまでに多くの施設で行われた追試は失敗に終わり、いまだ11q13のアトピー遺伝子について一定の見解はない。本論文は日本におけるアトピー素因の遺伝支配を明らかにするため、アトピー素因と11q13との連鎖及び関連の有無を検討したものである。さらにFc ϵ RI β 鎖遺伝子のLeu181の有無も検討した。対象は家系集団としてアトピー性気管支喘息患者を発端者とする14家系の構成員107名。一方血縁関係のない一般集団として気管支喘息患者63名、花粉症3名、慢性湿疹3名、アレルギー疾患を有さない健常人51名からなる合計120名。血清総IgE値、抗原特異的IgE抗体価、皮膚プリック試験の結果からアトピー素因を判定した。11q13の遺伝子型はマーカー遺伝子D11S97とFc ϵ RI β 鎖遺伝子で決定した。14家系でアトピー素因または血清総IgE値とD11S97及びFc ϵ RI β 鎖遺伝子との連鎖及び関連の有無を検討し、120名の非血縁一般集団においても同様の関連を検討した。アミノ酸変異Leu181の有無はamplification refractory mutation system (ARMS)を用いて検討した。

結果：家系集団において、血清総IgE値高値の者と正常者との間にD11S97の対立遺伝子の分布に有意な偏りが認められた（ $\chi^2=18.4, p=0.01$ ）。優性遺伝でゲノ

Δ刷り込み現象の存在を想定した尤度比検定法による連鎖解析では位置スコアはD11S97で最大-35まで低下しA β 2-素因や血清総IgE値との連鎖はなかった。さらに遺伝モデルの設定を必要としないAffected-Pedigree-Member法でも連鎖はなかった。またARMSにて検討した227人全例に遺伝子変異Leu181はなかった。

結論：107名の家系構成員及び120名の非血縁集団のいずれにおいても血清総IgE値と遺伝子マーカーD11S97との間に有意な関連があり、D11S97近傍に総IgE値に何らかの影響を与える遺伝子の存在が推測されたが、その寄与度は小さく、さらに11q13領域とA β 2-素因との間に連鎖はなく日本人に同座位にA β 2-素因を単独で規定する主要遺伝子の存在は考えにくい。またFc ϵ RI β 鎖遺伝子のアミノ酸変異Leu181も日本人に認められない。従って日本と英国とではA β 2-素因の遺伝支配にかなりの違いがあると予想された。

口頭発表にあたり、葛巻教授より総IgE値とA β 2-性疾患との関係について、本論文と大阪大学での同様の追試結果との違いについて、さらには最近11q13にマッピングされたcc10遺伝子とA β 2-素因の関連について、上出教授からはA β 2-素因の定義について、さらにA β 2-素因における遺伝子変異Leu181の意味についてそれぞれ質問があった。申請者は概ね妥当に答えたと思う。また柿沼教授より高親和性IgE受容体 β 鎖遺伝子の突然変異と受容体の生理機能に関するコメントがあった。また、葛巻教授、上出教授より個別に審査を受け、合格との御返事を頂いている。本論文は、英国と同一に定義されたA β 2-素因と染色体11q13との関連を検討したが、英国とは異なる結果が得られ、英国と日本とのA β 2-素因の遺伝支配が異なる可能性を示した。よって博士（医学）に相当するものと認めた。