

図1. いわゆる自己免疫性膵炎の代表的組織像（活動期；図1-5, 同一例）著明な細胞浸潤が小葉内，小葉間線維化巣内に認められる。小葉は著しく萎縮しているが腺房細胞はまだ残存している。ここではラ島は認められない。HE染色，x100

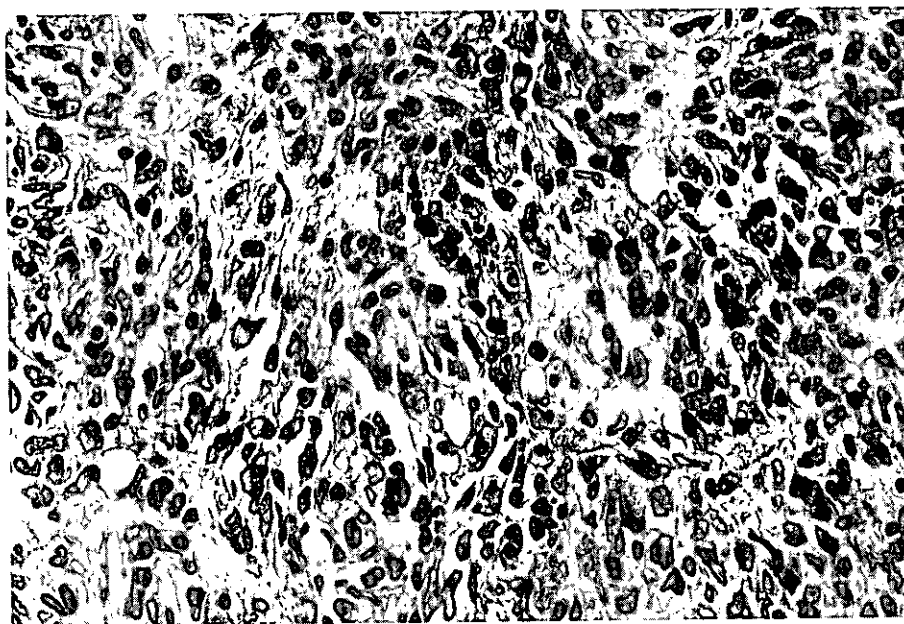


図2. 著しい細胞浸潤
リンパ球，形質細胞からなっている。HE染色，x400

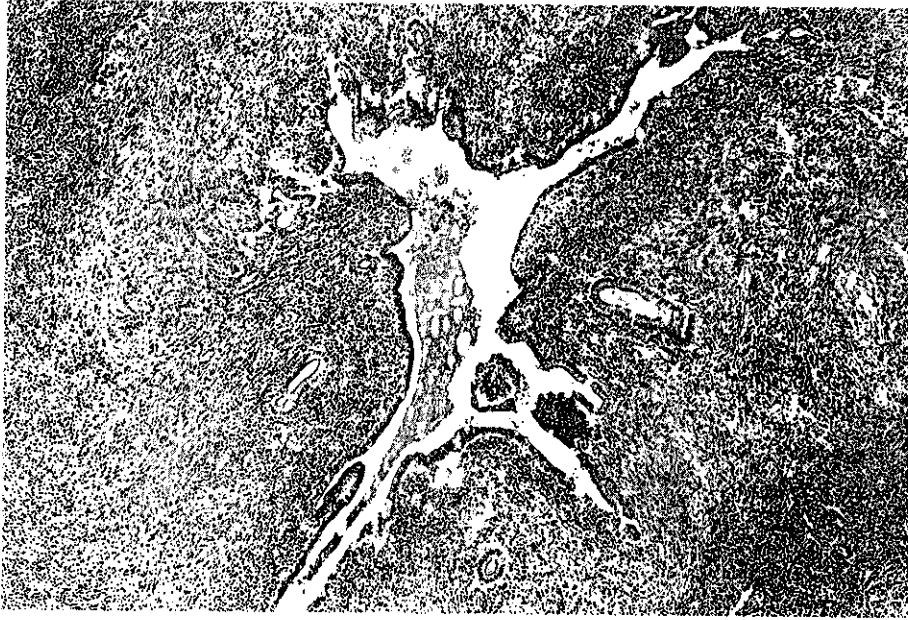


図 3. 主膵管の狭細化

主膵管がリンパ球，形質細胞などの細胞浸潤により狭細化している。HE 染色，x50

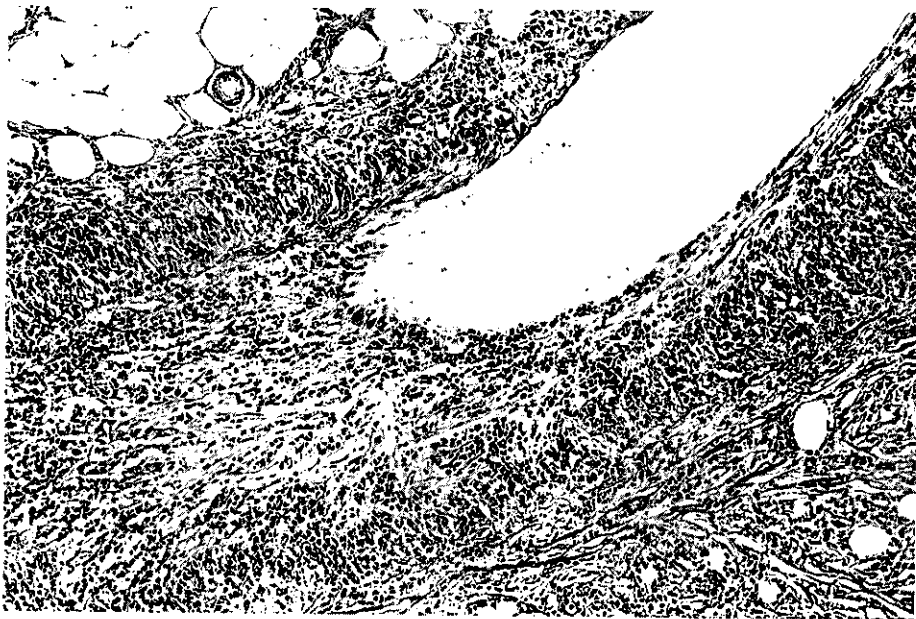


図 4. 静脈炎

リンパ球，形質細胞等が静脈壁に浸潤している。HE 染色，x100



図5. 総胆管病変

脾組織と同様の細胞浸潤，リンパ濾胞の形成がみられ，線維化も認められる。HE 染色，x12.5

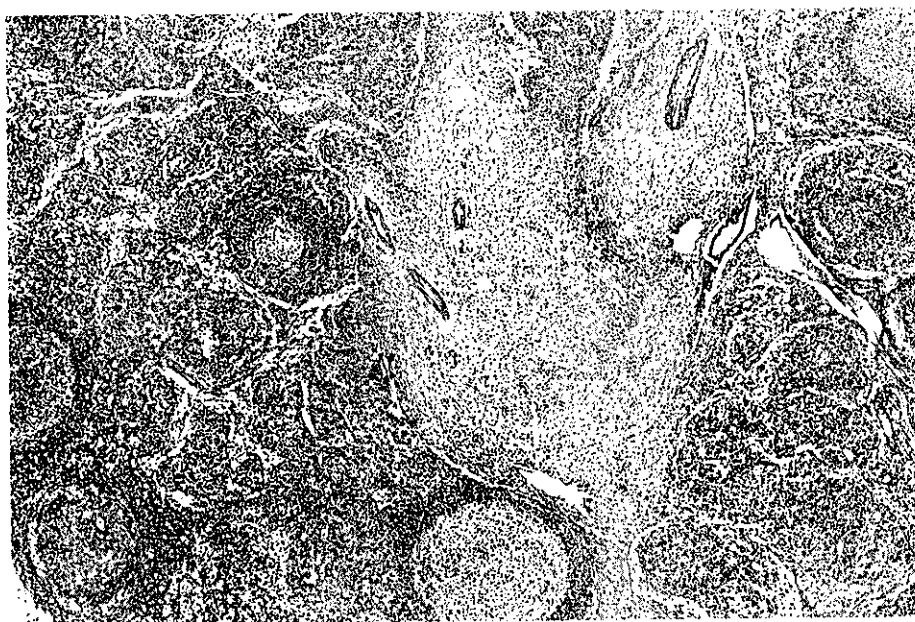


図6. リンパ節の線維化

リンパ節に線維化が認められる。HE 染色，x50

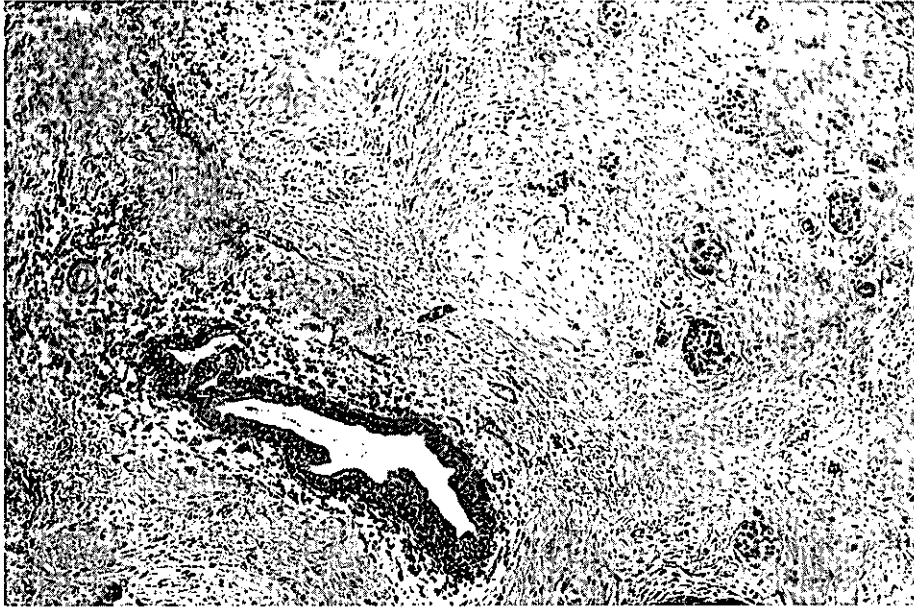


図7. 進行期例の組織像

病変部に腺房細胞が全く脱落し、著しい線維化に置換されている。ラ島はここでは萎縮性である。膵管周囲には細胞浸潤が認められる。HE染色，x100

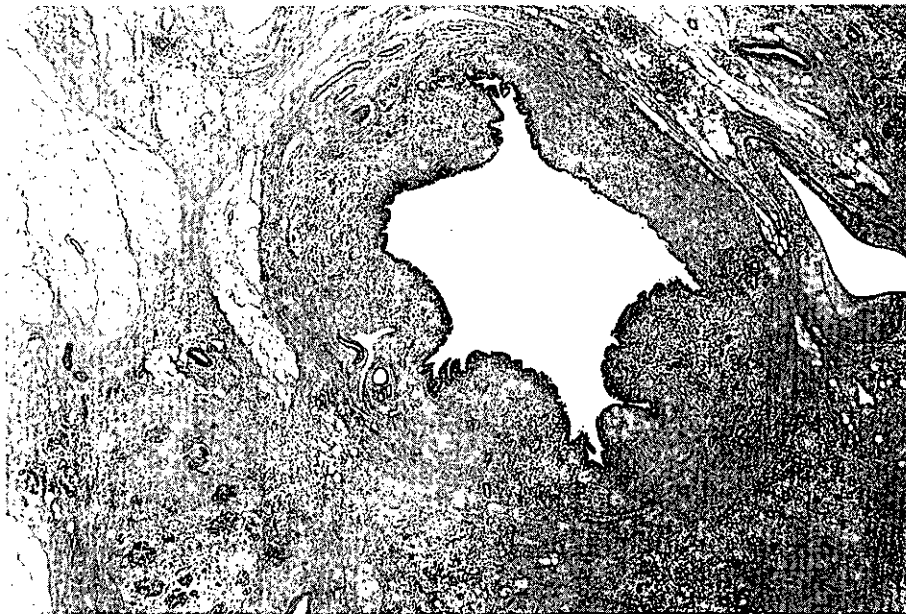


図8. 総胆管（図7と同一例）

総胆管は壁が線維性に肥厚しているが、細胞浸潤はほとんど認められない。HE染色，x15.6

考 察

今回、組織標本が検討された31例中、治療例と標本不適の各1例を除いた29例は、生検の1例を除き、いずれも、いわゆる自己免疫性膵炎の報告例^{3,4)}に類似し、本症に相当すると考えられた。すなわち、リンパ球、形質細胞などの細胞浸潤が膵管周囲、小葉間・小葉内等に見られ、膵管狭細化、著しい膵実質の脱落・荒廃、線維化を認め、アルコール性慢性膵炎にみられる小葉間線維化と結節性の小葉からなる“nodular pancreatitis”像^{1,2)}とは異なるものであった。

いわゆる自己免疫性膵炎と診断された28例を病変部に腺房細胞の残存の有無により活動期と進行期の2つの病期に大別した。活動期は前述の病理所見に加えて総胆管にも膵組織と同様の細胞浸潤と線維化がみられ、さらに静脈炎、およびリンパ節の腫大が併存し、後者にはそれらがほとんど併存せず総胆管には線維化のみであった。ラ鳥はいずれも様々であったが、後者でより萎縮・消失性であった。

今回の多くの症例にはリンパ節の腫大も加わって膵腫大、膵管狭細化、原発性硬化性胆管炎様病変等の臨床像をなし、アルコール性慢性膵炎の経過中に出現する腫瘍形成期としての腫瘍形成性膵炎⁵⁾とは異なっていた。

本症では病変の軽い部位または非病変部にも膵管周囲性の細胞浸潤による膵管狭細化が認められている。このような病変が本症の初期像なのか病変の周囲進展像であるのか問題であるが、本症の成り立ちについて次のごとく考察された。すなわち、本症では、炎症が膵管に出現し、膵管を狭細・閉塞し、閉塞性膵障害を惹起する。このため小葉間に線維化が起こり⁶⁾、次いで小葉の萎縮・荒廃・線維化を来す。

結 語

いわゆる自己免疫性膵炎の病理像の概要は、リンパ球、形質細胞などの細胞浸潤が膵管周囲、小葉内、小葉間等に見られ、リンパ濾胞の形成、膵管狭細化、著しい膵実質の脱落・荒廃、線維化を認める、であった。

謝 辞

本調査にあたり全国の多数の施設の諸先生方に多大なる御協力と御指導を頂き、改めて深謝致します。膵の病理組織標本をお送り頂いた施設は以下のとおりです。附記して感謝の意を表します。

旭川医科大学第3内科、石川県済生会金沢病院、大津赤十字病院内科、九州医療センター、九州大学第3内科、順天堂大学第2外科、昭和大学第2内科、生長会府中病院外科、東北大学第1外科、徳島大学第2内科、名古屋大学第2外科、名古屋大学第2内科、弘前大学第1内科、福岡大学筑紫病院、山梨医科大学第1内科。

参 考 文 献

- 1) Martin ED. Different pathomorphological aspects of pancreatic fibrosis, correlated with etiology : anatomical study of 300 cases. In : Gry KE, Singer MV, Sarles H, editors. Pancreatitis-Concepts and Classification. Amsterdam :

- Elsevier, 1984 : 77-83.
- 2) Suda K, Shiotsu H, Nakamura T, et al. Pancreatic fibrosis in patients with chronic alcohol abuse : correlation with alcoholic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1994 ; 89 : 2060-2.
 - 3) Kawaguchi K, Koike M, Tsuruta, et al. Lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with cholangitis : a variant of primary sclerosing cholangitis extensively involving pancreatitis. *Hum Pathol* 1991 ; 22 : 387-95.
 - 4) Ectors N, Maillet B, Aerts R, et al. Non-alcoholic duct destructive chronic pancreatitis. *Gut* 1997 ; 41 : 263-8.
 - 5) Takase M, Suda K. Histopathological study on mechanism and background of tumor-forming pancreatitis. *Pathol Int* 2001 ; 51 : 349-54.
 - 6) Suda K, Takase M, Takei K, et al. Histopathologic and immunohistochemical studies on the mechanism of interlobular fibrosis of the pancreas. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ; 124 : 1302-5.

腓嚢胞線維症全国疫学調査成績

研究報告者	玉 腰 暁 子 名古屋大学予防医学		
共同研究者	林 櫻 松	大 野 良 之	小 川 道 雄
	名古屋大学予防医学	名古屋大学予防医学	熊本大学第二外科
	広 田 昌 彦	衛 藤 義 勝	山 城 雄 一 郎
	熊本大学第二外科	東京慈恵会医科大学小児科	順天堂大学小児科

要旨：1999年1年間と過去10年間（1990－1999）の腓嚢胞線維症受療患者数の推計と臨床像の把握を目的として全国疫学調査を実施した。調査対象科を400床以上の病院の小児科すべてとした。調査は郵送法で第1次調査と第2次調査からなる。第1次調査で対象となった522科のうち、449科から返送があり（返送率86.0%）、報告患者数は1999年1年間で15人、過去10年間で21人であった。この結果と第2次調査票による重複率・不適格率から、1999年1年間の受療患者数は15人（95%信頼区間：12－18）と推計された。第2次調査で16例分の患者個人票が回収された。これらのうち重複例2例を除外し14例について集計を行った。14例の平均年齢は14歳であった。受療状況では「主に入院」が2人、「主に通院」が7人、「入院と通院」が3人、死亡が2人であった（死亡時年齢は17歳と2歳）。遺伝子診断は「施行あり」と回答したのは6人、「施行なし」と回答したのは7人、「不明」は1人であった。最終診察時の状況では「改善」が2人、「不変」が2人、「悪化」が8人、死亡が2人であった。

目 的

1999年1年間と過去10年間（1990－1999）の腓嚢胞線維症による受療患者数の推計と臨床像の把握を目的として全国疫学調査を行った。

対 象 と 方 法

腓嚢胞線維症は非常に稀な疾患なので、通常の方法と異なり、調査対象科を400床以上の病院の小児科すべてとした。調査は郵送法で第1次調査と第2次調査からなる。第1次調査は2000年1月に依頼状、診断基準、調査依頼票を対象科に発送し、1999年1年間と過去10年間（1990－1999年）の受療患者数の報告を依頼した。第1次調査で「患者なし」と報告された診療科には礼状を送付し、「患者あり」と報告された診療科には患者個人票を随時送付し、臨床像の報告を依頼した。第1次調査による受療患者数の推計には、難病の疫学調査研究班サーベイランスの提唱する方法（全国疫学調査マニュアル）を用いた¹⁾。

結 果

表1に第1次調査の結果を示す。対象となった522科のうち、449科から返送があり（返送率86.0%）、報告患者数は過去1年間で15人、過去10年間で21人であった。この結果と第2次調査票による重複率・不適格率から、1999年1年間の受療患者数は15人（95%信頼区間：12-18）と推計された。

第2次調査で16例分の患者個人票が回収された（表2）。これらのうち重複例2例を除外し14例について集計を行った。性別は男が9人で女が5人であった。現在の年齢分布は10-19歳が9人で最も多く、平均年齢は14歳であった。血族婚は14例のうち1例にみられた。家系内「発症あり」と回答したのは4人（兄弟1組と兄妹1組）、「なし」と報告されたのは10人だった。医療費の公費負担を受けているのは10人、受けていないのは1人、「不明」は3人であった。受療状況では「主に入院」が2人、「主に通院」が7人、「入院と通院」が3人、死亡が2人であった（死亡時年齢は17歳と2歳）。遺伝子診断は「施行あり」と回答したのは6人、「施行なし」と回答したのは7人、「不明」は1人であった。最終診察時の状況では「改善」が2人、「不変」が2人、「悪化」が8人、死亡が2人であった（表3）。

考 察

厚生省（当時）特定疾患難治性膵疾患研究班による集計では、昭和57年以降平成6年度までに29例（男14例、女15例）の確診症例が集積されている²⁾。そのうち、平成6年度までに11例が死亡し、生存期間の最長は20年である。今回の調査では、1999年1年間の受療患者数は15人（95%信頼区間：12-18）と推計された。非常に稀な疾患のため、今回は通常の方法とは異なり、調査対象科を400床以上の病院の小児科すべてとした。回収率が86.0%であることから、1999年1年間の推計受療患者数はほぼ妥当なものと思われる。

山城らの報告によれば、日本国内で1951年から1993年までに診断基準を満たした膵嚢胞線維症患者は104人であり、その半数以上が1980年以降に報告されている³⁾。我々が医学中央雑誌を用いて過去10年間の症例報告を調べたところ、原著論文による症例報告は19人、会議録による症例報告は12人（原著論文報告との重複除く）であった。今回、過去10年間の患者数推計を試みたところ、21人（95%信頼区間：17-24人）となり上述した症例報告数より少なく見積もられた。その理由としては、回答のない病院に患者がいたことのみならず、カルテの保存期間を超えていること、医師の異動による報告漏れ、死

表1. 膵嚢胞線維症全国疫学調査第一次調査結果

科 ・層	対象 科数	調査抽出率 科数 (%)	返送 科数	返送率 (%)	報告 患者数(1年)	報告 患者数(10年)
<小児科>						
400-499床	183	183 100.0	160	87.4	1	1
500床以上	218	218 100.0	172	78.9	6	7
大学病院	121	121 100.0	117	96.7	8	13
合計	522	522 100.0	449	86.0	15	21

表 2. 肺嚢胞線維症患者14例の各種要因別分布

	N	%
性別		
男	9	64.3
女	5	35.7
年齢分布		
1-9 歳	3	21.4
10-19歳	9	64.3
20-29歳	2	14.3
家系内発症		
あり	4	28.6
なし	10	71.4
医療費の公費負担		
あり	10	71.4
なし	1	7.1
不明	3	21.4
受療状況		
主に入院	2	14.3
主に通院	7	50.0
入院と通院	3	21.4
死亡	2	14.3
遺伝子診断施行		
あり	6	42.9
なし	7	50.0
不明	1	7.1

表 3. 現在（最終診察時）の状況

	N	%
治癒	0	0.0
改善	2	14.3
不変	2	14.3
悪化	8	57.1
死亡	2	14.3

死因：多臓器不全および呼吸不全

亡例が報告されなかったこと（実際報告のあった14例中死亡例は2例のみで死亡年は1998年と2000年である）などが考えられる。今回、二次調査で報告された患者14例と症例報告から把握された患者31例のうち重複は2例のみであることから、過去10年間の患者数は少なくとも43例あると考えられる。今回の結果は、全国疫学調査で過去10年間に遡って調査することの限界を示しているものと考えられる。

1989年に Rommens らによって CF 遺伝子が明らかにされて以来、現在までに約3000種の CF 遺伝子の

変異が報告されている⁴⁾。今回の調査では約半数の症例で遺伝子診断を実施していた。

以前は平均7-8歳で呼吸器感染症で死亡することが多かった。しかし、現在では呼吸器感染症の治療法の確立、および病態の解明による適切な輸液、栄養管理によって予後は著明に改善し、成人に達する症例も多くなってきている⁵⁾。今回の調査では患者年齢分布は10-19歳が9人と最も多く、現在半数が通院している状況はそれを反映するものだと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 橋本修二. 全国疫学調査に基づく患者数の推計方法. 大野良之編, 難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班, 1994:12-24.
- 2) 田代征記, 佐々木賢二. 本邦における肺嚢胞性線維症 (Cystic fibrosis) の遺伝子診断, N1303K の変異解析. 厚生省特定疾患難治性肺疾患調査研究班平成6年度研究報告書, 1994:20-3.
- 3) Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, et al. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 1997; 24: 544-7.
- 4) Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245: 1059-69.
- 5) 小川道雄, 広田昌彦. 肺嚢胞性線維症. 難病の最新情報: 疫学から臨床・ケアまで (大野良之, 田中平三, 中谷比呂樹, 他編). 東京: 南山堂, 2000: 324-5.

嚢胞線維症における CFTR 遺伝子の解析

研究報告者 吉村邦彦

東京慈恵会医科大学呼吸器内科

共同研究者 西森 功 衛藤義勝 田代征記

高知医科大学第一内科 東京慈恵会医科大学小児科 徳島大学第一外科

山城雄一郎 小川道雄

順天堂大学小児科 熊本大学第二外科

要旨：わが国をはじめとする東アジア諸国では嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) は稀な疾患であるものの、日本における CF の実態およびその原因遺伝子 CFTR の変異に関して、近年徐々に明らかにされつつある。主に PCR-SSCP 解析と直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出システムなどにより、これまですでにわが国の CF 患者の10余例においてその遺伝子変異が明らかにされてきたが、日本の CF 患者における CFTR 遺伝子変異は、欧米人の変異スペクトラムと明らかに様相を異にしており、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異が検出されない可能性が高い。したがって、今後日本人 CF 症例をさらに出来る限り多く集積、解析し、原因となる CFTR 遺伝子の病的変異の種類、頻度を明らかにしたうえで、わが国における CF の病態の解明と合わせ、日本独自の遺伝子変異スクリーニング体制を確立してゆかなければならないと考える。

はじめに

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) はコーカサス系白人種にきわめて高頻度にみられる常染色体劣性の遺伝性疾患であり、欧米では出生児2,000-3,000人あたり1人の発症頻度を示し、約25人に1人が原因遺伝子変異のキャリアである¹⁻³⁾。1938年に初めて膵臓と肺を冒す疾患「膵嚢胞性線維症 (CF of the pancreas)」として記載された本症は、その後全身の外分泌臓器の疾患であることが明らかにされ、現在では単に CF と称されるようになっている¹⁾。また、CF は粘液分泌物の排泄障害を伴うことから一部の国では“mucoviscidosis”とも呼称されている¹⁾。

CF では肺、膵臓、消化管、性腺など全身の管腔構造をもつ外分泌腺臓器が冒される¹⁾。このなかで、肺病変は臨床上きわめて重要で、ほぼ全例が慢性副鼻腔炎、気管支拡張症、粘稠な気道内分泌物を伴う難治性下気道感染症、呼吸不全などを呈し、CF 患者の9割以上がこの呼吸機能障害により死亡する¹⁾。さらに、膵病変も患者の予後を左右する重要な病態であり、約85%の症例で膵外分泌機能不全 (pancreatic insufficiency, PI) を伴う^{2,3)}。

CF 患者では汗中の Na⁺ と Cl⁻ 濃度が異常に高値であることが早くから知られていたが、1980年代前半に CF 患者の汗腺や気道の上皮細胞で cAMP 依存性の Cl⁻ イオン透過性が障害されていることが明らかにされ、1989年には長年に及ぶ研究の結果、原因遺伝子 CFTR が単離された¹⁻³⁾。欧米においては、それ以後のきわめて精力的かつ高レベルの研究から、cAMP 依存性 Cl⁻ チャネル CFTR の構造と複雑な機能が次々に明らかにされ、CF に伴う病態も分子レベルで詳細に解明される一方、新しい治療法も

次々に開発されてきている^{2,3)}。

CFTR 遺伝子は第7染色体に局在し、27のエクソンをもつ全長250kbの長大な遺伝子である²⁻⁴⁾。CFTR 遺伝子は多型性に富み、CFを発症しない塩基変異も数多く認められるほか、CF患者にみられる病的変異も多種多様であり、2001年3月現在約990種の病的変異が報告されている^{1,3)}。これらの変異はCF Genetic Analysis Consortiumの運営するCFTR 遺伝子変異データベースにリアルタイムで登録され、全世界の研究者にインターネット上で公開されている⁵⁾。このなかで、欧米のCF患者における代表的な変異Δ F508は、エクソン10内の3塩基 (CTT) の欠失のため、CFTRの第1 ATP結合ドメインを形成する508番目のフェニルアラニン残基1個が欠落する変異であり、全CF患者の染色体の約70%に認められる⁴⁾。

わが国のCF症例およびCFTR遺伝子変異検索

日本人を含めた東洋人種におけるCFの発症頻度はこれまできわめて低いと考えられており、わが国のCF症例に関しては、昭和57年からの厚生省(当時)特定疾患難治性肺疾患研究班による全国調査の結果、29例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiroら⁷⁾の報告によると、文献的にはわが国ではこれまでに約120例のCF臨床診断例が記載され、発症頻度も出生35万人あたり1人程度と推定されている。これはハワイ在住の東洋人でのCF発症頻度(出生9万人以上あたり1人)と概ね矛盾しない⁸⁾。これらの患者におけるCFTR遺伝子変異解析に関しては、DNAサンプルの得られた患者でのΔ F508、G542X、G551D、R553X、N1303Kなど欧米で頻度の高い数種の変異検索、ないしは限られたエクソンでのPCR-single stranded conformation polymorphism (SSCP)解析などが検討されたのみであり、結果として有意なCFTR遺伝子異常は確認されず、その変異状況は全く不明であった⁶⁾。この主な理由は、その後の解析から明らかになるように、わが国のCF患者におけるCFTR変異は欧米のそれらと比較した場合、変異の頻度もさることながら、スペクトラムが全く異なっているためである。

しかしながら、このような経緯の中、2, 3年前から漸くわが国でのCFTR変異の状況が明らかにされてきている。吉村らはPCR-SSCP法、直接シーケンシング法などによる27エクソン全ての変異検出体制を確立し、当研究班によるわが国での全国調査で集積された症例や、それ以外の施設から紹介依頼された複数のCF確診例、あるいは疑診例のCFTR遺伝子変異検索を行ってきた⁹⁾。この結果、欧米でもきわめて稀な変異や、これまでConsortiumに登録記載のない複数のCFTR変異を新たに検出、確認した。

これまでにわが国においてCFTR遺伝子の変異が同定されたCF患者の一覧を表1に示す。まず、症例1, 2はコーカサス系白人の父親と、日本人の母親をもつ女性双生児例で、PIなど典型的な臨床症状を呈するCF確診例であるが、責任変異は父親由来のΔ F508と、他方の染色体に母親由来のR347H + D979Aの2変異が検出された¹⁰⁾。症例3は両親が従兄妹同士で、H1085R変異のホモ接合体を呈した日本人女子症例である¹¹⁾。本例もPIなど典型的な臨床症状を有するCF症例であり、かつ、わが国で最初に報告されたCFTR遺伝子変異のホモ接合体患者である。本例では、患者を除く両親および兄妹全員がH1085Rのヘテロ接合体であった。症例4は解析時8歳の日本人男児例であり、一方のCFTR遺伝子のエクソン11には2塩基AG欠失を伴う1742delAG変異が確認されているが、他方のアレルの1525-18G → Aは多型と考えられ、それ以外の変異が未確認のまま潜在している可能性が高い¹²⁾。症例5は胎便性イレウスのため出生直後に緊急手術を要した日本人の重症CF例であり、遺伝子変異検索では一方のCFTRアレルのエクソン4にM152Rが、もう一方のアレルのエクソン10に10塩基の欠失をきたす

表 1. わが国の CF 患者において CFTR 遺伝子変異が明らかにされた症例

症例	年齢	性	PI/PS	Cl ⁻ 変異	エクソン	変異	エクソン	血族	転帰	文献
1*	23y	F	PI	96 ΔF508	10	R347H + D979A	7, 16	-	生存中	10
2*	23y	F	PI	102 ΔF508	10	R347H + D979A	7, 16	-	生存中	10
3	15y	F	PI	201 H1085R	17b	H1085R	17b	+	生存中/HOT	11
4	8y	M	PI	153 1525-18G->A	ivs 9	1742delAG	11	-	生存中	12
5	1y5m	F	PI	126 M152R	4	1540del10	10	-	生存中	13
6	1y1m	F	PI	ND ΔF508	10	L571S	12	-	死亡	
7	17y	M	PI	74 125C	1	Q98R	4	-	生存中	14
8	42y	F	PS	ND E217G	4	Q1352H	22	-	死亡	14
9**	21y	M	PI	166 125C	1	L441P	9	-	生存中/HOT	
10**	16y	F	PI	100 125C	1	L441P	9	-	生存中	
11	9y	F	PI	166 1540del10	10	1540del10	10	-	生存中	

血族: 血族結婚, PI/PS: 肺機能不全/肺機能正常, * 双生児例, ND: 測定せず, ivs 9: イントロン 9, ** 兄妹例, HOT: 在宅酸素療法

1540del10変異が認められた複合ヘテロ接合体症例である¹³⁾。症例6は症例5と同様に出生直後に胎便性イレウスを発症し、PI、肺病変などで1歳1月で死亡した日系ペルー人の重症CF女児であり、沖縄出身の日本人女性を母にもつ日系の父親からのΔF508と、スペイン系の祖先を有する母親由来のL571S変異の複合ヘテロ接合体であった。なお、ΔF508はペルー人の祖父由来と考えられる。症例7は17歳の日本人男性で、先天性の両側精管欠損症(CBAVD)、PIを合併した典型例であるが、エクソン1の125Cとエクソン4のQ98Rが確認されている¹⁴⁾。症例8はこれまでびまん性汎細気管支炎(DPB)として加療されていた42歳の日本人女性で、42歳で遺伝子診断により初めてE217G(エクソン4)、Q1352H(エクソン22)のCFTR遺伝子変異を有するCFと診断された¹⁴⁾。症例9、10は近親婚でない両親を持つ日本人の兄妹例であり、典型的なCFの臨床像を呈したが、遺伝子解析では、症例7と同様にエクソン1の125Cと、さらにエクソン9のL441P変異が検出された。症例11は9歳の日本人女子のCF症例で、重症のPI、呼吸器症状を有し、遺伝子変異解析では症例5で検出された1540del10のホモ接合体であることが証明されたが、同症例との血縁はなく、また両親は血族婚ではなく、同変異は母親の一方のCFTRアリルにのみに認められることから、第7染色体の片親性ダイソミーが疑われ、現在詳細に解析中である。

現在までにわが国のCF症例で検出されたCFTR変異の、CFTR分子とエクソン構造に則しての分布状況を示したのが図1である。これまでのところ、第1ヌクレオチド結合ドメインと2つの細胞膜貫通ドメインとに、変異が集中しているように見受けられる。さらに、表2にこれまでに検出された変異の稀少さに関して整理した。すなわち、欧米でもきわめて頻度の高い変異ΔF508は3例に検出されているが、何れも片親が欧米コーカサス系の流れを汲んでおり、日本人由来の変異ではないと考えられる。また、欧米でも比較的検出頻度の高いR347H変異(全CF患者染色体の0.1%)が、日本人母親に由来する変異として双生児2例で確認された。さらに、これまで欧米でもわずかに1例ずつの報告しかない稀な変異として、Q98R、E217G、L571S、D979A、H1085Rが挙げられる。これに対して、M152R、L441P、1540del10、1742delAG、Q1352Hは従来欧米では全く報告されていない変異であり、わが国からの報告としてConsortiumに登録されている。この中でQ1352Hはわれわれの研究からDPB、CBAVDの複数の患者に見いだされており、健常者でも同変異のキャリアが確認されているため、日本人のなかで最も頻度の高いミスセンス変異であると考えられる。また、125Cは従来125G or Cの多型と考えられ

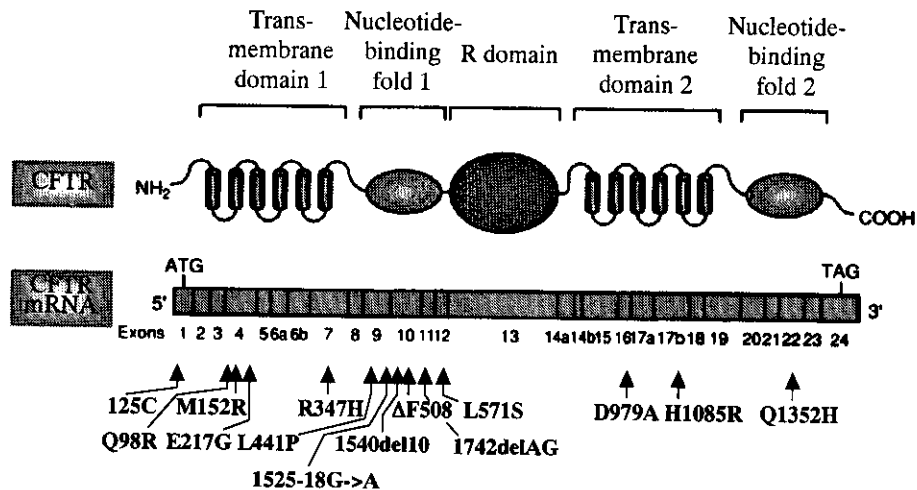


図1. わが国のCF患者において検出確認されたCFTR遺伝子変異の種類とその分布状況

表2. わが国のCF患者における責任CFTR遺伝子変異

欧米できわめて頻度が高いがわが国ではきわめて稀な変異	ΔF508
欧米で比較的頻度が高い変異	R347H
欧米でもきわめて稀な変異	Q98R, E217G, L571S, D979A, H1085R
世界的にわが国で初めて報告された稀な変異	M152R, L441P, 1540del10, 1742delAG, Q1352H
病的と考えられる多型	125C

ていたが¹⁵⁾、症例7, 9, 10にみられるように、ミスセンス変異が一方のアリルに検出される以外は125Cを除く他の変異が認められないにも拘わらず、臨床的にCFを発症する例が存在するため、125Cは何らかのCFTR機能異常を招来する変異であると推測される¹⁶⁾。

総括および結語

本研究班の前身である厚生省（当時）特定疾患難治性脾疾患調査研究班を中心に進められてきたわが国のCF研究は、主にPIを呈した重症例の集積と全国施設での実態調査などに主眼が置かれてきた。しかしながら、これら症例における原因遺伝子CFTRの変異解析と遺伝子診断に関しては、必ずしも十分ではなかったのが実情である⁶⁾。近年、漸く変異検出体制が確立され、着実に変異の様相が明らかにされつつある。本研究で明らかにされたように、わが国のCF患者におけるCFTR遺伝子変異は、欧米

人の変異スペクトラムと明らかに様相を異にしており、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異が検出されない可能性が高い。従来から指摘されているごとく、人種や民族により CFTR 変異のスペクトラムが大きく異なっているため、診断や保因者スクリーニングの上で、対象集団の人種、民族性がきわめて重要である。したがって、今後わが国の日本人 CF 症例をさらに出来る限り多く解析し、原因となる CFTR 遺伝子の病的変異の種類、頻度を明らかにしたうえで、わが国独自のスクリーニング体制を確立してゆかなければならないと考える。

参 考 文 献

- 1) Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. New York : McGraw-Hill, 1995 : 3799-876.
- 2) Collins FS. Cystic fibrosis : molecular biology and therapeutic implications. Science 1992 ; 256 : 774-9.
- 3) 吉村邦彦, 安斎千恵子. 嚢胞性線維症. 日本臨牀 1996 ; 54 : 825-33.
- 4) Tsui LC. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. Am J Respir Crit Care Med 1995 : 151 : S47-S53.
- 5) Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
- 6) 西森 功, 衛藤義勝, 吉村邦彦, 田代征記, 山城雄一郎, 小川道雄. 本邦の嚢胞性線維症における CFTR 遺伝子異常—文献報告例の集計—. 厚生省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成11年度研究報告書. 2000 : 69-73.
- 7) Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, Shioya T, Nagata S, Ohtsuka Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1997 ; 24 : 544-7.
- 8) 吉村邦彦. 嚢胞性線維症の保因者スクリーニング. 遺伝子診療'96, 東京 : 医学書院. 1996 : 63-6.
- 9) 吉村邦彦, 衛藤義勝. 日本人 cystic fibrosis 患者の遺伝子診断に関する研究. 厚生省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成11年度研究報告書, 2000 : 193-200.
- 10) Hojo S, Fujita J, Miyawaki H, Obayashi Y, Takahara J, Bartholomew DW. Severe cystic fibrosis associated with a Δ F508/R347H + D979A compound heterozygous genotype. Clin Genet 1998 ; 53 : 50-3.
- 11) Yoshimura K, Wakazono Y, Iizuka S, Morokawa N, Tada H, Eto Y. A Japanese patient homozygous for the H1085R mutation in the CFTR gene presents with a severe form of cystic fibrosis. Clin Genet 1999 ; 56 : 173-5.
- 12) Seki K, Abo W, Yamamoto Y, Matsuura A. Identification of novel mutations of the CFTR gene in a Japanese patient with cystic fibrosis. Tohoku J Exp Med 1999 ; 187 : 323-8.
- 13) Morokawa N, Iizuka S, Tanano A, Katsube A, Muraji T, Eto Y, Yoshimura K. Severe cystic fibrosis in a Japanese girl caused by two novel CFTR gene mutations M152R and 1540del10. Hum Mut. Mutation and Polymorphism Report # 109, 2000 (online).
- 14) 吉村邦彦, 衛藤義勝. 日本人 cystic fibrosis 患者の CFTR 遺伝子変異解析. 厚生省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書, 2001 : 245-50.
- 15) Cutting GR, Curristan SM, Nash E, Rosenstein BJ, Lerer I, Abeliovich D, Hill A, Graham C. Analysis of four diverse population groups indicates that a subset of cystic fibrosis mutations occur in common among Caucasians. Am J Hum Genet 1992 ; 50 : 1185-94.
- 16) Yoshimura K, Iizuka S, Morokawa N, Kikuta H, Kadota J, Kohno S, Tai H, Eto Y. Polymorphic 125C in the 5' untranslated region of the CFTR gene exon 1 is likely causative of severe phenotype of cystic fibrosis in Japan. Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 163 : A656.

日本人 CF の Stage 分類の作成

研究報告者 山城 雄一郎

順天堂大学小児科

共同研究者 清水 俊明 衛藤 義勝 小川 道雄

順天堂大学小児科

東京慈恵会医科大学小児科

熊本大学医学部第二外科

要旨：日本人 CF の重症度 Stage 分類を作成することを目的とし，CF の予後を左右する病態のうち特に重要と考えられる呼吸器症状および腠外分泌不全症状に注目して Stage 分類案を作成した。今後，呼吸器異常および栄養障害の正確な評価法を確立し，報告症例に当てはめての検討が必要と思われた。

目 的

我が国における CF の報告例は100名を超えているが，その臨床像は多様であり，予後を評価するための臨床 Stage 分類はこれまでに行われていない。しかしながら，CF を適切に治療していく上でも患者の病態を正確に把握する事は重要と考えられる。そこで今回，日本人 CF における重症度 Stage 分類の作成を目的として本研究を行った。

方法および結果

CF の予後を左右する病態のうち（表1），生命予後に強く関係し，CF の重症度 Stage 分類に影響を及ぼす病態として呼吸器異常と栄養障害を選んで Stage 分類を行った（表2）。特に呼吸器異常は CF の生命予後に最も関係している病態であり，栄養障害より重視して各 Stage を作成した。

表1. CF の重症度 Stage 分類に影響する病態

-
1. **呼吸器異常（無，軽，中，重）**
 2. **腠外分泌不全（無，軽，中，重）**
 3. **胎便性イレウス**
 4. **汗中電解質異常**
 5. **その他の合併症**
（腠炎，糖尿病，肝障害，腸閉塞）
-

表 2. 日本人の CF の重症度 Stage 分類案

Stage 0	呼吸器異常および栄養障害が無い
Stage 1	呼吸器異常が無く栄養障害が軽度
Stage 2	呼吸器異常が軽度または栄養障害が中等度
Stage 3	呼吸器異常が中等度または栄養障害が重度
Stage 4	呼吸器異常が重度

考 察

海外での CF の重症度分類なども参考にしながら、CF の呼吸器異常や栄養障害の程度を正確に評価する事および実際の日本人 CF の報告例に当てはめて検討していく事などが、今後の課題であると思われる。

各個研究 I
— 急性膀胱炎 —

in vitro 実験急性膵炎におけるインスリン分泌能の検討

研究報告者 跡 見 裕

杏林大学第一外科

共同研究者 杉 山 政 則 中 島 正 暢 阿 部 展 次

要旨：ラットタウロコール酸浮腫性膵炎モデルでは、islet の形態・GLUT 2 の発現に変化は生じないが、単離 islet におけるグルコース刺激インスリン分泌能は有意に低下していることはすでに報告した。今回、正常単離 islet にトリプシンを添加し、急性膵炎の *in vitro* 環境下における islet のインスリン分泌能の検討を行った。種々の濃度のトリプシン処理後の単離 islet における、グルコース刺激によるインスリン分泌能はトリプシン濃度依存性に低下した。一方、高濃度（1%）トリプシン処理後の単離 islet ではトリパンプルーの取り込みは認められず、islet の viability は保たれているものと考えられた。以上より、急性膵炎で認められる耐糖能障害はトリプシンなどの活性化された酵素により、islet 内部環境の機能的変化、特にインスリンシグナル伝達系の障害が惹起されることによって生じている可能性が考えられた。

はじめに

重症急性膵炎では耐糖能障害を併発し、高血糖に起因すると思われる様々な病態の把握や治療に難渋することがある。急性膵炎時にみられる耐糖能低下は、インスリン分泌能をはじめとする内分泌機能変化が惹起されることがその原因のひとつとして考えられているが¹⁾、この急性膵炎病態下における内分泌機能の変化に関する実験的報告は少ない。我々は、ラットタウロコール酸膵炎モデルを用い、急性膵炎におけるインスリン分泌能や glucose transporter protein (GLUT 2) の変化の検討から、急性膵炎で認められる耐糖能低下はインスリン分泌能の機能異常が1つの原因として考えられ、インスリンシグナル伝達系に何らかの障害が生じている可能性が考えられることを報告してきた²⁾。今回、正常単離 islet にトリプシン処理を行い、そのインスリン分泌能の変化を検討したので報告する。

対象と方法

体重200g前後の Wistar 系ラットを pentobarbital (0.8ml/kg 腹腔内投与) 麻酔下で開腹し、膵を摘出した。内分泌細胞の機能変化を解析するための *in vitro* 実験系として、Nagamatsu らの方法³⁾ に従い、摘出した膵よりコラゲナーゼを用いて islet を単離し、低濃度グルコース刺激 (3.3mM) 後、種々の濃度 (0.05%, 0.25%, 0.5%, 1%) のトリプシン (WAKO, ウシ膵臓性トリプシン) で30分 incubation 後、高濃度グルコース刺激 (16.7mM) を行い、インスリン分泌能を検討した。コントロールとして、トリプシン処理をしていない単離 islet で低濃度グルコース刺激 (3.3mM) 後、高濃度グルコース刺激 (16.7mM) を行い、インスリン分泌能を検討した。インスリン濃度測定はモルモットを免

疫して得られた抗体を用いて radioimmunoassay 法により行った²⁾。また、トリプシン処理後の islet の viability をトリパンブルーの取り込みの有無により検討した。

結 果

トリプシン処理をしていない単離 islet におけるグルコース刺激によるインスリン分泌は 0.494 ± 0.162 (ng / islet / hour) であった。種々の濃度 (0.05%, 0.25%, 0.5%, 1%) のトリプシン処理後の単離 islet におけるグルコース刺激によるインスリン分泌は、各々 0.461 ± 0.074 (ng / islet / hour), 0.329 ± 0.371 , 0.225 ± 0.177 , 0.137 ± 0.032 であり、トリプシン濃度依存性にインスリン分泌能の低下を認めた (図 1)。

単離 islet のトリパンブルー染色では、1%トリプシン処理 islet においてもコントロールと同様、トリパンブルーの取り込みは認められなかった (図 2)。

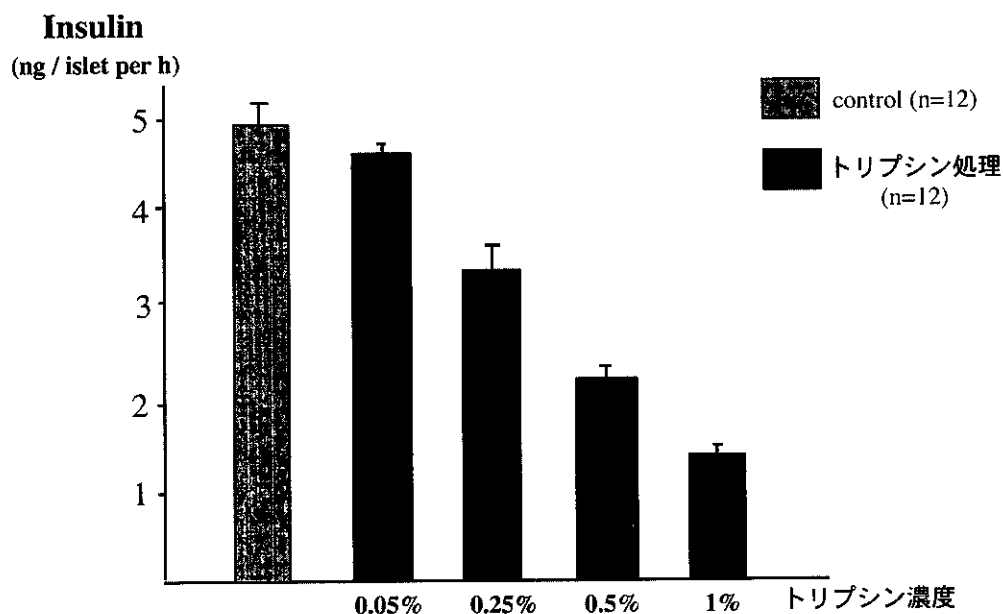
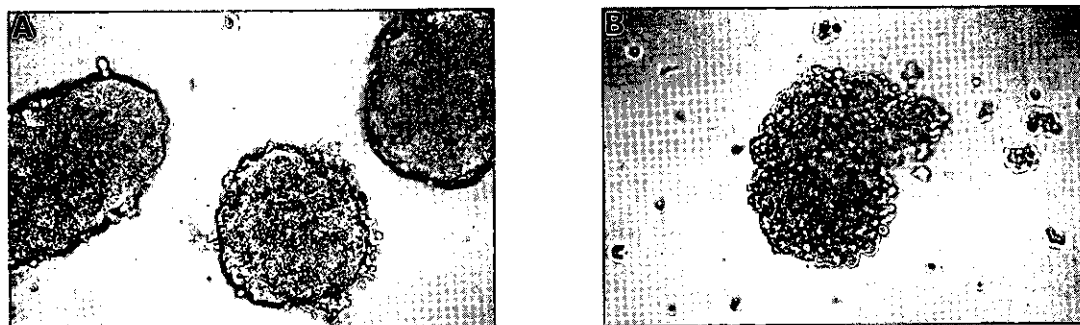


図 1. トリプシン処理単離 islet におけるグルコース刺激によるインスリン分泌能



A: コントロール (トリプシン処理なし)

B: 1%トリプシン処理

図 2. 単離 islet のトリパンブルー染色