

学位論文題名

気管支喘息・COPDの発症および病型に関する遺伝的背景の検討

学位論文内容の要旨

【背景と目的】 気管支喘息と COPD は慢性の気道炎症を特徴とする閉塞性肺疾患である。気管支喘息の発症には、様々な環境要因、遺伝的要因が関与し、また近年複数の病態からなる疾患群の集合体であると考えられ、病型分類によって、病態への理解、新規治療薬開発が進展し、個別化治療につながることを期待されている。一方、COPD においても複数の病型の集合体と考えられている。気管支喘息の病型分類において、発症年齢が重要な因子の一つとされ、小児発症喘息と比べ、成人発症喘息には、種々の遺伝要因・環境要因が関連し、かつ経年的な環境要因の蓄積も考慮すべきである。

気道過敏性は喘息病態の重要な要素の一つだが、健常者にも認められ、無症候性気道過敏性と呼ばれ、前向き研究で将来の喘息発症の危険因子であるとの報告もある。

喫煙は COPD の主な原因だが、気管支喘息の発症や経過にも大きく影響する。しかし、喫煙と成人発症喘息との関連は、あまり明らかになっていない。また、新たな感受性遺伝子が検索されても、その寄与度は低く、遺伝的素因と環境素因との相互作用を考慮する必要性が明らかになっている。

今回我々は、気管支喘息に関する遺伝的背景を検討する上で、病型分類の重要性も踏まえ、主に成人・高齢発症喘息を対象とし、気道過敏性との関連が報告されている CC16、酸化ストレス関連遺伝子 CAT の 2 つの遺伝子に着目し検討した。

【研究 1：対象と方法】若年健常者群：呼吸器症状・呼吸器疾患既往のない 18～35 歳の健常者 154 名。症例-対照研究：気管支喘息患者 504 名と呼吸器疾患既往のない健常者 736 名。喘息患者は発症年齢別に 3 群に分類した。（若年発症：0-19 歳、中高齢発症：20-40 歳、高齢発症：41 歳以上）非特異的気道過敏性はメサコリン誘導気道収縮にて判定し（アストグラフ®）、指標として呼吸抵抗上昇開始点までの累積吸入メサコリン投与量（Dmin）を使用した。CC16 38GA 遺伝子多型（rs3741240）を同定し、血漿 CC16 濃度は ELISA kit にて測定した。

【研究 1：結果】若年健常者において、log Dmin は CC16 38A アレルを有する群で（AA+AG；平均±SD 1.03±0.61）有さない群（GG；平均±SD 1.28±0.61）と比較して有意に低値、すなわち気道過敏性が亢進していた（ $p=0.012$ ）。血漿 CC16 濃度は 38A アレルを有する群（平均±SD：6.36±2.74）において、有さない群（平均±SD：7.57±3.21）と比較して低値であった（ $p=0.020$ ）。log Dmin と血漿 CC16 濃度には正の相関があった。症例-対照研究では、38A アレルを有することは高齢発症喘息でのみリスクであった（OR, 1.63; 95% CI, 1.09-12.41; $p=0.016$ ）。

【研究 2：対象と方法】症例-対照研究（気管支喘息）：気管支喘息患者 493 名と呼吸器疾患既往のない健常者 1076 名。症例-対照研究（COPD）：COPD 患者 265 名。対照群は健常者のうち、年齢 40 歳以上、喫煙歴が Brinkman Index (BI) 200 以上、1 秒率 $\geq 70\%$ であった 238 名。報告の多い 2 つの多型、CAT -262CT (rs1001179) と CAT -21AT (rs7943316) を同定した。COPD における気腫病変評価 (CT スコア) は Goddard のスコアリングシステムを修正し使用した。

【研究2：結果】全体での症例-対照研究では-262CT, -21ATともに多型頻度に有意差を認めなかった。喫煙歴で層別化すると、喫煙者においてのみ、CAT-262CTで有意差を認め、喫煙喘息患者ではTアレルを有する頻度が高く、交絡因子で補正しても、有意に高値であり、Tアレル有することは喘息発症のリスクであった(OR, 2.459; 95%CI, 1.227-4.929; p=0.011)。発症年齢別の検討では、若年発症では有意差を認めず、成人発症喘息にのみ影響していた。喘息発症に関して、喫煙の有無別のKaplan-Meier法では、-262Tアレルあり群では喫煙によって成人後の喘息発症が有意に増加した(p=0.007)。COPD症例-対照研究では、両群の背景因子は一致せず、CAT-262CT, -21AT遺伝子多型の頻度に有意差は認めなかった。COPDの気腫型/非気腫型病型を考慮し、CTスコアに着目し、多型との関連をみたところ、CAT-262Tアレルを有するとCTスコアが低い、すなわち非気腫型のCOPDである可能性が高いという結果であった(p=0.0296)。

【考察】研究1：若年健常者において、活性低下との関連が報告されているCC16 38Aアレルを有すると、非特異的気道過敏性が存在し、血漿CC16濃度が低下していた。症例-対照研究では、同Aアレルが高齢発症喘息への危険因子であることが示され、この二つの結果からは、高齢発症喘息の一部が遺伝子多型に規定されたCC16濃度の低下を介して、気道過敏性を獲得し、高齢になってから喘息発症を引き起こすという仮説が成り立つ。機序としてはCC16の低下は気道炎症の増加や遷延化を起こし、結果として無症候性気道過敏性を獲得させる可能性がある。

多型との関連が高齢発症喘息にだけ認められ、若年発症では認められなかった理由は、この多型の影響は、長期間の気道炎症持続や気道過敏性の獲得、気道収縮などを介してのみ見られるからかもしれない。

研究2：CAT-262Tアレルが喫煙者においてのみ、喘息発症への危険因子であることが示され、COPDの病型(非気腫型)にも同アレルが影響していることが示唆された。以前の報告では非喫煙者において、-262Tアレルが喘息に対し保護的であるという報告があり、我々のデータでも同様の傾向が見られ、遺伝子-環境要因の相互作用の重要性を示唆する結果と言える。機序としては、酸化・抗酸化バランスが酸化に傾くと気道炎症が促進すると考えられ、気道カタラーゼ活性が少ない場合、気道炎症が遷延し、喘息発症が起こり、タバコはその誘因の一つであるため、喫煙者でのみ影響したという事が考えられた。

カタラーゼを含む抗酸化酵素はCOPDの発症機序においても着目されているが、以前の報告と同様に、本研究でも症例-対照研究では有意差を認めず、その理由はCOPDの対照群設定の困難さによるかもしれない。一方、非気腫型COPDという病型に着目したところ、-262Tアレルを有する人ではCTスコアが低く、Tアレルを有すると、喫煙による気道炎症が起こり、気腫が優位になる前に閉塞性障害をきたし、非気腫型COPDと認識される可能性が考えられた。

活性との関連が報告されているCAT-262遺伝子多型が二つの疾患の一部(喫煙者喘息、非気腫型COPD)への影響が示されたことで、カタラーゼがこれらの共通病態の一部の役割を担っている可能性がある。

【結論】CC16遺伝子多型は遺伝的にCC16濃度を規定し、CC16濃度の低下は、無症候性の気道過敏性、更には高齢発症喘息との関連性が示唆された。

カタラーゼ遺伝子多型は、喫煙者喘息、非気腫型COPDに関与し、気道におけるカタラーゼ活性がこの二つの疾患の共通病態の一部を担っ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	有川二郎
副査	教授	西村正治
副査	准教授	矢部一郎
副査	教授	森本裕二

学位論文題名

気管支喘息・COPDの発症および病型に関する遺伝的背景の検討

近年気管支喘息は病型分類が重要とされ、特に発症年齢は重要な病型識別因子の一つであるが、成人発症喘息の遺伝子多型報告は少ない。今回は気管支喘息に関する遺伝的背景を検討する上で、病型分類の重要性も踏まえ、主に成人・高齢発症喘息を対象とし、気道過敏性との関連が報告されている CC16、酸化ストレス関連遺伝子 CAT の 2 つの遺伝子に着目し検討した。若年健常者では CC16 38A アレルを有すると、血漿 CC16 濃度が低下し、気道過敏性が亢進していた。また、症例対照研究では同 A アレルが高齢発症喘息の危険因子であった。内因性抗酸化酵素の一つカタラーゼでは酸化ストレスの代表であるタバコに着目すると、CAT-262T アレルが喫煙者での成人発症喘息の危険因子であった。COPD では発症自体との関連はなかったが、非気腫型病型との関連が認められた。気管支喘息・COPD の遺伝子多型研究においては病型や環境因子を考慮することが重要と考えられた。

質疑応答では、矢部准教授より CC16 で AA の報告や意義についての質問があり、AA と AG での 2 群間比較はなく、AA のみまたは AG+AA で危険因子という報告がある。活性に関する結果から、AG、AA と段階的に濃度が低下することが予測されるとの回答があった。また、周囲の多型との連鎖不平衡の有無についての質問には、CC16 と近傍遺伝子の連鎖不平衡を見たものはなかったと記憶していると回答があった。CAT は 2 多型の解析を行っており、ハプロタイプ解析は行ったかという質問には、施行したが-262T アレル頻度が非常に低いために、表示しなかった旨、回答があった。その他のデータと多型との関連の有無についての質問には、総 IgE 値ではなくアトピー素因に対する検討は行ったが有意差はなかった。人種による COPD 病型の違いの有無については、そのような報告はないと思われる。欧米からの報告でも同様の病型に関する記載があるが、正確な分類基準がないため、正しい比較ができていない可能性があるとの回答があった。主査の有川からの遺伝子多型が活性・濃度に影響を与える機序についての質問には、ルシフェラーゼ活性で転写活性をみた研究があるが、被験者における濃度低下は多数の因子が関与するので詳細は不明であると回答があった。また、小児発症ではないが成人発症喘息では関連ありということで、二つは遺伝的背景に違いがあると考えてよいかという質問に対し、病型分類の一例だが、多くの要素が異なり、かつ遺伝的背景も異なっていると回答があった。有川および森本教授からの、今回の結果の臨床応用に関する質問に対し、一つは予防的介入でリスクの高い人に対して気道炎症の原因を避けることで発症を抑制する。もう一つは遺伝子導入によって、発現・産生系を上昇させることで保護できるかもしれないがこれは実現困難である。その他病態解明、病型分類マーカー、病型毎の治療標的などの考えがあるとの回答があった。多型の記載方法で、基

礎論文では G38A、卒論では 38GA と異なっているという質問には、意味は同じで、卒論は CAT に揃えてこのような記載にしたと説明があった。西村教授および森本教授より、2つの遺伝子を選んだ理由についての質問があり、これらは報告が多く、多型と機能変化に関する報告もあり、CC16 は位置が喘息関連遺伝子にあるためと回答があった。最後に指導教員である西村教授より、はじめから成人発症だけで有意差がでると想定していたかという質問があり、CC16 は小児発症での報告も多く、必ずしも成人発症でだけ出ると想定していたわけではなく、喘息全体でも良いと思っていたと回答があった。本研究の小児発症喘息は診断上のバイアスがあるのではという質問に対し、すべて当科に通院中の被験者なので、小児期のみで寛解した喘息は入らない。小児期から継続している人と、寛解後再燃した人の割合は把握できていず、バイアスが存在する可能性は否定できないとの回答があった。他にも多数の酵素や蛋白が気道炎症に対し関与しているが、それらとの報告はあるのかという質問に対し、他の抗酸化酵素の報告はカタラーゼ同様に環境因子の条件つきや、相反する報告が出ている。気道炎症に関わるすべての酵素や蛋白等の多型報告については未だ把握していない旨、回答があった。森本教授より、この二つの遺伝子は、喘息・COPD の従来の研究で、重要な遺伝子と認識されているものなのかという質問に対し、大規模な研究で何度も確認されているというほどではないとの回答があった。

この論文は病型や環境因子も考慮した遺伝子多型研究であり、CC16 は健常者における詳細データも含むことで機序への推論も提案している点で評価され、今後の病型分類、病型毎の病態解明への貢献が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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。