

の、肺癌が進行して死亡した。② はビノレルビン単剤投与を開始し5ヶ月目に IP が悪化し、死亡した。③ はカルボプラチンとパクリタキセルの併用療法を開始し、その後効果がなくなったため、セカンドライン以降様々な抗癌剤を使用した IP が悪化し、死亡した。④ はビノレルビン単剤投与中に IP が悪化し、ステロイド剤等の治療を受け改善した。その後 BSC となり経過中に再度 IP が悪化し死亡した。⑤ はカルボプラチンとエトポシドの併用療法を3コース行い CR に近い効果を得た。年末、年始のため治療を一旦休止していたところ IP が悪化し死亡した。⑥ はカルボプラチンとエトポシドの併用療法を4コース行い CR に近い効果を得たために一旦治療を中止した。その後無治療で経過を見ていたところ IP 悪化し、ステロイド剤の投与で IP は改善した。しかしその後癌が再燃し死亡した。① と⑥ は明らかに肺癌が悪化して死亡しており、残りの4人については化学療法により IP が悪化し死亡したものと思われる。

表4は放射線療法単独の照射目的と IP 悪化の人数を示している。照射目的は根治が3人で、姑息・対症

表4 放射線療法による IP 悪化

照射目的	IP 悪化		IP 死
	9人	2人	
根治	3	2	1
姑息・対症	6		

が6人であった。姑息・対症の6人は左肺尖、右肺門、縦隔と肺野への照射は最小限に抑えられていた。根治照射の場合も原発巣が上葉の縦隔側に存在し、肺野への照射が比較的少なくできる症例が選択されていた。根治目的の3人のうち2人で IP 悪化し1人が死亡した。根治照射の総照射量は死亡した1人が70 Gy でほかの2人は60 Gy であった。

放射線化学療法では加速化分割照射が2人で、総照射量は45 Gy であり、他はすべて通常照射で、総照射量は60 Gy であった。すべての症例で化学療法と放射線照射は同時に行われた。化学療法のメニューは表5に示したように、シスプラチンとエトポシドとの併用が3人、カルボプラチンとエトポシドとの併用が2人、カルボプラチン単独が1人、ナベルビン単独が1人であった。シスプラチンとエトポシドを併用した3人のうち2人で IP が悪化し、いずれも死亡した。

図2は放射線療法単独と放射線化学療法での IP 悪化例の経過を示したものである。⑦ は放射線療法単

表5 放射線化学療法による IP 悪化

First lineのメニュー	7人	IP 悪化 2人	IP 死 2人
CDDP+VP-16	3	2	2
CBDC+VP-16	2		
CBDC	1		
VNR	1		

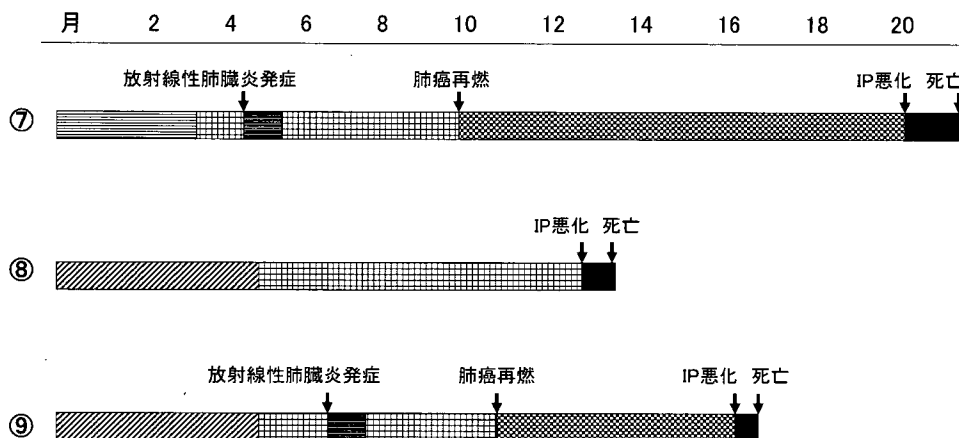


図2 放射線・放射線化学療法 IP 悪化例の経過

⑦～⑨は症例番号。

放射線療法単独の期間

放射線化学療法の期間

放射線性肺臓炎の治療期間

他は図1と同じ。

表 6 IP 合併局所進行肺癌の治療と IP 増悪と予後

治療	症例数	IP悪化	IP死
化学療法	19	6	4 (21.1%)
放射線療法	9	2	1
放射線化学療法	7	2	2
根治的放射線療法 (IP増悪はRT後6ヶ月以上での発症)	10	3	3 (30.0%)
合計	35	10	7 (20.0%)

独で、計 70Gy が照射され、PR の効果を得た。照射後 1ヶ月目に照射した対側肺にも病変がおよぶ放射線性肺臓炎を発症し、ステロイド剤の投与を行い改善した。その後は無治療で経過観察したが肺癌再燃のため化学療法を開始した。照射後 20ヶ月目に IP が増悪し死亡した。⑧ はシスプラチンとエトポシドによる化学療法を 4 コース行い同時に計 60 Gy の照射が行われた。Good PR の効果を得たため無治療で経過観察していたが、照射終了 7ヶ月目に IP 悪化し死亡した。⑨ はシスプラチンとエトポシドの併用療法と同時に 60 Gy の照射を行い CR となり、予防的全脳照射も行った。約 2ヶ月後に放射線性肺臓炎を発症し、ステロイド剤投与にて改善した。その後は無治療で経過観察されていたが、肺癌が再発したため、化学療法を開始した。照射後 14ヶ月目に IP 悪化し死亡した。いずれの患者も照射後 6ヶ月以上の経過で IP 増悪しており特に⑦と⑨は化学療法中に IP が悪化していることからこちらが原因と思われる。

4 考察・結論

IP 合併局所進行肺癌治療では BSC を除く 35 人中 7 人 (20.0%) が IP 悪化で死亡した。

化学療法単独では 19 人中 4 人 (21.1%) が IP 悪化で死亡しており、いずれも治療との関連が疑われた。根治的放射線照射を行った 10 人中 3 人が IP 悪化で死亡したが、いずれも照射後 6ヶ月以上経ってから発症しており、IP 悪化に放射線照射が関与した可能性は否定できないものの低いと考えられた (表 6)。また根治的放射線療法で死亡した 3 人中 2 人は死亡前に化

学療法が施行されており、こちらが IP 悪化の直接的原因の可能性が考えられた。ただし放射線照射については呼吸機能検査で拘束性障害がみられない軽症の IP 患者が選択されており、本研究の結果をもって、呼吸不全のあるような重症の IP 患者に対して放射線療法が安全に行えるとは言えないことは当然である。

以上より IP 合併局所進行肺癌は治療による IP 増悪死が 20.0% であることから、IP の合併を確実に診断し、患者に対して十分治療リスクの説明を行い同意が得られれば、嚴重な経過観察のもと積極的な治療を行うのも一つの選択肢と思われる。

5 参考文献

- 1) Seo Y, Abe S, Kurahara M, Okada D, Saito Y, Usuki J, Azuma A, Koizumi K, Kudoh S. Beneficial effect of polymyxin B-immobilized fiber column (PMX) hemoperfusion treatment on acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Intern Med* 45: 1033-1038, 2006.
- 2) Kondo Y, Taniguchi H, Kawabata Y, Yokoi T, Suzuki K, Takagi K. Acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. Analysis of clinical and pathological finding in three cases. *Chest* 103: 1808-1812, 1993.
- 3) Akira M, Hamada H, Sakatani M, Kobayashi C, Nishioka M, Yamamoto S. CT findings during phase of accelerated deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Roentgenol* 168: 79-83, 1997.

我が国における肺移植の現状

— 日本肺および心肺移植研究会登録報告より —

岡田 克典 松村 輔二 近藤 丘*

肺移植は、1983年にトロント大学で世界初の長期生存例となった症例の手術が行われて以来、今日では終末期肺疾患に対する有効な治療法として確立しており、これまで約2万例の手術が行われている。我が国においても、初の生体肺葉移植および脳死肺移植が、それぞれ1998年10月、2000年3月に行われた。2005年12月末までの脳死肺移植実施数は24例、生体肺葉移植実施数は49例であり、それぞれ18例、41例が生存中である。我が国における肺移植の特徴の一つは、脳死下臓器提供数が欧米に比べ著しく少ないことを反映して、脳死肺移植よりも生体肺葉移植が症例数の上で先行している点である。また、脳死肺移植、生体肺葉移植を問わず、適応疾患の分布は国際登録のものとは大きく異なり、原発性肺高血圧症、特発性間質性肺炎、肺リンパ脈管筋腫症が主要な適応疾患となっている。術後成績は、生体肺葉移植の5年生存率が82.9%、脳死両側肺移植の4年生存率が76.9%、脳死片肺移植の5年生存率が66.3%と、いずれも国際的な生存率を上回っているが、症例数が少ないこと、観察期間がまだ短いことを勘案する必要がある。脳死肺移植は、2006年4月から他の脳死臓器移植とともに健康保険が適用となった。今後の症例数の増加が期待される。

The Status of Japanese Lung Transplantation

Yoshinori Okada, Yuji Matsumura, and Takashi Kondo

Department of Thoracic Surgery, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan

To clarify the status of clinical lung transplantation in Japan, the present report summarized the practice of Japanese lung transplantation on the basis of the Registry Report of The Japanese Society of Lung and Heart-Lung Transplantation. The data of cadaveric lung transplantation and living-donor lobar transplantation performed by the end of 2005 were analyzed with respect to the number of transplants, recipient survival rates, recipient functional status, and cause of death after transplantation. Twenty four (11 single and 13 bilateral) cadaveric lung transplantation and 49 living-donor lobar transplantation were performed by the end of 2005. Five-year survival rates of cadaveric single lung transplantation and living-donor lobar transplantation were 66.3% and 82.9%, respectively. Four-year survival rate of cadaveric bilateral lung transplantation was 76.9%. The functional status of more than 80% of recipients was restored to Hugh-Jones I or II after transplantation. Pneumonia and sepsis accounted for 40% of cause of death after lung transplantation. The results of Japanese clinical lung transplantation were so far satisfactory although the small number of cases and a short observation time should be considered.

はじめに

我が国における臓器移植は、脳死をめぐる問題から欧米先進国に大きな遅れをとったが、1997年10月に臓器移植法が施行され、脳死臓器移植が法的に可能となった。1998年4月に、脳死肺移植実施施設として、東北大学加齢医学研究所附属病院（現東北大学病院）、京都大学胸部疾患研究所附属病院（現京都大学医学部附属病院）、大阪大学医学部附属病院、岡山大学医学部・歯学部附属病院の4施設が選定され、同年8月より肺移植登録が開始された。2005年7月からは、新たに獨協医科大学病院、千葉大学医学部附属病院、福岡大学病院、長崎大学医学部附属病院が脳死肺移植施設として選定され、我が国における肺移植施設は合計8施設となった。我が国における初の生体肺葉移植および脳死肺移植は、それぞれ1998年10月、2000年3月に行われた。2005年12月末までの脳死肺移植実施数は24例、生体肺葉移植実施数は49例である。本稿では、我が国の肺移植の現状を、肺・心肺移植研究会による肺移植登録報告¹⁾をもとに述べる。

我が国における肺移植の現状

日本臓器移植ネットワークへの肺移植希望者の新規登録数の年次推移を図1に示した。1998年の登録開始以降、登録数は増加傾向にあり、ここ数年は40例前後の肺移植希望者が新たに登録されている。肺移植症例数は、生体移植、脳死移植を合わせて、ここ数年十数例/年で推移している（図2）。表1に、各施設の肺移

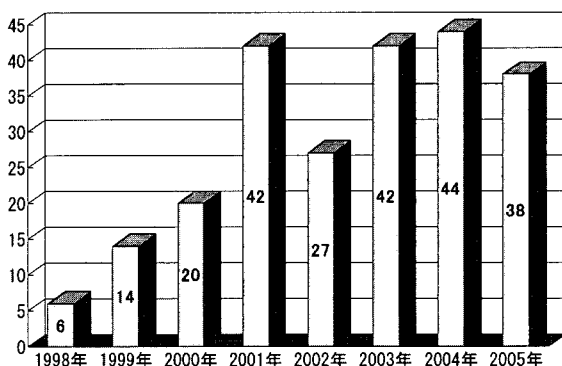


図1 肺移植新規登録患者数の年次推移

東北大学加齢医学研究所呼吸器再建研究分野

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 分担研究者

表1 我が国における施設別肺移植施行例数我が国における施設別肺移植施行例数

(2005年12月現在)

施設	脳死肺移植	生体肺移植	計
東北大学	8	3	11
京都大学	4	3	7
大阪大学	6	6	12
岡山大学	6	37	43
計	24	49	73

植実施例数を示した。

肺移植の適応となった原疾患の移植術式別の分布を、図3に示した。原発性肺高血圧症では、片肺移植後の移植肺への急激な血流再開に伴う肺水腫の危険性を考慮して、また気管支拡張症/びまん性汎細気管支炎ではレシピエント肺の感染病巣遺残を避ける目的で、両側肺移植が選択されている。国際登録では、肺気腫、特発性肺線維症、嚢胞性肺線維症が3大適応疾患であるが、我が国においては、原発性肺高血圧症、特発性間質性肺炎、肺リンパ脈管筋腫症が適応疾患の多くを占めている。

我が国におけるレシピエントの術式別生存率を図4に示した。生体肺葉移植症例の5年生存率は82.9%、脳死両側肺移植症例の4年生存率は76.9%と良好である。脳死片肺移植の5年生存率は66.3%とやや劣るが、国際登録の生存率を上回っている。術後のレシピエントの活動性の状況を、慢性呼吸器疾患患者の呼吸困難の程度を表す指標であるHugh-Jones (H-J) 分類に基づいて評価すると、脳死肺移植、生体肺葉移植ともにH-J IまたはIIまで回復している症例が全体の80%以上を占めている（図5）。

脳死肺移植または生体肺葉移植を受けた73例中14例が死亡している。死因は図6に示した如く様々であるが、肺炎と敗血症を含めた感染症による死亡が脳死、生体移植ともそれぞれの40%を占めており、最も頻度の高い死因となっている。

むすび

これまでの我が国における肺移植の成績は、症例数は少ないものの、生存率、活動性の状況ともに国際

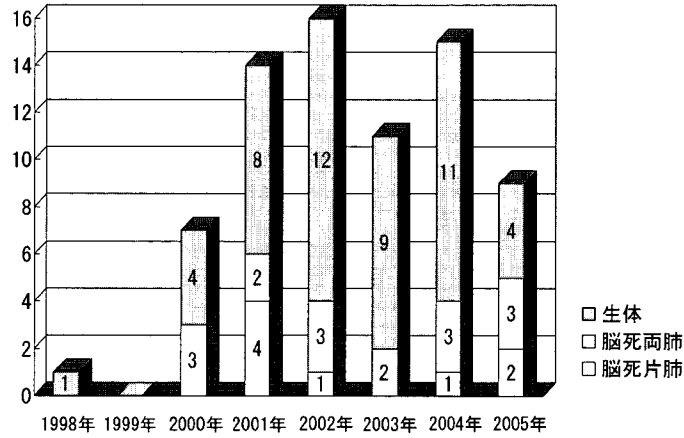


図2 肺移植症例数の年次推移

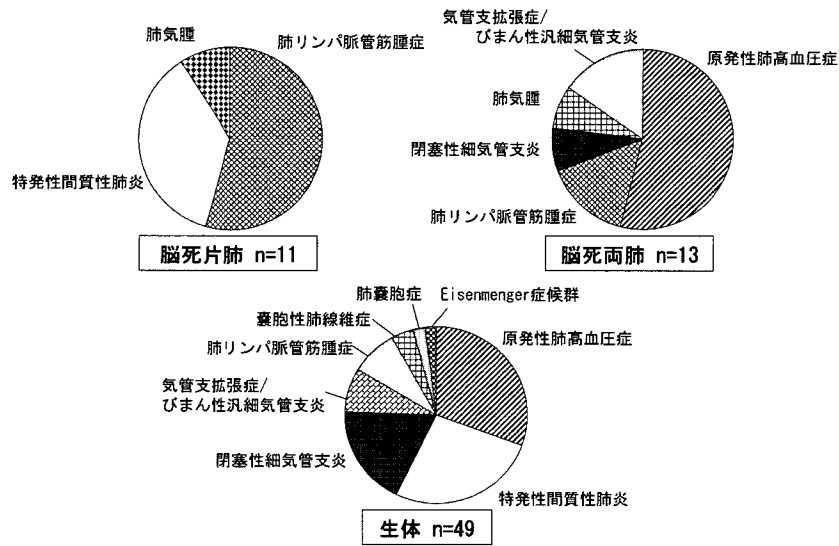


図3 術式別肺移植適応疾患

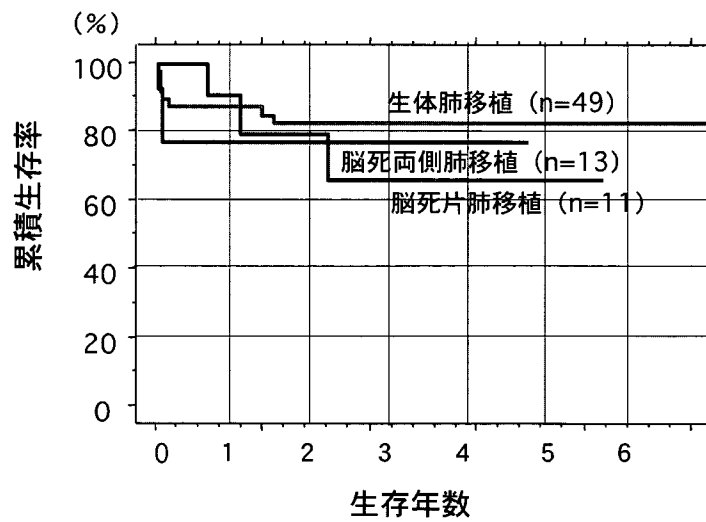


図4 術式別レシピエント生存率

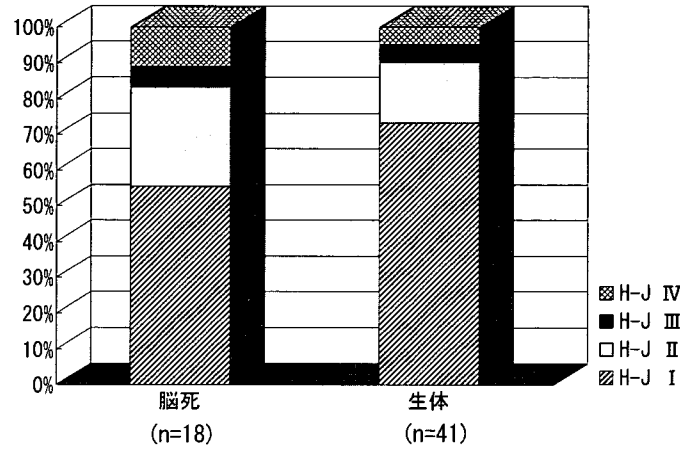


図5 レシピエントの活動性の状況。H-J: Hugh-Jones

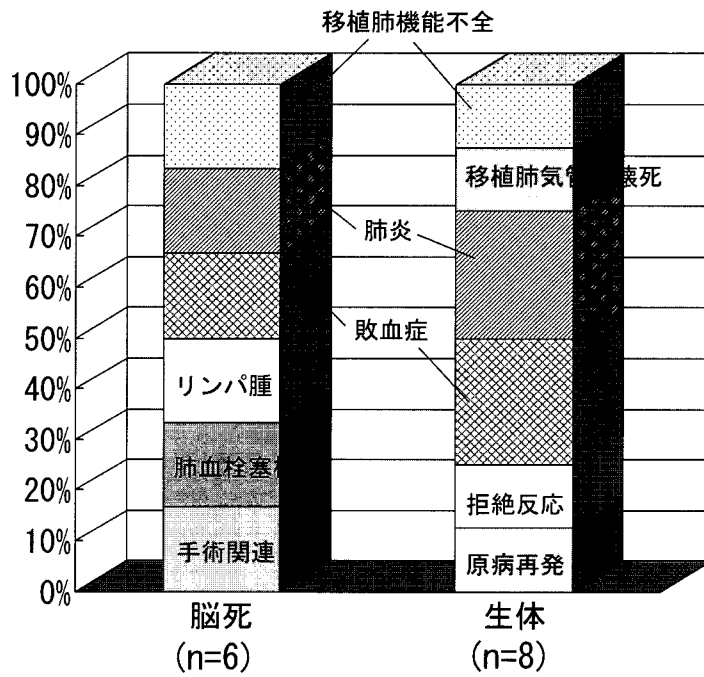


図6 レシピエントの死因

データと比較し遜色のないものであるといえる。2005年7月から脳死肺移植実施施設が4施設から8施設へ拡大された。また、2006年4月からは、脳死肺移植が他の脳死移植とともに健康保険適用となった。今後の症例数の増加を期待したい。

文 献

- 1) 肺および心肺移植研究会。本邦肺移植登録報告 (2006)。移植 41: 456-458, 2006

特発性間質性肺炎

日本に於ける SP-C 遺伝子変異からみた間質性肺炎の 成立機序と臨床像

瀬戸口靖弘 河野 雄太 玉置 若巳

家族性間質性肺炎 (FIP) 20 症例, 非家族性間質性肺炎 (sporadic IP: SIP) 38 症例について画像, 病理所見, 発症年齢, surfactant protein C 遺伝子 (SFTPC) の遺伝子解析, 変異 SFTPC のクローニングと機能解析を行ってきた。変異 SFTPC は FIP で 7 症例, SIP で 4 症例であった。発症年齢では, 20 歳以上の adult-onset, 20 歳未満の infant-onset で分けると FIP では adult-onset が 5 症例, infant-onset が 2 症例, SIP では 4 症例全例 infant-onset で生後 1 カ月以内の発症であった。画像, 病理学的には, FIP は, UIP pattern で SIP は, UIP パターンは存在せず NSIP パターン, DIP パターン, 肺胞蛋白症であった。変異 SFTPC は, FIP では, exon3 の missense mutation で proSP-C C 末側の BRICHOS Domain の変異を示し, II 型肺胞上皮細胞は, アポトーシスを起こすカシヤペロン蛋白の発現を誘導し adaptation も起こっていることが認められた。また, SIP では, exon2 の missense mutation を認める症例では, SP-C のコア部分の α ヘリクス構造改変が生じていることが予測された。Exon3 の missense mutation を認めるものの中で, proSP-C の C 末側の BRICHOS Domain より外側の変異を生じているものは, II 型肺胞上皮内では early endosome での変異 proSP-C の蓄積をまねき, SP-C の recycle の異常が起こっていることが推測された。今回の研究では欧米で報告されている遺伝子変異と異なる変異を発見し, また, その変異の位置により II 型肺胞上皮の機能異常が異なること, また臨床の表現型が異なることを明らかにした。間質性肺炎全体からみると SP-C 遺伝子変異を伴う間質性肺炎は, 少数であるが, II 型肺胞上皮細胞の機能異常も間質性肺炎の成立に関与している点は, 今後の間質性肺炎の成立の機序を考える上で示唆に富む事象と考えられた。また, 細胞内での変異 proSP-C の動態を制御することが治療につながる可能性もあり研究を進展させていきたい。

Clinico-pathophysiological consequences of mutations in the surfactant protein C gene (SFTPC) in Japanese patients with interstitial pneumonia

Y. Setoguchi, Y. Kono, and F. Tamaoki

Dept. of Respiratory Medicine, Tokyo Medical University

Idiopathic interstitial pneumonias (IIPs) are one of a large number of diffuse parenchymal lung diseases without any known cause. Recently, mutations in SFTPC were reported to be identified in patients with familial IP. Based on this knowledge, we analyzed SFTPC in patients with IIPs and evaluated the clinical characteristics of these patients. Methods: We enrolled 18 patients with familial IP, 36 patients with sporadic IP, and 43 healthy volunteers. Sequencing of SFTPC locus was performed in DNA extracted from blood. Results: We identified six heterozygous missense mutations in SFTPC, containing four novel mutations in exon 2 (V39L, V49A, S61G) and exon3 and two well-known mutations in exon 3 (I73T, Y104H). Clinico-pathological evaluation resulted in data shown in Table. Mutations of exon 3 in SFTPC coding a part of BRICHOS domain were associated with UIP in surviving affected both adults and infants. Interestingly, one family with the mutation (Y102G) included three affected males over three different generations, whose onset of disease tended to be younger with generational change, suggesting an additional association of telomere shortening. In contrast, mutations of exon 2 and exon 3 (non-BRICHOS) were identified in affected newborn infants, whose pathological phenotype indicated NSIP or DIP with PAP. In vitro evaluation demonstrated that this mutant targeted abnormally to early endosomal compartment in alveolar type II cell. Conclusion: These data suggest that clinical phenotype of IP could vary by location of mutation in SFTPC.

はじめに

Surfactant protein C (SP-C) は、肺 surfactant (SP) に含まれる分子量 3.7 kDa の疎水性蛋白である。また、SP-C は、SP-A, SP-B, SP-D と異なり肺胞 II 型上皮細胞でのみ産生され、もう一つの疎水性蛋白 SP-B とともに SP の肺胞腔表面への拡がり、またその安定性に関わっている。SP-C をコードしている SP-C 遺伝子は、約 3,500 bp の大きさで第 8 染色体短腕 (8p23.1) に存在し、6 個の exon と 5 個の intron からなっている。まずアミノ酸 197 個で分子量 22,000 Da の SP-C の前駆体 proSP-C が産生され、細胞内小器官を通過過程で細胞内修飾により N 末端から 23 個、C 末端から 134 個 (59-197) のアミノ酸が切除され、成熟 SP-C (アミノ酸 24-58) が生成される^{1,2)}。この SP-C 遺伝子の変異と間質性肺炎の発症の関連性が欧米で報告され、注目を集めている^{3,4)}。これらの知見を基に本邦における間質性肺炎の中に SP-C 遺伝子の変異の頻度と臨床的な表現型の特徴についてこれまで東京周辺地域の成人発症家族性間質性肺炎について報告を行ってきた^{5,6)}。この研究では、SP-C 遺伝子の変異は遺伝子多型以外に同定されなかったが、exon5 の N186S 遺伝子多型は、孤発性間質性肺炎 (非家族性間質性肺炎) の発症との関連性が示唆された⁵⁻⁷⁾。今回は、日本全国まで拡げ、また、成人のみならず小児まで拡大して SP-C 遺伝子解析、臨床的特徴について検討をくわえた。

方 法

対象は、インフォームドコンセントの得られた家族性間質性肺炎 20 症例、孤発性間質性肺炎 38 症例、コントロールとして健常者 40 名について検討した。間質性肺炎症例については画像診断 (胸部 X 線写真, 胸部 CT 写真)、可能なものについては呼吸生理学的検査、TBLB 或いは VATS による病理学的評価を行った。特に SP-C 遺伝子変異を認めた症例について発症時年齢により 20 歳以上で発症したものを成人発症型、15 歳以下で発症したものを小児発症型、16 歳から 20 歳の間で発症したものを青年期発症型として分類を試

東京医科大学病院呼吸器内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

みた。SP-C 遺伝子解析については、各症例より得られた末梢血 4～6 ml より抽出された DNA を用い exon1 から exon5 における Direct sequence により塩基配列を決定した。SP-C 遺伝子変異を伴った間質性肺炎の成立機序解析を行うため遺伝子変異のあったものについては、クローニングを行い、発現ベクターへ組み込みを行った、また、proSP-C の 3 次元構造が決定されているため、このデータをもとに変異 proSP-C について構造解析も試みた。

結果と考察

SP-C 遺伝子変異

6 カ所の SP-C 遺伝子変異が同定され、いずれも heterozygous missense mutation であった。2 カ所 (I73T, Y104H) は欧米でも同定されているものであったが、4 カ所 (V39L, V49A, S61G, V102G) は、これまで報告がなく新しい遺伝子変異であった⁸⁾。Exon2 に 4 カ所で exon3 に 2 カ所の変異であり、欧米では exon2 に比して exon3, exon4, exon5 に変異が多い傾向があり、この違いは人種的なものに由来している可能性が示唆された。

SP-C 遺伝子変異と臨床像

表 1 に示すように家族性間質性肺炎 20 症例中 5 症例に SP-C 遺伝子変異を認め、全例 exon3 に変異を認めた。また、2 症例が小児発症例で 1 症例は、乳児期の発症であった。画像解析、病理診断では、全例 UIP パターンを呈しており、小児発症の 1 症例は、乳児期の画像では、NSIP パターンを呈しており約 10 年の経過で NSIP パターンから UIP パターンへと変化していることは、現在、fNSIP と UIP の異同が議論されていることを考え合わせると興味深い知見である。Exon3 から exon5 のコードしている領域は、proSP-C の C 末側にあたり、この部分は、BRICHOS ドメインと呼ばれ British and Danish dementia ファミリー蛋白, chromomodulin-1, CA11 などの変性や増殖性疾患

表 1 SP-C 遺伝子変異の同定数と構造変化

	number	
Familial IP	5/20 (25%)	(Exon3)
Adult onset	3/5 (60%)	UIP pattern
Infant onset	2/5 (40%)	
Sporadic IP	4/38 (11%)	(Exon2 and exon3)
Infant onset	4/4 (100%)	NSIP or DIP pattern

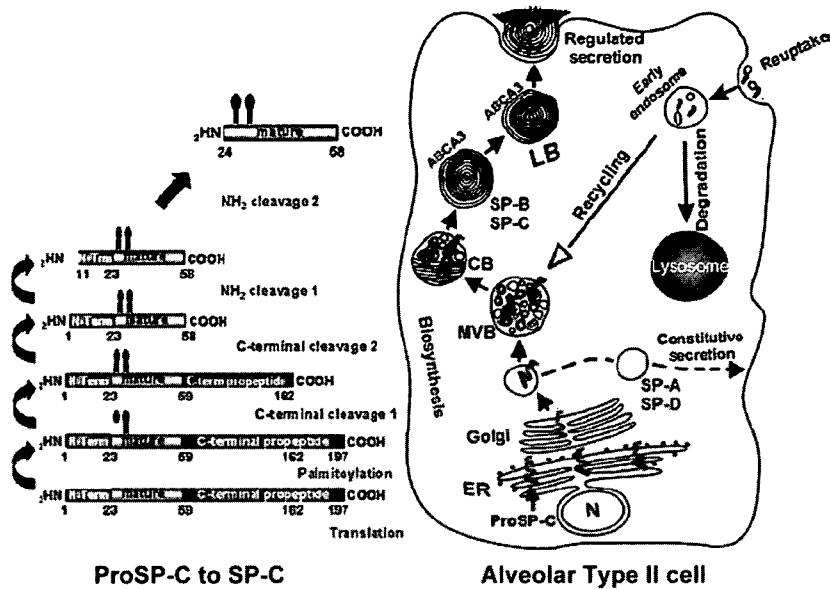


図1 肺胞 II 型上皮細胞と SP-C 生成過程

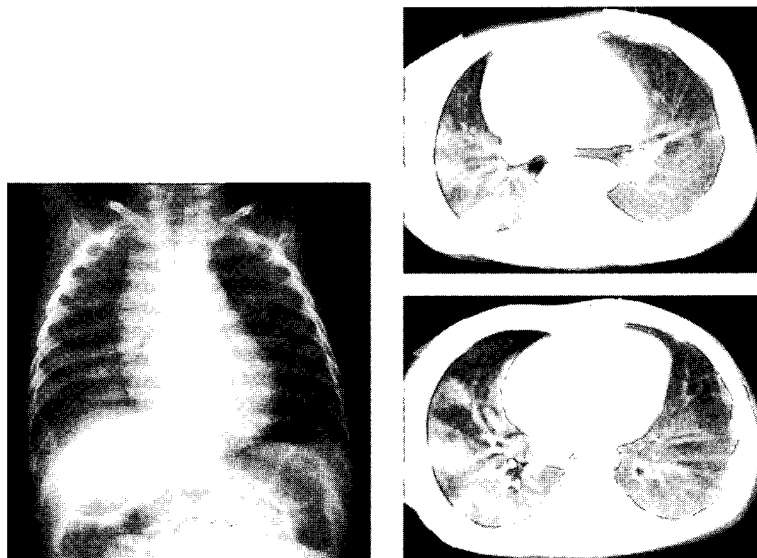


図2 SP-C 遺伝子変異を伴った孤発間質性肺炎 (新生児例)

に関連する蛋白の C 末のアミノ酸配列と強い相同性をもつことが明らかになっている^{9,10}。この部分は遺伝子変異により蛋白の彎曲構造が失われ細胞内の分子動態の変化をもたらし細胞自体の機能変化やアポトーシスを誘導するといわれている¹¹。このことを考え合わせると肺胞 II 型上皮細胞の機能異常を誘導しているはずであるが本症例については現在解析中である。

孤発性間質性肺炎 38 症例中 4 症例に SP-C 遺伝子変異を同定した。この 4 症例は小児発症特に新生児発

症間質性肺炎であり、病理学的には NSIP, DIP パターンを呈し 2 症例に肺胞蛋白症を認めた。遺伝子変異の部分も 3 症例が exon2, 1 症例が exon3 であるが、先に述べた BRICHOS ドメイン外に位置した。この症例は、肺胞蛋白症を合併しており、その原因を探るべくクローニングした変異 SP-C 遺伝子の A549 細胞への遺伝子導入による検討から SP-C の再吸収後の細胞内輸送の異常をきたしていることが明らかになった。このことから再吸収過程の異常により肺胞腔への surfactant の蓄積ならびに肺胞 II 型上皮細胞の機能異常

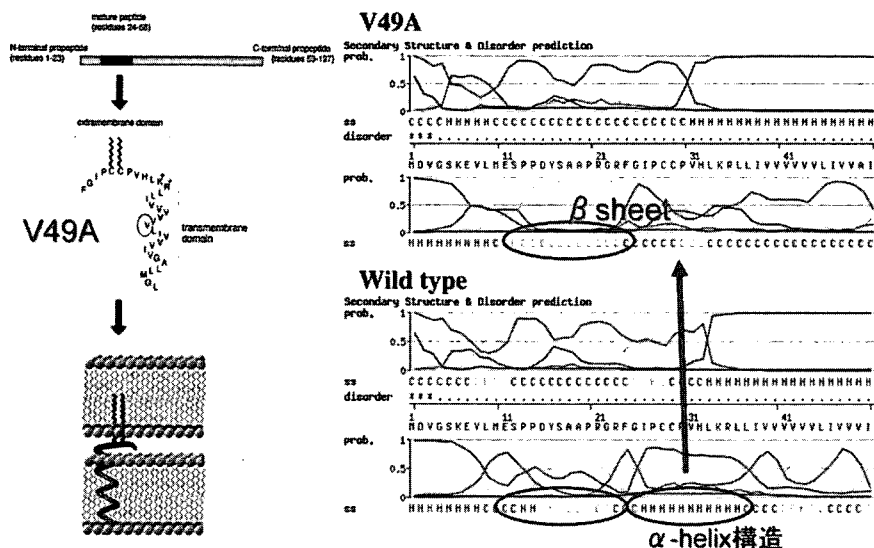


図3 SP-C 変異の位置と構造変化

も招来している可能性が示唆された。また, exon2 の変異を認めた症例 (V49A) では, 図 2, 3 に示すように mature SP-C 蛋白の Valine rich な膜貫通領域の Valine が alanine へ置換していた。これは, 蛋白の構造解析をしてみると α -helix 構造の消失をまねていることが明らかになった。SP-C 蛋白を人工的に処理し, α -helix 構造が消失させるとアミロイドフィブリルへ変換されることがわかっていることを考え合わせると有効な surfactant 機能が維持できていないことが推測される。

今後の展望

本研究 SP-C 遺伝子変異以外に 2 つの興味ある知見がえられた。1) SP-C 遺伝子変異と ATP-binding cassette A3 (ABCA3) 遺伝子変異を併存している重篤な間質性肺炎症例を同定した。この症例と同じ ABCA3 遺伝子変異を持ちながら間質性肺炎を発症している症例と発症していない症例も存在することを発見した。臨床的にも間質性肺炎発症例では, ABCA3 遺伝子変異単独では慢性で症状も軽度であった。ABCA3 が surfactant 生成に関わる lamellar body 形成にかかわる¹²⁾ ことから SP-C 遺伝子変異による間質性肺炎の重症度等に影響を与えていることが推測された。Nogge らも, I73T 変異 SP-C を持つ症例で本症例同様 ABCA3 遺伝子変異を併存している症例ほど重篤であったと報告している¹³⁾。Surfactant 蛋白生成

から間質性肺炎の成因を考える時, SP-B, SP-C, ABCA3, HPS-1 等の複数の因子が絡み合って病勢や発症を複雑にしている可能性が考えられた。2) 3代にわたる SP-C 遺伝子変異をもつ家族性間質性肺炎の 1 家系で発症が世代を経る毎に速くなる症例を明らかにした。複数の因子が関係していることが推測される。この因子の一つに米国より報告された hTERT 遺伝子変異が挙げられる¹⁴⁾。これはテロメアの長さを調節しているため, たとえば肺胞 II 型上皮細胞に TERT 遺伝子の変異があれば, 炎症修復が繰り返されればこの細胞の寿命も短くなる。したがって SP-C 遺伝子変異等が誘因となり炎症修復が加わることでより肺胞 II 型上皮細胞の寿命もさらに短くなることが予想される。

SP-C や ABCA3 遺伝子変異による間質性肺炎もはじめ単一遺伝子異常として考えられていたが単一遺伝子の変異だけでは説明が困難なことも出てきており, 複雑に種々の関連する遺伝子異常が絡み合って病態を形成していることが明らかになりつつある。このような意味で特発性間質性肺炎においても同一環境でも発症に差異があることから genetic な要素は必ず存在しているはずであり, これまで報告された遺伝子変異の中には特発性間質性肺炎と共通の因子が存在する可能性もあり臨床情報と対比しながら検索していくことが重要であると考えられる。また, 治療においても本研究のような SP-C 遺伝子の変異のように細胞内分子の動態異常が誘因となるような間質性

肺炎の場合、肺胞Ⅱ型上皮細胞を標的とした small molecule 治療薬の開発の可能性を有している。

謝 辞

ABC-A3 構造解析と機能解析

京都大学大学院医学研究科糖尿病・栄養内科学 稲垣暢也

秋田大学医学部機能制御医学講座細胞制御学分野 坂 信広 松村欣宏

症例紹介施設

神奈川県立循環呼吸器センター

札幌医科大学第三内科

多摩南部病院内科

順天堂大学医学部呼吸器内科

坪井病院内科

日本医科大学第四内科

広島大学大学院分子内科

岩手医科大学 NICU

磐田市立総合病院小児科

大阪大学医学部小児科

京都大学医学部小児科

岸和田市立病院小児科

信州大学医学部小児科

聖マリア病院母子総合医療センター新生児科

西埼玉中央病院小児科

東北大学医学部小児科

姫路赤十字病院小児科

藤沢市民病院小児科

琉球大学医学部小児科

参考文献

- 1) Nogee LM. Genetics of the hydrophobic surfactant proteins. *Biochem Biophys Acta* 1408: 323-333, 1998
- 2) Whitsett JA, Weaver T. Hydrophobic surfactant protein in lung function and disease. *N Engl J Med* 347: 2141-2148, 2002
- 3) Nogee LM, Dunbar AE, Wert SE, Askin F, Hamvas A, Whitsett J. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N Engl J Med* 344: 573-579, 2001

- 4) Thomas AQ, Lane K, Phillips J III, Prince M, Markin C, Speer M, Schwartz DA, Gaddipati R, Marney A, Johnson J. Heterozygosity for a surfactant protein c gene mutation associated with usual interstitial pneumonia and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 1322-1328, 2002.
- 5) 瀬戸口靖弘, 福地義之助 家族集積性特発性間質性肺炎の臨床像と sp-C 遺伝子変異についての検討 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服調査研究班 平成 16 年度報告書 65-70, 2005
- 6) Setoguchi Y, Ikeda T, Fukuchi Y. Clinical features and genetic analysis of surfactant protein C in adult-onset familial interstitial pneumonia. *Respirology* 11: S41-S45, 2006
- 7) Du Bois RM Genetics of interstitial lung disease ; in Cstabel U, Du Boi RM, Egan JJ (eds): *Diffuse parenchymal lung disease. Prog Respir Res. Karger. Basel, 2007, pp. 70-86*
- 8) Setoguchi Y, Kohno Y, Abe T, Hattori N. Identification of novel mutation in the surfactant protein C gene and ABC-A3 gene in patients with familial interstitial pneumonia or sporadic interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 175: A148, 2007
- 9) Sanchez-Pulido L, Devos D, Valencia A. BRICHOS: a conserved domain in proteins associated with dementia, respiratory distress and cancer. *Trends Biochem Sci* 27: 329-332, 2002
- 10) Mulugeta S, Nguyen V, Russo SJ, Muniswamy M, Beers MF. A surfactant protein C precursor protein BRICHOS domain mutation causes endoplasmic reticulum stress, proteasome dysfunction, and caspase 3 activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 32: 521-530, 2005
- 11) Wang W-J, Mulugeta S, Russo SJ, Beers MI. Deletion of exon 4 from human surfactant protein C results in aggresome formation and degeneration of a dominant negative. *J Cell Sci* 116: 683-692, 2003
- 12) Yamano G, Funahashi H, Kawanami O, Zhao L-X, Ban N, Uchida Y, Morohoshi T, Ogawa J, Shioda S, Inagaki N. ABCA3 is a lamellar body membrane protein in human lung alveolar type II cells. *FEBS*

Lett 508 : 221-225, 2001

- 13) Bullard JE, Noguee LM. Heterozygosity for ABCA3 mutations modifies the severity of lung disease associated with a surfactant protein C gene (SFTPC) mutation. *Pediatr Res* 62 : 176-179, 2007
- 14) Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, Alder JK,

Ingersoll RG, Markin C, Lawson WE, Xie M, Vulto I, Phillips JA 3rd, Lansdorp PM, Greider CW, Loyd JE. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 356 : 1317-1326, 2007

疾患患者で常染色体中に保存されている 同一先祖由来共有断片の探索を、全ゲノムレベルで 可能にするホモ接合ハプロタイプ法の開発

萩原 弘一*

疾患感受性遺伝子（以後疾患遺伝子と記載）の探索を行う場合、多数の患者が常染色体中に共通に有する共通先祖由来の染色体断片（以後共通先祖由来断片と記載）を探索することは、単因子疾患、多因子疾患双方に有望な手法と考えられる。このような断片では患者間でハプロタイプが保存されており、それを利用して同定できるはずである。しかしながら、ハプロタイプ自体の同定は現在の手法では容易ではなく、全ゲノムレベルで高密度のハプロタイプを得ることは現時点では不可能に近い。我々は、ハプロタイプの代替として、ホモ接合ハプロタイプを考案した。ホモ接合ハプロタイプはホモ接合型の SNP のみを使用して導出するハプロタイプのサブセットであり、高密度 SNP 型情報より容易に得ることができる。2 コピーある相同染色体は同一のホモ接合ハプロタイプを取る。それゆえ 2 本の相同染色体を 1 本であるかのように取り扱うことができる。その結果として、多数の患者の相同染色体を直接比較することが可能になる。我々は、単因子疾患の例として常染色体優性遺伝である Marfan 症候群患者を多数有する大家系のサンプル、多因子疾患の例として 10-25 世代前に存在した共通先祖から由来する疾患遺伝子が原因となって生じた多因子疾患を有する仮想の患者集団の両者を使用して検討を行った。ホモ接合ハプロタイプを使用した解析により、両者で疾患遺伝子の存在領域を同定できた。ホモ接合ハプロタイプは、単因子疾患、多因子疾患の両者に対し、有望な疾患遺伝子同定法となると考えられる。

The Homozygosity Haplotype allows a genome-wide search for the autosomal segments shared among disease patients

Koichi Hagiwara

Department of Respiratory Medicine, Saitama Medical University

When identifying disease susceptibility genes for both single and multiple gene diseases, a promising strategy is to search patients' autosomes for shared chromosomal segments derived from a common ancestor. Such segments are characterized by the distinct identity of their haplotype. The methods and algorithms currently available have only a limited capability for determining a high-resolution haplotype genome wide. We herein introduce the homozygosity haplotype (HH), a haplotype described by the homozygous SNPs that are easily obtained from a high density SNP genotyping data. The HH represents haplotypes of both copies of homologous autosomes, allowing for direct comparisons of the autosomes among multiple patients, and enabling the identification of the shared segments. The HH successfully detected the shared segments from members of a large family with Marfan syndrome that is an autosomal dominant single gene disease. It also detected the shared segments from patients with model multigene diseases originating from common ancestors who lived 10-25 generations ago. HH is therefore considered to be useful for the identification of disease susceptibility genes in both single gene diseases and multigene diseases.

はじめに

COPD など、多因子疾患の疾患遺伝子を同定するための現在使用されている方法は、疾患遺伝子とその近傍に存在する多型マーカーが、一緒に世代を超えて遺伝する(共分離)ことを利用している。一本の染色体上の多型マーカーの遺伝型の並びはハプロタイプと呼ばれる。多数の患者を有する大家系では、疾患遺伝子は通常単一の祖先に由来しており、この想定に基づいてハプロタイプ解析¹⁾や連鎖解析²⁾が考案され、使用されてきた。同一の疾患を有する兄弟姉妹を解析する同胞解析では、2名の同胞が両親のいずれかから由来した疾患遺伝子を共有していると想定して解析する³⁾。全ゲノム関連解析では、疾患遺伝子は限られた数の古い過去の先祖から由来すると考え、ハプロタイプブロックを究極の検索単位として解析をする⁴⁻⁶⁾。いずれの解析においても、ハプロタイプは最も本質的な情報であるため、ハプロタイプが容易に決定できたなら、全ての解析が非常に容易なものとなると考えられる⁷⁾。しかしながら、ハプロタイプの決定は容易ではない。人間のような2倍体生物では、多型マーカーの遺伝型は2本の相同染色体上の2つのアレルの遺伝子型の重なりとして検出されるからである。ハプロタ

イプを決定する手法は多数考案されているが^{1,7-9)}、それぞれ制限が多い。現時点では、全ゲノムレベルで任意の2名のハプロタイプを比較することは不可能であり、染色体上の共通先祖由来断片を検索することも困難である。本研究ではこれらの問題を部分的にせよ解決するため、ホモ接合ハプロタイプを導入する。ホモ接合ハプロタイプはホモ接合のSNPのみを使用したハプロタイプである。さらに本研究では、Marfan 症候群の大家系、および仮想の多因子疾患集団を使用し、ホモ接合ハプロタイプを利用した疾患解析を例示する。

材料と方法

用語定義

ホモ接合ハプロタイプ (Homozygosity haplotype: HH)

ホモ接合ハプロタイプはホモ接合のSNPのみを使用して導出する。まずヘテロ接合のSNPを除去し(図1A(i)),ホモ接合のSNPのみを残す(図1A(ii))。この時点で、双方の相同染色体上のハプロタイプは一意に決定される。なぜならSNP型がホモ接合であるため、相同染色体上の2つのアレルは同一の型を取る

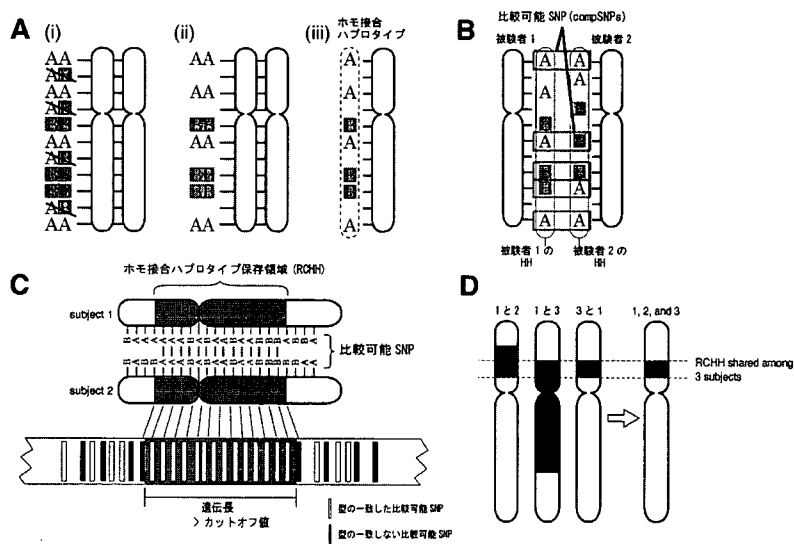


図1 ホモ接合ハプロタイプ解析
 A: 各SNPのメジャーハプロタイプ。B: 各SNPのマイナーハプロタイプ(A), 比較可能SNPの定義(B)。ホモ接合ハプロタイプ保存領域の定義。ホモ接合ハプロタイプ保存領域はカットオフ値以上の遺伝長を有する(C)。多数の患者で共有されているホモ接合ハプロタイプ保存領域の定義(D)。

埼玉医科大学呼吸器内科

* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

からである (図 1A (iii)). 2本の相同染色体のホモ接合ハプロタイプは、その全長に亘り同一となることに注意されたい。

比較可能 SNP (The comparable SNP: compSNP)

比較可能 SNP は 2名の被験者で共にホモ接合となる SNP である (図 1B). 2名の被験者のホモ接合ハプロタイプが同一かどうかは、その 2名の比較可能 SNP を比較することによって行う (図 1C).

ホモ接合ハプロタイプ保存領域 (The region with a conserved HH: RCHH)

ホモ接合ハプロタイプ保存領域は、同一型の比較可能 SNP の連続した領域のうち、カットオフ値より長い遺伝長を有するものである (図 1C). ホモ接合ハ

プロタイプ保存領域の断端は、型の一致しない比較可能 SNP か、または染色体の端である。多人数に共通するホモ接合ハプロタイプ保存領域は、その構成員各 2名のホモ接合ハプロタイプの積集合である (図 1D).

共通先祖由来領域 (The region from a common ancestor: RCA)

複数の被験者の共通の先祖の単一染色体から由来し、各被験者に共有されている染色体領域を共通先祖由来領域という (図 2A). 共通先祖由来領域では、各被験者は同一の断片を片方または両方の相同染色体上に有する。そのため、この領域では、各被験者は共通のホモ接合ハプロタイプを有することになる。逆に、被験者が同一のホモ接合ハプロタイプを有する領域があった場合、その領域は共通先祖由来領域である

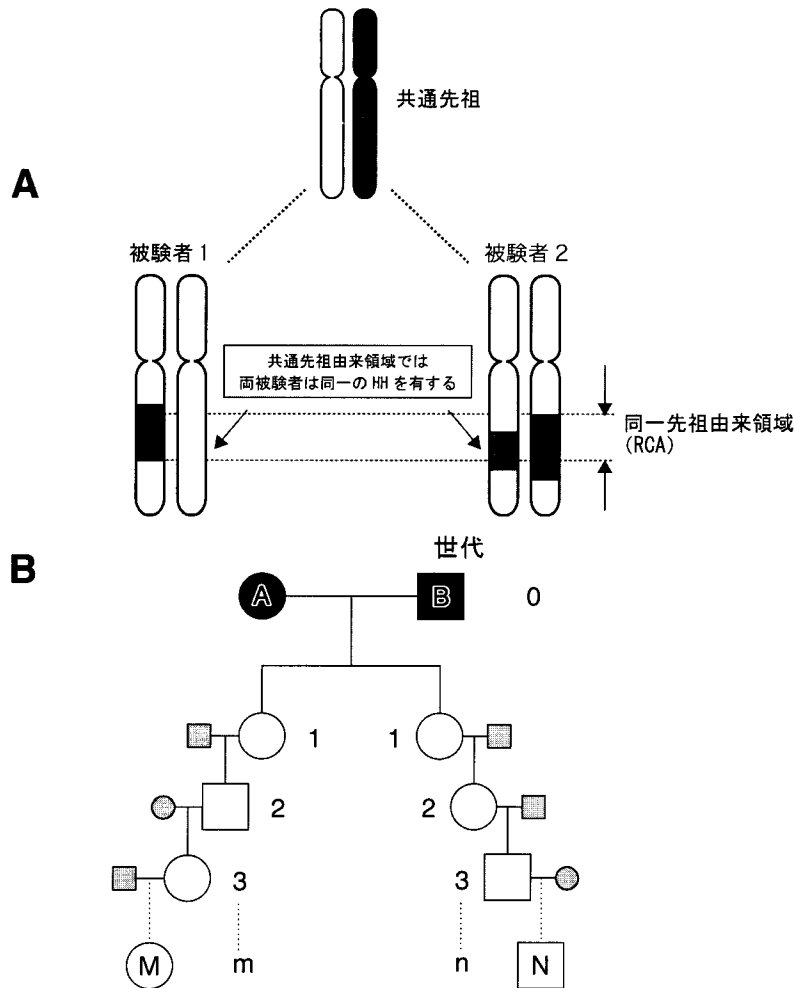


図 2 共通先祖由来領域 (RCA) 共通先祖由来領域の定義。灰色領域は単一の共通先祖由来の領域。近親婚のある場合、相同染色体の両方に断片が存在する可能性がある (A)。モデル家系。A と B は共通先祖。M と N は共通先祖から m , n 世代下流の子孫。直接子孫は白図形、それらの配偶者は灰色図形で示す (B)。

可能性がある。

共通先祖由来領域の平均長は、世代を追って短くなる。これは減数分裂時の染色体交叉が原因である。図 2B は共通先祖 A, B を有するモデル家系である。2 名の子孫 M, N は、それぞれ共通先祖から m 世代, n 世代目の子孫である。家系中の各直系子孫の配偶者 (図中灰色で示す) が A, B の子孫ではないと仮定した場合, M, N における A, B 由来の共通先祖由来領域の全長の全相同染色体長に対する割合 $RCA(m, n)$ は、以下の式で表される。

$$RCA(m, n : m \geq n) = \begin{cases} 2^{-m+1} & m \geq 1, n = 0 \\ \frac{3}{4} & m = 1, n = 1 \quad (\text{式 1}) \\ 2^{-m-n+2} & \text{otherwise.} \end{cases}$$

式 1 の導出に関しての詳しい解説は補遺を参照のこと。 $RCA(1, 0)$ が 1 となることに注意されたい。これは、親と子供 (すなわち $m=1, n=0$) は、常染色体全長に亘ってホモ接合ハプロタイプが同一となることを示している。

染色体交叉モデルとデータ解析

われわれは染色体交叉モデルとして、Haldane の Poisson 過程モデル¹⁰⁾ を使用し、全ての計算をこのモデルに基づいて行った。このモデルは、1 cM 遺伝距離がある場合、1 回の減数分裂で 1% の確率でその領域で交叉が起こるとする古典的なモデルである。このモ

デルに従うと、交叉間の距離は指数分布に従い、交叉の数は Poisson 分布に従うことになる。500 K GeneChips Mapping Array Set (Affymetrix 社) で使用されている SNP に関するデータは、GeneChip annotation files (6/15/2006 版: see Affymetrix のウェブサイトから入手) を使用した。このファイルに記載の各 SNP の各染色体単腕断端からの遺伝距離は、deCODE genetics 発表の、両性の平均データ¹¹⁾ から補間計算されたものである。ホモ接合保存領域の遺伝長は、両端のヘテロ接合の比較可能 SNP 間の遺伝距離として計算した。

解析は、GeneChip に使用されている SNP のうち、dbSNP データベースの refID (Genbank のウェブサイトを参照) を有する SNP 492,554 個を対象として施行した。プログラムは C 言語で作成し、GNU C コンパイラ 4.0 版 (GNU コンパイラコレクションウェブサイト参照) でコンパイルした。

ホモ接合ハプロタイプ保存領域, 偽陰性, A 型偽陽性, B 型偽陽性

共通先祖を有する 2 名の被験者が同一の疾患を有している場合、同一先祖由来領域に疾患遺伝子が存在する可能性がある。多くの同一先祖由来領域はホモ接合ハプロタイプ保存領域に包含されていると考えられるため、ホモ接合ハプロタイプ保存領域を同定することにより疾患遺伝子の候補領域を同定しようとした。前記のように、ホモ接合ハプロタイプ保存領域

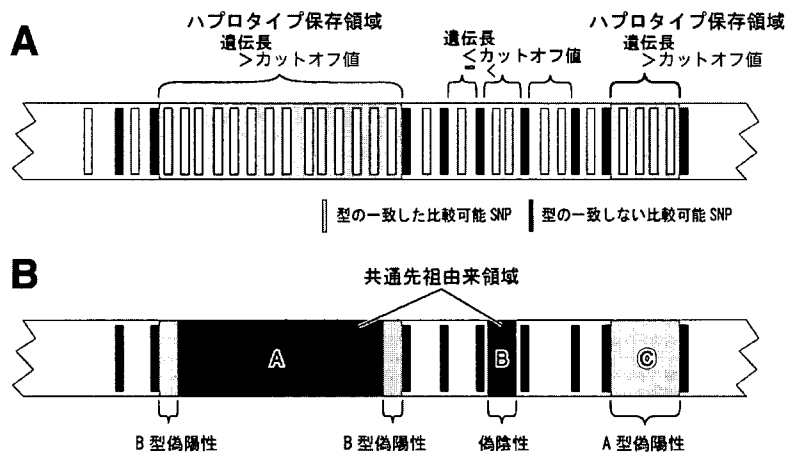


図 3 ホモ接合ハプロタイプ保存領域, 偽陰性, A 型偽陽性, B 型偽陽性
 ホモ接合ハプロタイプ保存領域の検出。ホモ接合ハプロタイプ保存領域はカットオフ値より長い遺伝長を有する (A)。ホモ接合ハプロタイプ保存領域と共通先祖由来領域の関係。共通先祖由来領域を濃い灰色で、ホモ接合ハプロタイプ保存領域を薄い灰色で示す。3 種の過誤を定義している。

は同一遺伝型を有する比較可能 SNP の連続する領域であり、またその遺伝長はカットオフ値以上である (図 3A)。多くのホモ接合ハプロタイプ領域は同一先祖由来領域を含んでいるが、あるものは含んでいない。それらの割合を計算するため、まず我々は 3 種の過誤を定義した (図 3B)。偽陰性：同一先祖由来領域でホモ接合ハプロタイプ保存領域に含まれていないもの。A 型偽陽性：ホモ接合ハプロタイプ保存領域で同一先祖由来領域を含んでいないもの。B 型偽陽性：ホモ接合ハプロタイプ保存領域と、それが包含する同一先祖由来領域との間の隙間。これらの 3 種の過誤を計算する式に関しては補遺を参照のこと。まず解析を開始する前に、我々は全常染色体長に対するこれらの過誤の割合を、カットオフ値を変えてそれぞれ計算した。そして、これらの過誤の影響が最小となるカットオフ値を以後の解析に使用した。

被 験 者

この研究は、埼玉医科大学の倫理委員会によって承認されたものである。全ての DNA サンプルは、インフォームドコンセントを取得した後に、被験者の末梢血を採取し、そこから精製した。Marfan 症候群の患者を多数有する家系、及び 46 名の互いに親戚関係のない被験者について SNP 遺伝型を決定した。さらに、Affymetrix のウェブサイトが開示されている、国際ハップマッププロジェクトに参加した 45 名の互いに親戚関係のない被験者の SNP 遺伝型 (各人平均 199,400 個の SNP が 0.05 以下の confidence 値を有して使用可能) を使用した。

SNP 遺伝型の決定

全ゲノムレベルの SNP 遺伝型の決定は、500 K GeneChips Mapping Array Set (the GeneChip Human Mapping 250 K Nsp Array と the GeneChip Human Mapping 250 K Sty Array の 2 枚のアレイから成る) (Affymetrix) の 1 枚のアレイまたは 2 枚両方を使用して行った。以後 the 500 K GeneChips Mapping Array Set を 500 k GeneChip と、the GeneChip Human Mapping 250 K Nsp Array を 250 k GeneChip と記載する。Marfan 症候群の解析には 500 k GeneChip を使用した。多因子疾患モデルの解析は 250 k GeneChip

で行った。

患者プール

共通先祖由来領域を共有する患者の SNP 遺伝型データは、各患者の SNP 遺伝型データの一部を、この研究で共通先祖と規定した特定の患者の SNP 遺伝型データと置き換えて作成した。置換データの長さ (x) は、

$$f(x) = \lambda e^{-\lambda x} \quad \lambda = \frac{m}{100}(cM^{-1}), \quad (\text{式 } 2)$$

の確率密度関数を有する指数関数分布に従う乱数から無作為に抽出した。

統計解析

ホモ接合ハプロタイプ保存領域を共有する被験者の数を「患者群」と「対照群」とで比較した。ここで x_1 をハプロタイプ保存領域を共有する「患者群」被験者数、 x_2 をハプロタイプ保存領域を共有する「対照群」被験者数、 $\hat{p}_1^* = \frac{x_1 + 0.5}{n_1 + 1}$ 、 $\hat{p}_2^* = \frac{x_2 + 0.5}{n_2 + 1}$ 、 $\hat{p}^* = \frac{x_1 + x_2 + 0.5}{n_1 + n_2 + 1}$ とした場合、

$$u_0 = \frac{\hat{p}_1^* - \hat{p}_2^*}{\sqrt{\hat{p}^*(1 - \hat{p}^*)\left(\frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2}\right)}}$$

が標準正規分布に従うとして P 値を計算した。 P 値の値は、

$$P = \int_{u_0}^{\infty} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2}} dx$$

で算出した。

結 果

Marfan 症候群家系解析

ホモ接合ハプロタイプの家系解析における有用性を、多数の Marfan 症候群を有する大家系を対象として検討した。Marfan 症候群は全身の結合組織の異常を主徴とする常染色体優性遺伝疾患で、染色体 15 番 q21.1 に存在する fibrillin-1 遺伝子 (FBN-1) または染色体 3 番 p24.2 に存在する TGF- β 2 型受容体遺伝

子の異常が原因であることが知られている¹²⁾。対象家系は既に検索が行われた家系で、6名の有症状患者と3名の無症候保因者が、FBN-1の1879C>T (R627C)変異をヘテロ接合で有していることが分かっている(図4A)。被験者I-1は、この疾患遺伝子に関して、対象家系の共通先祖と考えられる。解析に当たり、我々は以下の2つの疑問を解決することにした。(i) ホモ接合ハプロタイプは6名の有症状患者データよりFBN-1遺伝子存在領域を同定できるか。(ii) さらに3名の無症候保因者のデータを加えることにより、存在領域をさらに狭めることができるか。

解析に先立ち、我々はSNP遺伝型解析データの正確度に関して検討した。式1より、親子間ではホモ接合ハプロタイプは同一になるので、両者間の型の一致

した比較可能SNPと全比較可能SNPの比は、SNP遺伝型決定の正確度を反映するはずである。我々は、3ペアの被験者II-1とIII-4、II-3とIII-1、II-5とIII-3に関して検討した。GeneChip解析では、各SNPの遺伝型はconfidence値と共に出力される。confidence値が低いほど正確な遺伝型と考えられる。3被験者ペアでの比較可能SNPの遺伝型の一致率を図4B及び4Cに示した。このデータより、confidence値のカットオフ値として0.05を使用することにした。

次に我々は、ホモ接合ハプロタイプ保存領域を定義するためのカットオフ値(以後ホモ接合ハプロタイプ保存領域カットオフ値と記載)を決定した。図4Dはホモ接合ハプロタイプ保存領域カットオフ値と3種の過誤との関係を示したものである。我々はカット

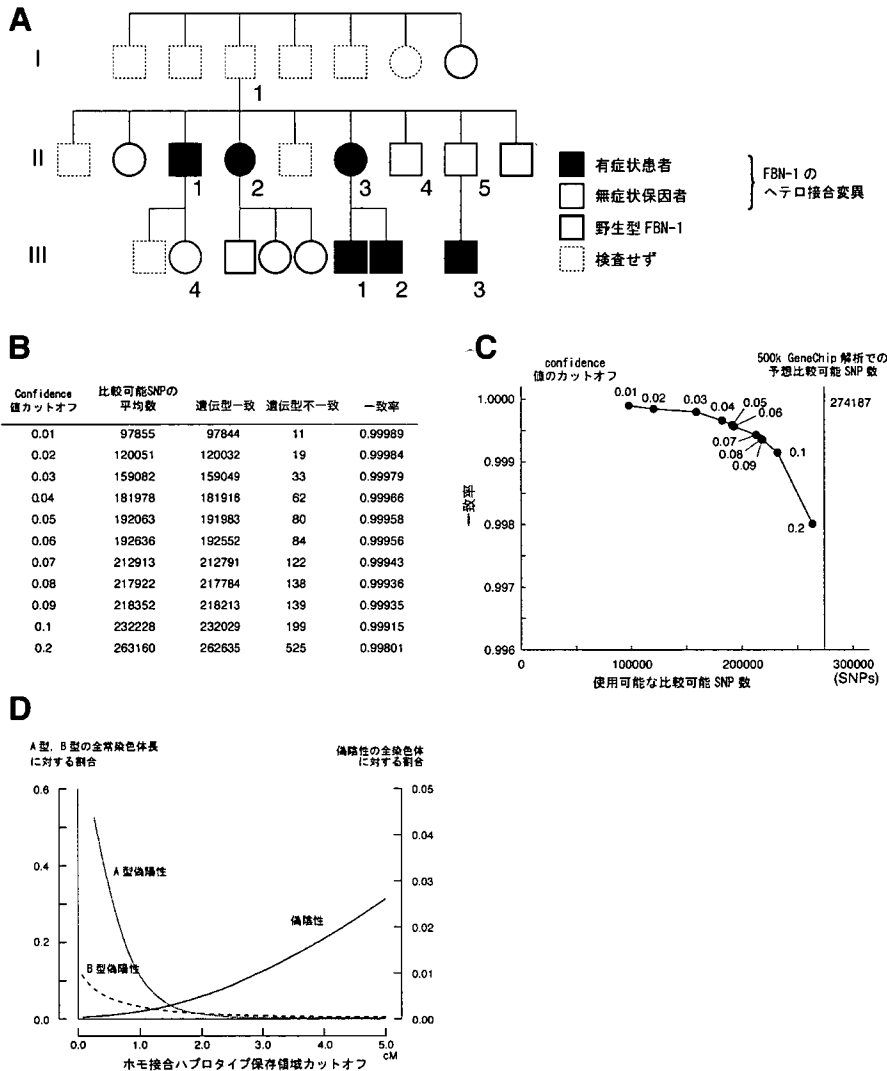


図4 GeneChipデータの正確度

Marfan 症候群家系 (A), confidence カットオフ値と一致割合 (B), (B) の図示 (C), 世代 III の 2 名の被験者間での偽陰性と、A 型偽陽性、B 型偽陽性の平均値の全常染色体領域に対する割合を、各種ホモ接合ハプロタイプ保存領域カットオフ値に対して図示した (D)。

オフ値として 3.0 cM を採用した。なぜなら、この値では A 型および B 型偽陽性率が低く、同時に偽陰性率も許容範囲と考えられたからである。

そして 6 名の有症状患者の解析を行った。その結果を図 5 に段階を追って示した。被験者 II-3 と III-1 は親子であり、ホモ接合ハプロタイプ保存領域は常染色体領域全体を占めている (図 5A)。II-1 と II-2 は兄弟で、ホモ接合ハプロタイプ保存領域は常染色体全域の 81% を占めている (式 1 からの予測値は 75%) (図 5B)。II-2 と III-1 は叔母と姪で、ホモ接合ハプロタイプ保存領域は 56% を占めている (予測値 50%) (図 5C)。III-2 と III-3 はいとこ同士で、ホモ接合ハプロタイプ保存領域は 39% を占めている (予測値 25%) (図 5D)。全有症状患者に共通のホモ接合ハプロタイプ保存領域を図 5E に示す。補遺表 1 より、共通先祖由来領域の 96% がこの全有症状患者に共通のホモ接合ハプロタイプ保存領域に含まれると計算され、実際に全有症状患者に共通のホモ接合ハプロタイプ保存領域は

FBN-1 を含んでいた (図 5E)。無症候性保因者 (II-4, II-5 および III-4: 図 4A) を加えることにより、共通のホモ接合ハプロタイプ保存領域をさらに狭めることが可能であった (図 5F)。これらの結果は、ホモ接合ハプロタイプ解析が大家族解析において効率的、直感的な手法であることを示すものである。

多因子疾患シミュレーション

多因子疾患は、固有の遺伝学的構造を有している。あるものは臨床的に区別がつかない複数の単因子疾患の集合体である。あるものでは症状の発現に複数の遺伝子の共同作用が必要となる¹³⁾。いずれの場合でも、一部の患者は共通の祖先由来の疾患遺伝子を共有している可能性がある。

多因子疾患解析におけるホモ接合ハプロタイプの有用性を検証するため、我々は図 6A に示すモデル疾患で検討を行った (図 6A)。ここでは、SNP rs16823424

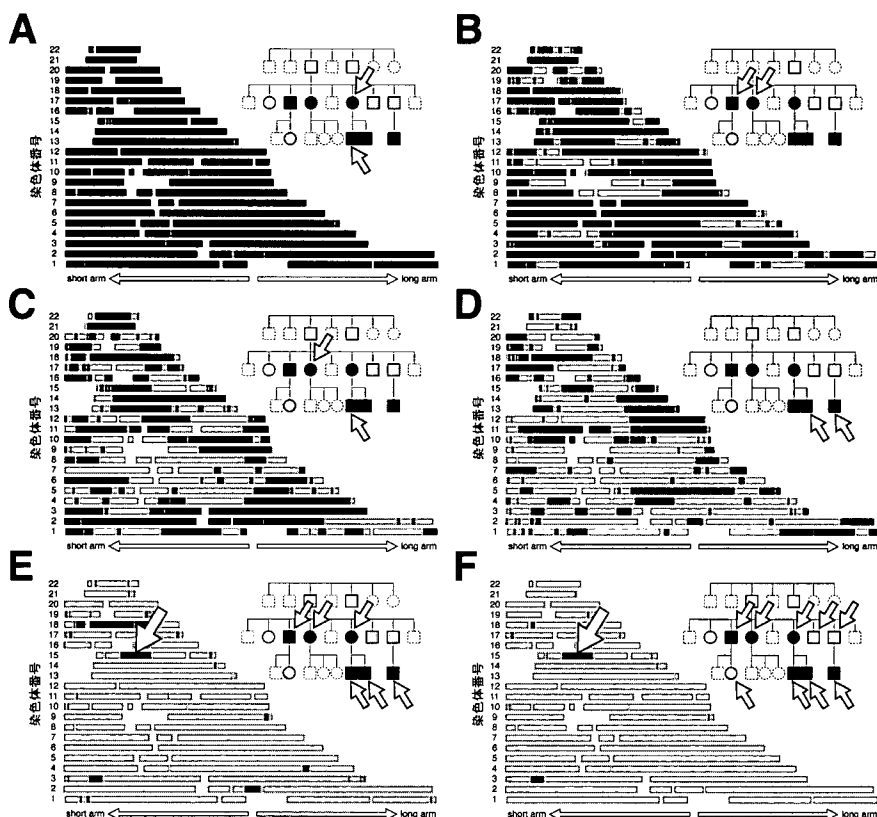


図 5 家系解析

Marfan 症候群家系における疾患遺伝子候補領域の同定。ホモ接合ハプロタイプ保存領域は黒で、他の常染色体領域は灰色で示してある。矢印で示した親子のホモ接合ハプロタイプ保存領域 (A)。矢印で示した同胞のホモ接合ハプロタイプ保存領域 (B)。叔母、姪のホモ接合ハプロタイプ保存領域 (C)。いとこ間のホモ接合ハプロタイプ保存領域 (D)。全疾患患者のホモ接合ハプロタイプ保存領域。FBN-1 遺伝子は 大矢印で示したホモ接合ハプロタイプ保存領域に位置する (E)。FBN-1 遺伝子変異を有する 9 名全員のホモ接合ハプロタイプ保存領域 (6 名の有症状者と 3 名の無症候性保因者) (F)。黒帯: ホモ接合ハプロタイプ保存領域。各図の横の番号は染色体番号である。