

# 気管支喘息とサルコイドーシスにおける マンノース受容体遺伝子多型に関する研究

## 学位論文内容の要旨

### 【背景】

気管支喘息(喘息)、サルコイドーシス(サ症)をはじめとする慢性炎症を特徴とする免疫・アレルギー性肺疾患の病因・病態には、多数の環境要因と遺伝要因の関与が示唆されている。喘息は、ありふれた吸入抗原に対する抗原特異的 IgE 抗体や Th2 サイトカイン産生亢進が病態の主体であり、獲得免疫が関与する疾患として理解が進んできた。しかし、近年は、自然免疫系との関連が着目されており、樹状細胞などの抗原提示細胞や気道上皮細胞に発現する自然免疫関連分子との関連が報告されている。

衛生仮説によれば、自然免疫を介する刺激の低下が免疫・アレルギー疾患に関与する可能性が推測されており、一方で種々の感染症自体が、喘息増悪の原因となりうる疫学結果も存在し、自然免疫と喘息との関連は複雑であると考えられる。自然免疫関連分子としては、リポ多糖など病原体の構成成分を認識するパターン認識受容体の 1 つである Toll 様受容体 (TLRs) に関する研究が多くなされ、TLRs をコードする遺伝子の多型性と、喘息をはじめとする種々の免疫アレルギー性肺疾患の発症・病態との関連が報告されている。

サルコイドーシス(サ症)は、多臓器に乾酪性壊死を伴わない類上皮細胞肉芽腫が形成される全身性の肉芽腫性疾患で、インターフェロンなどの Th1 サイトカインを産生する CD4 陽性 T 細胞の活性化を特徴とする疾患である。サ症の原因は不明であるが、多数の環境要因と遺伝要因の関与が報告されている。サ症の病巣において *Propionibacterium acnes* や *Mycobacterium tuberculosis* の存在が報告されていることから、自然免疫とサ症の病因・病態との関連が推測される。喘息と同様に TLRs をはじめとしたパターン認識受容体の遺伝子多型とサ症の発症、病態との関連が報告されており、自然免疫関連分子をコードする遺伝子の多型性がサ症の発症、病態に関連する可能性が考えられる。マンノース受容体は、C 型レクチン受容体の 1 つで、TLRs と同様にパターン認識受容体として重要な役割を担う。病原体の表面の末端に存在するマンノース/フコース/N-アセチルグルコサミンなどの糖鎖を認識することで、病原体の取り込みに関与し、自然免疫と獲得免疫の分子的な橋渡しの役割を担っている。しかし、マンノース受容体の遺伝子多型に関する検討は、これまでにどの疾患においても報告されていない。

### 【目的】

研究 1 マンノース受容体の遺伝子多型が喘息に与える影響について検討する

研究 2 マンノース受容体の遺伝子多型がサルコイドーシスに与える影響について検討する

### 【方法】

研究 1: 対象は Johns Hopkins 大学で募集した喘息患者 86 名と健常者 90 名、北海道大学病院第一内科で募集した喘息患者 446 名、健常者 424 名。国際 HapMap プロジェクトのデータベースから網羅的に選択したマンノース受容体遺伝子における 7 つの SNPs (rs2477637、

rs2253120、rs2477631、rs2477664、rs692527、rs1926736、rs691005)について、アレル特異的 PCR 法を用いて遺伝子型を同定した。人種の異なる 2 つの対照群において症例対照研究を行った。日本人群における関連解析は、性別・年齢・喫煙歴・アトピー素因（少なくとも 1 つの吸入抗原に対する特異的 IgE 抗体が陽性と定義）で補正して行った。

研究 2:対象は北海道大学病院第一内科で募集したサルコイドーシス患者 181 名、健常者 424 名。研究 1 と同様にマンノース受容体遺伝子における 7 つの SNPs の遺伝子型を同定し、症例対照研究を行った。関連解析は、性別・年齢で補正して行った。

### 【結果】

研究 1: アフリカ系アメリカ人におけるジェノタイプ解析では、2 つの SNP (rs692527、rs691005) が喘息と有意な関連を認めた。日本人におけるジェノタイプ解析では、5 つの SNP (rs2477637、rs2253120、rs2477664、rs692527、rs1926736) が、性別・年齢・喫煙歴・アトピー素因と独立して喘息と有意な関連を認めた。連鎖不平衡の構造解析では、責任遺伝子座を特定し得るような強い連鎖不平衡係数を認めなかったが、7 つの SNP を用いたハプロタイプ解析では、ハプロタイプ “G-A-C-T-T-G-G-(C/T)” が両対照群で喘息と強い関連を認めた。

研究 2: ジェノタイプ解析では、4 つの SNP (rs2477637、rs2253120、rs692527、rs691005) が、性別・年齢と独立してサルコイドーシスと有意な関連を認めた。連鎖不平衡の構造解析では、強い連鎖不平衡を示す SNP 群のブロック構造を 2 つ (rs2477631-rs2477664、rs692527-rs1926736) 認めたが、サルコイドーシスとの関連を示唆するハプロタイプは認められなかった。

### 【考案】

研究 1 では異なる 2 つの人種においてマンノース受容体の遺伝子多型が喘息発症と関連することを示したが、本研究では機能解析や責任遺伝子座の特定に至らなかった。特に、両対照群に共通して関連の認められた SNP は、アフリカ系アメリカ人では発症に抑制的に働く一方で日本人では促進的な影響を認めた。今回の検討において喘息との関連を認めた SNP は、真の責任遺伝子座と強い連鎖不平衡にあることによる間接的な関連を示している可能性も考えられる。また、両対照群間での結果の違いは、両対照群における人種、性別、年齢などの背景因子の差が関与している可能性もある。しかし、マンノース受容体の遺伝子多型が喘息発症と関連する可能性を初めて見出し、異なる対照群でも確認ができた。

研究 2 では、マンノース受容体の遺伝子多型とサルコイドーシスの関連を示した。連鎖不平衡の構造解析では、強い連鎖不平衡を呈するブロック構造を認めたものの、サルコイドーシスとの関連を認めず、責任遺伝子座を同定することはできなかった。しかし、rs691005 は mRNA の分解制御に関わる 3'-UTR 領域に存在しており、機能的な影響を与えている可能性があり、今回検討した SNP の中で最も強い関連を認めており、責任遺伝子である可能性も推測される。サルコイドーシスの病因は確定されていないが、病巣において結核菌やアクネ菌が存在する可能性が示唆されており、マンノース受容体は結核菌やアクネ菌の構成成分であるリポアラビノマンナンを認識することから、その病因・病態に関与する可能性が推測される。マンノース受容体の遺伝子多型とサルコイドーシス関連を示した報告はないが、マンノース受容体をコードする遺伝子領域の 10p12 がサルコイドーシス発症に関連することがゲノムワイド関連解析によって最近報告され、マンノース受容体は、遺伝子多型の観点からも重要な働きを持つことが示唆される。

### 【結論】

網羅的な検討により、マンノース受容体の遺伝子多型は異なる 2 つの人種において喘息発症との関連を認めた。さらにはサルコイドーシス発症との関連も認め、免疫アレ르기ー疾患の発症に重要な役割を持つ可能性が示唆された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 正 治  
副 査 教 授 小 池 隆 夫  
副 査 教 授 笠 原 正 典

## 学位論文題名

### 気管支喘息とサルコイドーシスにおける マンノース受容体遺伝子多型に関する研究

気管支喘息は、ありふれた吸入抗原に対する特異的 IgE 抗体の産生、抗原特異的 CD4 陽性細胞からの各種 Th2 サイトカインの産生を伴う慢性好酸球性気道炎症を特徴とする疾患であり、これまで、主に獲得免疫を中心とした病態の理解が進められてきた。いっぽう、サルコイドーシスは、乾酪壊死を伴わない類上皮細胞肉芽腫が多臓器に形成される慢性炎症性疾患であり、その原因は不明であるが、Th1 免疫反応の亢進を特徴とする獲得免疫を中心とした病態の理解が進められてきた。近年、いずれの疾患においても獲得免疫のみならず、自然免疫との関連が注目されており、中でも自然免疫に重要な役割を担うパターン認識受容体は、Toll 様受容体を中心に、遺伝子多型の観点からも、喘息やサルコイドーシスとの関連が報告されている。更に、最近では Toll 様受容体以外のパターン認識受容体についても着目されつつある。マンノース受容体は病原体の表面に存在するマンノース/フコース/N-アセチルグルコサミンなどの糖鎖を比較的特異的に認識することにより、*C.albicans*, *M.tuberculosis*, *A.fumigatus* といった病原体の取り込みに関与し、自然免疫と獲得免疫の橋渡しの役割を担っている。加えて、喘息モデルのマウスにおいて、マンノース受容体遺伝子多型が気道過敏性と関連を認めたという報告やゲノムワイド解析では、マンノース受容体遺伝子が存在する染色体 10p12 領域がサルコイドーシスと関連を認めたという報告もあり、マンノース受容体は、喘息、サルコイドーシスにおける責任遺伝子として有力な候補遺伝子となり得る可能性がある。しかし、マンノース受容体の遺伝子多型に関する検討は、これまでいずれの疾患においても報告されていない。

本研究では、遺伝子解析を用いることにより、喘息およびサルコイドーシスにおけるマンノース受容体の役割を明らかにすることを目的とした。

喘息においては、アフリカ系アメリカ人と日本人の、人種の異なる 2 つの対照群を用いた case-control study を行った。国際 HapMap プロジェクトデータベースを用いて、マンノース受容体遺伝子多型のうち 7 つの一塩基多型 (SNP) を網羅的に選択し、遺伝子型を同定することで喘息との関連性を検討した。遺伝子型解析により、アフリカ系アメリカ人では 2 つの SNP、日本人では 5 つの SNP が喘息との関連を認め、特に日本人では、アトピー素因などの交絡因子と独立した関連を認めた。しかし、両対照群に共通して関連を認めた SNP は非翻訳領域に存在し、各 SNP 間で強い連鎖不平衡責任を認められなかったことから責任遺伝子座の同定には至

らなかった。しかし、7つの SNP を用いたハプロタイプ解析では、両対照群において喘息との関連を特に強く認めた。

次にサルコイドーシスについても日本人の対照群を用いて、同様にマンノース受容体における7つの遺伝子多型について case-control study を行ったところ、複数の4つの SNP でサルコイドーシスとの関連を認めた。更には連鎖不平衡マッピングでは、関連を認めた1つの SNP は、今回検討したもう1つの SNP と強い連鎖不平衡にあったため、ハプロタイプブロックの構築が可能であったが、ハプロタイプ解析ではサルコイドーシスとの関連を認めず、責任遺伝子座の特定には至らなかった。しかし一方で、mRNA の分解制御の役割を担う3'-UTR 領域に存在する SNP が最も強い関連を認めており、責任遺伝子となり得る可能性も推測された。

審査にあたり、副査の笠原教授から、日本人で喘息との関連を認めたアミノ酸変異を伴う SNP がもつ機能、ゲノムワイド関連解析における喘息とマンノース受容体の関連を示す研究の有無、遺伝子多型を利用した研究による臨床応用への可能性についての質問があった。次いで副査の小池教授から、喘息やサルコイドーシスだけでなく、他の呼吸器疾患やアトピー素因におけるマンノース受容体の関与の可能性、アフリカ系アメリカ人だけでなく白人など他人種での検討の有無、今回の検討で機能解析が行えなかった理由と機能的研究を行うとした場合の方法論についての質問があった。最後に主査の西村教授より当初の目的にもかかわらず本多型に関連した機能解析が行えなかった理由について重ねての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は自験データや過去の文献を引用し、概ね適切に解答した。

この論文は、マンノース受容体が喘息およびサルコイドーシスと関連することを遺伝子多型の観点から初めて示すことができ、多因子疾患における複雑な病態の一部を明らかにしたのみならず、疾患原因の1つとしての可能性を見出した。

審査員一同は、これらの成果を評価し、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。