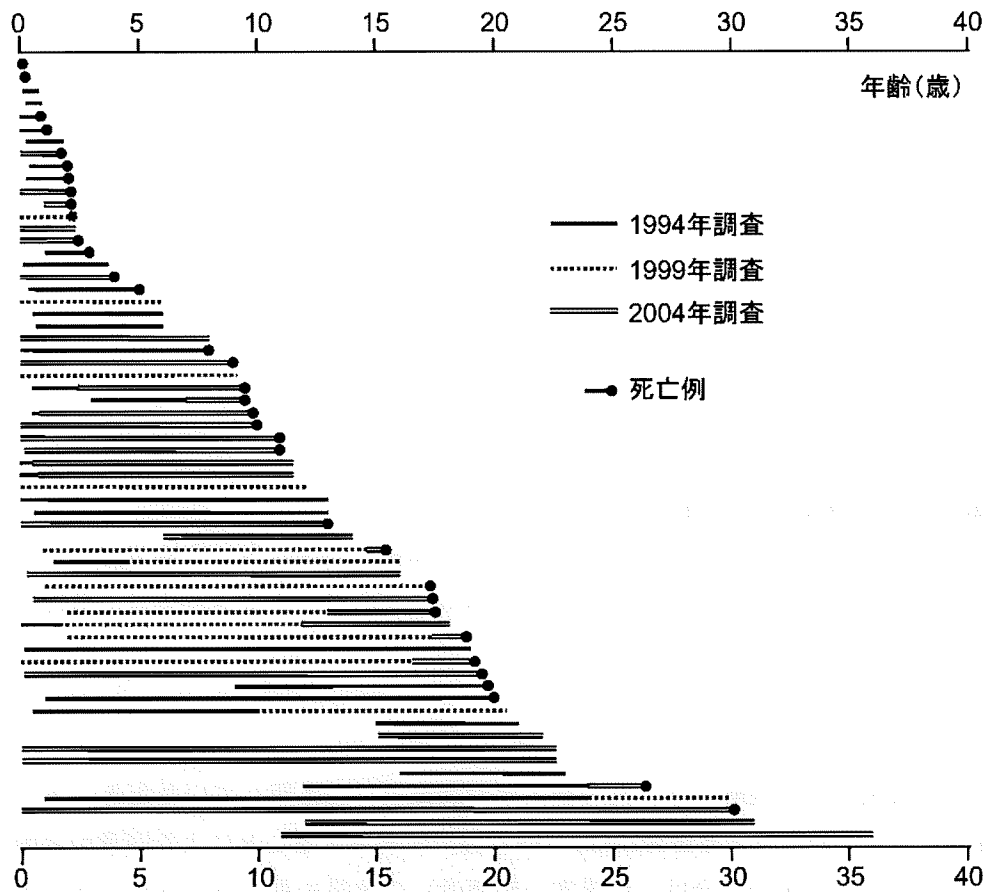


わが国の腭嚢胞線維症の発症年齢と観察期間



今後、腭嚢胞線維症の生命予後をさらに改善し、学校に休まずに行けるなど生活の質を向上させるためには、繰り返す肺炎に適切に対応し、栄養状態を良好に保つ工夫が必要です。そこで、厚生労働省難治性腭疾患に関する調査研究班では、第4回（2009年）の全国疫学調査を行うこととなりました。今回の調査では、日本の腭嚢胞線維症の患者さんの数をできるだけ正確につきとめ、さらに、症状、治療の内容、栄養状態の経過と栄養管理の実態を明らかにし、今後の対策に役立てたいと思いますので、ご協力をお願いいたします。

研究方法

専門家による調査によって、あなたが腭嚢胞線維症という病気だということがわかりました。そこで、あなたにこの調査へのご協力をお願いしています。全国から集まった調査票から、(1) 患者さんの数、年齢性別の分布をできるだけ正確に把握し、(2) 病状の経過、(3) 治療の内容、(4) 栄養状態の経過、(5) 栄養管理の実態を集計します。また既に遺伝子診断が行われている場合には、患者の皆さんが同意された場合のみ、その結果が調査票に記入されます。

カルテに記載されている内容から、主治医に必要事項を調査用紙に転記していただきま

すので、あなたの負担はありません。

また、数年後に、あなたの病状がどのように変化したかをお尋ねしたいと考えています。

(遺伝子診断について)

今までに遺伝子診断を受けられていない患者さんで、遺伝子診断を希望される方は、主治医にその旨をお伝えください。この調査とは別になりますが、対応させていただきます。

研究期間：平成 24 年 3 月 31 日まで

研究計画の開示

ご希望があれば研究計画の詳細をごらんいただけます。

3. 研究対象者として選定された理由

専門家による診断あるいは調査によって、あなたが腓膵線維症という病気だということがわかりました。腓膵線維症は非常に少ない病気ですので、患者さん全員に参加をお願いしています。

4. 同意について

あなたがこの説明をよく理解でき、調査個人票の調査項目を確認していただき、あなたが研究に協力してもよいと考える場合には、「同意書」に署名することにより同意の表明をお願いいたします。未成年の場合は、代諾者（親権者）の承諾を得て行います。その場合でも、できる限り本人の意向を確認し、それを尊重します。16 歳以上の方は、ご本人の同意も確認させていただきます。

5. 研究協力の任意性と撤回の自由および参加しなくてもそのための不利益はないこと

この研究への協力の同意はあなたの自由意志で決めてください。強制いたしません。また、同意しなくても、あなたの不利益になるようなことはありません。一旦同意した場合でも、あなたが不利益を受けることなく、いつでも同意を取り消すことができます。ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように、この研究からあなたを外すことができない場合があります。

6. 研究参加者にもたらされる利益及び不利益

(利益) この調査で腓膵線維症の長期の経過を明らかにすることができます。この病気を正確に早く診断する方法、肺炎と気管支炎への対策、栄養状態を良くする方法を提唱することができると考えています。

(不利益) あなたのイニシャル、生年月日、カルテ番号を調査票に記載します。これらの

情報が漏洩した場合には、個人が特定され社会的に不当な扱いを受ける危険性が考えられます。これを防ぐために、個人情報管理専門の係を設け、あなたのイニシャルや生年月日、カルテ番号を調査票とは切り離し厳重に管理します。調査票は個人が特定できないように匿名化処理を行なった上で解析します。

7. 当該研究に係る資金源、起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

この研究は厚生労働省調査研究費によって行われますので、その費用をあなたが払う必要はありません。研究の参加に対しての報酬は支払われません。

8. 個人情報の保護の方法

研究に協力いただいた人の個人が特定されるような情報は個人情報管理専門の係がカギのかかる保管庫に厳重に保護し、外部に出されることはありません。ただし、あなたの協力によって得られた研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにした上で、学会や学術雑誌及びデータベース上等で公に発表されることがあります。

9. 研究成果の公表

研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにした上で、学会や学術雑誌およびデータベース上等で公に公表されることがあります。研究の成果には、調査個人票に記載されたあなたの CFTR 遺伝子の情報を含みます。

10. 研究から生じる知的所有権について

本研究結果の公表における著作権などの知的財産権は、大学と研究者に帰属します。

11. 研究が終わった試料・資料がどう扱われるか

数年後に、あなたの病状がどのように変化したかをお尋ねしたいと考えています。もし同意していただければ、あなたの調査資料をカギのかかる保管庫に保管させていただきます。同意のない場合はシュレッダー処理します。数年後に経過をお尋ねする場合には、改めてその研究について倫理委員会の承認を受けた上で行います。

12. 遺伝の悩み及び不安に対する遺伝カウンセリング

病気のことや遺伝子研究体制に関して、不安に思うことがあったり、相談したいことがある場合には、担当主治医にその旨申し出てください。担当主治医および研究実施責任者が対応いたします。

13. 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先に関する情報

この研究について何か分からないことや心配なことがありましたら、いつでも担当者にご相談下さい。連絡先は以下のとおりです。

- ・ 問合せ先 名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学（総合保健体育科学センター）
担当者：石黒 洋 TEL：052-789-3946 FAX：052-789-3957

平成 年 月 日

説明者（説明医師）署名

- ・ 苦情の受付先 名古屋大学医学部総務課（052-744-2804）

同意書

研究責任者：(名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学) 石黒 洋 殿

研究課題名：膵嚢胞線維症の全国疫学調査

《説明を受け理解した項目》(□の中にご自分でレ印を入れて下さい)

- 研究協力を自らの意思で行うことと撤回の自由があること
- 研究計画の概要、調査個人票の調査項目および CFTR 遺伝子の働きについて
- 研究に参加した場合に考えられる利益及び不利益
- 個人情報の保護
- 個人情報を完全に伏せた上で、研究結果が公表されうること
- 調査票の保管と廃棄
- 遺伝カウンセリング
- 問い合わせ・苦情の受付先

《この研究に参加することの同意》(「はい」または「いいえ」に○を付けて下さい)

この研究に参加することに同意しますか？

はい いいえ

遺伝子診断の結果を調査票に記入してよろしいですか？

はい いいえ

この全国調査を集計した全体の結果を知りたいですか？

はい いいえ

数年後にあなたの病状がどのように変化したかをお尋ねしたいと考えていますが、それまで、この調査の資料を保存してもよろしいですか？

はい いいえ

[16 歳以上の場合]

本人氏名： _____

本人署名又は記名・押印： _____ ⑩

住所： _____

平成 ____ 年 ____ 月 ____ 日

[20 歳未満の場合]

代諾者(親権者)氏名： _____

代諾者署名又は記名・押印： _____ ⑩

代諾者(親権者)と本人との関係： _____

平成 ____ 年 ____ 月 ____ 日

班²⁾と、5年毎に過去3回の腭嚢胞線維症全国疫学調査を行ってきた。1994年の調査では20%以上の症例が5歳未満で死亡していたが、1999年と2004年の調査では経過の長い患者が増加していた。呼吸管理と栄養管理の進歩、また、腭外分泌機能不全を伴わない非定型例(軽症～中等症)が診断されるようになってきたためと思われる。2004年調査の臨床経過調査(17症例)では、生存期間の中央値は18歳(2歳-36歳:生存中)であった^{2,6)}。出生時から入院期間が長く10歳未満で死亡した超重症例も見られたが、繰り返す呼吸器感染により呼吸不全が進行し、同時に栄養状態が悪化し、入院治療を必要とする期間が長くなり、15～20歳で死亡する症例が多かった。今後、腭嚢胞線維症の生命予後をさらに改善し、生活の質を向上させるためには、栄養管理と反復する気道感染に対する対策の強化が必要と考えられた。今回の2009年調査でも、2004年調査と同様に、症例数の把握とともに、臨床症状、治療内容、栄養状態の経過と管理の実態を調査する。調査結果をふまえて、「腭嚢胞線維症の診療の手引き」(厚生労働省難治性腭疾患に関する調査研究班2008年)を改訂する予定である。

嚢胞性線維症は、小児慢性特定疾患に指定されており、18歳未満の児童(引き続き治療が必要であると認められる場合は、20歳未満)については、医療費の補助を受けることができる。しかし、2004年の調査では27%の患者が18歳以上、17%の患者が20歳以上であり、成人例が増えている。嚢胞性線維症に効果があるというエビデンスのある治療薬には、わが国の保健診療で認可されていないものが多く、高額の治療費がかかる。今後、嚢胞性線維症が特定疾患に認定されることが望まれ、今回の調査結果をもとにして認定基準の作成を進める必要がある。

E. 結論

第4回全国疫学調査により、この20年間の我が国における腭嚢胞線維症の実態と動向が判明し、診断と治療ならびに今後の対策に有益な情報が得られると考えられる。

F. 参考文献

1. 成瀬 達, 玉腰暁子, 林 櫻松, 吉村邦彦, 広田昌彦, 大槻 眞. 腭嚢胞線維症の診断基準と疫学調査. 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班」平成15年度研究報告書 2004: 231-235.
2. 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年度～19年度総合研究報告書 2008: 205-215.
3. 玉腰暁子. 腭嚢胞線維症の疫学. 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: 8-9.
4. 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.
5. 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.
6. 石黒 洋. 臨床経過と予後. 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: 42-43.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
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. 膵嚢胞線維症
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 日本赤十字社大森赤十字病院第二内科／呼吸器科 部長
(前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

安齋千恵子 (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)

【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、本研究班の調査研究を中心として、次第に明らかにされつつある。古典的・典型的な CF は約80%の症例で膵外分機能障害(pancreatic insufficiency, PI)を伴い、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、われわれはすでに昨年度までにわが国における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。今年度は新たに解析時42歳の女性症例において、これまですでに報告した複合ヘテロ接合体症例と同一の遺伝子変異を確認したので、考察を含め24例目の症例として報告した。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、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努力を続けていく予定である。

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膵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、昨年度までに合計23例の CF 症例において遺伝子変異を確認し得た⁶⁾。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 Mutation Database (CFMD) に登

録記載のない CFTR 変異が大半を占めている^{9,10)}.

今年度は、臨床的に厚生労働省研究班のびまん性汎細気管支炎の診断基準を満たす42歳の女性症例において、気胸手術時の組織検体の精査で CF を疑われ、CFTR 遺伝子変異検索を行ったところ、CFTR アリルにアミノ酸コドンの置換をもたらす2種のミスセンス変異 E217G, Q1352H を確認し得た。両変異はすでにこれまで CFMD に報告のある病的変異であり⁵⁾、著者らも同様の2変異を有する女性患者を報告している^{11,12)}。

B. 研究方法

今年度の解析対象は解析時九州地方在住の42歳の女性患者である。在胎時の異常の記載はなく、出生後も新生児期から幼児期には特に自覚症状はなかった。10歳に慢性副鼻腔炎を指摘され、中学生頃から咳嗽、喀痰を自覚していた。その後27歳頃より症状が増悪し、2003年37歳時からクラリスロマイシンの長期投与、2007年から在宅酸素療法を開始された。生来臍臓機能不全を示唆する臨床症状は呈していなかった。2008年右気胸を発症、その後反復し、外科的手術を受けた。その際に生検した右上葉組織所見から CF を疑われ、当施設紹介となった。画像上では上葉優位の気管支拡張と全肺に小粒状陰影を呈し、喀痰からは持続的に *P. aeruginosa* が検出されている。汗中の Cl^- 濃度は残念ながら測定できていない。末梢血の単核球から抽出した DNA を用いて行った CFTR 遺伝子検索として、全27エクソンの塩基配列をそれぞれの5', 3'近接領域を含めて、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

CFTR 遺伝子変異検索の結果、エクソン 6a に E217G (A to G at 782)変異が、さらにエクソン22に Q1352H (G to C at 4188)変異が検出された(表1：症例24が今回呈示例)。E217G は cDNA の782番目の塩基が A から G に変わるため217番目のアミノ酸コドンがグルタミンからグリシンに置換される CFTR のミスセンス変異であり、一方 Q1352H は cDNA の4188番目の塩基が G から C に変わるため1352番目のアミノ酸コドンがグルタミン酸からヒスチジンに置換されるミスセンス変異である。両変異がそれぞれ別の CFTR アリル (trans) か、あるいは同一の染色体上に存在する (cis) かは未確定である。これまでに E217G と Q1352H 変異が検出された CF 症例をもう1例報告しているが(表1の症例5)^{11,12)}、本症例はこの既報告例に年齢、経過、出身が九州地方であることなど、きわめて類似している。

D. 考察

今回報告した1症例では、汗の Cl^- 濃度は未測定であり、臍病変も明らかではないことから、臨床的には CF とは断定できないケースであったが、このような症例では常にびまん性汎細気管支炎やあるいは原発性線毛不動症候群に加え、CF がその鑑別診断に挙げられる。気胸時の肺手術検体での病理組織学的検討から、呼吸細気管支炎や、閉塞性細気管支炎の欠如と、膜性細気管支内の粘液充満の所見から病理医に CF の可能性を指摘され、遺伝子変異解析をするに至った。

これまでのわが国の CF 症例において検出された遺伝子はきわめて多岐にわたり、かつ欧米 CF 症例では報告がみられないか、あるいは既報告でもきわめて稀なものが大半を占めている^{3,6,8)}。そのなかで、兄弟例以外の複数症例にも共通に認められる同一変異が、徐々にみられるようになってきており、E217G と Q1352H を有する CF の複合ヘテロ接合体症例は、これで2例目となる^{11,12)}。

E217G は Zielenski らが1997年に病的変異として CF Consortium に報告しているが⁵⁾、上

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	CI	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	11y	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
24	42 y	F	PS	ND	E217G	4	Q1352H	22	alive

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

記のようにわが国でもすでに別の症例においても検出されているほか、健常日本人にもその存在が確認されている(データ未報告)。一方のQ1352Hはわが国のNukiwaらが1993年にCF Consortiumに報告した変異であるが、その後著者らが前述のCF症例^{11,12)}、びまん性汎細気管支炎¹³⁾、わが国のCBAVD¹⁴⁾において、その存在を確認し、わが国で最も頻度の高い変異であることを記載している。さらに、Fujikiらも日本人の慢性膵炎症例でのCFTR遺伝子変異解析を行い、このQ1352H変異を報告している¹⁵⁾。

全世界ではこれまでに1,600種以上のCFTR変異が報告されているが⁵⁾、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)}。しかしながらわが国のCF症例では欧米人CFの変異スペクトラムと全く様相を異にしており、きわめて稀な既報変異か、未だ報告のない新規の変異が大半を占めている。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ため、現状ではそれぞれの症例において全エクソンの塩基配列を確認しなければ、変異の有無に関する結論が導き出せない。わが国の実情に合わせた変異検出システムの確立が熱望されるゆえんである。

E. 結論

今年度は、びまん性汎細気管支炎の診断基準を満たす42歳の女性症例においてCFTR遺伝子変異検索を行い、CFTRアレルに2種のミスセンス変異E217G, Q1352Hを確認し、CFの確定診断例とした。両変異はすでにこれまでCFMDに報告のある病的変異であり、すでに著者らがこれらの2変異を有する類似した女性CF患者を報告している。また、2症例の出身地方が九州であることも、本症の臨床疫学、病態を把握する上できわめて重要な情報である。今後わが国の日本人CF症例を出来る限

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大分大学医学部総合内科学第二講座の岸 建志，門田淳一両博士に深謝する。

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. 日本人 CF 症例の CFTR 遺伝子変異に関する検討. 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20年度 総括・分担研究報告書, P257-262, 2009.
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 Mutat (Online)*, May; 15(5): 485, 2000.

11. 吉村邦彦, 飯塚佐代子, 諸川納早, 衛藤義勝, 中田紘一郎. DPB として加療され経過中に呼吸不全にて死亡した cystic fibrosis の 1 例. *Therapeutic Research*, 21(8), 1876-1878, 2000.
12. 吉村邦彦, 衛藤義勝. 日本人 cystic fibrosis 患者の CFTR 遺伝子変異解析. 厚生労働省特定疾患対策研究事業「難治性肺疾患に関する調査研究班」平成12年度研究報告書, p245-250, 2001.
13. 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.
14. 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.
15. 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. 日本人 CF 症例の CFTR 遺伝子変異に関する検討. 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20年度 総括・分担研究報告書, p257-262, 2009.
- 2) Izumikawa K, Tomiyama Y, Ishimoto H, Sakamoto N, Imamura Y, Seki M, Sawai T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mukae H, Yoshimura K, Kohno S. *Intern Med*, 48(15): 1327-1331, 2009.
- 3) 成瀬 達, 石黒 洋, 吉村邦彦, 辻 一郎, 栗山進一, 菊田和宏, 下瀬川徹. 第4

次腓嚢胞線維症全国疫学調査(共同研究). 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20年度総合・分担研究報告書, p251-253, 2003.

- 4) 吉村邦彦, 安齋千恵子. 日本における嚢胞性線維症. 呼吸器科, 15(3): 383-392, 2009.
- 5) 吉村邦彦, 安齋千恵子. わが国でみられる嚢胞性線維症 (cystic fibrosis)—その実態と診断方法—日本胸部臨牀, 68(8): 693-705, 2009.

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

CFTR 遺伝子の発現調節機構について

研究報告者 成瀬 達 みよし市民病院 院長

共同研究者

藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部）、北川元二（名古屋学芸大学管理栄養学部）
石黒 洋（名古屋大学大学院健康栄養医学）、中莖みゆき（名古屋大学大学院健康栄養医学）
山本明子（名古屋大学大学院健康栄養医学）、近藤孝晴（名古屋大学大学院健康栄養医学）

【研究要旨】

嚢胞性線維症の原因である cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) 遺伝子は膵導管細胞に発現する *CFTR*-Cl⁻ チャネルをコードしている。慢性膵炎患者86人（アルコール性慢性膵炎患者65人、特発性慢性膵炎患者21人）、健常人180名を対象に *CFTR* 発現調節領域の解析を行った。アルコール性慢性膵炎患者3名（4.6%）に -790 Δt 変異をヘテロ接合体で認めた。ハプロタイプ解析により -790 Δt-(TG)₁₂-M470V を同定した。(TG)₁₂ は exon9 の欠損を誘導し、M470V は機能を減少させる多型である。日本人では (TG)₁₁-M470V が主で、(TG)₁₂-M470V は少なく、欧米人での報告はない。-790 ΔT-(TG)₁₂-M470V は日本人のアルコール性慢性膵炎患者に特異的なハプロタイプと考えられる。

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。嚢胞性線維症 (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 (atypical nonclassic CF) を発症しやすい¹⁰⁾。これは *CFTR* related disease と呼ばれ、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、外分泌異常を呈する疾患で、膵石を伴う症例もある。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のモデルとして考えられている⁵⁾。

CFTR 遺伝子は 27 exon よりなり 1480 アミノ酸残基をコードする。変異・多型は 1000 以上報告されているが、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⁾。

また、*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⁻ 濃度が高くなるが、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、慢性膵炎と *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⁾。そこで我々は、慢性膵炎患者86人(アルコール性慢性膵炎患者65人、特発性慢性膵炎患者21人)、健常人180人を対象に、*CFTR* 遺伝子の発現調節領域の遺伝子解析を行った。その結果、アルコール性慢性膵炎患に特異的な-790 Δt 変異をヘテロ接合体で認めた。

本研究では更に、この変異を持つ患者の遺伝子の Haplotype 解析を行い、*CFTR* 遺伝子の変異および多型と疾患との関連を検討した。

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86人(アルコール性慢性膵炎患者65人、特発性慢性膵炎患者21人)および健常人180人を対象に行った *CFTR* 遺伝子解析結果をデータベースにし、Haplotype 解析¹⁵⁾を行った。Haplotype 解析に用いた *CFTR* 遺伝子多型を表1に示す。

表1 ハプロタイプ解析に用いた *CFTR* 遺伝子多型

部位	5'非翻訳領域	Intron 6b	Intron 8	Exon10	Exon14a
多型	-895 t/g	GATT repeat	TG repeat	M470V	2694 t/g

表2 *CFTR* 遺伝子発現領域における変異-790Δtの頻度

	アルコール性慢性膵炎 n=65	特発性慢性膵炎 n=21	健常人 n=180
-790Δt	3 (4.6%)	0 (0%)	0 (0%)

表3 -790Δtを持つ症例の Haplotype および Genotype

症例	5'非翻訳領域 -895 t/g	Intron6b GATT repeat	Intron8 TG repeat	Exon10 M470V	Exon14a 2694 t/g		
1 女性	allaele 1	-790Δt	t	7	12	V	t
52歳	allaele 2		t	7	11	V	t
2 男性	allaele 1	-790Δt	t	7	12	V	t
64歳	allaele 2		t	7	11	V	t
3 男性	allaele 1	-790Δt	t	7	12	V	t
67歳	allaele 2		g	6	12	M	g

C. 研究結果

1) *CFTR* 遺伝子発現領域における変異-790 Δtの頻度

表2に *CFTR* 遺伝子の発現領域に同定された遺伝子変異-790 Δtの頻度を示す。-790 Δtはアルコール性慢性膵炎患者65人中3例見つかった。健常人180人および特発性慢性膵炎患者21人には見つからなかった。

2) Haplotype 解析

-790 Δtを持つ症例の Haplotype および Genotype の解析結果を表3に示す。-790 Δtを持つ3症例には共通の Haplotype (allele 1) が存在し、-790 Δtはこの allele 上にあることがわかった。

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(汗中 Cl⁻ 濃度測定)⁷⁾や *CFTR* 遺伝子多型を解析し⁶⁾、日本における慢性膵炎と *CFTR* 遺伝子との関連を示唆してきた。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・多型解析を行い-790 Δtを同定した。

この-790 Δt変異はアルコール性慢性膵炎患者にのみ3例(4.6%)見つかり、疾患との関連が示唆された。世界的にはトルコ人の CF 家系でこの変異の報告はあるが¹⁶⁾、その他の人種での報告はなく、わが国においても初めての報告である。-790付近には、膵臓での発現が認められている転写調節因子 HFH-2(FOXD3)

の結合配列モチーフ GATTTTTTTTTC がある¹⁷⁾。CFTR 遺伝子発現機構との関連については更に検討が必要である。

TG repeat は Intron8 にあるリピート配列で、スプライシング調節因子が結合する部位である。リピート数は 8~13 のバリエーションが報告されており、長い程スプライシング異常が起こる確率が上がり exon9 が欠損する。その割合は (TG)₁₂ で約 20% である。Exon9 欠損型の CFTR はチャンネルとしての機能を失う^{18,19)}。欧米人では (TG)₁₀ または (TG)₁₁、日本人では、(TG)₁₁ または (TG)₁₂ が一般的である⁶⁾。

M470V は CFTR の ATP 結合部位の多型で、V470 型はチャンネルとしての機能が約 60% に低下する¹⁸⁾。一般的に V470 は (TG)₁₁ とリンクしており、M470 は (TG)₁₂ とリンクしている。つまり、前者は Exon9 の欠損率は少ないが、チャンネル機能の低い Haplotype で、後者は Exon9 の欠損率は高いが、チャンネル機能は正常な Haplotype である。このように一方の多型による機能の低下を他方の多型が補うような組み合わせになっている。しかし、日本人の約 16% は V470 と (TG)₁₂ がリンクしている⁶⁾。-790 Δt 変異もこの Haplotype とリンクしていた。-790 Δt によりどの程度発現量が低下するかについては今後更に検討が必要であるが、この変異を持つ患者は、CFTR 遺伝子発現の低下、(TG)₁₂ による Exon9 の欠損、V470 によるチャンネル機能の低下が予測される。

このように、個々の多型は健常人にも見られるものであったり、機能への影響が小さいものであっても、Haplotype で見た場合、大きな機能異常に繋がるものや、患者に特有な型が同定される。

E. 結論

-790 ΔT-(TG)₁₂-M470V は日本人のアルコール性慢性膵炎患者に特異的なハプロタイプで、疾患との関連が示唆される。

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 pulmonary disease: a pilot study *J Cyst Fibros.* 2006; 5: 159-164.

13. Lee JH, Choi JH, Namkung W, Hanrahan JW, Chang J, Song SY, Park SW, Kim DS, Yoon JH, Suh Y, Jang IJ, Nam JH, Kim SJ, Cho MO, Lee JE, Kim KH, Lee MG. A haplotype-based molecular analysis of CFTR mutations associated with respiratory and pancreatic diseases. *Hum Mol Genet.* 2003; 12: 2321-2332.
14. McCarthy VA, Harris A. The CFTR gene and regulation of its expression. *Pediatr Pulmonol.* 2005; 40(1): 1-8. Review
15. 吉田尚史, 清木 康, 藤島清太郎, 相磯貞和, SNP および臨床データベースを対象としたハプロタイプ解析による知識発見方式(2005)日本データベース学会 *Letters* 3: 25-28.
16. Cystic Fibrosis Mutation Database. <http://www3.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>
17. Perera HK, Caldwell ME, Hayes-Patterson D, Teng L, Peshavaria M, Jetton TL, Labosky PA. Expression and shifting subcellular localization of the transcription factor, Foxd3, in embryonic and adult pancreas. *Gene Expr Patterns.* 2006; 6: 971-7.
18. Cuppens H, Lin W, Jaspers M, Costes B, Teng H, Vankeerberghen A, Jorissen M, Droogmans G, Reynaert I, Goossens M, Nilius B, Cassiman JJ. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. The polymorphic (TG) m locus explains the partial penetrance of the T5 polymorphism as a disease mutation. *J Clin Invest* 1998; 101: 487-96.
19. Chu CS, Trapnell BC, Curristin S, Cutting GR, Crystal RG. Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. *Nat Genet* 1993; 3: 151-6.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表
 - 1) 藤木理代, 石黒 洋, 中莖みゆき, 山本明子, 北川元二, 近藤孝晴, 成瀬 達. MUTATIONAL ANALYSIS OF PROMOTER REGION OF CFTR IN JAPANESE PATIENTS WITH CHRONIC PANCREATITIS. 40th Anniversary Meeting of the American Pancreatic Association, (ホノルル)2009年11月4-7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

膵導管細胞における CFTR と SLC26A6 の相互作用の解析

研究報告者 石黒 洋 名古屋大学大学院健康栄養医学 准教授

共同研究者

Song Ying, 山本明子, 中莖みゆき, 近藤孝晴（名古屋大学大学院健康栄養医学）

洪 繁（名古屋大学大学院消化器内科学）, 藤木理代, 北川元二（名古屋学芸大学管理栄養学部）

成瀬 達（みよし市民病院）

【研究要旨】

強制発現系では、SLC26A6 Cl^- - HCO_3^- exchanger の活性は CFTR に依存し、両者は協調して HCO_3^- 輸送を担うとされる。昨年度は、モルモットの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて in vivo における機能連関を検討し、管腔膜の SLC26A6 Cl^- - HCO_3^- exchange 活性は CFTRinh-172 (CFTR の阻害剤)を加えると増強されると報告した。本年度は、Slc26a6 ノックアウトマウスを用いて検討した。ワイルドタイプ(+ / +)膵管では CFTRinh-172を加えると Cl^- 依存性 HCO_3^- 分泌が増加したが、Slc26a6(- / -)膵管では逆に減少した。SLC26A6 Cl^- - HCO_3^- exchanger は CFTR を代償していると考えられる。

A. 研究目的

cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) は、膵導管や気道上皮などに発現する陰イオンチャネルであり、嚢胞性線維症 (cystic fibrosis; CF) の原因分子である。強制発現系を用いた研究により、CFTR は、SLC26 陰イオン輸送体ファミリー蛋白と分子複合体を形成することにより、 HCO_3^- 輸送を担うと考えられている¹⁾。SLC26 のいくつかは、上皮膜組織の管腔膜に発現し、 Cl^- - HCO_3^- exchanger として機能する²⁾。膵導管細胞には、SLC26A3 と SLC26A6 が存在する³⁾が、生理学的なデータから SLC26A6 が主要な Cl^- - HCO_3^- exchanger であろうと考えられている⁴⁾。

本研究計画は、Slc26a6 ノックアウトマウスの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて、膵導管細胞管腔膜を介する HCO_3^- 分泌における SLC26A6 と CFTR との機能連関を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

Slc26a6 ノックアウトマウスから膵臓を摘出

し、コラゲナーゼで処理した後、実体顕微鏡下で直径約 $100\ \mu\text{m}$ の小葉間膵管を単離した。pH 感受性蛍光色素である BCECF を用いた microfluorometry により細胞内 pH を測定した。単離膵管を microperfusion し、表層と管腔を HCO_3^- - CO_2 緩衝液 (25 mM HCO_3^- , 125 mM Cl^-) で灌流し、acetate pulse (20 mM) に

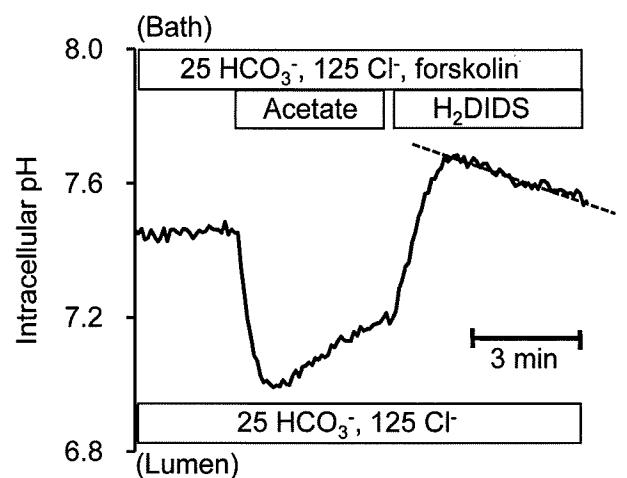


図1 管腔を microperfusion した単離膵管の管腔膜を介する HCO_3^- 分泌の測定

より膵導管細胞にアルカリ (HCO_3^-) 負荷した (図1). 表層灌流液に H_2DIDS (0.5 mM) を加えて基底側膜を介する HCO_3^- efflux を阻害しておけば, 細胞内 pH の変化 (低下) を測定することにより管腔膜を介する Cl^- 依存性の HCO_3^- efflux (HCO_3^- 分泌) を観察することができる.

(倫理面への配慮)

動物実験は名古屋大学医学部動物実験委員会 (承認番号21243) および名古屋大学医学部組織換え DNA 実験安全委員会 (承認番号08-50) の承認を受けて行った.

C. 研究結果

実験は, forskolin ($1\ \mu\text{M}$) を用いて cyclic AMP によって最大刺激された条件で行った. CFTR 阻害剤としては, CFTRinh-172 を $10\ \mu\text{M}$ の濃度で用いた. Wild-type マウスから単離した膵管では, 管腔内灌流液に CFTRinh-172 を加えると, アルカリ (HCO_3^-) 負荷後の管腔膜を介する Cl^- 依存性の HCO_3^- 分泌が促進された (図2). 一方, Slc26a6 ノックアウト (Slc26a6 $-/-$) マウスから単離した膵管では, 管腔内に CFTRinh-172 を加えると, Cl^- 依存性の HCO_3^- 分泌が逆に抑制された.

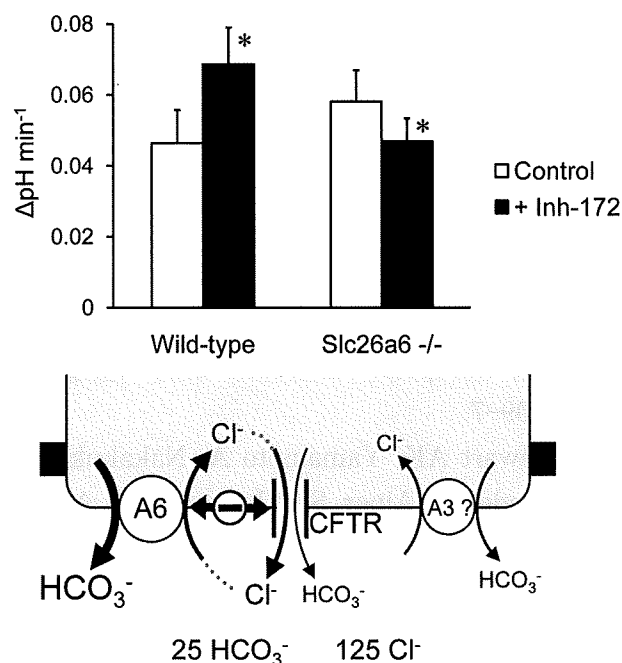


図2 Slc26a6 ノックアウトマウスにおける HCO_3^- 分泌と CFTR 阻害剤の作用

D. 考察

膵管上皮の管腔膜を介する HCO_3^- 分泌では, CFTR の anion conductance⁵⁾ と SLC26 ファミリー輸送体による Cl^- - HCO_3^- exchange 機能が協調して効率のよい分泌が達成されていると考えられている⁴⁾. 我々は, モルモットの単離膵管に SLC26A6 と SLC26A3 の mRNA が発現していること, Cl^- 依存性の HCO_3^- 分泌が管腔内の H_2DIDS (0.2 mM) により強く抑制されること, 管腔膜の主要な Cl^- - HCO_3^- exchanger は SLC26A6 と推定されることを報告した⁶⁾. また, Slc26a6 ノックアウトマウスでは, 単離膵管の管腔膜における (HCO_3^- efflux 方向の) Cl^- - HCO_3^- exchange 活性が小さかった⁷⁾. 管腔内の Cl^- 濃度が高い条件 (腺房に近い末梢の膵管に対応する) では, SLC26A6 による Cl^- - HCO_3^- exchange が HCO_3^- 分泌の多くを担っていると考えられる⁴⁾.

膵液中の HCO_3^- は, 腺房に近い細い膵管 (介在部~小葉内~小葉間膵管の細い部分) から主に分泌されると考えられており, 免疫組織学的検討により, この部位の膵管の管腔膜に CFTR と SLC26A6 が共存すると報告されている⁸⁾. 今年度は, Slc26a6 ノックアウトマウスの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて, 管腔膜を介する HCO_3^- 分泌における SLC26A6 と CFTR との機能連関を解析した. その結果, Wild-type の単離膵管では, CFTR を阻害すると管腔膜を介する Cl^- 依存性の HCO_3^- 分泌が促進されたが, Slc26a6 $-/-$ の膵管では逆に抑制された. この実験結果は, SLC26A6 が CFTR を代償すること, SLC26A6 が主要な Cl^- - HCO_3^- exchanger であることを示している. 末梢の膵管では, 腺房からの Cl^- 分泌によって管腔内の Cl^- 濃度が高いと推定され, この状態では導管細胞内の Cl^- 濃度は比較的高い⁹⁾. CFTR の HCO_3^- 透過性は Cl^- に比べて小さい (0.2~0.5) ため¹⁰⁾, この条件では, 管腔膜上の CFTR は HCO_3^- よりも Cl^- を多く分泌してしまうが, SLC26A6 による Cl^- - HCO_3^- exchanger が代償していると考えられる.

E. 結論

Slc26a6 ノックアウトマウスの膵臓から単離した小葉間膵管を用いて細胞内 pH を測定することにより, SLC26A6 と CFTR の HCO_3^- 分泌における機能連関を検討した. cAMP 刺激下の管腔膜上の Cl^- - HCO_3^- exchange 活性は, CFTR を阻害すると増強された. SLC26A6 Cl^- - HCO_3^- exchanger は CFTR を代償する.

F. 参考文献

1. Ko SB, Zeng W, Dorwart MR, Luo X, Kim KH, Millen L, Goto H, Naruse S, Soyombo A, Thomas PJ, Muallem S. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 343-50.
2. Ohana E, Yang D, Shcheynikov N, Muallem S. Diverse transport modes by the solute carrier 26 family of anion transporters. *J Physiol* 2009; 587: 2179-85.
3. Greeley T, Shumaker H, Wang Z, Schweinfest CW, Soleimani M. Downregulated in adenoma and putative anion transporter are regulated by CFTR in cultured pancreatic duct cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1301-8.
4. Steward MC, Ishiguro H. Molecular and cellular regulation of pancreatic duct cell function. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 447-53.
5. Ishiguro H, Steward MC, Naruse S, Ko SB, Goto H, Case RM, Kondo T, Yamamoto A. CFTR functions as a bicarbonate channel in pancreatic duct cells. *J Gen Physiol* 2009; 133: 315-26.
6. Stewart AK, Yamamoto A, Nakakuki M, Kondo T, Alper SL, Ishiguro H. Functional coupling of apical Cl^- / HCO_3^- exchange with CFTR in stimulated HCO_3^- secretion by guinea pig interlobular pancreatic duct. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1307-17.
7. Ishiguro H, Namkung W, Yamamoto A, Wang Z, Worrell RT, Xu J, Lee MG, Soleimani M. Effect of Slc26a6 deletion on apical Cl^- / HCO_3^- exchanger activity and cAMP-stimulated bicar-

bonate secretion in pancreatic duct. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G447-55.

8. Shcheynikov N, Wang Y, Park M, Ko SB, Dorwart M, Naruse S, Thomas PJ, Muallem S. Coupling modes and stoichiometry of Cl^- / HCO_3^- exchange by slc26a3 and slc26a6. *J Gen Physiol* 2006; 127: 511-524.
9. Ishiguro H, Naruse S, Kitagawa M, Mabuchi T, Kondo T, Hayakawa T, Case RM, Steward MC. Chloride transport in microperfused interlobular ducts isolated from guinea-pig pancreas. *J Physiol* 2002; 539: 175-189.
10. Linsdell P, Tabcharani JA, Rommens JM, Hou YX, Chang XB, Tsui LC, Riordan JR, Hanrahan JW. Permeability of wild-type and mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channels to polyatomic anions. *J Gen Physiol* 1997; 110: 355-364.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Stewart AK, Yamamoto A, Nakakuki M, Kondo T, Alper SL, Ishiguro H. Functional coupling of apical Cl^- / HCO_3^- exchange with CFTR in stimulated HCO_3^- secretion by guinea pig interlobular pancreatic duct. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1307-17.

2. 学会発表

- 1) Ishiguro H, Song Y, Kondo T, Yamamoto A. Interaction between CFTR Cl^- channel and SLC26a6 anion exchanger. Basic Science Symposium, The 41st meeting of The European Pancreatic Club (Szeged), 2009-7.
- 2) Stewart AK, Yamamoto A, Nakakuki M, Kondo T, Alper SL, Ishiguro H. Apical Cl^- / HCO_3^- exchange and CFTR are functionally coupled in stimulated HCO_3^- secretion by guinea pig interlobular pancreatic duct. 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009),

(Kyoto) 2009-7.

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