

自己免疫性膵炎と膵管癌

研究報告者 吉田 仁 昭和大学医学部内科学講座消化器内科学部門 講師

共同研究者

田中滋城, 岩田朋之, 山崎貴久, 湯川明浩, 野本朋宏, 本間 直, 北村勝哉, 今村綱男,
池上覚俊, 井廻道夫 (昭和大学医学部内科学講座消化器内科学部門)

【研究要旨】

転帰・予後が良好と考えられていた自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis: AIP) の症例に、近年、再燃や膵癌・胆管癌の合併が報告されている。関連施設や当施設でも AIP 2 症例に膵管癌合併がみられ、AIP は膵管癌を高率に合併する可能性が推測される。Case 1 は 79 歳女性、prednisolone (PSL) 少量維持投与中に AIP が再燃し 4 年後に膵管癌を合併した。Case 2 は 67 歳男性、AIP 6 年半経過後 3 度目の黄疸が出現し膵管癌の合併が推定された。AIP 動物モデルである *aly/aly* 雄性マウス 48 週齢個体の膵組織内で 2 型 helper T 細胞 (Th2) cytokine である interleukin-4 (IL-4) が増加し Th2 の浸潤が優位になるとの筆者らの既報成績と、他臓器悪性腫瘍で Th2 優位性が報告されていることを併せて、AIP 膵への Th2 浸潤の優位性と膵管癌の合併との関連性の存在を推定し、自験例をもとに AIP と膵管癌との関連性を検討した。

Case 1 では膵管癌周囲に多数の CD4⁺ T 細胞浸潤を認め、Case 2 では小葉間導管周囲のリンパ球・形質細胞主体の細胞浸潤や閉塞性静脈炎など AIP に相当する所見に高分化型管状腺癌の合併を認めた。ともに、膵管癌近傍には IgG4⁺ 形質細胞は認められず、膵管癌周囲には多数の CD4⁺ T 細胞浸潤を認めた。さらに 2 例とも血清 IL-4 値が基準値を超えていたことと併せて、AIP における Th2 と膵管癌合併との関連性が示唆された。

A. 研究目的

自己免疫性膵炎 (AIP) の治療には prednisolone (PSL) が有効で、PSL に抵抗性を示す AIP 症例は少なく転帰・予後ともに良好であると考えられていた。しかし、筆者らは AIP が PSL 投与中にも投与終了後にも再燃することを発表し報告した¹⁾。また、われわれは AIP 発症から 4 年後に膵癌が合併した 1 症例 (Case 1) を発表した¹⁾他施設からも AIP に膵癌を合併した症例が発表され^{2,3)}、本邦を中心に近年、膵癌合併 AIP 症例が報告されている⁴⁾。

以前、同研究班で報告し⁵⁾、後に上梓した⁶⁾ AIP 膵組織中の cytokines の推移を振り返ると、AIP 動物モデルである *aly/aly* 雄性マウス^{7,8)} では膵組織内 interferon- γ (IFN- γ) 活性が発症早期に一過性に増加を呈したのに対し、interleukin (IL-4) 活性は 2 峰性に増加し、組織学的に AIP の活動性とは無関係に IL-4 活性、つまり 2 型 helper T 細胞 (Th2) が有意に浸潤する可

能性を推定した (図 1^{5,6)})。

そこで、他臓器癌で 1 型 helper T 細胞 (Th1)/Th2 balance が発癌や癌細胞の増殖・進展に関与する可能性があるか否かを検索したところ、諸家らによる報告が散見された⁹⁻¹²⁾。ヒト結腸癌では interleukin-2 (IL-2) 術前投与により、粘膜固有層に Th1 cytokine: IFN- γ が増加し Th2 cytokine: IL-4 が減少する⁹⁾。4-Nitroquinoline-1-oxide 誘発性 SD ラット舌扁平上皮癌では、優位な浸潤細胞は Th1 \rightarrow Th2 への shift が認められる¹⁰⁾。ヒト肝硬変合併肝細胞癌における肝動注化学療法 of progressive disease (PD) 群では、末梢血の CD4⁺ T 細胞中 cytokines 分析で Th2 分画が上昇する¹¹⁾。Pine (松穂) の抽出成分である polyphenylpropanoid-polysaccharide complex (PPC) により、IL-4 は減少し IFN- γ は増加し Th1/Th2 balance が Th1 優位になる。PPC は electrochemotherapy との併用療法で悪性黒色

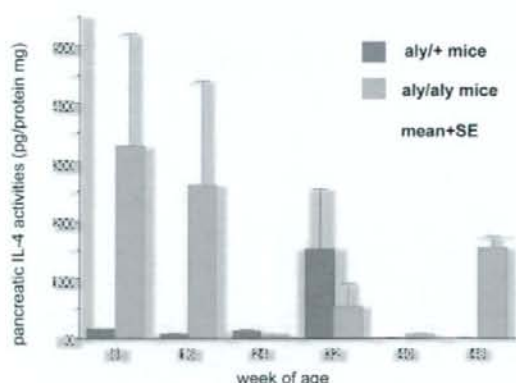


図1 AIPモデルマウス(aly/aly)における膵ホモジネートのIL-4活性の推移

腫モデルマウスの tumor volume を抑制し、melanoma cells の増殖が Th2 優位性と関連することが推定された¹²⁾。以上、各種癌では Th1/Th2 balance が Th2 優位となり化学療法・免疫療法によりの Th1 優位性が誘導されることが考えられ、AIP においても Th2 優位性と膵管癌合併との関連性が推定される。

本研究では、AIP において膵管癌合併が、この helper T 細胞 balance の Th2 への shift と関連する可能性について検討した。

B. 研究方法

人権擁護、倫理面への配慮として、ヘルシンキ宣言に準じ対象 AIP 症例の健康と権利を擁護し AIP の概念と診療を十分に説明し、当施設で診療した患者については本学承認の書面“消化器疾患における寄生体および遺伝子解析等に関する研究のための血液、組織等の資料提供のお願い”にて同意が得られた患者に対して採血・膵生検・手術を施行した。

膵管癌合併 AIP 症例：Case 1・Case 2 より採取した静脈血を 3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上清分画つまり血清中の IFN- γ 、高感度 IL-4 濃度を、各々 enzyme immunoassay (EIA)、化学発光酵素免疫測定法：chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) で測定した。

血清 IFN- γ 値の測定：

ヒト IFN- γ ELISA キット (BIOSOURCE EUROPE S. A./ (株) テイエフビー：西池袋) を用いて行った。

→検体・blank・standard を、同量 50 μ L の抗 IFN- γ HRP Conjugate とともに室温で 2 時間、monoclonal 抗体固相化プレートにて反応させた。

→発色基質液 200 μ L と室温で 15 分間反応させた。

→450 nm で吸光度を測定し、算出した。

血清 IL-4 値の測定：

1 次抗体固相に、抗 IL-4 抗体 (BD Pharmingen/日本 BD 社：赤坂) と blocking 溶液とを分注し、検体・blank・standard を sampling した。

→2 次抗体 (BD Pharmingen/日本 BD 社)、alkaline phosphatase (ALP) 標識 streptavidin-biotin 溶液を添加し、発光基質溶液 (TROPIX 社/日本ロッシュ：芝) を分注し反応させた。

→LB-96 (VEG&G BERHOLD：柳橋) を用いて発光強度を測定した。

C. 研究結果

1. 血清 cytokine 値

Case 1 では、血清 IFN- γ 値は ≤ 0.1 (基準値 ≤ 0.1 IU/mL) と正常範囲内であり、高感度 IL-4 値は 7.6 (基準値 ≤ 6.0 pg/mL) と高値を呈していた。

また、Case 2 では、血清 IFN- γ 値は ≤ 0.1 (基準値 ≤ 0.1 IU/mL) と正常範囲内であり、一方、高感度 IL-4 値は 6.3 (基準値 ≤ 6.0 pg/mL) と基準値を超えていた。

2. 病理組織学的検討

Case 1 の切除膵(術式：膵体尾部切除術)は、AIP 発症より 4 年後の膵管癌合併であり、病理組織学的に乳頭状腺癌を呈した。膵管癌のほか炎症細胞浸潤や線維化を伴っていた。膵炎領域は IgG4⁺ 形質細胞浸潤 (Figure は示さない) や閉塞性静脈炎像を呈し、AIP の再燃と考えられた。

また、Case 2 は当施設受診の 6 年半ほど前より膵頭部主体の AIP が発症し、閉塞性黄疸のため胆管に 2 度にわたり metallic stent を留置されている。受診時膵管癌の十二指腸浸潤に加え遠隔転移が疑われ根治手術の適応がなかったため、胆嚢摘出・総肝管十二指腸吻合・胃空腸吻合術(姑息的手術)を施行し膵生検を施行し

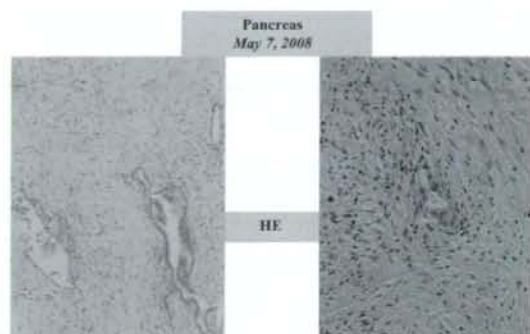


図2 Case 2(67M): 膵組織

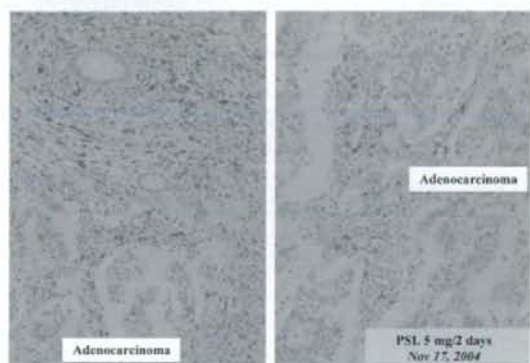


図3 Case 1(79F): 膵組織中の CD4⁺ T 細胞

た。組織学的には腺管構造から一部小蜂巣を形成し増殖浸潤する高分化型管状腺癌を呈した。膵炎領域には線維化に加え IgG4⁺ 形質細胞浸潤 (Figure は示さない) や閉塞性静脈炎像を伴い、AIP に矛盾しない所見を認めた (図2)。

Case 1 では、膵管癌近傍には著明な CD4⁺ T 細胞浸潤を認めた (図3)。CD8⁺ T 細胞浸潤もみられたが、CD4⁺ T 細胞と比較し少なかった (図4)。また、Case 1・Case 2 ともに、IgG4⁺ 形質細胞は膵管癌周囲にはほとんど認められなかった。

D. 考察

本研究によれば、

Case 1: AIP 発症 4 年後の膵管癌合併例では、CD8⁺ に比較し CD4⁺ T 細胞が癌周囲に優位に浸潤していた。また、Case 1 および Case 2: AIP 発症後約 6 年半以内に膵管癌合併が推定された 67 歳の男性例では、ともに IgG4⁺ 形質細胞の癌周囲への浸潤は少なかった。

Th1 cytokine である IFN- γ は血清濃度が基

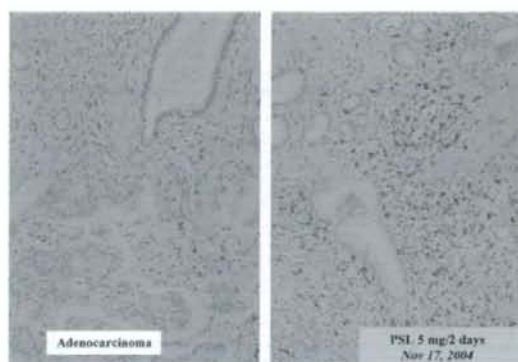


図4 Case 1(79F): 膵組織中の CD8⁺ T 細胞

準値を呈し、一方、Th2 cytokine である IL-4 は血清濃度が基準値を超過していた。

本研究で得られた研究成績の要点である

1) 膵組織像において AIP に合併する膵管癌近傍に浸潤する CD4⁺ T 細胞、

2) 膵管癌合併 AIP 症例の血清 IL-4 値の増加を併せると、研究背景・目的で示した

“AIP では、Th1/Th2 balance が Th2 に shift すると膵管癌を合併する可能性がある。”

という仮説に矛盾せず、膵管癌合併 AIP の 2 症例に関する本研究の成績は、既報の各種癌での Th2 優位性^{9~12)}を後押しする結果であった。

しかし、なお膵管癌非合併 AIP あるいは AIP 非合併膵管癌の膵組織中 CD4⁺ T 細胞・CD8⁺ T 細胞・IgG4⁺ 形質細胞さらには各種 cytokine の検討や、aly/aly 雄性マウス・aly/+ 雄性マウスにおける膵 cytokine の免疫組織化学的な検討など多くの研究課題を残している。

E. 結論

1. AIP の膵管癌合併に CD4⁺ T 細胞の関与が示唆された。

2. Th1/Th2 balance の Th2 への shift が膵管癌合併に関連する可能性が推察されるが、AIP 非合併膵管癌や膵管癌非合併 AIP における Th1/Th2 balance など詳細な検討が必要である。

【謝辞】

本学医学部消化器・一般外科 向井聖士郎、大山 祥、草野満夫

戸塚共立第 2 病院外科 福島元彦

田園調布中央病院消化器科外科 星野光典
本学医学部第一病理学 齊藤光次, 伊達由
子, 諸星利男(敬称略)
本研究にご協力いただいた上記の先生方に心
より御礼申し上げます。

F. 参考文献

1. 田中滋城, 吉田 仁, 新川淳一, 池上覚俊, 北村勝哉, 本間 直, 山崎貴久, 井廻道夫, 今村綱男. 自己免疫性膵炎の治療指針の検討と長期予後調査. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究 平成17年度 総括・分担研究報告書(主任研究者 大槻眞) 2006; 217-220.
2. 本杉宇太郎, 中島寛人, 市川智章, 曹 博信, 大久保敏之, 荒木 力, 板倉 淳. 自己免疫性膵炎に合併した微小膵癌の1例. 日獨医報 2002; 47: 441(抄録).
3. 別宮 檀, 品川 孝, 太和田勝之, 金 晋年, 飯野康夫, 宇梶晴康, 一戸 彰. 経過中に膵癌を合併した自己免疫性膵炎の1例. 千葉医学 2003; 79: 124(抄録).
4. Fukui T, Mitsuyama T, Takaoka M, Uchida K, Matsushita M, Okazaki K. Pancreatic cancer associated with autoimmune pancreatitis in remission. Intern Med 2008; 47: 151-155.
5. 三田村圭二, 吉田 仁, 田中滋城, 新川淳一. 自己免疫性膵炎における膵細胞傷害とサイトカインの動態. 厚生労働科学研究費補助金 特定疾患対策研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究 平成14年度研究報告書 総括・分担研究報告書(主任研究者 大槻眞) 2003; 189-193.
6. 吉田 仁, 田中滋城, 山崎貴久, 湯川明浩, 本間 直, 北村勝哉, 粟井俊成, 塙 勝博, 今村綱男, 池上覚俊, 井廻道夫. 自己免疫性膵炎の疾患モデルと免疫異常—aly/aly 雄性マウスを用いた病態の解明—. 最新医学 2007; 62: 1925-1934.
7. 吉田 仁, 田中滋城, 三田村圭二. 自己免疫性膵炎動物モデル. 肝胆膵 2001; 43: 179-187.
8. 吉田 仁, 田中滋城, 三田村圭二. 自己免疫性膵炎自然発症動物モデルを用いて. 土岐文武・岡崎和一 編. 自己免疫性膵炎概念と病態 up-to-date. 東京 診断と治療社 2001; 67-77.
9. Gianotti L, Sargenti M, Galbiati F, Nespoli L, Brivio F, Rescigno M, Nespoli A. Phenotype and function of dendritic cells and T-lymphocyte polarization in the human colonic mucosa and adenocarcinoma. Eur J Surg Oncol 2008; 34: 883-889.
10. Jiang C, Ye D, Qiu W, Zhang X, Zhang Z, He D, Zhang P, Chen W. Response of lymphocyte subsets and cytokines to Shenyang prescription in Sprague-Dawley rats with tongue squamous cell carcinomas induced by 4NQO. BMC Cancer 2007; 7: 40.
11. 永井英成, 石井耕司, 宮木大介, 松井哲平, 金山政洋, 樋上勝也, 初山浩一, 高村尚子, 池原孝, 松丸克彦, 渡邊学, 住野泰清, 三木一正. 肝動注化学療法を導入した多発性進行肝癌合併肝硬変症例における末梢血中 CD4 陽性 T リンパ球分画の検討. 肝臓 2007; 48 suppl 1: A146.
12. Jaroszeski MJ, Heller R, Johnson AC, Merkler K, Tanaka A, Bradley WG. Extract of pinecones augments tumor response to electrochemotherapy. 2006 AICHe Annual Meeting (Abstract).

G. 研究発表

1. 論文発表

雑誌

- 1) 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 山崎貴久, 湯川明浩, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎における immunonutrition. 小児外科 2008; 40: 937-940.
- 2) Yamazaki T, Yoshida H, Honma T, Ikegami A, Niikawa J, Tanaka S, Awai T, Yukawa A, Kitamura K, Hanawa K, Imamura T, Imawari M. Regeneration after Two Types of Rat Acute Pancreatitis Compared with Human Autoimmune Pancreatitis. Showa Univ J Med Sci 2008; 20: 161-177.
- 3) 信澤 宏, 橋本東児, 扇谷芳光, 後関武彦, 松井青史, 吉田 仁, 田中滋城, 北村勝哉, 池上覚俊, 井廻道夫, 久島巳樹. 自

己免疫性膵炎の膵胆道外病変. 日獨医報 2008; 53: 357-368.

- 4) 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 山崎貴久, 湯川明浩, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎に対する synbiotics 療法の試み. *Digestion & Absorption* 31; 76-80: 2008.
- 5) 今村綱男, 小泉優子, 小山里香子, 奥田近夫, 竹内和男, 松田正道, 橋本雅司, 渡邊五朗, 吉田 仁, 井廻道夫. 通常型膵管癌に対する膵管洗浄液細胞診の有用性~胆膵領域の新たな検体採取方法. *Gastroenterol Endosc* 2009; 51: 84-90.

書籍

- 1) 吉田 仁, 北村勝哉, 井廻道夫. 前処置・Sedation (鎮静薬の適切な使い方など). 糸井隆夫. 胆膵内視鏡の診断・治療の基本手技. 東京. 羊土社. 2008; 33-37.

2. 学会発表

- 1) 吉田 仁, 田中滋城, 井廻道夫. 動物モデル *aly/aly* 雄性マウスを用いた自己免疫性膵炎における胆管病変の解明. 第94回日本消化器病学会総会. 福岡. 2008年5月8日.
- 2) 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 山崎貴久, 湯川明浩, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 重症急性膵炎とメタボリック症候群の関連性. 第94回日本消化器病学会総会. 福岡. 2008年5月8日.
- 3) 北村勝哉, 吉田 仁, 井廻道夫. 当施設における ERCP 後膵炎の現状—予防と対策. (主題: パネルディスカッション7. ERCP 後膵炎の予防と対策). 第75回日本消化器内視鏡学会総会. 横浜. 2008年5月26日.
- 4) 吉田 仁. 膵炎~基礎と今日の診療~. 第1回北東京消化器病研究会. 東京. 2008年6月21日.
- 5) Yoshida H, Tanaka S, Mukai S, Fukushima M, Hoshino M, Kusano M, Yamazaki T, Yukawa A, Honma T, Kitamura K, Imamura T, Ikegami A, Imawari M. Is there possibility that pancreatic ductal carcinoma

is associated with infiltration of CD4-positive T cells in autoimmune pancreatitis (AIP)?—A case report of pancreatic ductal cancer with AIP—. *Autoimmune Pancreatitis Summit 2008 (AIP Summit 2008)*. Seoul. 2008年7月5日.

- 6) 野本朋宏, 吉田 仁, 山崎貴久, 湯川明浩, 北村勝哉, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 肝内胆管癌を合併し胆管に穿破した主膵管型 IPMN の1例. 第300回日本消化器病学会関東支部例会. 東京. 2008年7月5日.
- 7) 吉田 仁, 田中滋城, 岩田朋之, 山崎貴久, 湯川明浩, 野本朋宏, 本間 直, 北村勝哉, 今村綱男, 池上覚俊, 井廻道夫. 自己免疫性膵炎と膵管癌. [6] 自己免疫性膵炎—各個研究. 平成20年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班第1回打ち合わせ会. 東京. 2008年7月15日.
- 8) 吉田 仁, 池上覚俊, 北村勝哉, 山崎貴久, 湯川明浩, 野本朋宏, 田中滋城, 今村綱男, 本間 直, 井廻道夫. 分枝型 IPMN の膵管癌合併例を考慮した経過観察. 第39回日本膵臓学会大会. 横浜. 2008年7月30日.
- 9) 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 山崎貴久, 湯川明浩, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 胆石性急性膵炎における膵液胆道逆流現象—急性胆道炎との比較. 第39回日本膵臓学会大会. 横浜. 2008年7月31日.
- 10) 北村勝哉, 吉田 仁, 本間 直, 山崎貴久, 湯川明浩, 池上覚俊, 田中滋城, 井廻道夫. 性差からみた重症急性膵炎の合併症と予後. 第16回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2008 Tokyo): 第50回日本消化器病学会大会. 東京. 2008年10月3日.
- 11) 吉田 仁, 田中滋城, 向井聖士郎, 富永幸治, 福島元彦, 草野満夫, 山崎貴久, 湯川明浩, 本間 直, 北村勝哉, 今村綱男, 池上覚俊, 井廻道夫. 自己免疫性膵炎のステロイド治療と再燃と予後. 第16回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2008 Tokyo):

第50回日本消化器病学会大会，東京，
2008年10月3日。

- 12) 北村勝哉，吉田 仁，井廻道夫。重症急性膵炎に対する経腸栄養のアプローチ(主題：ワークショップ18。機能性食品や薬物を用いた栄養代謝制御の試み：消化吸収学会・消化器病学会合同)，第16回日本消化器関連学会週間(JDDW 2008 Tokyo)：第50回日本消化器病学会大会・第39回日本消化吸収学会総会，東京，2008年10月4日。
- 13) 北村勝哉，吉田 仁，井廻道夫。胆石性急性膵炎における緊急ERCP(主題：パネルディスカッション21。救急医療における内視鏡診療：消化器内視鏡学会・消化器病学会合同)，第16回日本消化器関連学会週間(JDDW 2008 Tokyo)：第50回日本消化器病学会大会・第76回日本消化器内視鏡学会総会，東京，2008年10月4日。
- 14) 吉田 仁，田中滋城，岩田朋之，山崎貴久，湯川明浩，野本朋宏，本間 直，北村勝哉，今村綱男，池上寛俊，井廻道夫。自己免疫性膵炎と膵管癌。〔6〕自己免疫性膵炎—各個研究。平成20年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班第2回研究報告会。東京，2009年1月23日。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許所得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

Ⅳ. 腭嚢胞線維症

1) 共同研究プロジェクト

第4回腭嚢胞線維症全国疫学調査(共同研究)

研究報告者 成瀬 達 三好町民病院・院長

共同研究者

石黒 洋（名古屋大学大学院健康栄養医学）、吉村邦彦（国家共済虎の門病院呼吸器センター内科）
辻 一郎（東北大学大学院公衆衛生学）、栗山進一（東北大学大学院公衆衛生学）
菊田和宏（東北大学大学院消化器病態学）、下瀬川徹（東北大学大学院消化器病態学）

【研究要旨】

わが国における腭嚢胞線維症の症例数を把握し、臨床経過を明らかにするために、第4回全国疫学調査を立案した。2010年1月に、全国基幹病院(400床以上)の小児科に、2009年1年間および過去10年間の患者の有無と症例数を問い合わせる。「症例有り」と回答した施設、過去10年間の症例報告がある施設に、症例調査票と患者への説明書・同意書を配布し、調査票の記入を主治医に依頼する。また、第3回全国疫学調査(2004年)で把握された症例の追跡調査を併せて行う。本調査計画は、2008年11月に、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会にて承認された。今後は、名古屋大学医学部生命倫理委員会における審査など本調査の準備を進める予定である。

A. 研究目的

腭嚢胞線維症(CF)は、cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)の遺伝子変異/多型を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である。CFTR Cl⁻チャンネルは全身の上皮膜細胞に発現し、機能不全の程度により、肺、消化管、気道粘膜、輸精管、汗管など全身の上皮膜組織に様々な障害が生じるため、多彩な病態を示す。CFは欧米人に多いが、本邦では極めて稀である。わが国における腭嚢胞線維症の症例数を把握し、臨床経過を明らかにするために、過去3回(1994年、1999年、2004年)の調査に引き続いて、第4回全国疫学調査を立案した。

B. 研究方法

1. 調査期間を2009年1年間および過去10年間とする。
2. 一次調査として、2010年1月に、全国の病床数400以上の総合病院の小児科および小児専門病院に、過去1年間および10年間のCF患者の有無と症例数(死亡例も含む)を問い合わせる。
3. 二次調査としては、①一次調査で「症例有り」と回答された施設、②症例報告(論文発表

および学会発表)がされている施設、③過去3回の全国調査で症例の回答のあった施設へ、調査個人票(資料)を配布する。

(倫理面への配慮)

1. 本研究は、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会(2008年11月17日承認済：2008-312)および名古屋大学医学部生命倫理委員会(申請準備中)の承認を得て行う。
2. CFは稀少であり、調査に当たっては重複と調査漏れをできるかぎり避ける必要がある。個人調査票には、患者名のイニシャル、生年月日、カルテ番号を用いる。事務局に届いた調査個人票は、個人情報管理者が、症例の重複をチェックした上で、症例の匿名化(連結可能)を行い、症例の対応表を保管する。
3. 調査個人票内の遺伝子診断の項目については、患者(あるいは代託者)がこの情報を調査票に記入して良いと判断した場合に、主治医が結果を調査票に記入する。

C. 研究結果

本調査研究は、2008年11月17日に、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会の承認を受けた(2008-312)。現在、名古屋大学医学部生

である。わが国ではCFの病態の長期経過に関する報告は全くなく、欧米の教科書を参考に診療が進められてきた。2004年の調査では、個人調査票をもとにCF患者の病状の経過に加えて、診断と治療の実態をまとめて欧米と比較し、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」として出版した⁴⁾。今回の第4回全国疫学調査においても、同様の調査を行い「腭嚢胞線維症の診療の手引き」を改訂する予定である。

E. 結論

わが国における腭嚢胞線維症の症例数を把握し、臨床経過を明らかにするために、第4回全国疫学調査を立案した。全国基幹病院(400床以上)の小児科を対象として、2009年1年間および過去10年間の患者を調査する。また、前回調査で個人調査票が得られた患者の追跡調査を併せて行う予定である。

F. 参考文献

1. 田代征記, 佐々木賢二 本邦における腭嚢胞線維症(Cystic fibrosis)の遺伝子診断, N1303Kの変異解析 厚生省特定疾患難治性腭疾患調査研究班 平成6年度研究報告書 1994: 20-23.
2. 玉腰暁子, 林 櫻松, 大野良之, 小川道雄, 広田昌彦, 衛藤義勝, 山城雄一郎 腭嚢胞線維症全国疫学調査成績 厚生労働省特定疾患対策研究事業「難治性腭疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書 2001: 92-95.
3. 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞 第3回腭嚢胞線維症全国疫学調査 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性腭疾患に関する調査研究 平成17~19年度総合研究報告書 2008: 205-215.
4. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業難治性腭疾患に関する調査研究班, 大槻眞, 成瀬 達, 編 腭嚢胞線維症の診療の手引き アークメディア(東京) 2008.

G. 研究発表

1. 論文発表

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究

事業難治性腭疾患に関する調査研究班, 大槻眞, 成瀬 達, 編 腭嚢胞線維症の診療の手引き アークメディア(東京) 2008.

2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし

2. 実用新案登録 該当なし

3. その他 該当なし

Ⅳ. 腭嚢胞線維症
2) 各個研究プロジェクト

日本人 CF 症例の CFTR 遺伝子変異に関する検討

研究報告者 吉村邦彦 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院呼吸器センター内科 部長

共同研究者

安斎千恵子（虎の門病院呼吸器センター内科）

【研究要旨】

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) は、従来わが国では稀な疾患と考えられていたが、その臨床的実態と原因遺伝子 CFTR の変異様相は、次第に明らかにされつつある。古典的な CF は約 80% の症例で膵外分泌機能障害 (pancreatic insufficiency, PI) を伴うが、大多数は呼吸機能不全で死亡する。PCR 増幅および直接塩基配列解析を用いた遺伝子変異の検出により、われわれはすでにこれまでわが国における 23 例の CF 患者においてその遺伝子変異を確認した。一部の症例では同一の遺伝子変異が共通に検出されてきている。また、近年 CFTR 関連疾患なる疾患概念が提唱され、1 ないし 2 アリルの CFTR 遺伝子の異常に基づく単一臓器の複数病態が報告されている。今年度は、臨床的に厚生労働省びまん性肺疾患研究班のびまん性汎細気管支炎 (DPB) の診断基準をみたす 20 代の男性兄弟症例において、一方の CFTR アリルにミスセンス変異 T1220I を確認し得たので、典型的 CF との鑑別上の問題点と、DPB の CFTR 関連疾患としての考察を含めて報告した。今後も引き続き日本人 CF および CFTR 関連疾患の症例を出来る限り多く集積・解析し、起因する CFTR 遺伝子の病的変異の種類や頻度を明らかにしたうえで、わが国独自のこれら疾患の遺伝子変異スクリーニングシステムを確立する必要がある。

A. 研究目的

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) は肺、膵臓、消化管などの全身の外分泌管腔臓器を冒す常染色体劣性遺伝性疾患であり、多機能蛋白である cAMP 依存性 Cl⁻ イオンチャネル CFTR をコードする遺伝子の突然変異に起因する¹⁻⁵⁾。CF は欧米白人種にきわめて高率に発症する疾患であるが、一方、日本人をはじめとする東洋人種における CF の発症頻度はきわめて低いと考えられている³⁾。わが国の CF 症例に関しては昭和 57 年からの厚生省特定疾患難治性脾疾患研究班による全国調査から 29 例の確診例が報告されているが⁶⁾、Yamashiro ら⁷⁾の報告によるとわが国ではこれまでに文献的に約 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 人程度と推定された。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) と概ね矛盾しないため⁸⁾、わが国では、およそ出生 10 万人あたり 1 人程度の発症率と考えられる。

わが国の患者における CFTR 遺伝子変異解

析に関して、過去には DNA 検体の得られた患者での $\Delta F508$ など欧米で頻度の高い数種の変異検索、あるいは限られた数のエクソンでの PCR 増幅解析などが検討されたが、これらの方法では有意な CFTR 遺伝子異常は確認されず、変異状況は長らく不明であった^{3,6)}。この主要な理由は、わが国の CF 患者における CFTR 変異が欧米患者と比較して、変異の頻度もさることながら、そのスペクトラムが全く異なっていることに起因する。しかしながら、このような経緯の中、約 10 余年前から、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^{3,6)}。著者らは PCR-SSCP 法、直接シーケンス法などによる 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などを中心に CF 確診例ないし疑診例の CFTR 遺伝子変異検索を進めてきた^{3,6)}。この結果、これまでに合計 23 例の CF 症例において遺伝子変異を確認し得た⁶⁾ (表 1)。これらの中には、欧米でもきわめて稀な変異や、これまで国際的な CF Muta-

表1 わが国でこれまでに確認されたCF症例の臨床的特徴とそのCFTR遺伝子変異

Case	Age	Sex	PI/PS	Cl ⁻	Mutation	Exon	Mutation	Exon	Outcome
1	15 y	F	PI	201	H1085R	17b	H1085R	17b	alive
2	1 y 5 m	F	PI	126	M152R	4	1540del10	10	alive
3	1 y 1 m	F	PI	ND	ΔF508	10	L571S	12	deceased
4	15 y	M	PI	74	125C	1	Q98R	4	alive
5	42 y	F	PS	ND	E217G	4	Q1352H	22	deceased
6*	21 y	M	PI	166	125C	1	L441P	9	alive
7*	16 y	F	PI	100	125C	1	L441P	9	deceased
8	9 y	F	PI	166	1540del10	10	1540del10	10	alive
9*	30 y	M	PS	403	125C+T1086I	1, 17b	125C+T1086I	1, 17b	alive/ABPA
10*	28 y	F	PS	ND	125C+T1086I	1, 17b	125C+T1086I	1, 17b	alive
11	17 y	F	PS	ND	R75X	3	R347H	7	alive
12	26 y	F	PI	121	E267V	6b	T663P	13	alive/TP
13	28 y	M	PI	117	125C	1	460insAT	4	deceased
14	11 y	M	PI	154	125C+dele16-17b	1, 16-17b	125C+dele16-17	1, 16-17b	deceased
15	24 y	F	PI	91	L548Q	11	2848delA	15	alive
16	2 y	F	PI	ND	L441P	9	ND	?	deceased
17	18 y	M	PS	93	125C+del16-17b	1, 16-17b	125C+del16-17b+V1318I	1, 16-17b, 21	alive/ABPA
18	9 y	F	PI	40	5T	intron 8	D924N	15	alive
19	13 y	F	PI	55	Q98R	4	Q98R	4	alive
20	29 y	F	PI	60	125C	1	R347H	7	alive
21	11 y	F	PS	22	R1453W	24	ND	?	alive
22	18 y	M	PI	ND	I556V	11	ND	?	alive
23	4 m	F	PI	ND	125C	1	G85R	3	alive

PI/PS: pancreatic insufficiency/sufficiency, CP: consanguineous parents, * siblings, TP: live lung transplantation, ABPA: allergic bronchopulmonary aspergillosis, ND: not detected

tion Database (CFMD)に登録記載のないCFTR変異が大半を占めている^{9,10}。

一方、呼吸器病変、とくに難治性気道疾患のなかでCFとの鑑別が必要な疾患として、10代以降から成人にみられるびまん性汎細気管支炎(DPB)、びまん性気管支拡張症、副鼻腔気管支症候群などが挙げられる。とりわけ、DPBあるいはDPBの一部はCFないし呼吸器病態のみを呈するCF(CFTR)関連疾患ではないか、という疑問に対して、われわれはわが国のDPB患者においてもCFの原因遺伝子CFTRの変異が高率に見いだされることをこれまで報告してきた⁽¹¹⁾。さらに、典型的なCF症例での診断基準の一つである汗のCl⁻濃度に関して、上記対象としたDPB患者のうち3例で正常上限の60 mmol/Lより高値を示した⁽¹¹⁾。このように少なくともDPBの一部の症例ではCFTR異常との関連が強く示唆される。

今年度は、臨床的に厚生労働省研究班のDPB診断基準をみたく20代の男性兄弟症例において、一方のCFTRアレルにアミノ酸コド

ンの置換をもたらすミスセンス変異T1220Iを確認し得たので、典型的CFとの鑑別上の問題点とCFTR関連疾患についての考察を含めて報告する。

B. 研究方法(倫理面への配慮)

今年度は2例の兄弟例のCF類似症例におけるCFTR遺伝子変異の解析を行った。症例は解析時29歳、25歳の男性兄弟で、ともに幼少時から咳嗽・喀痰あり、10代半ばでの慢性副鼻腔炎の手術歴を有していた。両症例で画像上では上葉優位の小粒状陰影と気管支拡張を呈し、とくに兄は囊状拡張した気腔が顕著であった(図1)。喀痰から持続的にP. aeruginosaが検出され、すでにクラリスロマイシンによる長期的な少量マクロライド療法を施行されている。呼吸不全には至っておらず、また脾臓、消化管などの合併病変はなく、精液量、精子の運動能力も正常範囲であった。一方、汗中のCl⁻濃度はそれぞれ47, 40 (mmol/L)と境界値(40~60 mmol/L)であった。CFTR遺伝子検索で

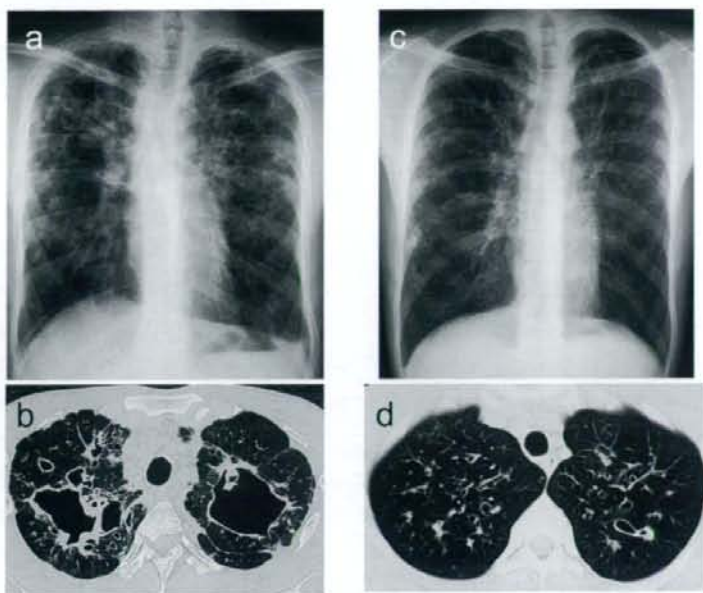


図1 CFTR関連疾患兄弟例の胸部X線写真とCT画像
(a: 兄の胸部X線写真, b: 兄の胸部単純CT, c: 弟の胸部X線写真, d: 弟の同胸部単純CT)

は、全27エクソンの塩基配列を直接シーケンス法で解析した。

倫理面への配慮:「虎の門病院 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理委員会」において「日本人嚢胞性線維症患者におけるCFTR遺伝子変異の検索」研究の審査を受け、承認を得た研究計画(受付番号第2005-5号)に準じて、当該症例のCFTR遺伝子変異検索の臨床的、遺伝学的意義を患者本人に説明した上、同意を取得した。

C. 研究結果

両症例ともに一方のアリルのエクソン19にT1220I (3791C > T)変異が検出された。T1220Iは1220番目のアミノ酸がスレオニンからイソロイシンに置換されるCFTRのミスセンス変異であり、これまで1例のCF患者、次いでびまん性気管支拡張症(diffuse bronchiectasis)の患者においても報告されている変異である^{12,13)}。T1220Iの機能的異常に関しては、まだ十分な基礎データが得られていないが、これらの臨床報告からはCl⁻イオンチャネルの機能低下を招来する変異と考えられる。本症例は臨床的にはDPBの診断基準を満たすため、

DPBとの異同に関して示唆に富むCF関連疾患である。

また、その他の多型に関しては、エクソン10においてM470Vが一方のアリルに認められ、イントロン8の(TG)mTn多型は(TG)11T7/(TG)12T7であった。

D. 考察

今回報告した2症例では、汗のCl⁻濃度は境界領域にあり、膵病変も明らかではないことから、診断基準からは典型的CFとはいえないものの、臨床的には幼少期に始まる呼吸器病変を主体とするCF、あるいはCF関連疾患と考えて矛盾しない症例であると考えられる^{1,3,14)}。また、視点を変えれば、実際にDPBと診断可能な病態であり、呼吸器領域ではしばしば鑑別に難渋する症例であった。実際、遺伝子解析では一方のCFTRアリルのみのアミノ酸の置換を伴う異常が確認された。

これまでに、典型的な古典的CFの全ての臓器病態は示さず、副鼻腔、膵臓、男性生殖器などの単一臓器のみを冒す疾患群が注目され、これらの症例では多くが一方のCFTRアリルに何らかの異常を伴うことが報告され、CF-あ

るいは CFTR 関連疾患として総称されている¹⁴⁻¹⁸。このなかで、今回呈示した症例と基本的に同様の病態を呈する DPB において、われわれはその約 40% で少なくとも一方の CFTR に (TG)mT5 (5T) を含む CFTR 遺伝子の変異を確認した¹¹。

近年わが国においても CFTR 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^{3,6,9,10}。CF に限っても、すでに全世界では 1,600 種以上の変異が報告されている⁵。しかしながら、わが国の CF 患者、あるいは慢性肺炎、先天性両側性精管欠損症 (CBAVD) などの CFTR 関連疾患における CFTR 遺伝子変異は未だ十分に解明されているとは言い難い^{19,20}。これは、いずれの疾患群においても、きわめて稀な CFTR 変異や、あるいはこれまで報告のない変異が大半を占め、欧米人の変異スペクトラムと全く様相を異にしているからである^{3,6,20}。したがって、全ての対象疾患において、欧米人を対象としたスクリーニング体系では変異は検出され得ない。

E. 結論

今年度は、CFTR 遺伝子変異を一方のアリルに有し、肺を病変の首座とする CFTR 関連疾患 (臨床的には DPB あるいは副鼻腔気管支症候群) の兄弟例を報告し、その問題点を再度検討した。今後もわが国の日本人 CF 症例と、さらに単一臓器病変のみを呈する CFTR 関連疾患にもその対象を広げて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、その変異検出システムを確立していきたい。

謝辞：症例の呈示を頂いた日本医科大学内科学講座 (呼吸器・感染・腫瘍部門) の臼杵二郎、吾妻安良太両博士に深謝する。

F. 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, eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 7th edn. McGraw-Hill, New York, p3799-p3876, 1995.
2. Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science*, 256: 774-779, 1992.
3. 吉村邦彦. のう胞性線維症. 日内会誌, 92(7): 1198-1205, 2003.
4. Tsui L-C. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med*, 151: S47-S53, 1995.
5. Cystic Fibrosis Mutation Data Base. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
6. 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国の囊胞性線維症患者における責任 CFTR 遺伝子変異の解析. 厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 分担研究報告書. 平成 19 年度 総括・分担研究報告書, p263-265, 2008.
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*, 24: 544-547, 1997.
8. 吉村邦彦. 日本人における Cystic Fibrosis の実態とその CFTR 遺伝子変異. *Ther Res* 26: 1467-1475, 2005.
9. 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*, 56: 173-175, 1999.
10. 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).
11. Yoshimura K, Iizuka S, Anzai C, Morokawa N, Tanabe O, Kojima A, Nakata K, Eto Y. Diffuse panbronchiolitis is closely associated with mutations of the CFTR gene. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000; 161: A77.
12. Ghanem N, Costes B, Girodon E, Martin J, Fanen P, Goossens M. Identification of eight mutations and three sequence variations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics*, 21: 434-436, 1994.

13. Girodon E, Cazeneuve C, Leborgny F, Chinet T, Costes B, Ghanem N, Martin J, Lemay S, Scheid P, Housset B, Bignon J, Goossens M. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Eur J Hum Genet*, 5: 149-155, 1997.
14. Noone PG, Knowles MR. "CFTR-opathies": disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Respir Res*, 2: 328-332, 2001.
15. Wang X, Moylan B, Leopold DA, Kim J, Rubinstein RC, Togias A, Proud D, Zeitlin PL, Cutting GR. Mutation in the gene responsible for cystic fibrosis and predisposition to chronic rhinosinusitis in the general population. *JAMA*, 284: 1814-1819, 2000.
16. Sharer N, Schwarz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, Braganza J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med*, 339: 645-652, 1998.
17. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and chronic pancreatitis. *N Engl J Med*, 339: 653-658, 1998.
18. Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Romero JR, Verlingue C, Claustres M, Nunes V, Ferec C, Estivill X. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of vas deferens. *N Engl J Med*, 332: 1475-1480, 1995.
19. Anzai C, Yoshimura K, Morokawa N, Okada H, Kamidono S, Eto Y. High prevalence of mutations of the CFTR gene in Japanese individuals with congenital bilateral absence of the vas deferens. *J Cystic Fibrosis*, 2: 14-18, 2003.
20. Fujiki K, Ishiguro H, Ko SB, Mizuno N, Suzuki Y, Takemura T, Yamamoto A, Yoshikawa T, Kitagawa M, Hayakawa T, Sakai Y, Takayama T, Saito M, Kondo T, Naruse S. Genetic evidence for CFTR dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet*, 41: e55, 2004.
- G. 研究発表**
- 1. 論文発表**
- 1) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国の嚢胞性線維症患者における責任CFTR遺伝子変異の解析. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成19年度 総括・分担研究報告書, p263-265, 2008.
 - 2) 吉村邦彦, 安斎千恵子, 衛藤義勝. わが国の嚢胞性線維症患者における責任CFTR遺伝子変異の解析. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成17年度~19年度 総合分担研究報告書, p300-303, 2008.
 - 3) 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞. 膵嚢胞線維症の診断マニュアルの作成. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成19年度 総括・分担研究報告書, p147-150, 2008.
 - 4) 成瀬 達, 石黒 洋, 玉腰暁子, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞. 第3次膵嚢胞線維症全国疫学調査. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書. 平成17年度~19年度 総合分担研究報告書, p205-215, 2008.
 - 5) 吉村邦彦. びまん性汎細気管支炎/びまん性気管支拡張症. 今日の治療方針2008, (山口 徹, 北原光夫, 福井次矢 編集). 東京, 医学書院, p216-218, 2008.
 - 6) 吉村邦彦. 呼吸器症候群(第2版) I-その他の呼吸器疾患を含めて-III 閉塞性肺疾患・気管支の異常 A. 閉塞性肺疾患 嚢胞性線維症別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 8 p654-663, 2008.
- 2. 学会発表**
- 1) 諸川納早, 長谷川詠子, 坂本 晋, 宇留賀公紀, 榎本崇宏, 高谷久史, 宮本 篤, 岸 一馬, 吉村邦彦. 長期マクロイド療養中に増悪を繰り返した難治性びまん性汎細気管支炎の1例. 第6回DPB・難治性気道疾患研究会, 東京, 2008年1月26日.
 - 2) 泉川公一, 坂本憲穂, 関 雅文, 澤井豊

光，掛屋 弘，山本善裕，柳原克紀，迎寛，吉村邦彦，河野 茂。当院で経験した嚢胞性線維症の3例と遺伝子多型について。第48回日本呼吸器学会総会，神戸，2008年6月15日-17日。

- 3) 蛸井浩行，林 宏紀，服部久弥子，阿部信二，神尾孝一郎，森本泰介，松本亜紀，赤川玄樹，臼杵二郎，吾妻安良太，弦間昭彦，吉村邦彦。CFTR 遺伝子変異を認めた副鼻腔気管支症候群の兄弟例。第182回日本呼吸器学会関東地方会，東京，2008年11月15日。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

CFTR 遺伝子のプロモーター領域の解析

研究報告者 成瀬 達 三好町民病院 院長

共同研究者

藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部）

石黒 洋，中莖みゆき，山本明子，近藤孝晴（名古屋大学健康栄養医学）

【研究要旨】

慢性膵炎患者88人（アルコール性慢性膵炎患者65人，特発性慢性膵炎患者23人），健常人118人を対象に，CFTR 遺伝子のプロモーター領域（翻訳領域の上流約2 kb）の遺伝子解析を行った。その結果，患者に特異的な変異-1523 G/A（1例），-790 ΔT（3例）が見つかった。TFSEARCHを用いた解析により，-790付近は転写調節因子 HFH-2（FOXD3）の結合配列モチーフを持つことがわかった。

A. 研究目的

CFTR は上皮細胞に発現する cAMP 依存性のイオンチャネルで，Cl⁻ および HCO³⁻ 輸送を担っている。膵嚢胞線維症（cystic fibrosis; CF）は CFTR 遺伝子の変異によって発症する常染色体劣性疾患で，気道，腸管，膵管，胆管，汗管，輸精管などのイオンおよび水輸送が障害される¹⁾。重篤な機能異常を伴う変異が両アレルに見られる場合，膵外分泌機能不全と気道感染を伴う典型的な CF を呈する。軽度の機能異常を伴う変異や多型のヘテロ接合体を持つ場合，単一臓器に障害を起こす非定型的病態（nonclassic CF）を発症しやすい¹⁰⁾。これは CFTR 関連疾患とも呼ばれ，特発性慢性膵炎^{2,3,13)}，先天性両側完全精管欠損症¹¹⁾，気管支拡張症¹²⁾，鼻ポリープなどが含まれる^{2,3,10)}。

慢性膵炎は反復する炎症，線維化，外分泌不全を呈する疾患で，膵石を伴うことが多い。主な成因は，アルコール性および特発性である⁴⁾。膵液の pH は膵導管の CFTR による HCO³⁻ 分泌によって調節されており，CFTR 機能の低下により膵液が粘稠になると炎症や膵石形成が起こりやすくなることが発症機序の一つと考えられている⁵⁾。

CFTR 遺伝子は 27exon よりなり 1480 アミノ酸残基をコードする。これまでに 1000 以上の変異・多型が報告されているが，その種類と頻度は民族により異なる。我々はこれまでに，日

本人の慢性膵炎患者および健常人の CFTR 遺伝子型を解析し，Exon9 のスプライシング調節部位における遺伝子多型と疾患との関連や，疾患群に多く見られる遺伝子多型を同定してきた⁶⁾。

CFTR は汗腺では Cl⁻ の再吸収に必要なため，CFTR 機能が低下すると汗の Cl⁻ 濃度が高くなる。慢性膵炎患者の汗の Cl⁻ 濃度を測定した結果，約半数が基準値（60 mM）を超える高濃度を示した⁷⁾。即ち，わが国の慢性膵炎の一部にも CFTR 遺伝子の関連が示唆された。しかし，表現型と遺伝子型が一致しない症例もあった。

これまでは主に遺伝子の翻訳領域の変異および多型を解析してきたが，タンパクの発現量も考慮に入れる必要がある。遺伝子の翻訳領域の上流にはプロモーター領域があり，様々な転写調節因子が結合することによって発現量が調節されている。ヒトにおける CFTR 遺伝子の発現調節機構には不明な点が多いが，Exon1 の上流 1.6 kb 付近までに，各種転写因子が作用すると推定されるシス作用性配列が存在する¹⁴⁾。

本研究はヒトの CFTR 遺伝子のプロモーター領域の変異および多型が，本遺伝子の発現調節および CFTR 機能への作用を介して慢性膵炎発症リスクに及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

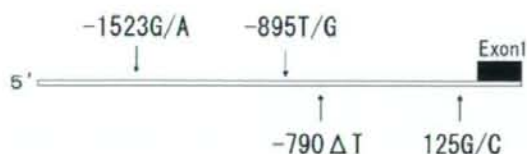


図1 CFTR 遺伝子プロモーター領域の変異・多型

表1 CFTR 遺伝子プロモーター領域における変異・多型の頻度

変異・多型	-1523 G/A G/A	-895 T/G T/G	-790 delT delT	125 C G/C
アルコール性 慢性膵炎 n=65	GG 64 (98.5)	TT 18 (27.7)	9T/9T 62 (95.4)	GG 54 (83.1)
	GA 1 (1.5)	TG 28 (43.1)	9T/8T 3 (4.6)	GC 10 (15.4)
	AA 0 (0.0)	GG 19 (29.2)	8T/8T 0 (0.0)	CC 1 (1.5)
特発性 慢性膵炎 n=23	GG 118 (100.0)	TT 8 (34.8)	9T/9T 23 (100.0)	GG 22 (95.7)
	GA 0 (0.0)	TG 9 (39.1)	9T/8T 0 (0.0)	GC 1 (4.3)
	AA 0 (0.0)	GG 6 (26.1)	8T/8T 0 (0.0)	CC 0 (0.0)
健常人 n=118	GG 118 (100.0)	TT 30 (25.4)	9T/9T 118 (100.0)	GG 105 (89.0)
	GA 0 (0.0)	TG 67 (56.8)	9T/8T 0 (0.0)	GC 13 (11.0)
	AA 0 (0.0)	GG 21 (17.8)	8T/8T 0 (0.0)	CC 0 (0.0)

(%)

B. 研究方法

インフォームドコンセント(名古屋大学医学研究科倫理委員会にて承認を得た「慢性膵炎における膵炎関連遺伝子の検討」, 承認番号114-2)を得た慢性膵炎患者88人(アルコール性慢性膵炎患者65人, 特発性慢性膵炎患者23人)および健常人118人を対象に, 抹消血から白血球由来のDNAを抽出した. CFTR 遺伝子翻訳領域の上流約2 kbをPCR法により増幅し, 直接シーケンス法で遺伝子配列を決定した. 転写調節因子の結合配列モチーフ検索にはTFSEARCHを用いた.

C. 研究結果

CFTR 遺伝子のプロモーター領域における遺伝子変異・多型

図1にCFTR 遺伝子のプロモーター領域(Exon1の上流約2 kbp)に同定された遺伝子変異・多型を示す. -1523 G/Aはアルコール性慢性膵炎患者群にのみ1例見つけた. -790 ΔTはアルコール性慢性膵炎患者群にのみ3例見つけた. 変異・多型の頻度を表1に示す. Haplotype解析

既に解析済みの翻訳領域の遺伝子多型の結果から, -790 Δtを持つ症例のHaplotypeを解

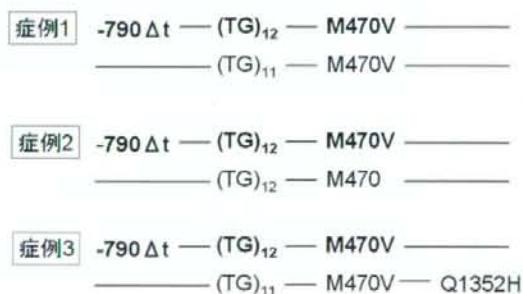


図2 -790 Δtを持つ症例のHaplotype



図3 -790付近の転写調節因子結合配列モチーフ

析した. -790 ΔtはIntron8の繰り返し配列(TG)₁₂, Exon10の多型M470Vと同一アレル上にあり, Exon22の多型Q1352Hは同一アレル上にないことがわかった(図2).

転写調節因子結合配列モチーフ検索

CFTR 遺伝子の-790付近の配列に存在する転写調節因子結合モチーフをTFSEARCHにより解析した結果, 転写調節因子HFH-2(FOXD3)の結合モチーフがあることがわかった(図3).

D. 考察

日本におけるCFの発症率は極めて低く⁸⁾, これまで報告のあるCFTR遺伝子の変異も世界的に極めて稀なタイプのものである⁹⁾. しかし, 我々はこれまでに日本人の慢性膵炎患者のCFTR機能解析(汗中Cl⁻濃度測定)⁷⁾やCFTR遺伝子多型を解析し⁶⁾, 日本の慢性膵炎とCFTR遺伝子との関連を示唆する結果を得てきた. しかし, 表現型と遺伝子型は必ずしも一致しないことから, 本研究では, 遺伝子発現量の減少や, 発現量の上昇による機能低下の補填などの可能性を考え, 遺伝子発現の調節領域の変異・多型解析を行った.

今回行ったCFTR遺伝子のプロモーター領域(翻訳領域の上流約2 kb)の解析で, アルコール性慢性膵炎患者に特有の変異-1523 G/Aおよび-790 ΔTを同定した. 特に, -790 ΔTはアルコール性慢性膵炎患者にのみ3例(4.6%, アレル頻度2.3%)見つかり, 疾患との関連が示唆された. この変異に関してはトルコ人のCF家系での報告¹⁶⁾はあるが, その他の人種での報告はなく, 疾患との関連も不明である.

-790付近には, 転写調節因子HFH-2(FOXD3)の結合配列モチーフGATTTTTTTTTCがある. この転写因子は膵臓で発現が認められているが¹⁷⁾, CFTR遺伝子発現機構との関連は不明である.

今後これら変異・多型が遺伝子発現量に及ぼす影響をルシフェラーゼアッセイ法で測定する予定である.

E. 結論

慢性膵炎患者および健常人のCFTR遺伝子プロモーター領域の解析を行った結果, 患者に特有な変異-1523 G/Aおよび-790 ΔTが見つかった. -790付近は転写調節因子HFH-2(FOXD3)の結合配列モチーフを持つことがわかった.

F. 参考文献

1. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Mechanisms of disease: Cystic fibrosis. *N Eng J Med* 2005; 352: 1992-2001.
2. Cohn JA. Reduced CFTR function and the pathobiology of idiopathic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: s70-77.
3. Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Fujiki K, Hayakawa T. Cystic fibrosis and related diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 511-526.
4. 税所宏光, 他: 慢性膵炎の実態調査, 厚生労働省特定疾患対策事業「難治性膵疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書, 2001; p43-53
5. 成瀬 達, 藤木理代, 石黒 洋, 慢性膵炎の発症機序とCFTR, *最新医学* 2007; 62: 62-68.
6. Fujiki K, Ishiguro H, Ko SBH, et al. Genetic evidence for CFTR dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet* 2004; 41: e55.
7. Naruse S, Ishiguro H, Suzuki Y, et al. A finger sweat chloride test for the detection of the high-risk group of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2004; 28: e80-5.
8. 成瀬 達, 他: 第3回膵嚢胞線維症全国疫学調査の集計結果について「難治性膵疾患に関する調査研究」平成17年度総括, 分担研究報告書, p123-130, 2006.
9. 吉村邦彦, 他: わが国の嚢胞線維症症例におけるCFTR遺伝子変異に関する解析「難治性膵疾患に関する調査研究」平成18年度総括, 分担研究報告書, p261-264, 2007.
10. Noone PG, Zhou Z, Silverman LM, Jowell PS, Knowles MR, Cohn JA. Cystic fibrosis gene mutations and pancreatitis risk: relation to epithelial ion transport and trypsin inhibitor gene mutations. *Gastroenterology* 2001; 121: 1310-1319.
11. Anzai C, Morokawa N, Okada H, Kamidono S, Eto Y, Yoshimura K. CFTR gene mutations in Japanese individuals with congenital bilateral absence of the vas deferens. *J Cyst Fibros.* 2003; 2: 14-18.
12. Ngiam NS, Chong SS, Shek LP, Goh DL, Ong KC, Chng SY, Yeo GH, Goh DY. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in Asians with chronic pulmona-