

気管支喘息の発症や病態における アトピー素因と IL-17F 遺伝子の役割に関する研究

学位論文内容の要旨

アトピー素因は気管支喘息などのアレルギー疾患発症の重要な危険因子と考えられている。若年齢者における抗原特異的 IgE 抗体陽性によって定義されたアトピー素因の保有率は、これまでの報告によると 21.4% (1978 年)、25.0% (1981 年)、35.5% (1985 年)、39.4% (1991 年)、さらに 65.6% (1998 年) と増加している。一方、学童期喘息患者の有症率も 3.2% (1982 年) から 4.6% (1992 年) と上昇しているが、その増加はアトピー素因の増加ほど顕著ではない。これは抗原特異的 IgE の産生亢進のみでは、喘息に特徴的な気道の慢性アレルギー性炎症の獲得には至らないことを伺わせる。アトピー素因に加えて、何らかの宿主側の因子が喘息の発症や病態に重要な役割を果たしていると考えられる。

今回我々は宿主側の因子としてインターロイキン 17F に着目した。インターロイキン 17 (IL-17) ファミリーは最近発見されたサイトカインファミリーの一つであり、種々の炎症性メディエーターの放出を誘導することによって組織局所の炎症に関与する。現在までに IL-17A~F の 6 種類のタイプが知られている。特に IL-17F は肥満細胞や CD4 陽性 T 細胞、好塩基球といった喘息の気道炎症に深く関与する細胞によって産生され、気道上皮細胞、血管内皮細胞などの気道構成細胞からのサイトカインやケモカイン、成長因子、接着因子の発現を誘導する。ヒト喘息患者の検討では、抗原吸入により IL-17F 遺伝子の気道での発現が亢進し、マウスモデルでは IL-17F が卵白抗原に誘導されたアレルギー性気道炎症を増強させることがそれぞれ報告された。従って、IL-17F は特にアレルギー性気道炎症の発症、維持において重要な役割を果たしている可能性がある。

本研究においては、喘息の発症や病態におけるアトピー素因と IL-17F 遺伝子の役割を検討するために、以下の研究を行った。

研究 1: 日本人喘息患者と非喘息健常者におけるアトピー素因 (抗原特異的 IgE 反応) の検討。

研究 2: IL-17F 遺伝子多型と喘息の発症や重症度との関連解析および遺伝子多型の機能解析。

研究 1 では喘息患者 275 名と非喘息健常者 265 名を対象とし、血清総 IgE 値及び複数の吸入抗原に対する特異的 IgE 値を測定した。少なくとも一つ以上の抗原に対する特異的 IgE が陽性の場合にアトピー素因ありと定義し、アトピー素因やダニなどの個々の吸入抗原に特異的な IgE 抗体陽性者の頻度などを、年齢別に比較検討した。アトピー素因の頻度は若年齢 (41 歳未満) 及び中高年齢 (41

歳以上) 健常者においてそれぞれ 76.5%、35.7%、若年齢および中高年齢喘息患者において 92.1%、53.4%であった。年齢によらずダニ抗原反応陽性者は喘息患者に有意に多く、またダニに対する特異的 IgE 抗体価は喘息患者で有意に高かった。

研究 2 では 867 名の非血縁日本人の集団 (喘息患者 432 名と非喘息健常者 435 名) を用いて、IL-17F 遺伝子に存在する一塩基多型 (SNP) と喘息との遺伝的関連を検討した。アミノ酸の変異をもたらす Coding SNP を含む 10 の SNP について検討した。第 3 エクソンに存在しヒスチジンからアルギニンへの変異を伴う rs763780 (H161R) が喘息発症と有意に関連していた。H161R のホモ接合体は喘息患者には一例も存在せず、野生型のホモ接合体と比較して喘息発症に対するオッズ比 (95%信頼区間) は 0.06 (0.01, 0.43) であった ($P=0.0039$)。この関係は特にアトピー素因を有する対象者で強く認められた。また、重症度の指標である初診時 1 秒率を比較すると、アトピー型喘息患者では H161R アレルを持つ患者で有意に気道の閉塞性障害が軽度 ($P=0.00083$) であった。次に H161R の機能的な意義を検討するために、野生型及び変異型の IL-17F を作成した。変異型 IL-17F は、野生型と異なり、気道上皮細胞において MAP キナーゼ経路の活性化やサイトカイン、ケモカインの産生を十分に誘導できなかった。さらに変異型 IL-17F は野生型によって発現される IL-8 の誘導を濃度依存的に抑制した。

研究 1 の結果、喘息患者では健常人に比べより強いアトピー素因との関連が認められ、アトピー素因が喘息の発症や病態において重要な役割を果たしている可能性が考えられた。研究 2 の結果からは IL-17F が特にアトピー素因を背景とした喘息の発症や病態に関与することが示唆された。アトピー素因は喘息の発症に対する重要な危険因子であるが、健常者においても 7 割以上がアトピー素因を有している。アトピー素因の存在下で、さらに IL-17F の過剰な産生を伴うような場合に、気道の慢性炎症を獲得するリスクが上昇する可能性がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 孝 司

副 査 教 授 有 賀 正

副 査 教 授 西 村 正 治

学 位 論 文 題 名

気管支喘息の発症や病態における

アトピー素因と IL-17F 遺伝子の役割に関する研究

アトピー素因は気管支喘息などのアレルギー疾患発症の重要な危険因子と考えられている。アトピー素因の保有率は、この約 20 年の間に、21.4% (1978 年) から 91.0% (2000 年) と急激に増加している。一方、気管支喘息の有症率は 3.2% (1982 年) から 11.8% (2002 年) とやはり上昇はしているが、その増加はアトピー素因の増加ほど顕著ではない。これは抗原特異的 IgE の産生亢進のみでは、喘息に特徴的な気道の慢性アレルギー性炎症の獲得には至らないことを示唆している。アトピー素因に加えて、何らかの宿主側の因子が喘息の発症や病態に重要な役割を果たしていると考え、そのような因子として今回インターロイキン 17F に着目した。

一連の研究において、少なくとも一つ以上の抗原に対する特異的 IgE が陽性的場合にアトピー素因ありと定義した。研究 1 では日本人喘息患者と非喘息健常者におけるアトピー素因の検討を行った。540 名の非血縁日本人の集団 (喘息患者 275 名と非喘息健常者 265 名) を対象とし、血清総 IgE 値及び複数の吸入抗原に対する特異的 IgE 値を測定した。アトピー素因の頻度は若年齢 (41 歳未満) 及び中高年齢 (41 歳以上) 健常者においてそれぞれ 76.5%、35.7%、若年齢および中高年齢喘息患者において 92.1%、53.4%であった。年齢によらずアトピー素因の頻度は喘息患者で有意に多く、またダニに対する特異的 IgE 抗体価は喘息患者で有意に高かった。

研究 2 では IL-17F 遺伝子多型と気管支喘息の発症や重症度との関連解析および遺伝子多型の機能解析を行った。867 名の非血縁日本人の集団 (喘息患者 432 名と非喘息健常者 435 名) を対象とし、IL-17F 遺伝子に存在する一塩基多型 (SNP) と喘息との遺伝的関連を検討した。アミノ酸の置換をもたらす Coding SNP を含む 10 の SNP について検討した。第 3 エクソンに存在しヒスチジンからアルギニンへの置換を伴う rs763780 (7488 T/C) およびイントロン 1 に存在する rs7771511 (5045 C/T) が喘息発症と有意に関連していた。両者は強い連鎖不平衡の関係にあった。7488C のホモ接合体は喘息患者には一例も存在せず、野生型のホモ接合体と比較して喘息発症に対するオッズ比 (95%信

頼区間)は0.06(0.01, 0.43)であった($P=0.0039$)。この関係は特にアトピー素因を有する対象者で強く認められた。また、喘息の重症度の指標である初診時1秒率を比較すると、アトピー型喘息患者では7488Cを持つ患者で有意に1秒率が高値($P=0.0008$)であった。7488T/Cの機能的な意義を検討するために、野生型及び置換型のIL-17F組み換え蛋白を作成した。置換型IL-17Fは、野生型と異なり、気道上皮細胞においてMAPキナーゼ経路の活性化(リン酸化)やケモカインの産生を十分に誘導できなかつた。さらに置換型IL-17Fは野生型によって発現されるIL-8の誘導を濃度依存的に抑制した。

審査にあたり、副査有賀教授より1)IL-17Fの制御系に関する知見について、2)IL-17Fの受容体に関する知見について、3)今回は7488CCをもつ少数の集団においてIL-17F遺伝子多型が重要であるという結果だが、大多数のTTまたはTCをもつ集団におけるIL-17Fの意義に関する考察、4)IL-17Fと花粉症など他のアレルギー性疾患との関連に関する質問があり、副査西村(正)教授より1)IL-17Fは主に好中球を誘導するケモカインの産生を促すが、好酸球炎症を特徴とする気管支喘息における意義について、2)7488CCホモ接合体と異なり、7488TCヘテロ接合体が、有意ではないものの喘息発症の危険因子であるかも知れないことへの考察に関する質問があった。主査西村(孝)教授からは、1)自己免疫疾患やアレルギー性疾患とIL-17制御系との関係に関する考察、2)Th1優位型喘息に関する考察に関する質問があった。

申請者はこれらの質問に対して、自験データと文献を引用して概ね適切な回答を行った。この論文は、アトピー素因が気管支喘息発症の危険因子であることを明らかにし、IL-17F遺伝子多型と気管支喘息発症との関連およびその多型の機能を世界で初めて明らかにした研究として高く評価され、今後の気管支喘息の病態のさらなる解明につながることを期待される。

審査員一同は、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、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。