

表 20. 抗生剤と重症度（3群）

| 抗生剤 | 軽症 n=24 | | 中等症 n=16 | | 重症 n=4 | | p |
|--|------------|------|-------------|------|-----------|------|--------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Amikacin | 2 | 8.3 | 3 | 18.8 | 0 | 0.0 | < 0.05 |
| Amoxicillin/clavulanate (Augmentin) | 7 | 29.2 | 7 | 43.8 | 1 | 25.0 | |
| Cefepime (Axepim) | 1 | 4.2 | 2 | 12.5 | 2 | 50.0 | |
| Oxacillin (Bristopen) | 4 | 16.7 | 3 | 18.8 | 0 | 0.0 | |
| Ciprofloxacin (Ciprobay) | 12 | 50.0 | 5 | 31.3 | 0 | 0.0 | |
| Doxycyclin | 18 | 75.0 | 7 | 43.8 | 0 | 0.0 | |
| Ceftazidime (Fortum) | 4 | 16.7 | 5 | 31.3 | 0 | 0.0 | |
| Ceftriaxone (Rocephine) | 3 | 12.5 | 4 | 25.0 | 0 | 0.0 | |
| Spiramycin (Rovamycin) | 0 | 0.0 | 1 | 6.3 | 0 | 0.0 | |
| Gatifloxacin (Tequin) | 7 | 29.2 | 7 | 43.8 | 3 | 75.0 | |
| Imipenem/cilastatin (Tienam) | 0 | 0.0 | 1 | 6.3 | 2 | 50.0 | |
| Azithromycin, (Zithromax) | 5 | 20.8 | 3 | 18.8 | 2 | 50.0 | |

表 21: 抗生剤と入院施設の関係

| 抗生剤 | A 病院 n=20 | | B 病院 n=15 | | A 病院から B 病院への転院 n=9 | |
|--|--------------|------|--------------|------|------------------------|------|
| | n | % | n | % | n | % |
| Amikacin | 3 | 15.0 | 0 | 0.0 | 2 | 22.2 |
| Amoxicillin/clavulanate (Augmentin) | 11 | 55.0 | 0 | 0.0 | 4 | 44.4 |
| Cefepime (Axepim) | 0 | 0.0 | 5 | 33.3 | 0 | 0.0 |
| Oxacillin (Bristopen) | 6 | 30.0 | 0 | 0.0 | 1 | 11.1 |
| Ciprofloxacin (Ciprobay) | 14 | 70.0 | 1 | 6.7 | 2 | 22.2 |
| Doxycyclin | 17 | 85.0 | 3 | 20.0 | 5 | 55.6 |
| Ceftazidime (Fortum) | 0 | 0.0 | 6 | 40.0 | 3 | 33.3 |
| Ceftriaxone (Rocephine) | 3 | 15.0 | 1 | 6.7 | 3 | 33.3 |
| Spiramycin (Rovamycin) | 1 | 5.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| Gatifloxacin (Tequin) | 0 | 0.0 | 13 | 86.7 | 4 | 44.4 |
| Imipenem/cilastatin (Tienam) | 0 | 0.0 | 2 | 13.3 | 1 | 11.1 |
| Azithromycin, (Zithromax) | 0 | 0.0 | 8 | 53.3 | 2 | 22.2 |

表 22. 治療法と重症度

| 治療法 | 軽症 n=24 | | 中等症 n=16 | | 重症 n=4 | | p |
|--------|------------|------|-------------|------|-----------|------|--------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| ステロイド | 2 | 8.3 | 5 | 31.3 | 3 | 75.0 | < 0.01 |
| 抗ウイルス剤 | 14 | 58.3 | 13 | 81.3 | 0 | 0.0 | < 0.05 |

D. 考察

フォローアップの可能であった SARS44 確定例については、医療関係者、それも労働年齢の看護師を初めとする女性スタッフが主であり、A病院に入院した SARS 患者より感染したものと推測される。B病院では、一例も院内感染が生じなかった。このように一病院の院内感染という均一な環境下で、比較的そろった背景の患者集団であったことは、SARS の重症化に関するパラメータの解析に有利な点であった。

初発症状は、これまでも報告されているように、発熱、倦怠感などの全身症状で、鼻汁や咽頭痛などの上気道症状は比較的少なかった。

重症者には、高齢者がみられたが、人工呼吸器を必要とする重症者は、10%以下であり、統計的な有意差は得られなかった。

軽症者と中等症+重症者の間で、極期のリンパ球数、CPK、AST、ALT との間には統計的な有意差が認められ、特にリンパ球数の減少は重症例で顕著であり（軽症例の 1 / 3 程度）、これまでも報告されているように、重症化のよいマーカーと考えられた。CPK も重症例で軽症例の 7 倍ほど高く、マーカーとして有用と考えられた。

胸部 X 線上、肺病変は主に磨りガラス様陰影として記載された。これは、一般にレントゲン上、局在性の浸潤影が出現し、その後磨りガラス様陰影が出現するという、これまでの報告と一件矛盾するように考えられたため、さらに症例を増やして、検討すべき課題と考えられた。初診時の肺病変の局在と重症化とは関係がなかった。

治療は一般抗生剤、抗ウイルス剤、ステロイドを中心に施行された。一般抗生剤は、SARS ウイルス自体の殺傷作用はないと考えられるが、細菌性の

二次感染の防止、抗生物質の抗炎症作用や免疫調節作用などを考えると、ARDS など重症化しきたしにくい組み合わせが存在する可能性は否定できず、検討を行った。重症度と一部の抗生剤との間に関連が認められるかもしれないが、抗生剤の使用に係る要因は複雑であり、使用期間と複数の抗生剤の使用状況を勘案したさらに詳細な解析が必要と思われた。ステロイドは重症例に、抗ウイルス剤は、軽症例に多く使用されたが、この点についても、聞き取り調査など、さらなる検討が必要と思われた。

参考文献

- (1) Stockman LJ, Bellamy R, Garner P. SARS: Systematic review of treatment effects. *PLoS Medicine*. 2006;3(9):e343
- (2) Hui D S, Chan MC, Wu AK, Ng PC. Severe acute respiratory syndrome (SARS): epidemiology and clinical features. *Postgrad Med J*. 2004;80(945):373-81
- (3) Lau AC, Yam LY, So LK. Management of critically ill patients with severe acute respiratory syndrome (SARS). *Int J Med Sci*. 2004;1(1):1-10.
- (4) Vu HT, Leitmeyer KC, Le DH, Miller MJ, Nguyen QH, Uyeki TM, Reynolds MG, Aagesen J, Nicholson KG, Vu QH, Bach HA, Plan AJ. Clinical description of a completed outbreak of SARS in Vietnam, February–May 2003. *Emerg Infect Dis*.

2004;10(2):334-8.

- (5) Le DH, Bloom SA, Nguyen QH, Maloney SA, Le QM, Leitmeyer KC, Bach HA, Reynolds MG, Montgomery JM, Comer JA, Horby PW, Plant AJ. Lack of SARS transmission among public hospital workers, Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(2):265-268
- (6) Reynolds MG, Anh BH, Thu VH, Montgomery JM, Bausch DG, Shah JJ, Maloney S, Leitmeyer KC, Huy VQ, Horby P, Plant AY, Uyeki TM. Factors associated with nosocomial SARS-CoV transmission among healthcare workers in Hanoi, Vietnam, 2003. *BMC Public Health* 2006;6:207.

厚生労働科学研究補助金(新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

ベトナムにおける HLA クラス I、クラス II 遺伝子の対立遺伝子型分布

| | | |
|-------|--------------------|-------------------------------|
| 分担研究者 | 慶長直人 | 国立国際医療センター研究医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| | Bach Khanh Hoa | ハノイ医科大学 |
| 分担研究者 | 徳永勝士 | 東京大学医学系研究科人類遺伝学教室 |
| | 大橋 順 | 東京大学医学系研究科人類遺伝学教室 |
| | Luu Thi Lien | ハノイ市結核病院 |
| | Nguyen Thi Le Hang | IMCJ-BMH 医学共同研究センター |
| | 庄嶋淳子 | 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 主任研究者 | 笹月健彦 | 国立国際医療センター |

研究要旨

ベトナム人集団の HLA クラス I、クラス II 遺伝子の対立遺伝子およびハプロタイプ分布を解析した。クラス I 遺伝子により構成されるハプロタイプでは、A*1101-B*1502-Cw*0801 が最も高頻度で推定され、それに続いて A*3303-B*5801-Cw*0302 と A*0207-B*4601-Cw*0102 が比較的高頻度で見られた。上記 3 種のハプロタイプは中国南部で高頻度に見られるものであったが、A*2901-B*0705-Cw*1501 は、ベトナム人集団でかなり特徴的であった。一方、クラス II 遺伝子により構成されるハプロタイプでは、DRB1*1202-DQB1*0301 が全ハプロタイプ中の 1/3 を占め、インドネシアに見られるジャワ人との近縁性が示唆された。今回の、クラス I、II 遺伝子通しての検討は、ベトナム人の HLA 関連研究の基礎データとして有用であり、新興感染症と HLA との関連を明らかにする上で、重要な情報を提供するものと思われた。

A. 研究目的

重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome : SARS) は SARS coronavirus (SARS-CoV) の感染により発症する新興感染症である。SARS の発症や重症化に個人差があり、SARS-CoV の病原性の違いよりも、宿主側に発症と重症化のリスクファクターが存在する可能性が考えられる。

世界的流行時の疫学的な検討から、高年齢、糖尿病、心疾患が、宿主側の予後不良のリスクファクターとして報告された。その後、遺伝的なリスクファクターについても検討されており、Human leukocyte antigen (HLA) を初めとする遺伝的多型が SARS の感染、発症、重症化に影響を与える

可能性が報告されている。

HLA は遺伝的多型性が大きく多様性に富んでおり、顕著な集団差があり、また免疫応答に密接な関係があり、古くから、マラリア、結核、ハンセン病、AIDS、ウイルス性肝炎など多くの感染性疾患との関連が再現性をもって報告されている。現在では、ヒトゲノム情報の蓄積に伴い、HLA の血清学的タイピングは DNA タイピングへ、また、HLA 関連、非関連を問わず、免疫関連遺伝子変異の感染症との関連性が広く検討されている状況である。SARS の発症、重症化に HLA が関連していることは、すでに香港、台湾からの症例対照関連解析の報告があるが、一致を見ていない。我々は、ベトナムとの国際共同研究を通じて、SARS 発症

者と接触非発症者間でHLAの頻度分布のちがいを
昨年の報告書で報告したが、そもそもベトナム人
集団では、まずその基本となる HLA の頻度分布に
関する正確な情報が十分でなく、集団としての特
徴が、遺伝子レベルで十分に議論されていない
1)-3)。我々は、ベトナム人の各対立遺伝子頻度
を HLA の高精度 DNA タイピングにより明らかにす
べく、ベトナムの研究者と共同で、クラス I 遺伝
子、クラス II 遺伝子双方の解析について、共同
で作業を進め、ベトナム人一般集団の 170 名に関
する高精度タイピングを実施した。これらのデー
タは、SARS の発症、重症化解明の一助となるば
かりでなく、ベトナム人集団の起源に関する研究や、
移植医療など幅広い分野に応用できるものと期
待される。

B. 方法

ベトナム人集団サンプルについては、すでに倫
理委員会による承認が得られ、HLA 遺伝子を含め
た、遺伝子解析を行うことについてインフォーム
ドコンセントが得られた、170 名のハノイ市一般
集団を対象とした。ここでは、99%以上がキン族
であった。

HLA 遺伝子のうち、古典的クラス I 分子に分類さ
れる HLA-A、HLA-B、HLA-Cw と、古典的クラス II
分子に分類される HLA-DRB1、HLA-DQB1 について
高精度遺伝子型判定を行った。ELISA 法をベース
とする Polymerase Chain Reaction (PCR)-based
Microtiter Plate Hybridization 法 (湧永製薬)
をベースに、この方法で HLA の型が確定出来ない
検体について、PCR-based sequence-specific
oligonucleotide probing 法 (ONE LAMBDA, INC)
あるいは、Sequencing-based typing により型判
定を行った。これらの方法で、170 検体すべてに
ついて 4 桁の DNA 高精度タイピングが可能であ
った。

ハプロタイプ頻度の推定は、最尤度法に基づく
Arlquin プログラムによって実施した。

C. 結果

はじめにクラス I 分子に関して検討した。HLA-A
遺伝子座に関しては、A*1101 が 22.9%と最も高頻
度であり、さらに A*2402、A*3303 が 13.8%、11.5%
と主要なアリルであった (図 1)。さらに A*0207,
A*0203, A*2921 がそれぞれ、8.7%、7.9%、6.2%
と比較的高頻度に認められた。次に HLA-B 遺伝子
座に関しては、B*1502 が最も高頻度であり、それ
に次いで、B*4601 がそれぞれ、13.5%、11.5%に認
められた (図 2)。さらに B*0705, B*5801, B*4001,
B*1525 などが比較的高頻度でみられるアリルで
あった (7.4%、6.5%、6.2%、5.9%)。HLA-C 遺伝子
座に関しては、Cw*0102、Cw*0801、Cw*0702、が
比較的高頻度に見られた (16.5%、15.6%、14.7%)

(図 3)。クラス I 遺伝子で構成されるハプロタ
イプの中で最も高頻度に認められたのは、
A*1101-B*1502-Cw*0801 であり、約 8%に推定され
た。それに続いて A*3303-B*5801-Cw*0302 と
A*0207-B*4601-Cw*0102 が比較的高頻度で見られ
た (5.6%、5.5%)。A*2901-B*0705-Cw*1501 が 4%
以上に認められた (図 6)。

次にクラス II 分子に関しては、HLA-DRB1 遺伝子
座に関しては、DRB1*1201 が全アリルの 30%以上
を占めることが特徴的であった (図 4)。次に
DRB1*0901 が 10%ほど、さらに DRB1*0701、
DRB1*1502、DRB1*1001 が 5%以上認められた。ま
た、HLA-DQB1 遺伝子座では、DQB1*0301 単独の頻
度が 40%を占めていた (図 5)。クラス II 遺伝子
のハプロタイプは、これに伴い、
DRB1*1202-DQB1*0301 が全ハプロタイプ中の 1/3
強を占め、次に DRB1*0901-DQB1*0303 が約 10%を
占めるものと推定された (図 7)。さらに一方、
HLA-A, B, DRB1 よりなるハプロタイプの中で最も
優位なものは、全アリルの約 7%を占める
A*1101-B*1502-DRB1*1202 であり、それに
A*2901-B*0705-DRB1*1001 (4.7%)
、
A*3303-B*5801-DRB1*0301 (3.8%)
、
A*3303-B*4403-DRB1*0701 (2.6%)が続いていた
(図 8)。

D. 考察

ベトナム人の起源、系統には未だ不明な点が多い。言語はオーストロアジア語族モン・クメール系のヴェト・ムオン語系に入れられるが、確定的ではない。多くの考古学者によると、初期のベトナム人はインドネシア方面から、現在のマレーシアを北上し、タイを経由してトンキンデルタに到達し定住した集団が、中国南部に古くから居住していた集団の南下に伴い、混ざり合い、形成されていったものと推測されている。彼らは、紅河(ソソコイ)流域からメコン川流域までの沿岸平野部に住み、現在、主にキン族(京族)と呼ばれる集団が85%を占め、南方系のモンゴロイドとされている。その後、紀元前から北部ベトナムの紅河流域一帯には東南アジア最古の青銅器文化として知られるドンソン文化が広がり、原始的な部族国家群を形成していた。秦始皇帝以後、千年にわたって中国王朝の郡県支配を受け、中国文化の影響が深く浸透したが、完全に中国化することはなかった。一方、中部ベトナムではオーストロネシア語族系統のチャム族がインド化されたチャンパ王国を形成していた。唐末五代の混乱で中国の支配が後退すると939年に最初の民族王朝呉朝が成立、以後ベトナムの王朝が続く。ベトナムは南のチャンパと抗争を繰り返したが、次第にチャンパを圧倒して南進し、17世紀にはカンボジア領であったメコン川流域まで併合して今日のベトナム領土が完成した。2005年度の人口は、約8400万人である。

血清学的タイピング法による古典的な報告(Tran MH, et al. Tissue Antigens. 1978 Feb;11(2):139-43.)によると、中国南部、タイに見られるHLA-A11とジャワ、チモールに見られるHLA-B15がベトナム人では、優位であることが報告されている。また第11回国際HLAワークショップでは、HLA-DR12-DQ7が高頻度に見られることが報告されている。このHLA-DR12に関しては、DRB1*1201が東ポリネシア系集団に、DRB1*1202

がマイクロネシア系、およびインドネシアのジャワ人など、東南アジア、中国南部に特徴的であることが報告されてきた。ベトナム人集団における最初のHLA-DRB1遺伝子型に関する報告(Vu-Trieu A et al. Eur J Immunogenet. 1997 24(5):345-56.)によると、DRB1*1202がキン族では29.4%を占め、タイの17%、フィリピンの12%より、著しく高頻度であることが特徴とされている。一方、DRB1*1201はほとんど見られない。DRB1*0901はモンゴル、中国ハン族を初め、東アジアに高頻度にみられるアリルであるが、同報告によると、ベトナム人集団でも13.6%を占める。またDQB1は、*0301アリルが全体の1/3を占めると報告され、中国の17-20%に比べても、高頻度である。ハプロタイプ解析では、DRB1*1202-DQB1*0301が上述の報告では、29.2%を占め、このハプロタイプは、タイ、中国南部に多く、オーストロネシア語族のジャワ、マイクロネシア系集団にも見られることが報告されている。次に多く見られるDRB1*0901-DQB1*0303ハプロタイプは、中国漢族に多く見られ、タイに少ない。

今回の170名のベトナムキン族(ハノイ市)のタイピングでは、HLA-A*11とB*15の優位性が確認された。HLA-A*1101は、中国南部に多く、東南アジアに高頻度に見られるアリルである。HLA-A*2402とA*3303は広くアジア全域で見られる。一方、HLA-A*2901が5%以上にみられる集団は、アジアでは他に報告がなく、ベトナム人に特徴的であった。血清学的タイピングによるHLA-A29のベトナム人集団における優位性は、これまでも報告されている。HLA0A*02は、東南アジアの集団に多く、ベトナム人集団でも、A*0203およびA:0207が比較的高頻度に認められた。一方、アジア以外でも広く認められるA*0201は、ベトナム人では、2%程度しか認められず、総じて、A*02アリルの相対的低頻度をもたらす結果であった。

HLA-B*15は、アジア以外でも広く認められ、多数のアリルから構成されることが知られている。韓

国や日本を含むアジア北東部では、B*1501 が主体であるが、ベトナム人集団では B*1501 よりも、東南アジアに多く見られる B*1502 が特徴的であり、さらに B*1525 と合わせて、B*15 がベトナム人集団で高頻度にみられる原因を作っていた。

以前指摘されていた 2)、ベトナム人と、ジャワ、チモールなどに共通した HLA-B15 抗原の優位性は、スプリット抗原の検索により、ジャワ、チモールでは、B62(15)が主体と考えられ、ベトナム人におけるおそらく B*1502 を主体とした B75(15)優位の分布と異なる可能性が推測される。さらにインドネシア集団の HLA クラス I 抗原に関する、高解像度タイピングのデータが一般に利用できるようになれば、この点は、さらに明確になるものと思われる。HLA-B*4601 を主体とする HLA-B46 抗原は、中国南部に高頻度で見られるが、ジャワ、チモールには少ないことが知られている。HLA-B*0705 はベトナム人集団にかなり特徴的に高頻度であった。HLA-Cw*0102 と Cw*0801 はアジア人によく見られ、Cw*0701 は、多くの地域に分布している。

HLA-A, B, C 3 座位のハプロタイプ解析で推定された A*1101-B*1502-Cw*0801、A*3303-B*5801-Cw*0302 および A*0207-B*4601-Cw*0102 は、いずれもアジア人に見られるハプロタイプであり、A*2901-B*0705*-Cw*1505 は中国南部にもジャワ系にもあまり見られない、ベトナム人に高頻度で見られるハプロタイプであった。A*2901、B*0705、Cw*1505 を除くと、ベトナム人のクラス I 分子の分布は、香港、シンガポールの中国系集団など中国南部の集団に近く、予想されるように日本人や韓国人の分布とは大きく異なっていた。

クラス II 分子の分布については、Vu-Trieu らの詳細な報告があり 1)、ベトナム人集団における、DRB1*1202 の著しい高値 (35.3%) が確認された。DRB1*1202 はタイ、フィリピンなどでも 10%程度によく見られるアリルであるが、ジャワ系集団や、ミクロネシア系集団では、20%を越える。一方、

中国本土では、北に向かうほど DRB1*1202 の頻度は低くなる傾向がある。一方、2 番目に高頻度に見られた DRB1*0901 は広くアジアに広がるが、ジャワ、ミクロネシア系には乏しいことが知られている。DQB1*0301 は DRB1*1202 とハプロタイプを組み、中国でも見られるが、ジャワ系集団などでは、ベトナム人集団同様、高頻度で見られることが知られている。DRB1*0901-DQB1*0303 は、中国南北に高頻度で、DRB1*1001-DQB1*0501、DRB1*1502-DQB1*0501、DRB1*0701-DQB1*0201 は、ジャワ系を含む東南アジアに比較的高頻度で見られることが報告されている。

これらのことより、HLA クラス II 分子については、ベトナム人集団では、ジャワ系、ミクロネシア系に見られる二つの特徴、すなわち、DRB1*1202 の著しい優位、DRB1*1501 に対する*1502 の優位性を共有していることが明らかになった。

A-B-DRB1 ハプロタイプでは、A*1101-B*1502-DRB1*1202 が最も頻繁に認められたが、DRB1*1202 を担う A-B ハプロタイプは、様々なものが推測され、ベトナム人は、クラス II 遺伝子座の均一性に比べ、クラス I 遺伝子座の多様性が特に目立つ集団であった。A*2901-B*0705-DRB1*1001 は、前述した、ベトナム人に特徴的に多いハプロタイプであり、このことは、これまでも、血清タイピングの結果から、推測されている。それ以外のハプロタイプとしては、A*3303-B*5801-DRB1*1302、A*3303-B*4403-DRB1*1302が見られるが、これらは、北東アジアで、DRB1 の組み合わせの異なるハプロタイプが特徴とされている。

これらのことから、クラス I 抗原は、南方中国に比較的近い分布をしており、多様性を有し、クラス II 抗原はより東南アジアの島々の集団に近い分布をしており、この間に、クラス I 抗原とクラス II 抗原の組み換えが頻繁に起こり、ベトナム人集団の独自性が形成されていったものと推測

される。

以上、今回の検討では、最近の技術的進歩により、クラス II 遺伝子座、次いで、クラス I 遺伝子座の遺伝子タイピングが可能になり、今回、これらの方法を用いた、HLA クラス I A, B, C、クラス II DR DQ 遺伝子高精度タイピングを実施することができた。その結果、今後、新興感染症における疾患感受性遺伝子研究に有用な情報を得ることができた。SARS 疾患感受性、重症化と HLA との関連研究の結果を考察をさらに深める上での基礎データとなった。また、これらの結果と、インドネシアなど周辺諸国のタイピング結果を組み合わせることにより、今後、一層、ベトナムの起源を探ることが可能である。さらに、これらの HLA タイピング結果は、今後のベトナムにおける移植医療のための基礎データとなり、各方面にも幅広い応用が可能である。

過去の SARS と HLA の関連解析の報告によると、Lin らは台湾において HLA-B*4601 と B*5401 が SARS 患者群でハイリスク医療従事者群より有意に多く、特に重症患者で B*4601 が有意に多いと報告しており、Ng らは香港において、B*0703 と DRB1*0301 が SARS 発症に強く関連していることを報告した。さらに Chen らは台湾で Cw*0801 が SARS-CoV 感染と関連があると報告しており、報告により SARS に関連するとされる HLA の型は異なっている。我々がベトナム人集団から得て、昨年度報告した結果は、過去の報告とさらに異なっており、SARS 患者群と接触非発症者群との間と、SARS 患者群と非接触コントロール群との間のいずれの比較においても、DRB1*12 のアレル頻度が SARS 感受群で有意に高く、DRB1*13 の頻度が SARS 患者群で有意に低かった。すなわち、DRB1*12 は SARS に対して感受性であり、DRB1*13 は抵抗性である可能性が示された。ベトナム一般集団での DRB1*12 と DRB1*13 のアレル頻度は、台湾や香港からの報告と大きく異なっておらず、ベトナム人集団に特徴的な HLA 型ではなかった。DRB1*13 アレルが感染症に対して抵抗性に働く機序は不明

であり、DRB1*13 自体に抵抗性の機能があるのか、あるいは DRB1*13 と連鎖不平衡状態にある別の抵抗性の因子が近傍にあるのかは今後のさらなる研究が必要である。

謝辞

HLA タイピングにつきまして東京都赤十字血液センター柏瀬貢一先生にご指導いただきましたことを深謝申し上げます。

| | VHC | |
|--------|-----|-------|
| A*0101 | 13 | 0.038 |
| A*0201 | 7 | 0.021 |
| A*0203 | 27 | 0.079 |
| A*0206 | 16 | 0.047 |
| A*0207 | 29 | 0.085 |
| A*0211 | 0 | 0.000 |
| A*0301 | 0 | 0.000 |
| A*0302 | 1 | 0.003 |
| A*1101 | 78 | 0.229 |
| A*1102 | 12 | 0.035 |
| A*1104 | 1 | 0.003 |
| A*2402 | 47 | 0.138 |
| A*2403 | 5 | 0.015 |
| A*2407 | 15 | 0.044 |
| A*2410 | 8 | 0.024 |
| A*2601 | 7 | 0.021 |
| A*2901 | 21 | 0.062 |
| A*3001 | 1 | 0.003 |
| A*3101 | 7 | 0.021 |
| A*3201 | 0 | 0.000 |
| A*3303 | 39 | 0.115 |
| A*3401 | 2 | 0.006 |
| A*6801 | 3 | 0.009 |
| A*7401 | 1 | 0.003 |
| 340 | | |

図 1. ベトナム人における HLA-A 対立遺伝子とその頻度

| VHC | | | VHC | | |
|--------|-----|-------|---------|-----|-------|
| B*0702 | 0 | 0.000 | | | |
| B*0705 | 25 | 0.074 | Cw*0102 | 56 | 0.165 |
| B*0801 | 1 | 0.003 | Cw*0103 | 1 | 0.003 |
| B*1301 | 13 | 0.038 | Cw*0302 | 23 | 0.068 |
| B*1302 | 2 | 0.006 | Cw*0303 | 17 | 0.050 |
| B*1501 | 14 | 0.041 | Cw*0304 | 21 | 0.062 |
| B*1502 | 46 | 0.135 | Cw*0317 | 0 | 0.000 |
| B*1504 | 0 | 0.000 | Cw*0401 | 18 | 0.053 |
| B*1507 | 1 | 0.003 | Cw*0403 | 20 | 0.059 |
| B*1511 | 0 | 0.000 | Cw*0406 | 2 | 0.006 |
| B*1513 | 0 | 0.000 | Cw*0501 | 0 | 0.000 |
| B*1517 | 1 | 0.003 | Cw*0602 | 11 | 0.032 |
| B*1518 | 1 | 0.003 | Cw*0701 | 14 | 0.041 |
| B*1521 | 1 | 0.003 | Cw*0702 | 50 | 0.147 |
| B*1525 | 20 | 0.059 | Cw*0704 | 8 | 0.024 |
| B*1527 | 1 | 0.003 | Cw*0801 | 53 | 0.156 |
| B*1535 | 0 | 0.000 | Cw*1202 | 7 | 0.021 |
| B*1801 | 2 | 0.006 | Cw*1203 | 3 | 0.009 |
| B*1802 | 6 | 0.018 | Cw*1402 | 9 | 0.026 |
| B*2704 | 0 | 0.000 | Cw*1502 | 10 | 0.029 |
| B*2706 | 3 | 0.009 | Cw*1504 | 0 | 0.000 |
| B*3501 | 1 | 0.003 | Cw*1505 | 17 | 0.050 |
| B*3503 | 1 | 0.003 | Cw*1701 | 0 | 0.000 |
| B*3505 | 14 | 0.041 | | | |
| B*3701 | 0 | 0.000 | | 340 | |
| B*3801 | 0 | 0.000 | | | |
| B*3802 | 19 | 0.056 | | | |
| B*3901 | 4 | 0.012 | | | |
| B*3905 | 1 | 0.003 | | | |
| B*3909 | 0 | 0.000 | | | |
| B*3915 | 2 | 0.006 | | | |
| B*4001 | 21 | 0.062 | | | |
| B*4002 | 4 | 0.012 | | | |
| B*4006 | 7 | 0.021 | | | |
| B*4101 | 0 | 0.000 | | | |
| B*4402 | 0 | 0.000 | | | |
| B*4403 | 13 | 0.038 | | | |
| B*4601 | 39 | 0.115 | | | |
| B*4801 | 1 | 0.003 | | | |
| B*4803 | 0 | 0.000 | | | |
| B*4901 | 0 | 0.000 | | | |
| B*5101 | 12 | 0.035 | | | |
| B*5102 | 6 | 0.018 | | | |
| B*5106 | 0 | 0.000 | | | |
| B*5201 | 1 | 0.003 | | | |
| B*5401 | 8 | 0.024 | | | |
| B*5502 | 9 | 0.026 | | | |
| B*5601 | 4 | 0.012 | | | |
| B*5602 | 4 | 0.012 | | | |
| B*5701 | 10 | 0.029 | | | |
| B*5801 | 22 | 0.065 | | | |
| | 340 | | | | |

図 3. ベトナム人における HLA-C 対立遺伝子とその頻度

図 2. ベトナム人における HLA-B 対立遺伝子とその頻度

| | VHC | | | | | | |
|-----------|-----|-------|--------|--------|---------|-------|--|
| DRB1*0101 | 0 | 0.000 | A*1101 | B*1502 | Cw*0801 | 0.081 | |
| DRB1*0301 | 16 | 0.047 | A*3303 | B*5801 | Cw*0302 | 0.056 | |
| DRB1*0401 | 1 | 0.003 | A*0207 | B*4601 | Cw*0102 | 0.055 | |
| DRB1*0403 | 7 | 0.021 | | | | | |
| DRB1*0404 | 1 | 0.003 | A*2901 | B*0705 | Cw*1505 | 0.047 | |
| DRB1*0405 | 13 | 0.038 | A*3303 | B*4403 | Cw*0701 | 0.032 | |
| DRB1*0406 | 2 | 0.006 | | | | | |
| DRB1*0407 | 0 | 0.000 | A*1101 | B*4601 | Cw*0102 | 0.028 | |
| DRB1*0410 | 0 | 0.000 | A*2407 | B*3505 | Cw*0401 | 0.024 | |
| DRB1*0701 | 26 | 0.076 | A*0101 | B*5701 | Cw*0602 | 0.024 | |
| DRB1*0802 | 3 | 0.009 | | | | | |
| DRB1*0803 | 14 | 0.041 | A*0203 | B*1502 | Cw*0801 | 0.019 | |
| DRB1*0901 | 33 | 0.097 | A*0206 | B*1525 | Cw*0702 | 0.018 | |
| DRB1*1001 | 19 | 0.056 | | | | | |
| DRB1*1101 | 5 | 0.015 | A*2410 | B*1802 | Cw*0704 | 0.018 | |
| DRB1*1104 | 0 | 0.000 | A*2402 | B*3505 | Cw*0401 | 0.015 | |
| DRB1*1201 | 3 | 0.009 | | | | | |
| DRB1*1202 | 120 | 0.353 | A*2601 | B*3802 | Cw*0702 | 0.015 | |
| DRB1*1301 | 2 | 0.006 | A*2402 | B*3802 | Cw*0702 | 0.015 | |
| DRB1*1302 | 6 | 0.018 | | | | | |
| DRB1*1303 | 6 | 0.018 | A*2402 | B*1301 | Cw*0304 | 0.014 | |
| DRB1*1401 | 11 | 0.032 | A*1101 | B*1501 | Cw*0303 | 0.012 | |
| DRB1*1402 | 1 | 0.003 | | | | | |
| DRB1*1403 | 1 | 0.003 | A*1101 | B*5401 | Cw*0102 | 0.012 | |
| DRB1*1404 | 6 | 0.018 | A*2402 | B*4001 | Cw*0304 | 0.012 | |
| DRB1*1405 | 4 | 0.012 | | | | | |
| DRB1*1501 | 13 | 0.038 | A*3101 | B*5102 | Cw*1502 | 0.012 | |
| DRB1*1502 | 21 | 0.062 | A*0203 | B*3802 | Cw*0702 | 0.011 | |
| DRB1*1602 | 6 | 0.018 | A*2402 | B*1525 | Cw*0403 | 0.011 | |
| <hr/> | | | | | | | |
| | 340 | | A*2402 | B*1502 | Cw*0801 | 0.010 | |
| | | | A*0203 | B*1525 | Cw*0403 | 0.010 | |
| | | | A*1101 | B*1301 | Cw*0304 | 0.010 | |

図4. ベトナム人における HLA-DRB1 対立遺伝子とその頻度

図6. ベトナム人における HLA-A-B-C ハプロタイプとその推定頻度

| | VHC | |
|-------------|-----|-------|
| DQB1*0201 | 31 | 0.091 |
| DQB1*0301 | 136 | 0.400 |
| DQB1*0302 | 8 | 0.024 |
| DQB1*0303 | 43 | 0.126 |
| DQB1*0401 | 12 | 0.035 |
| DQB1*0402 | 2 | 0.006 |
| DQB1*0501 | 40 | 0.118 |
| DQB1*0502 | 16 | 0.047 |
| DQB1*050201 | 6 | 0.018 |
| DQB1*0503 | 9 | 0.026 |
| DQB1*050301 | 3 | 0.009 |
| DQB1*0601 | 22 | 0.065 |
| DQB1*0602 | 4 | 0.012 |
| DQB1*0603 | 2 | 0.006 |
| DQB1*0604 | 1 | 0.003 |
| DQB1*0605 | 5 | 0.015 |
| <hr/> | | |
| | 340 | |

図5. ベトナム人における HLA-DQB1 対立遺伝子とその頻度

| | | | | | | |
|-----------|-----------|----------|--------|--------|-----------|-------|
| DRB1*1202 | DQB1*0301 | 0.35 | A*1101 | B*1502 | DRB1*1202 | 0.070 |
| DRB1*0901 | DQB1*0303 | 0.097059 | A*2901 | B*0705 | DRB1*1001 | 0.047 |
| DRB1*1001 | DQB1*0501 | 0.055882 | A*3303 | B*5801 | DRB1*0301 | 0.038 |
| DRB1*1502 | DQB1*0501 | 0.052941 | A*3303 | B*4403 | DRB1*0701 | 0.026 |
| DRB1*0701 | DQB1*0201 | 0.047059 | A*1101 | B*4601 | DRB1*0901 | 0.021 |
| DRB1*0301 | DQB1*0201 | 0.044118 | A*0101 | B*5701 | DRB1*0701 | 0.021 |
| DRB1*0803 | DQB1*0601 | 0.041176 | A*0206 | B*1525 | DRB1*1202 | 0.021 |
| DRB1*0405 | DQB1*0401 | 0.035294 | A*0207 | B*4601 | DRB1*0901 | 0.020 |
| DRB1*0701 | DQB1*0303 | 0.029412 | A*2407 | B*3505 | DRB1*1202 | 0.018 |
| DRB1*1401 | DQB1*0502 | 0.023529 | A*0203 | B*1502 | DRB1*1202 | 0.017 |
| DRB1*1501 | DQB1*0601 | 0.017647 | A*2402 | B*4601 | DRB1*1202 | 0.015 |
| DRB1*1303 | DQB1*0301 | 0.017647 | A*0207 | B*4601 | DRB1*1202 | 0.015 |
| DRB1*0403 | DQB1*0302 | 0.017647 | A*2410 | B*1802 | DRB1*1202 | 0.015 |
| DRB1*1302 | DQB1*0605 | 0.014706 | A*3303 | B*5801 | DRB1*1302 | 0.012 |
| DRB1*1101 | DQB1*0301 | 0.014706 | A*2402 | B*3505 | DRB1*1202 | 0.012 |
| DRB1*1404 | DQB1*0503 | 0.011765 | A*2402 | B*1525 | DRB1*1202 | 0.011 |
| | | | A*2402 | B*1502 | DRB1*1202 | 0.010 |

図7. ベトナム人における HLA-DRB1-DQB1 ハプロタイプとその推定頻度

図8. ベトナム人における HLA-A-B-DRB1 ハプロタイプとその推定頻度

参考文献

- 1) Vu-Trieu A, Djoulah S, Tran-Thi C, Ngyuyen-Thanh T, Le Monnier De Gouville I, Hors J, Sanchez-Mazas A. HLA-DR and -DQB1 DNA polymorphisms in a Vietnamese Kinh population from Hanoi. Eur J Immunogenet. 1997;24:345-56.
- 2) Tran MH, Hors J, Busson M, Degos L. HL-A markers in the Vietnamese population. Tissue Antigens. 1978;11:139-43.
- 3) Gao X, Zimmet P, Serjeantson SW. HLA-DR, DQ sequence polymorphisms in Polynesians, Micronesians, and Javanese. Hum Immunol. 1992;34:153-61.

厚生労働科学研究補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

重症急性呼吸器症候群(SARS)重症化に関連する MxA 遺伝子プロモーター領域の
一塩基多型と気管支上皮細胞における MxA mRNA 発現量の解析

| | |
|-------|----------------------------|
| 濱野栄美 | 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 土方美奈子 | 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 松下育美 | 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 櫻田紳策 | 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 伊藤秀幸 | 国立国際医療センター研究所呼吸器外科 |
| 森田敬知 | 国立国際医療センター研究所呼吸器外科 |
| 分担研究者 | 慶長直人 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部 |
| 代表研究者 | 笹月健彦 国立国際医療センター |

研究要旨

重症急性呼吸器症候群(SARS)に対する疾患感受性に関連する宿主要因として、これまで、自然免疫系の構成要素である、I型インターフェロン(IFN)誘導性蛋白の遺伝子多型を候補とした疾患関連解析を行ってきた。その結果、ベトナム人 SARS 患者では経過中に酸素投与を必要とした重症者に MxA 遺伝子プロモーター領域の一塩基多型(SNP) -88G/T の GG genotype、G アリルを持つものが多く見られることを報告した。今回我々は SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の主な複製の場と考えられている気管支上皮細胞を用い、MxA -88G/T SNP と MxA mRNA 発現量の関係を検討した。初めに、気管支上皮細胞 115 例のゲノム DNA を用いて MxA 遺伝子プロモーター領域の-123A/C, -88G/T, +20A/C の遺伝子型を決定した。次に、気管支上皮細胞 9 検体を培養し、定量的 RT/PCR 法で MxA mRNA 発現量を比較したところ、非刺激状態では MxA の相対発現比は-88GG genotype の群では平均 34.85 であるのに対して、-88GT/TT genotype の群では 68.93 であり、有意に発現量が高かった(p=0.0164)。一方、IFN-β刺激 12 時間後の MxA mRNA 量については、-88GG genotype と-88GT/TT genotypes を有する細胞群間で、明らかな差が認められなかった。気管支上皮細胞における MxA の遺伝子多型の違いによる、非刺激下、刺激下の mRNA 発現量の変化をさらに検討することは、SARS 重症化の機序を解明する上で重要と考えられた。

A. 研究目的

重症急性呼吸器症候群(SARS)に対する疾患感受性に関連する宿主要因として、これまで、自然免疫系の構成要素である、I型インターフェロン(IFN)誘導性蛋白の遺伝子多型を候補とした疾患関連解析を行ってきた。その結果、ベトナム人 SARS 患者では経過中に酸素投与を必要とした重症者に MxA 遺伝子プロモーター領域の一塩基多型(SNP) -88G/T の GG genotype、G アリルを持つものが多く見られることを報告した。今回

我々は SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の主な複製の場と考えられている気管支上皮細胞を用い、MxA -88G/T SNP と MxA mRNA 発現量の関係を検討した。初めに、気管支上皮細胞 115 例のゲノム DNA を用いて MxA 遺伝子プロモーター領域の-123A/C, -88G/T, +20A/C の遺伝子型を決定した。次に、気管支上皮細胞 9 検体を培養し、定量的 RT/PCR 法で MxA mRNA 発現量を比較したところ、非刺激状態では MxA の相対発現比は-88GG genotype の群では平均 34.85 であるのに対して、

-88GT/TT genotype の群では 68.93 であり、有意に発現量が高かった ($p=0.0164$)。一方、IFN- β 刺激 12 時間後の MxA mRNA 量については、-88GG genotype と -88GT/TT genotypes を有する細胞群間で、明らかな差が認められなかった。気管支上皮細胞における MxA の遺伝子多型の違いによる、非刺激下、刺激下の mRNA 発現量の変化をさらに検討することは、SARS 重症化の機序を解明する上で重要と考えられた。

B. 方法

1) 手術肺検体からの気管支上皮細胞の単離培養と MxA -123A/C, -88G/T, +20A/C の遺伝子型およびハプロタイプの決定

施設倫理委員会の承認、書面による説明と同意取得のもとで、切除気管支残余部分より単離培養された気管支上皮細胞を培養に用いた。すなわち、切除気管支断片を、0.1%プロテアーゼを含む BEGM 培地で一晚処理し、翌日気管支内面から上皮細胞を剥離し、BEGM 培地中で 37°C、5%CO₂ インキュベーターで培養した。115 検体の genomic DNA を passage 1 細胞からそれぞれ抽出し、PCR-RFLP 法を用いて MxA -123A/C(rs1700900), -88G/T(rs2071430), +20(rs464138) の一塩基多型 (SNP) を決定した。PCR は MxA 遺伝子のプロモーター領域 -463 から -439 に前方プライマー、intron 1 に後方プライマーを設定し、649 base pair (bp) の反応産物に対し、-123A/C では制限酵素 *Pst*I, -88G/T では *Hha*I, +20A/C では *Bpm*I を用いて消化させ、切断の有無で各遺伝子型を決定した。

さらにハプロタイプを直接決定するために、2 種類の制限酵素で double digestion を行い、2 箇所のアリの組み合わせを決定した。PCR 産物を *Pst*I と *Bpm*I で同時に消化し、-123A/C と +20A/C のハプロタイプを決定し、*Pst*I と *Hha*I で同時に消化して -123A/C と -88G/T のハプロタイプを決定することで、

(-123A/C)-(-88G/T)-(+20A/C) のハプロタイプを決定した。

2) IFN- β 刺激気管支上皮細胞の各遺伝子型における MxA 発現の比較

気管支上皮細胞 9 検体を用いて IFN- β 刺激を行い MxA mRNA 発現量の比較を行った。タイプ I コラーゲンコート 6 穴プレートに気管支上皮細胞を 5×10^5 cell/well で播き、4 日後の 90% confluent の状態で IFN- β 1,000IU/ml による刺激を行い 12 時間後に RNA easy mini kit を用いて total RNA を回収した。Total RNA 1 μ g から random hexamer と SuperScript III Reverse Transcriptase を用いて RT 反応を行い、cDNA を得た。Real-time PCR による定量的 PCR を行った。Applied Biosystems のプライマープローブセット試薬を用い、Bio-Rad 社の iCycler で反応とデータの収集を行った。内部コントロールには GAPDH を用いた。検量線の作成は IFN- β 刺激後の BET1A 細胞から得た total RNA 2 μ g から 0.015625 μ g まで 2 倍希釈系列を作成し、RT 反応により得られた cDNA を用いて real-time PCR を行った。それぞれの cycle threshold (Ct) 値を求め、検量線から初期鋳型量を求め、GAPDH で補正して MxA の相対発現量を求めた。

3) 非刺激気管支上皮細胞の各遺伝子型における MxA 発現の比較

刺激を加えずに上記培養用プレートに培養した 15 検体の passage 2 気管支上皮細胞から得た total RNA を用いて RT 反応を行い、得られた cDNA を用いて前述の方法にて real-time PCR を行い、非刺激時の気管支上皮細胞における MxA の発現を各遺伝子型で比較した。統計は Mann-Whitney 検定を用いた。

C. 結果

1) 気管支上皮細胞 MxA の遺伝子型およびハプロ

タイプの決定

解析した 115 例における各 SNP の遺伝子型と allele 頻度を表 1 に示す。

115 例において(-123A/C)-(-88G/T)-(+20A/C)のハプロタイプは C-G-C, C-G-A, C-T-A, A-T-A の 4 つが認められ、頻度は C-G-C が最も多く 0.570、つづいて A-T-A 0.257, C-G-A 0.117, C-T-A 0.057 の順であった。

2) 非刺激および IFN- β 刺激後の、気管支上皮細胞の各遺伝子型における MxA 発現の比

非刺激および IFN- β 刺激 12 時間後の MxA の発現を-88G/T の違いで比較した (図 1)。9 検体の遺伝子型は-88GG が 4 例、-88GT が 4 例、-88TT が 1 例であった。非刺激の気管支上皮細胞における MxA の発現は-88GG の遺伝子型を有する細胞群での MxA の相対発現比の平均は 4.31, -88GT/TT では 8.99 となり、-88GT/TT を有する群が高くなる傾向が認められた。一方、IFN- β 刺激後の-88GG を有する細胞の相対発現比の平均は 1612.5, -88GT/TT では 1686.0 となり、両者に明らかな発現量の差は認められなかった。

3) 非刺激気管支上皮細胞の各遺伝子型における MxA 発現の比較

非刺激気管支上皮細胞検体 15 例と 2) で検討した 9 例の非刺激時データを合わせて検討を行った。各検体のハプロタイプと MxA 発現を図 2 に示す。

各 SNP 別の genotype による比較では、MxA -88G/T では、MxA の相対発現比の平均は-88 GG を有する細胞 (n=10) では 34.85, -188GT/TT (n=14) では 68.93 となり、有意な差が認められた (p=0.0164)。また、-123A/C では相対発現比は-123CC を有する細胞 (n=12) では 33.17, -123 AC/AA (n=12) では 79.96, さらに+20A/C では、+20 CC を有する細胞 (n=6) では 19.27, +20 AC/AA (n=18) では 65.0 で、それぞれ有意な差が認められた (p=0.0032, p=0.0014)。

D. 考察

MxA は I 型 IFN で誘導される抗ウイルス蛋白であり、ウイルスのヌクレオカプシドに結合することから、抗ウイルス作用の機序としては、ウイルスゲノムの複製や核内への侵入の阻害が推測されている。MxA 遺伝子は 21 染色体にあり 17 のエクソンよりなる遺伝子であるが、そのプロモーター領域には IFN 刺激応答配列 (ISRE) が 2 つあることが知られており、-88G/T は上流の ISRE 近傍に位置している。ルシフェラーゼレポーターアッセイの結果では、プロモーター活性は-88G は-88T より低いと報告され (7)、健常人末梢血単核球 (PBMC) に I 型 IFN で刺激を与えた実験において、GG genotype は GT genotype や TT genotype と比較して MxA mRNA の発現レベルが低いと報告されている (8)。

ベトナム SARS 患者における疾患関連解析の結果、SARS 患者のうち経過中に酸素療法を必要とした重症者に MxA -88GG genotype, G アリルを持つものが多く認められた。本研究では SARS-CoV の主な複製の場である気管支上皮細胞において、-88 G/T SNP の genotype によって、MxA mRNA 発現量が高いのか低いのかを検討した。115 例の解析では MxA -123A/C, -88G/T, +20A/C のアリル頻度は NCBI データベースに登録されている日本人集団の解析結果とほぼ同様であった。ハプロタイプ頻度に関しては C-G-C が最も多く、ついで A-T-A でこの 2 つのハプロタイプで 80% 以上を占めていた。

非刺激状態の気管支上皮細胞で-88G/T の影響についてまず検討すると、MxA の発現は GG genotype に対して、GT/TT genotype では 2 倍近く増強しており、有意差が認められた。一方、気管支上皮細胞を IFN- β で刺激した場合、MxA の発現量に、genotype によるちがいは認められなかった。これまでに末梢血単核球では、type I-IFN 刺激後の MxA 発現に-88G/T genotype による差が見られると報告されており (8)、われわれ

の検討でも、今後、IFN 刺激後の時間経過、IFN の濃度と MxA の発現量および genotype との関連を検討する必要があると考えられた。また -123A/C, +20A/C においても AA/AC genotype は CC genotype に比較して有意に発現が高く認められた。この領域の SNPs は連鎖不平衡が強いため、どの SNP が最も機能的に意義があるのか今回の結果からは決定できないが、上述のごとく、-88G/T 以外の SNP も MxA の発現に影響を与える可能性もあり、さらに検討が必要と考えられた。

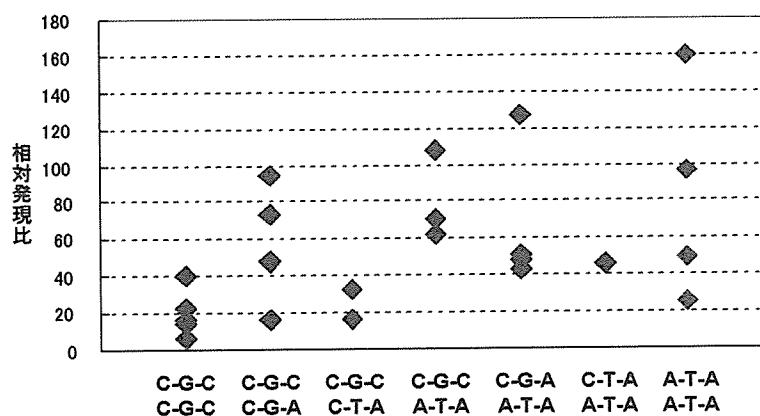
MxA の SARS-CoV 感染に対する抗ウイルス作用については、Vero 細胞に MxA を強制発現させた人工的な系に SARS-CoV を感染させても SARS-CoV の増殖は抑制されなかったと報告されている

(9)。しかし、我々の行った MxA 遺伝子多型に関する疾患関連解析と機能解析の結果は、MxA の発現低下が SARS の病態に悪影響を与える可能性を示唆しており、呼吸器親和性ウイルス増殖の場である気管支上皮細胞における MxA の発現と機能をさらに詳細に検討することは SARS のみならず、新興呼吸器ウイルス感染症の重症化要因の解明に重要と考えられた。

表 1: 気管支上皮細胞 115 例の MxA 遺伝子型

| | | | |
|------------------------------------|----------|----|------------|
| <i>MxA</i> -123 A/C (rs1700900) | Genotype | AA | 9 (7.8%) |
| | | AG | 41 (35.6%) |
| | | GG | 65 (56.5%) |
| | Allele | A | 0.26 |
| | | G | 0.74 |
| <i>MxA</i> -88 G/T (rs2071430) | Genotype | GG | 56 (48.7%) |
| | | GT | 46 (40.0%) |
| | | TT | 13 (11.3%) |
| | Allele | G | 0.69 |
| | | T | 0.31 |
| <i>MxA</i> +20A/C (rs464138) | Genotype | AA | 21 (18.3%) |
| | | AG | 57 (49.5%) |
| | | GG | 37 (32.2%) |
| | Allele | A | 0.43 |
| | | G | 0.57 |

図 2: (-123A/C)-(-88G/T)-(+20A/C) の遺伝子型による非刺激気管支上皮細胞 (n=15) の MxA 発現 (A-T-A が、C-G-C のハプロタイプに比して、発現比が高い傾向にある)



E. 結論

SARS-CoV の主な複製の場の一つである気管支上皮細胞では MxA mRNA の発現量が、遺伝子制御領域の SNPs に関連していることが示された。疾患関連解析の結果から SARS の重症化と MxA 多型も関連が見られており、MxA の発現低下が SARS 重症化と関連する可能性を、今後直接的な検討によって明らかにする必要があると考えられた。

参考文献

1. Xu RH, He JF, Evans MR, Peng GW, Field HE, Yu DW, Lee CK, Luo HM, Lin WS, Lin P, Li LH, Liang WJ, Lin JY, Schnur A. Epidemiologic clues to SARS origin in China. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1030-7.
2. Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH, Wong SS, Leung SY, Chan KH, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:14040-5.
3. Hamano E, Hijikata M, Itoyama S, Quy T, Phi NC, Long HT, Ha le D, Ban VV, Matsushita I, Yanai H, Kirikae F, Kirikae T, Kuratsuji T, Sasazuki T, Keicho N. Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;329:1234-9.
4. Hijikata M, Ohta Y, Mishiro S. Identification of a single nucleotide polymorphism in the MxA gene promoter (G/T at nt -88) correlated with the response of hepatitis C patients to interferon. *Intervirology* 2000;43:124-7.
5. Suzuki F, Arase Y, Suzuki Y, Tsubota A, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Matsuda M, Takagi K, Satoh J, Kumada H. Single nucleotide polymorphism of the MxA gene promoter influences the response to interferon monotherapy in patients with hepatitis C viral infection. *J Viral Hepat* 2004;11:271-6.
6. Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, Hennig BJ, Hellier S, Zhang L, Wright M, Chiaramonte M, Graves M, Thomas HC, Hill AV, Thursz MR. Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR. *Genes Immun* 2003;4:411-9.
7. M. Hijikata, S. Mishiro, C. Miyamoto, Y. Furuichi, M. Hashimoto, Y. Ohta, Genetic polymorphism of the MxA gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patients: revisited by analyzing two SNP sites (-123 and -88) in vivo and in vitro, *Intervirology*. 44 (2001) 379-382.
8. N. Fernandez-Arcas, A. Blanco, M. J. Gaitan, M. Nyqvist, A. Alonso, A. Reyes-Engel, Differential transcriptional expression of the polymorphic myxovirus resistance protein A in response to interferon-alpha treatment, *Pharmacogenetics*. 14 (2004) 189-193.
9. Spiegel M, Pichlmair A, Muhlberger E, Haller O, Weber F. The antiviral effect of interferon-beta against SARS-coronavirus is not mediated by MxA protein. *J Clin Virol*. 2004 Jul;30(3):211-3.

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|---|---|----------------------------|--------|---------|------|
| Klampfer L, Huang J, Kaler P, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. | STAT1-independent inhibition of cyclooxygenase-2 expression by IFN γ ; a common pathway of IFN γ -mediated gene repression but not gene activation. | Oncogene | 26(14) | 2071-81 | 2006 |
| Kunisaki Y, Nishikimi A, Tanaka Y, Takii R, Noda M, Inayoshi A, Watanabe K, Sanematsu F, Sasazuki T, Sasaki T, Fukui Y. | DOCK2 is a Rac activator that regulates motility and polarity during neutrophil chemotaxis. | J Cell Biol | 174(5) | 647-52 | 2006 |
| Furuno K, Masatsugu T, Sonoda M, Sasazuki T, Yamamoto K. | Association of Polycomb group SUZ12 with WD-repeat protein MEP50 that binds to histone H2A selectively in vitro. | Biochem Biophys Res Commun | 345(3) | 1051-8 | 2006 |
| Kunisaki Y, Tanaka Y, Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Nakayama T, Harada M, Taniguchi M, Sasazuki T, Fukui Y. | DOCK2 is required in T cell precursors for development of V α 14 NK T cells. | J Immunol | 176(8) | 4640-5 | 2006 |
| Ohashi J, Naka I, Toyoda A, Takasu M, Tokunaga K, Ishida T, Sakaki Y, Hohjoh H. | Estimation of the species-specific mutation rates at the DRB1 locus in humans and chimpanzee. | Tissue Antigens | 68(5) | 427-31 | 2006 |

| | | | | | |
|---|--|----------------------------|---------------|----------------|-------------|
| <p>Shiina T, Ota M, Shimizu S, Katsuyama Y, Hashimoto N, Takasu M, Anzai T, Kulski JK, Kikkawa E, Naruse T, Kimura N, Yanagiya K, Watanabe A, Hosomichi K, Kohara S, Iwamoto C, Umehara Y, Meyer A, Wanner V, Sano K, Macquin C, Ikeo K, Tokunaga K, Gojobori T, Inoko H, Bahram S.</p> | <p>Rapid evolution of major histocompatibility complex class I genes in primates generates new disease alleles in humans via hitchhiking diversity.</p> | <p>Genetics</p> | <p>173(3)</p> | <p>1555-70</p> | <p>2006</p> |
| <p>Ohashi J, Naka I, Kimura R, Tokunaga K, Yamauchi T, Natsuhara K, Furusawa T, Yamamoto R, Nakazawa M, Ishida T, Ohtsuka R.</p> | <p>Polymorphisms in the ABO blood group gene in three populations in the New Georgia group of the Solomon Islands.</p> | <p>J Hum Genet</p> | <p>51(5)</p> | <p>407-11</p> | <p>2006</p> |
| <p>Shi L, Xu SB, Ohashi J, Sun H, Yu JK, Huang XQ, Tao YF, Yu L, Horai S, Chu JY, Tokunaga K.</p> | <p>Related Articles, Links HLA-A, HLA-B, and HLA-DRB1 alleles and haplotypes in Naxi and Han populations in southwestern China (Yunnan province).</p> | <p>Tissue Antigens</p> | <p>67(1)</p> | <p>38-44</p> | <p>2006</p> |
| <p>Ohashi J, Naka I, Tokunaga K, Inaoka T, Ataka Y, Nakazawa M, Matsumura Y, Ohtsuka R.</p> | <p>Brief communication: mitochondrial DNA variation suggests extensive gene flow from Polynesian ancestors to indigenous Melanesians in the northwestern Bismarck Archipelago.</p> | <p>Am J Phys Anthropol</p> | <p>130(4)</p> | <p>551-6</p> | <p>2006</p> |