

| | | | | | |
|---|---|-----------|---------|-----------|------|
| Li SL, Yamamoto T, Yoshimoto T, Uchihi R, Mizutani M, Kurimoto Y, Tokunaga K, Jin F, Katsumata Y, Saitou N. | Phylogenetic relationship of the populations within and around Japan using 105 short tandem repeat polymorphic loci. | Hum Genet | 118(6) | 695-707 | 2006 |
| Horie T, Lien LT, Tuan LA, Tuan PL, Sakurada S, Yanai H, Keicho N, Nakata K. | A survey of tuberculosis prevalence in Hanoi, Vietnam. Int J Tuberc Lung D, in press. | | | | 2006 |
| Mai H, Hijikata M, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kimura K, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Nagai H, Kurashima A, Kajiki A, Oketani N, Hayakawa H, Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Sakurada S, Tokunaga K, Keicho N. | Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8- T5 of the CFTR gene. Int J Tuberc Lung D, in press. | | | | 2006 |
| 松下育美, 糸山 智, 濱野栄美, 土方美奈子, 慶長直人. | 呼吸器疾患と遺伝子多型—感染防御と遺伝子多型 | 呼吸と循環 | 54 (8) | 821-826 | 2006 |
| 土方美奈子, 濱野栄美, 糸山 智, 松下育美, 慶長直人. | SARS発症に関与する宿主因子 | 化学療法の領域 | 22 (12) | 1831-1835 | 2006 |
| 慶長直人 | HLAと疾病—HLAと感染症 | ゲノム医学 | 5 (3) | 301-304 | 2005 |

特集 呼吸器疾患と遺伝子多型

感染防御と遺伝子多型*

松下 育美¹ 糸山 智 濱野 栄美
土方美奈子 慶長 直人

はじめに

感染症は、病原微生物と宿主の相互作用により生じる。病原体への攻撃・防御能は、生体側の全身および局所の免疫状態に依存している。動物モデルでは解明しきれないヒトの生体防御機構を解明するために、免疫遺伝学的解析法は有力な手段となる。また、感染防御の鍵になる機能的遺伝子多型を新たに同定することは、感染症の新規予防治療戦略を模索するうえで重要な手がかりを与える。

本稿では、そのような観点からどのような研究が行われているかを紹介する。

感染症における遺伝要因の関与

感染症の疾患感受性、抵抗性に関連する遺伝素因として古典的な事例は、マラリア抵抗性を示す遺伝性異常ヘモグロビン症であろう。遺伝的に異常のあるヒトの赤血球は、マラリア原虫にとって感染、生育しづらい環境を与えることになる。この事例は、遺伝要因が感染症の発症に対して、時にきわめて顕著な働きを示すことがあること、また遺伝子変異の選択圧として感染症が重要な役割を果たしてきたことを示唆するものである。

このような特殊な例だけでなく、おそらく一般

集団においても、宿主側の遺伝要因が感染症の疾患感受性に重要な役割を果たすものと推測されている。多くの感染性疾患では家族内集積の傾向がみられる。感染症では、同一家族内では同一環境で同一病原体へ曝露されやすいことから、遺伝要因は過大評価されやすいものの、双生児研究や養子研究において、環境要因の関与をできるだけ一定にした状態でも、遺伝要因の関与が十分認められることが報告されてきた。一卵性と二卵性双生児の研究では、結核症の一卵性双生児における発症頻度の高さが知られている。最近では、B型肝炎やヘリコバクターピロリ感染、マラリアにおいても一卵性双生児の発症率の高さが報告されている。このように家系研究の結果からは、これまで感染症は、多因子疾患ではあるものの、主要な少数の感受性遺伝子と病態を修飾するそれ以外の多くの遺伝子の存在が示唆されている。

β -defensin 1 遺伝子と慢性気道炎症

気道粘膜の防御機構に関わる代表的な遺伝子群の一つとして、 β -defensin 類が挙げられる。defensin は、分子量 3000~4500 の抗菌性作用を有する塩基性ペプチドで、白血球および気道、皮膚などの上皮細胞で産生され、感染症に対する生体防御に機能している。defensin は分子内に 3

* Genetic Susceptibility to Airway Infection

¹ 国立国際医療センター研究所・呼吸器疾患研究部(〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1) Ikumi Matsushita, Satoru Itoyama, Emi Hamano, Minako Hijikata, Naoto Keicho: Department of Respiratory Diseases, Research Institute, International Medical Center of Japan

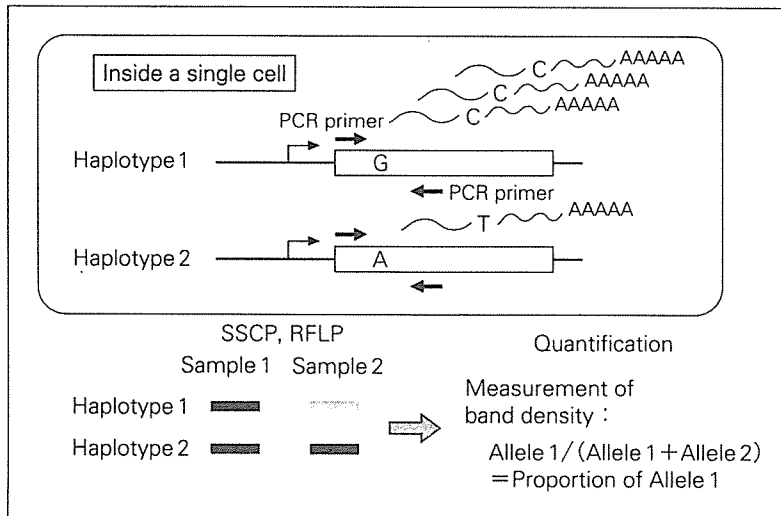


図1 同一細胞内環境におけるアリル特異的発現比の定量

注目する遺伝子のアリルをヘテロで保有する個体は、同一細胞内環境下で、アリルごとの発現量を比較することができる。すなわち、エクソン内に多型を有する場合、蛍光プライマーを用いたRT-PCRにSSCPやRFLPなどの遺伝子多型タイピング法を組み合わせることによって、ハプロタイプを区別して、シグナルを検出し、アリル特異的発現比を定量することができる。

個のジスルフィド結合を有する特徴的な構造を持ち、その構造的な特徴から α -defensinと β -defensinに分類され、ヒトでは6種類の α 型と3種類の β 型が同定されており、これらはすべて第8番染色体短腕上にクラスターをなして存在している。また、近年のgenomics studyによって新たな β -defensin familyが見つかってきている。

われわれは、これまでに気道上皮の分化状態にかかわらず構成的に発現し、常に細菌感染防御に重要な役割を果たしているhuman- β -defensin-1(hBD-1)遺伝子の日本人集団における変異スクリーニングおよび慢性閉塞性肺疾患(COPD)との関連解析を行った。その結果、同定された変異のうち、38番目のアミノ酸におけるバリンからイソロイシンの変異はCOPDと有意な関連を示した(OR=6.1, 95%CI; 2.0-18.3, $p=0.0012$)。この変異を有する患者の80%以上が3カ月のfollow-up期間中に喀痰を有する例であり、肺気腫型というより慢性気管支炎型の症例との関連性が示唆された¹⁾。また、hBD1遺伝子と炎症・感染性疾患との関わりについては、真菌による口腔感染(I型糖尿病患者群を対象とした研究)に対する抵抗性、およびCOPDと喫煙健常者群との比較検討が報告されている^{2,3)}。どちらの報告でも、hBD1遺伝子の5'UTR(-44)にある一塩基置換(G)が疾患抵抗性であることが示された。

このような関連解析の結果を解釈するにあた

り、発現制御領域にみられる遺伝子変異(rSNP)の機能的意義は、気道上皮由来の株化細胞に制御配列を連結したレポーター遺伝子を導入するプロモーターアッセイにより推測される場合が多いが、実際にヒト正常気道上皮における発現量をアリルごとに比較検討することは、技術的な困難さからこれまであまり試みられていなかった。そこで、われわれは、RT-PCRに単鎖コンフォーメーション多型検出法(SSCP)法を組み合わせ、同一細胞内環境におけるアリル特異的発現比を用い、ヒト気道上皮細胞における遺伝子多型とその機能との関連をみる直接的な系を構築した(図1)。

hBD-1遺伝子の転写開始点上流2000塩基対にわたって同定された33個の遺伝子変異について、ハプロタイプ解析を行ったところ、4つの主要なハプロタイプが推定された。これらのハプロタイプごとに、hBD-1の転写活性が異なることを、通常のプロモーターアッセイに加えて、切除肺・気管支より得たヒト気管支上皮細胞を用い、上記、アリル特異的遺伝子発現比定量系により検討したところ、hBD1のハプロタイプ間で有意なmRNA発現量の差異が認められた。これらの結果は、前述の5'UTR(-44)の遺伝子変異と疾患抵抗性に関する一連の報告結果をよく説明するものであった。

遺伝子発現量の個体差は、他の遺伝子のトランス的作用や、メチル化などのエピジェネティック

な機序の影響も受けるが、対象となる遺伝子の制御領域の変異(およびハプロタイプ)の関与が明確に示された。このようなアレル特異的遺伝子発現定量法を用いて、アレルごとの発現比をみることは、遺伝子制御領域の多型の機能的意義を解析するための有力な方法として、今後さらに利用されるものと思われる。

SARS と レニン・アンジオテンシン系の遺伝的多型

われわれは、重症急性呼吸器症候群(severe acute respiratory syndrome : SARS)の世界的流行が大きな脅威であった2003年より、ベトナム(バクマイ病院, 国立衛生疫学研究所, フレンチ病院, 国立熱帯病研究所)との共同研究により、SARSの重症化に関わる遺伝要因の研究を行っている。

重症のSARS症例は、急速に呼吸不全が進行し、剖検例の肺病理はdiffuse alveolar damageの所見を示すことから、急性呼吸切迫症候群(acute respiratory distress syndrome : ARDS)の状態と考えられている。急性期のARDSは、肺胞において毛細血管と肺胞腔の間の透過性が亢進することにより、血漿成分が肺胞腔へ滲出する状態である。その機序として、血管内皮細胞と気道上皮細胞の傷害が重要な要素と理解されており、この機序に細胞のアポトーシスや炎症細胞の浸潤が関与すると考えられている。このような急性肺傷害の病態に局所のレニン・アンジオテンシン系(renin angiotensin system : RAS)が深く関与することが、近年明らかになりつつある。肝臓で合成されたアンジオテンシノーゲンは、腎臓から分泌されるレニンによりアンジオテンシン-I(angiotensin I : AT-I)に変換され、AT-Iは主に肺の血管内皮から分泌されるアンジオテンシン変換酵素(angiotensin converting enzyme : ACE)によってAT-IIに変換される。このAT-IIは強い血管収縮作用を示すが、一方で細胞のアポトーシスや炎症細胞の浸潤を促進するサイトカイン様の働きがあることが明らかになりつつある(図2)。

ACE遺伝子のイントロン16には287bpの

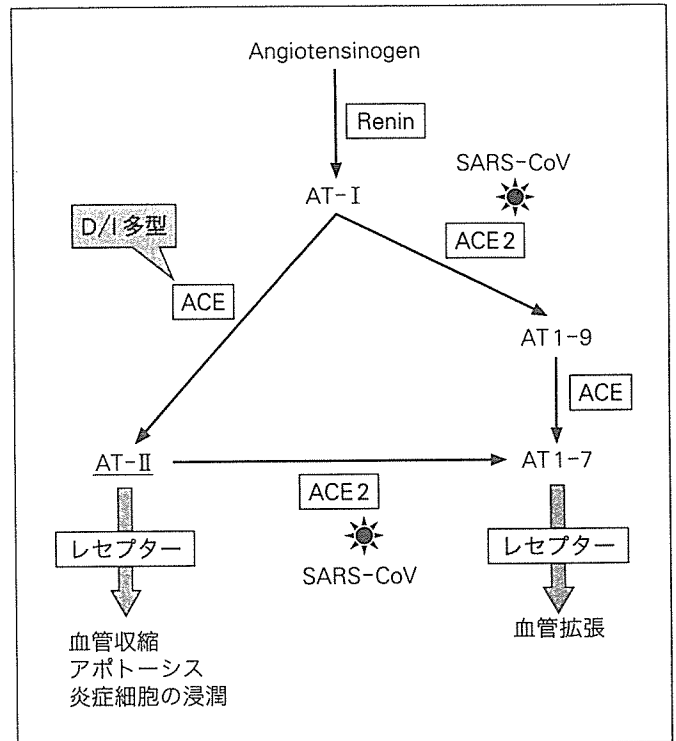


図2 RASとSARSの関係

Alu配列の挿入欠失(Insertion/Deletion : I/D)変異があり、このDアレルのホモ接合体のグループはIアレルのホモ接合体のグループと比較して、末梢血液中のACE活性が約2倍であることが知られている⁴⁾。Dアレルは、血管内皮の傷害に関連した多くの疾患との関連が知られており、ARDSも例外ではない⁵⁾。

重症のSARS症例もARDSの状態と考えられることから、ACE遺伝子の挿入欠失多型のDアレルがSARSの重症化の危険因子となる可能性を検討した。上記共同研究により、ベトナム人のSARS発症者を解析したところ、SARS発症群のなかで経過中に低酸素血症に陥った群では、低酸素血症を起こさなかった群と比較して、Dアレルの頻度が有意に高かった⁶⁾。

ACEと高い相同性があるACE2もRASの構成要素であり、AT-IIの量はACEとACE2のバランスによりコントロールされていると考えられている(図2)。ここで興味深いことは、ACE2はSARSコロナウイルスのレセプターの一つとして、SARSの病態に影響を与えると同時に、ACEとの不均衡により、SARSの病態と重症化

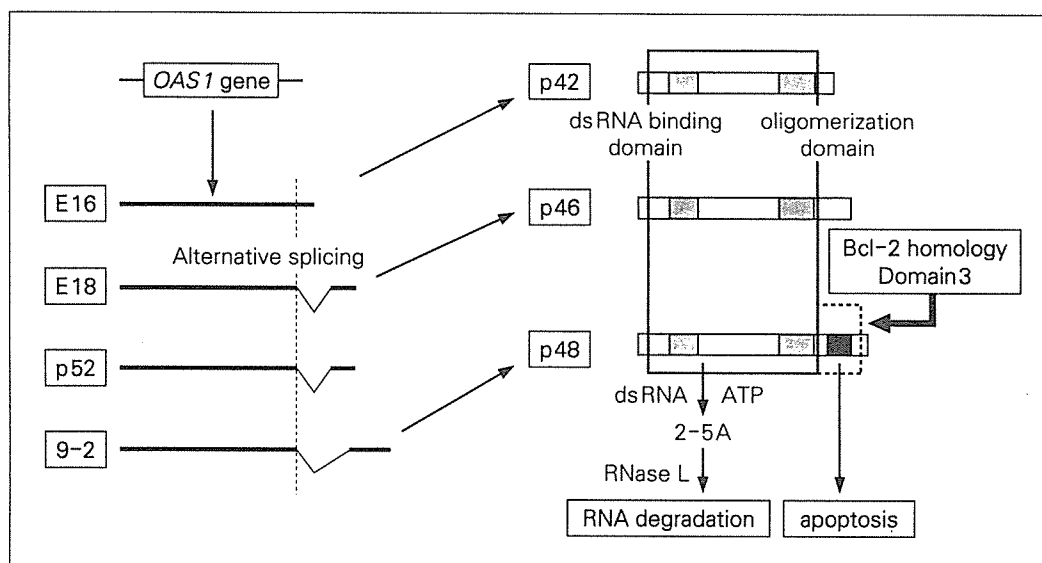


図3 OAS1 アイソフォームの生成と P48 アイソフォームの二つの機能 (RNA 分解とアポトーシス)

に影響を与える可能性が報告されている点である^{7,8)}。ACE 遺伝子イントロン 16 の挿入欠失多型の D アリルは ACE の高発現型であり、これに伴う AT-II の増加が、細胞のアポトーシスや炎症細胞の浸潤の促進作用を介して ARDS の発症を誘導し予後を悪化させた可能性がある。

われわれは、ACE2 遺伝子についても、プロモーター領域と全てのエクソン上の遺伝子多型と SARS との関連を調べたが、ACE2 には、SARS の病態に影響を与える可能性がある遺伝子多型は見出されなかった⁹⁾。

抗ウイルス蛋白遺伝子オリゴアデニル酸合成酵素 1(OAS 1)と SARS 感染

われわれは、さらに SARS 感染、発症、重症化の宿主要因を探索するにあたり、自然免疫系の抗ウイルス蛋白に着目した。ウイルス感染に対する宿主の自然免疫系として、I 型インターフェロン(IFN- α/β)が感染初期に誘導され、オリゴアデニル酸合成酵素(OAS)、MxA 蛋白、二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ(PKR)などの細胞内抗ウイルス蛋白の産生が誘導される。OAS は二本鎖 RNA(dsRNA)に結合して活性化し、アデノシン三リン酸から 2~20 量体程度の 2'-5' 結合オリゴアデニル酸(オリゴ A)を産生する。このオリゴ A が非活性型 RNase L に結合しこれ

を活性化させ、ウイルスおよび局所の RNA を分解することで、ウイルス蛋白合成を阻害する。PKR も同様に dsRNA により活性化され、蛋白合成の開始因子の一つである eIF-2 の α サブユニットをリン酸化し酵素活性を失わせることでウイルス蛋白合成を阻害する。MxA 蛋白は GTP 結合蛋白スーパーファミリーに属する蛋白であるが、オリゴマーとしてウイルス蛋白に結合しウイルスゲノムの細胞内輸送や複製を阻害すると考えられている。これらの抗ウイルス蛋白遺伝子の変異とウイルス感染に関しては、MxA 遺伝子プロモーター領域の SNP が C 型肝炎患者に対する IFN 治療の予後と関連しているとの報告¹⁰⁾や、MxA, OAS 1, PKR 遺伝子の SNP が C 型肝炎の慢性化と関連があるとの報告がある¹¹⁾。

SARS-CoV 感染時は I 型 IFN 誘導能が低いとの報告があるが、抗ウイルス蛋白はウイルス感染のごく初期における自然免疫システムの中心的役割を果たしていることから、これらの遺伝子多型と疾患の予後への影響は検討に値する。われわれは、先に述べたベトナムとの国際共同研究により、ベトナム人 SARS 発症者、接触非発症者、非接触者を対象とし、OAS 1, MxA, PKR 遺伝子多型の解析を行った¹²⁾。その結果、OAS 1 遺伝子 exon 3 の A/G SNP では GG または AG genotype が SARS 患者に多く認められ、G アリ

ル頻度が有意に高く認められた。OAS1遺伝子 exon 6 の A/G SNP においても G アリル頻度が高い傾向にあった。また、血清中の抗 SARS-CoV 抗体価が接触非発症者 103 例中 16 例で陽性であったため、これらを SARS-CoV 感染非発症者と考え、感染者 60 例 (SARS 44 例 + 抗体陽性者 16 例) と非感染者 87 例で比較したところ、OAS1 遺伝子 exon 3 および exon 6 で G アリル頻度が有意に高かった ($p=0.0156$, $p=0.0176$)。これらの結果から、IFN 誘導性 OAS1 遺伝子の多型が SARS-CoV の感染あるいは発症に関与している可能性が示された。OAS1 遺伝子はスプライシングの違いにより、4 つの転写産物 E16・E18・9-2・p52 が知られており、このうち 9-2 から翻訳される p48 蛋白のみ C 末端側に Bcl-2 homology domain 3 (BH3) を持ち、Bcl-2 ファミリーの抗アポトーシス蛋白と結合することによってアポトーシスを誘導することが示されている¹³⁾(図 3)。近年、OAS1 exon 6 のスプライスアクセプター部位にある新規 SNP (A/G) が、E18, 9-2, p52 のスプライシングを制御しているとの知見が報告された¹⁴⁾。この SNP は、われわれが検索した exon 6 A/G SNP と強い連鎖不平衡にあり、これらの SNPs が各 OAS1 isoform の発現と機能の違いを介して、ウイルス感染に対する抵抗性を決定している可能性が考えられた。さらに遺伝子変異の細胞での発現実験などを通じて、宿主免疫の解明が進められている。

SARS は現在新たな患者発生の報告はないが、再興が認められた場合、IFN が治療として有望視されている。この結果から IFN 誘導性 OAS1 遺伝子多型が SARS-CoV 感染と SARS 発症に相関していることが示され、IFN 治療に対する効果の推測や、SARS-CoV に対する感受性個体の判別に役立つと考えられた。

おわりに

以上のように、感染症の免疫遺伝学研究が盛んに行われる背景には、候補遺伝子アプローチの基礎となる多型情報が十分整備されてきたこと、ゲノムワイドアプローチによる新規疾患関連遺伝子の局在の推定が技術的にも比較的手軽に行われる

ようになったことが挙げられる。感染症の候補遺伝子は、サイトカイン、ケモカインやそれらのレセプターなどオーソドックスな免疫関連分子、マウスを中心とした動物モデルから得られた疾患関連分子のヒト相同性遺伝子、ノックアウトマウスにおける感染実験の結果などから選択されている。これらの知見により、多くの遺伝子が感染症の疾患感受性と関連するものと予想され、その機能的意義を解析することにより、今後、新たな感染症予防、治療戦略への道が拓かれることが期待される。

文 献

- 1) Matsushita I, Hasegawa K, Nakata K, et al: Genetic variants of human beta-defensin-1 and chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Biophys Res Commun* 291: 17-22, 2002
- 2) Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, et al: Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with *Candida* carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J Clin Microbiol* 41: 90-96, 2003
- 3) Hu RC, Xu YJ, Zhang ZX, et al: Correlation of HDEFB1 polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population. *Chin Med J (Engl)* 117: 1637-1641, 2004
- 4) Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 86: 1343-1346, 1990
- 5) Marshall RP, Webb S, Bellingan GJ, et al: Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 166: 646-650, 2002
- 6) Itoyama S, Keicho N, Quy T, et al: ACE1 polymorphism and progression of SARS. *Biochem Biophys Res Commun* 323: 1124-1129, 2004
- 7) Imai Y, Kuba K, Rao S, et al: Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 436: 112-116, 2005
- 8) Kuba K, Imai Y, Rao S, et al: A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med* 11: 875-879, 2005
- 9) Itoyama S, Keicho N, Hijikata M, et al: Identification of an alternative 5'-untranslated exon and new polymorphisms of angiotensin-converting enzyme 2 gene: lack of association with SARS in

- the Vietnamese population. *Am J Med Genet A* 136: 52-57, 2005
- 10) 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. *Inter-virology* 243: 124-127, 2000
- 11) Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, et al: Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR. *Genes Immun* 4: 411-419, 2003
- 12) Hamano E, Hijikata M, Itoyama S, et al: Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population. *Biochem Biophys Res Commun* 329: 1234-1239, 2005
- 13) Ghosh A, Sarkar SN, Rowe TM, et al: A specific isozyme of 2'-5' oligoadenylate synthetase is a dual function proapoptotic protein of the Bcl-2 family. *J Biol Chem* 276: 25447-25455, 2001
- 14) Bonnevie-Nielsen V, Field LL, Lu S, et al: Variation in antiviral 2',5'-oligoadenylate synthetase (2'5'AS) enzyme activity is controlled by a single-nucleotide polymorphism at a splice-acceptor site in the OAS1 gene. *Am J Hum Genet* 76: 623-633, 2005

2. SARS 発症に関与する宿主因子

土方 美奈子*¹⁾ 濱野 栄美* 糸山 智* 松下 育美* 慶長 直人*²⁾

SARS の感染・発症・重症化に関連する宿主因子を同定するために、候補遺伝子の変異検索と症例対照関連解析を用いた分子遺伝学的研究が行われている。我々の行ったベトナムとの国際共同研究で、I 型インターフェロンにより誘導され抗ウイルス作用を有する 2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素 1 の遺伝的多型が SARS コロナウイルス感染と関連すること、アンギオテンシン変換酵素の遺伝的多型が SARS 重症化と関連することが明らかになった。このような研究を積み重ねて行くことにより、宿主の SARS に対する生体防御のメカニズムが次第に明らかにできると考えられる。

Key Words : SARS / 遺伝的多型 / 症例対照関連解析 / 2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素 1 / アンギオテンシン変換酵素

I はじめに

感染症においては、ウイルスや細菌などの病原体は宿主内で複製しようとするし、宿主はそれを様々な生体防御機構で排除しようとする。ある病原体に曝露された時に感染が成立するか否か、感染が成立した時に病気の症状を発症する（顕性感染）か否（不顕性感染）か、あるいは発症した時に軽症で済み病原体を排除できるか、重症化あるいは死の転帰をとるか、これら感染のコースの違いには、病原体側の病原性（毒性）の違いや宿主側の抵抗力の違いなどが複雑に関係していると考えられている。

2002 年 11 月から 2003 年 7 月までアジアを中心に世界的に流行した重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome : SARS) は、流行当初は原因不明の「新型肺炎」とされたが、まもなくそれまで知られていなかった新しい SARS コロナウイルス (SARS-associated coro-

navirus: SARS-CoV) がその病原体として特定された。SARS は 38 度以上の発熱と筋肉痛などの全身症状および咳などの呼吸器症状で発症し、2～3 割の重症化例では呼吸困難などを呈し、さらに一部の患者は急性呼吸切迫症候群 (acute respiratory distress syndrome: ARDS) にまで進展する。WHO の発表によると全世界での感染者数 8,098 名に対して死亡者数 774 名であり、非常に高い致死率を有していた。SARS は非常に短期間に拡大した感染症であり、各地で SARS-CoV 分離株の遺伝子解析が行われたものの、強毒株と弱毒株を規定するような特別な変異は見つかっておらず、このような SARS の病態の違いには、ウイルス曝露量の違い、高年齢・糖尿病・心疾患など宿主側のリスクファクターが関与しているのではないかと察された。

一方、様々な感染症で、病原体に対する感受性や病態に関連する宿主の遺伝的要因の存在が報告されている。SARS においても、関連する宿主

Host genetic factors associated with SARS

* Minako Hijikata, Emi Hamano, Satoru Itoyama, Ikumi Matsushita, Naoto Keicho

国立国際医療センター研究所・呼吸器疾患研究部 ¹⁾ 室長 ²⁾ 部長

トランスクリプトが異なる。その結果、エクソン6部分の配列がそれぞれフレームシフトを起こし、各トランスクリプトからアミノ酸配列の異なるC末端を有する蛋白が翻訳される。一方で、9-2トランスクリプトから翻訳されるp48蛋白は、C末端にBcl-2 homology domain 3配列を有し、Bcl-2ファミリーの抗アポトーシス蛋白と結合することにより、アポトーシスを引き起こす作用があることが既に知られている。この9-2トランスクリプトの生成の有無が、スプライス・アクセプター・サイトのSNPによって決定されることが彼らの報告で明らかになった。我々がSARS-CoV感染との関連を報告したエクソン6のA/G SNPは、スプライス・アクセプター・サイトのA/G SNPと強い連鎖不平衡があり、AアリルがSARS-CoV感染抵抗性を示したのは、もともと知られていたRNaseLを介した抗ウイルス作用の効果の多寡ではなく、Aアリルが9-2トランスクリプトの生成を介して感染細胞をアポトーシスに誘導する作用が重要なのではないかと考えられた。しかし、SARS-CoVに対するOAS1の抗ウイルス作用の機構を明らかにするには今後の検討が必要である。

III 重症化とアンギオテンシン変換酵素

我々は前述のSARS患者44名を低酸素血症の有無により、重症群22名・軽症群22名に分け、重症化に関連する遺伝的多型を検討した。SARSの重篤例はARDSを呈することに着目し、既にARDSとの関連が報告されていたアンギオテンシン変換酵素(angiotensin I converting enzyme: ACE)のdeletion/insertion(D/I)多型との関連解析を行った。この多型はACE遺伝子のイントロン16に存在する287塩基長のAlu配列のD/I多型であり、ACEの高発現アリル(D)と低発現アリル(I)を見分ける遺伝マーカーとして、レニン-アンギオテンシン系が関わる循環器疾患などと幅広く関連解析が行われている。検討の結果、SARS重症群ではACEの高発現アリルであるDアリルの頻度が軽症群と比較して有意に高いことがわかった⁴⁾。この結果は、SARSの重症化機構に積極的に肺局所のレニン-アンギオテンシン系が関

わるというKubaらの新しい知見⁵⁾とも合致する結果であった。彼らは図2に示すようにACEとアンギオテンシン変換酵素2(angiotensin I converting enzyme 2:ACE2)は拮抗する作用を有し、ACE2はSARS-CoVのレセプターであり、SARS-CoV感染細胞ではACE2がダウンレギュレートされるためACEが優位に働き、肺障害が強く現れるという結果を示した。ACEのDアリルは高発現型であり、Dアリルを有するものはACEの働きが一層強いので、よりSARSが重症化しやすいのではないかと考えられ、ACEの遺伝的多型はSARS重症化に関わる非常に重要な因子と思われる。

IV ウイルスレセプター

ACE2はSARS-CoVのレセプターであり、我々はACE2についても遺伝的多型の検索と関連解析を行ったが、香港からの報告⁶⁾と同様に、関連する多型は見つからなかった⁷⁾。一方、ACE2以外

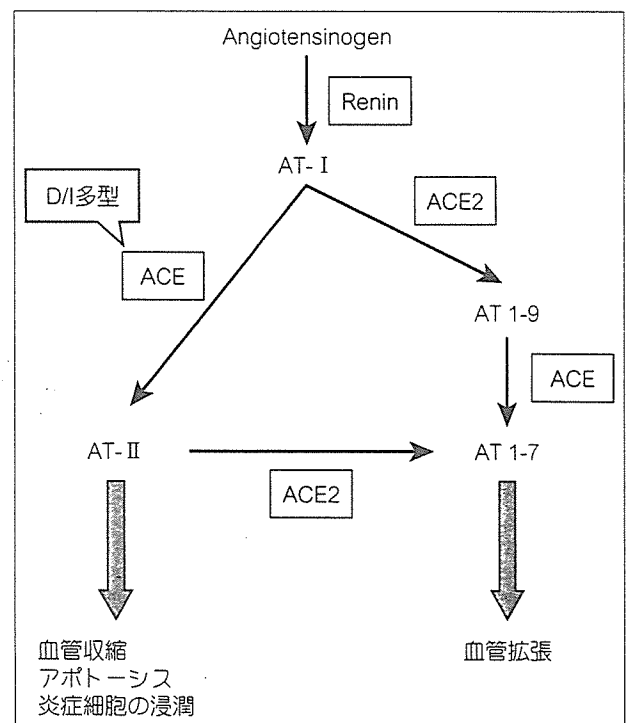


図2 レニン-アンギオテンシン系とSARS重症化

ACEとACE2は拮抗する作用を有し、ACE2はSARS-CoVのレセプターであり、我々はACEのD/I多型に注目した。一方、KubaらはSARS-CoV感染細胞ではACE2がダウンレギュレートされるためACEが優位に働き、肺障害が強く現れるという結果を示した。

特集1 ● SARS のその後と今後への対応

側の遺伝的要因を特定することを目的として、SARS 患者と健常人から同意の上で血液の提供をうけ、SARS と関連すると予測される候補遺伝子の遺伝的多型を同定し、遺伝子タイピングを行い、患者群と対照群で比較することにより、関連のある因子を探索する試みが行われてきた。

我々は2003年よりベトナム（ベトナム国立バクマイ病院・フレンチ病院・国立衛生疫学研究所）と国際共同研究を行ってきている。ベトナムにおけるSARSのアウトブレイクは、香港からベトナムに移動した1例のSARS-CoV感染者により引き起こされ、当初は院内感染として拡大したが、その後適切な院内感染防止措置がとられたこともあり、62例の発症をもってSARS流行は終息した。本稿では、我々が行った研究を中心に、今までの各国からの遺伝的多型の関連解析の報告を合わせて紹介する。

II 2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素1

SARS-CoV感染に対する感受性、あるいはSARS発症・重症化に関連する宿主側因子の探索を目的として、ベトナム人SARS生存者54名のうち44名と、院内感染を起こした病院でSARS患者との接触歴があるもののSARSを発症しなかった接触コントロール103名から同意を得て遺伝子解析を行った。

I型インターフェロンはウイルス感染に対する初期の防御反応において重要な役割を果たす。ウイルス感染を受けた細胞から産生されるI型インターフェロンは、抗ウイルス蛋白を発現誘導する。これらの抗ウイルス蛋白の遺伝子には、既にSARS以外のウイルス感染症との関連が報告されている一塩基多型（single nucleotide polymorphism : SNP）がいくつかあったため、それらを解析してみたところ、2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素1（2',5'-oligoadenylate synthetase 1 : OAS1）遺伝子のエクソン6のA/G SNPがSARS-CoV感染と関連しており、Aアリルが感染抵抗性を示すことがわかった²⁾。OAS1は2'-5'結合オリゴアデニル酸の合成を介してribonuclease L (RNaseL)を活性化し、抗ウイルス作用をもたらす。この関連解析の報告をした直後に、Bonnie-NielsenらがOAS1のエクソン6のスプライス・アクセプター・サイトにA/G SNPがあり、このSNPがOAS1の機能に関連するという報告をした³⁾。図1に示すように、Gアリルの場合はアクセプターの塩基配列が最適であるためにE18と呼ばれる本来のmRNAが生成されるが、Aアリルの場合は最適なアクセプター配列ではなくなるために、着地点が1塩基ずれるか、またはさらに98塩基下流の配列をアクセプターとして使うため、AアリルとGアリルで生成されるトランスクリプトが異なる

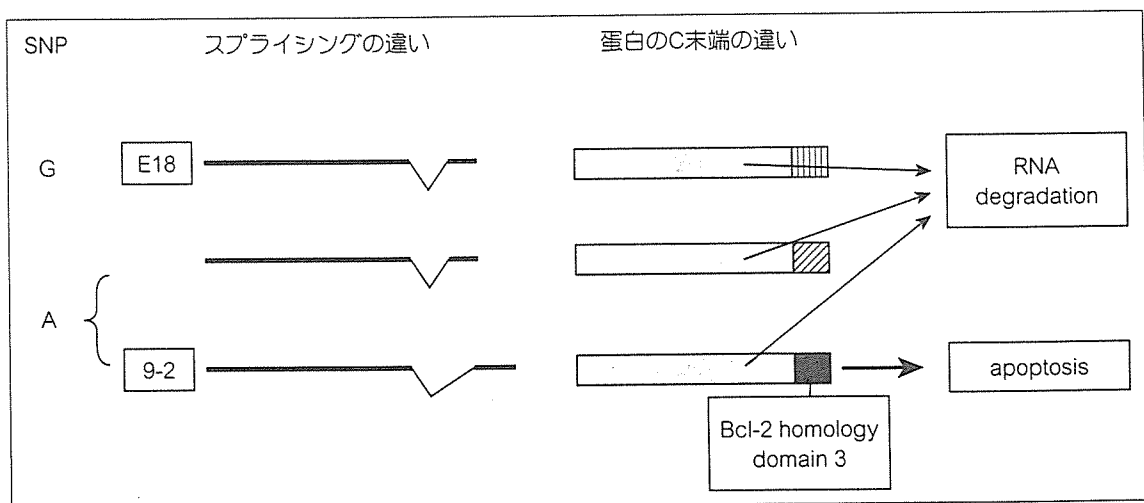


図1 2',5'-オリゴアデニル酸合成酵素1遺伝子の単塩基多型とスプライシングの関係

Gアリルの場合はアクセプターの塩基配列が最適であるためにE18と呼ばれる本来のmRNAが生成されるが、Aアリルの場合は最適なアクセプター配列ではなくなるために、着地点が1塩基ずれるか、またはさらに98塩基下流の配列をアクセプターとして使うため、AアリルとGアリルで生成されるトランスクリプトが異なる。

特集 1 ● SARS のその後と今後への対応

にレセプターとして働く可能性が指摘されている liver/lymph node-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin (L-SIGN) に関しては、香港のグループが、L-SIGN 遺伝子 (*CLEC4M*) のエクソン 4 の variable number of tandem repeat (VNTR) のリピート数がホモ接合体であると SARS-CoV 感染に抵抗性であるという報告をした⁸⁾。彼らの実験では、ホモ接合体の方がヘテロ接合体より SARS-CoV との結合能が高いが、L-SIGN に結合したウイルス粒子はウイルス複製サイクルには向かわずに変性されてしまうので、SARS 抵抗性になるのではないかとされている。

V マンノース結合蛋白

マンノース結合蛋白 (mannose-binding lectin: MBL) は、コレクチンのひとつであり、糖認識領域を介して病原体表面の糖鎖に結合して病原体の感染抑制に働く、自然免疫を担う重要な分子である。MBL 遺伝子 (*MBL2*) の多型と SARS-CoV 感染の関連が香港のグループ⁹⁾、北京のグループ¹⁰⁾ から相次いで報告され、コドン 54 のアミノ酸がグリシンからアスパラギン酸に変異するために正常なコラーゲン様構造をとれずに血清中の MBL 濃度が著しく低値となる B variant を有するものが、SARS-CoV 感染者では有意に多いとされた。その後の香港の別のグループからの報告¹¹⁾ では症例数がやや少ないためか関連はなかったとされた。MBL が SARS-CoV と結合すること、培養細胞を用いた SARS-CoV 感染実験で MBL が感染阻害効果を示すことから、MBL は SARS-CoV 感染に対する防御に有効に働いているのではないかとされている⁹⁾。

VI HLA

Human leukocyte antigen (HLA) は、T 細胞への抗原提示という免疫応答時に非常に重要な役割を担うと同時にヒトの主要組織適合性複合体 (major histocompatibility complex: MHC) であり、自他認識のマーカースとして機能している。HLA は遺伝的多型性が大きく多様性に富んでおり、人種による特徴もあり、しばしば HLA 遺伝子の多型性と感染症の関係が研究されている。

Lin らは台湾において HLA-B*4601 と B*5401 が SARS 患者群で多い¹²⁾、Ng らは香港において HLA-B*0703 と DRB*0301 が SARS 発症に関連している¹³⁾、Chen らは台湾において HLA-Cw*0801 が SARS-CoV 感染と関連がある¹⁴⁾とそれぞれ報告しており、今のところ報告により SARS に関連するとされる HLA の型は異なっていて一定の見解を得ない。アジア人で多い HLA-A*0201 拘束性エピトープについての報告は散見されるが、SARS-CoV 感染における CTL (cytotoxic T lymphocyte) の役割はまだ明らかではなく、今後の検討を要する。

VII おわりに

前述の他に、今までに Fc gamma receptor II A の遺伝的多型との関連¹¹⁾、インターフェロンガンマ遺伝子の多型との関連¹⁵⁾が報告されている。これらの遺伝的多型のひとつひとつは、SARS 重症化や SARS-CoV 感染に関連する宿主の遺伝的多型のそれぞれ一部分にしか過ぎない。しかし、今後さらに宿主の遺伝的多型と感染症の関連を探求し、結果を積み重ね、その機能的意義を明らかにしていく中で、SARS の病態に対する知見や、予防・治療方法が明らかにされていくことが期待される。また、SARS は小児には少なかったと言われているが、その原因に宿主因子が関わっているのか等、未解決の課題も多い。ここで述べた知見や手法は、今後、未知の重篤な感染症が生じた場合の病態解析にも重要な手がかりを与えるものと期待される。

文献

- 1) Cooke GS, Hill AV: Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nat Rev Genet* 2 (12): 967-977, 2001
- 2) Hamano E, Hijikata M, Itoyama S, et al.: Polymorphisms of interferon-inducible genes OAS-1 and MxA associated with SARS in the Vietnamese population. *Biochem Biophys Res Commun* 329 (4): 1234-1239, 2005
- 3) Bonnevie-Nielsen V, Field LL, Lu S, et al.: Variation in antiviral 2',5'-oligoadenylate syn-

- thetase (2'5'AS) enzyme activity is controlled by a single-nucleotide polymorphism at a splice-acceptor site in the *OAS1* gene. *Am J Hum Genet* **76** : 623-633, 2005
- 4) Itoyama S, Keicho N, Quy T, et al. : ACE1 polymorphism and progression of SARS. *Biochem Biophys Res Commun* **323** (3) : 1124-1129, 2004
 - 5) Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. : A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med* **11** : 875-879, 2005
 - 6) Chiu RW, Tang NL, Hui DS, et al. : ACE2 gene polymorphisms do not affect outcome of severe acute respiratory syndrome. *Clin Chem* **50** (9) : 1683-1686, 2004
 - 7) Itoyama S, Keicho N, Hijikata M, et al. : Identification of an alternative 5'-untranslated exon and new polymorphisms of angiotensin-converting enzyme 2 gene : lack of association with SARS in the Vietnamese population. *Am J Med Genet A* **136** (1) : 52-57, 2005
 - 8) Chan VS, Chan KY, Chen Y, et al. : Homozygous L-SIGN (*CLEC4M*) plays a protective role in SARS coronavirus infection. *Nat Genet* **38** (1) : 38-46 2006
 - 9) Ip WK, Chan KH, Law HK, et al. : Mannose-binding lectin in severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Infect Dis* **191** (10) : 1697-1704, 2005
 - 10) Zhang H, Zhou G, Zhi L, et al. : Association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Infect Dis* **192** (8) : 1355-1361, 2005
 - 11) Yuan FF, Tanner J, Chan PK, et al. : Influence of FcγRIIA and MBL polymorphisms on severe acute respiratory syndrome. *Tissue Antigens* **66** (4) : 291-296, 2005
 - 12) Lin M, Tseng HK, Trejaut JA, et al. : Association of HLA class I with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *BMC Med Genet* **4** : 9, 2003
 - 13) Ng MH, Lau KM, Li L, et al. : Association of human-leukocyte-antigen class I (B*0703) and class II (DRB1*0301) genotypes with susceptibility and resistance to the development of severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis* **190** (3) : 515-518, 2004
 - 14) Chen YM, Liang SY, Shih YP, et al. : Epidemiological and genetic correlates of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the hospital with the highest nosocomial infection rate in Taiwan in 2003. *J Clin Microbiol* **44** (2) : 359-365, 2006
 - 15) Chong WP, Ip WK, Tso GH, et al. : The interferon gamma gene polymorphism + 874 A/T is associated with severe acute respiratory syndrome. *BMC Infect Dis* **6** : 82. 2006



HLAと疾病

9

HLA and Human Infectious Disease

HLAと感染症

慶長直人

Keicho Naoto / 国立国際医療センター研究所呼吸器疾患研究部部長

サマリー

感染症は、病原微生物と宿主の相互作用により生じる。病原体に対する攻撃と防御の戦略を考えるにあたっては、まず、生体側の免疫機構を理解する必要がある。動物モデルでは解明しきれないヒトの生体防御機構を検討するために、免疫遺伝学的解析法は有力な手段となる。HLAは感染症の疾患感受性遺伝子として最も古くから検討された免疫関連遺伝子であり、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ともない、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。多くの遺伝子が感染症の疾患感受性と関連するものと予想され、その機能的意義を解析することは、新たな感染症予防、治療戦略につながるものと期待される。

はじめに

感染症における免疫関連遺伝子変異研究は、感染症の感染成立、発症、病型にどれだけの遺伝子多型が関係するのか？免疫遺伝学手法を用い、感染症と関連する新規遺伝子を同定することで、新たな感染症の予防、治療戦略が生まれるか？感染症による自然選択は、現存の遺伝子多型頻度にいかなる影響を及ぼしたのか？といった問題に回答を与えるものと期待される。

今日、感染症の免疫遺伝学研究が盛んに行われる背景には、候補遺伝子アプローチの基礎となる多型情報が十分整備されてきたこと、ゲノムワイドアプローチによる新規疾患関連遺伝子の局在の推定が技術的にも比較的手軽に行われるようになったことが挙げられる。感染症の候補遺伝子は、サイトカ

イン、ケモカインやそれらのレセプターなどオーソドックスな免疫関連分子、マウスを中心とした動物モデルから得られた疾患関連分子のヒト相同性遺伝子、ノックアウトマウスにおける感染実験の結果などから選択されている。感染症遺伝子研究において、HLA 遺伝子の研究はワクチン開発など予防戦略とも複合して、依然として重要な位置を占めている。

Human Leukocyte Antigen

感染症における遺伝要因の関与

感染症の疾患感受性、抵抗性に関連する遺伝要因として最もよく知られているのは、マラリア抵抗性を示す遺伝性異常ヘモグロビン症の例であろう。遺伝的に異常のあるヒトの赤血球は、マラリア原虫にとって、感染、生育しづらい環境を与えることになる。この例は、遺伝要因が感染症の発症に対して、時としてきわめて顕著な働きを示すことがあること、また、遺伝子変異の選択圧として感染症が大きな役割を果たしてきたことを推測させるものである。

このような特殊な例だけでなく、おそらく一般集団においても、宿主側の遺伝要因が、感染症の疾患感受性に重要な役割を果たすものと推測されている。多くの感染性疾患では家族内集積の傾向がみられる。遺伝要因が存在すれば、一般人口における発症危険率に対して、発症者の同胞に同一疾患が発症する危険率(λ_s)が高くなる。たとえば、I型糖尿病や、多発性硬化症などではこの値は15~20くらいとされている。感

染症の場合、同一家族内では、同一環境で、同一病原体へ曝露されやすいことから、 λ_s は過大評価されやすいものの、多くの場合、1近くから10程度と考えられている¹⁾。

感染症発症に関する双生児研究や養子研究においては、環境要因の関与をできるだけ一定にした状態でも、遺伝要因の関与が十分認められることが報告されてきた。Sorensenらは、960組の養子とその両親の早期死亡の原因を解析し、生物学的な親の一方が50歳未満で感染症死亡した場合、養子に出された子の早期感染症死亡は通常の5.8倍の危険率であったと報告している²⁾。一方、養子を育てた里親の感染症死は、養子の早期感染症死亡には影響を与えなかった。同一の研究で、心血管系の死亡も同様の遺伝要因がみられたが、感染症よりも関係が弱かった。また、癌死亡では、環境要因の関与のほうが強いとの結果が得られた。ここでいう早期感染症死亡は、20世紀半ばの北部ヨーロッパの状況を反映し、呼吸器感染症が最も重大なものであった。

一卵性と二卵性双生児の研究では、結核症の一卵性双生児における発症頻度の高さが知られている。最近では、B型肝炎やヘリコバクターピロリ感染、マラリアにおいても一卵性双生児の発症率の高さが報告されている。Jepsonらは、257組のガンビアの双生児の研究により、マラリアの場合、感染性より、むしろ発症に遺伝要因が関与していることを報告した³⁾。病原微生物に対する免疫応答は、少なくとも一部はHLAが遺伝的に規定していることが、多くの感染性疾患で再現性をもって報

告されている。

人種集団間の有病率の差異は、しばしば遺伝素因が発症に関与する根拠とされる。ただし、多くの環境要因、病原微生物の株にも地理的分布の違いが認められるため、この解釈は慎重である必要がある。

家系研究の結果からは、これまで感染症は、多因子疾患ではあるものの、主要な少数の感受性遺伝子と病態を修飾するそれ以外の多くの遺伝子の存在が示唆されている。

Human Leukocyte Antigen

候補遺伝子アプローチ

感染症の疾患感受性遺伝子研究として、急速に発展し、現在でも最も頻繁に行われている手法は、候補遺伝子の遺伝子多型頻度を症例対照群間で比較して、関連解析により、疾患感受性、抵抗性を明らかにしようとするアプローチである。感染症の候補遺伝子を選択する際には、感染症の免疫機構の解明にともない、重要と認識された分子、すなわち、HLA および抗原提示機構に関連する分子群、サイトカイン、ケモカインなどを対象にすることが一般的である。次に動物(主にマウス)における病原体感受性にかかわる遺伝子がポジショナルクローニングなどにより同定された場合、そのヒト相同遺伝子が候補になっている。細胞内寄生細菌抵抗性にかかわるヒト *NRAMP1* 遺伝子と結核との関連がよい例である⁴⁾。

感染症の関連解析に限らず、これらの研究によって得られた特定の遺伝子多型と疾患との関連性は、集団によっ

ても、報告者によっても、一定しない場合が多い。一部は、集団それ自体の不均一性によるものかもしれないが、多くの場合、オッズ比2程度までの弱い関連を示す遺伝子多型の有意差を再現性よく検出するには、それに相応したサンプル数が必要であるとともに、HLAの場合、特に多数の対立遺伝子型が存在するため、多重比較における有意差の補正をどの程度まで行うべきか、常に議論になるところである。現在では、多くの場合、最初から多重比較の補正(たとえば Bonferroni の方法)をかけて有意水準を厳しくすることは、保守的すぎるとの批判があり、むしろ、ある HLA 型が疾患と関連した場合、その関連性を別の集団で確認して初めてひとつの研究と考える方法がより実際的と考えられる。また、別の問題として、疾患群と対照群との遺伝的背景の均一性が集団によっては異なることがあり、このような場合、単純な症例対照研究ではなく、両親の遺伝子型の発症者への伝達の偏りを検出する手法(Transmission Disequilibrium Test)が推奨される。特に、途上国との国際共同研究を実施するような場合、対象国の一般集団の遺伝的構造を理解することから始めなければならない場合がしばしばである。

Human Leukocyte Antigen

HLAと各種感染性疾患

HLA の血清学的タイピングの確立にともない、細菌性感染症では、抗酸菌感染症であるハンセン病、結核症との関連が、1970年代から1980年代に

かけて盛んに研究された(表1)。抗酸菌感染症は、クラスI抗原とはいずれの疾患も一定の関連性は認められなかったが、クラスII抗原については、常にはないが、しばしばHLA-DR2との関連が報告された。特にアジア系の集団で結核症、ハンセン病(病型にかかわらず)とHLA-DR2との関連がみられ、遺伝子型では、DRB1*1501, DRB1*1502との関連が認められている⁵⁾。

初期のマラリアに関する大規模研究では、HLA-B*5301とHLA-DRB1*1302が小児の重症マラリアに対する抵抗性に働くことが報告され、HLA-B53拘束性の細胞傷害性T細胞が、マラリア抗原を認識することも報告された⁶⁾。一方、ケニアからはHLA-DRB1*0101が同様に抵抗性に働くという研究結果もあり、この2つの研究とそれに続く研究の不一致の理由が、集団差なのかマラリア原虫自体のゲノ

ムの地域差であるのか、それ以外の要因であるのかは明らかでない。

ウイルス感染症では、肝炎の諸症状との関連が報告されている。ガンビアでは、HLA-DRB1*1302が、急性のB型肝炎の治癒、ウイルス消失と関連を示した⁷⁾。ヨーロッパのそれより小規模な研究でもHLA-DR13(6)が、同様に、ウイルスの感染持続により生じる慢性肝炎の発症に抵抗性に働くことが示されている。B型肝炎ウイルスのゲノムは比較的小さく、HLAとの関連性は、HLAが認識するウイルスのエピトープ解析にも有用な情報を与えている。C型肝炎ウイルスについてもクラスII抗原との関連が報告されている⁸⁾。イタリア人集団では、活動性のC型肝炎患者ではHLA-DR5の頻度が低いとの報告が複数あり、英国人集団でもDR5の主体であるHLA-DRB1*11(01)がC型肝炎ウイルスの

表1 感染症とHLAとの関連

| 疾患 | HLA型 | 集団 |
|-------|--|---------------------------|
| 結核 | DR15(2)(感受性) | インド, ロシア, インドネシア, メキシコ |
| ハンセン病 | DR15(2)(感受性) | インド |
| マラリア | B53(抵抗性) | ガンビア(西アフリカ) |
| B型肝炎 | DRB1*1302(抵抗性) | ガンビア, ドイツ, 韓国 |
| C型肝炎 | DR11(5)(抵抗性) DQB1*0301(-DRB1*1101 ハプロタイプ; 抵抗性) | イタリア, イギリス |
| AIDS | B35(予後不良) | フランス, イタリア |

(文献1より一部改変引用)

クリアランスを促進する方向に働いていると報告されている。また、HLA-DQB1*0301もヨーロッパ系集団では複数の報告があり、自然治癒例に多いといわれる。C型肝炎ウイルスの感染細胞の認識、除去には、一般的にクラスI拘束性の細胞傷害性T細胞の働きが重要であることが明らかであるが、症例対照研究における、特定のクラスI抗原と肝炎発症とのあいだの関連は、一定していない。HIV感染症とHLA遺伝子との関連研究では、HLA-B35と病期の進行との関連が報告されているが、さらにHIVウイルス自体の多様性、宿主内での変異などを考慮して解析する必要がある⁹⁾。

総じて、ウイルス性感染症では、ウイルスをゲノムレベルで亜型に分類したうえで、特定の亜型とHLAとの関係をみたほうが、明らかな関連がみられるものと考えられる。ただし、最近話題のSARSコロナウイルスによる急性呼吸器感染症であるSARSとHLAとの関連解析では、ウイルスに変異が少ないにもかかわらず、発症、重症化と関連するHLAは、台湾、香港の報告、さらに、ベトナム(われわれの未発表データ)のデータで一致をみていないため、今後の大規模解析研究が望まれる。理由は明らかでないが、ウイルス疾患ではクラスI抗原より、特定のク

ラスII抗原との関連がみられる場合が多いようである。もっとも、初期の報告では、同時にクラスI, IIのタイピングを実施していない報告も多いため、HLA領域の連鎖不平衡の広がり考えた場合、単純にどちらに一義的関連があるかは結論付けられない。また、病原微生物に対するT細胞応答のMHC拘束性を考えると、HLAはヘテロ接合で保有したほうが微生物排除に有用と思われるが、関連解析でこの点に言及した研究はいまだに少ない。

おわりに

感染症の疾患感受性、抵抗性に影響を与える遺伝子の詳細は、まだ十分に解明されたとはいえず、現在、ほかの多因子疾患同様、罹患同胞対解析やゲノムワイド関連解析などの方法が試行されている。感染症関連遺伝子多型の解明は、現存の生物が病原微生物に対する防御機構を進化させてきた道のりをたどる研究でもあり、その長期にわたる攻防を垣間みることにより、これまでに予想されなかった新たな予防、治療法が開ける可能性もあり、期待される。

References

- 1) Cooke GS, Hill AV : Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nat Rev Genet* 2 : 967-977, 2001
- 2) Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW : Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 318 : 727-732, 1988
- 3) Jepson AP, Banya WA, Sisay-Joof F et al : Genetic regulation of fever in Plasmodium falciparum malaria in Gambian twin children. *J Infect Dis* 172 : 316-319, 1995
- 4) Bellamy R, Ruwende C, Corrah T et al : Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 338 : 640-644, 1998
- 5) Bellamy R : Susceptibility to mycobacterial infections : the importance of host genetics. *Genes Immun* 4 : 4-11, 2003
- 6) Aidoo M, Lalvani A, Gilbert SC et al : Cytotoxic T-lymphocyte epitopes for HLA-B53 and other HLA types in the malaria vaccine candidate liver-stage antigen 3. *Infect Immun* 68 : 227-232, 2000
- 7) Thursz MR, Kwiatkowski D, Allsopp CE et al : Association between an MHC class II allele and clearance of hepatitis B virus in the Gambia. *N Engl J Med* 332 : 1065-1069, 1995
- 8) Yee LJ : Host genetic determinants in hepatitis C virus infection. *Genes Immun* 5 : 237-245, 2004
- 9) Gao X, Nelson GW, Karacki P et al : Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med* 344 : 1668-1675, 2001