

分担研究概要報告書

日本住血吸虫性肝線維症感受性と関連する
HLA-DRB1*15:01遺伝子頻度の高齢者での減少

長崎大学・熱帯医学研究所・免疫遺伝学分野 平山 謙二

研究要旨

フィリピン国ルソン島南端ソルソゴン州は日本住血吸虫高度流行地で超音波診断で明らかな肺線維症を呈する患者が10才台で12.3%、20才以上では55.3%存在する。これら肝線維症患者集団でのHLA-DRB1*15:01頻度は、35才未満の群で、有意に増加していたことから、早期肝線維化発症にはHLA-DRB1*15:01が感受性因子として働いていると考えられた。感受性を示したDRB1*15:01陽性者の若年層と高齢者層でのアレル頻度をさらに詳細に統計解析し、明らかな高齢者での頻度の減少がこのアレルに特徴的に観察されることが示された。

A. 研究目的

フィリピン国ソルソゴン州で観察された若年性肝線維症発症に関わる免疫応答性を制御するHLAクラス2の特定のアレルについて更なる遺伝疫学解析を行い、HLAの関与する発症機序の本態を明らかにし発症の予防・治療法の開発、あるいは高リスク患者の早期発見に寄与することを目的とした。

B. 研究方法

フィリピン国ルソン島南端ソルソゴン州で住血吸虫症患者を対象とし共同研究を行っている独協大・千種教授、フィリピン大学・レオナルド教授、ソルソゴン県保健チームらの協力して、超音波診断、血清抗体価、Kato-Katzを施行した。

現地調査及び採血、遺伝子解析等については、長崎大学・熱帯医学研究所・研究倫理委員会及びフィリピン大学での承認を得て行った。「フィリピンにおける住血吸虫性肝線維化症の遺伝的調節機構の解析」承認番号04031002 長崎大学・熱帯医学研究所・研究倫理委員会。

C. 結果

1. ソルソゴンでの住血吸虫症の肝線維化

調査（表1）

表1に示すように2005年345名、2007年294名の互いにオーバーラップしない集団の抗体陽性率、虫卵検査結果、およびネットワークパターンの有無について調査した。この二つの集団を対象としてHLA-DRB1のアレルタイピングを行った。

表1

Year	Total No. of Patients	ELISA + (%)	Kato-Katz + (%)	Network Formation	
				NW+ (%)	NW- (%)
2005	345	291 (85.1)	39 (11.6)	210 (60.9)	135 (39.1)
2007	294	153 (52.9)	11 (3.9)	107 (36.4)	187 (63.6)

2. HLA-DRB1*15:01 頻度の若年齢層での感受性の上昇

ネットワークパターンを示す重症化群でのHLA-DRB1*15:01頻度が、34歳以下の集団では有意に上昇するが、35歳以上では逆に低下することが明らかになった。ハーディーワインバークの法則によれば世代間での遺伝子頻度は淘汰圧がなければ一定であるので、この感受性HLAの対象者全体での遺伝子頻度の動向についてさらに解析した。

3. 10歳幅の区間ごとのHLA-DRB1*15:01の頻度(%) (図1)

図1に示すように HLA-DRB1*15:01 陽性の人の集団中での頻度は35歳以上で減少傾向があることが観察された。さらに、区間を半分にして頻度をプロットしその年齢との相関を観察したのが、図2である。この解析により、30年で HLA-DRB1*15:01 アレル頻度が約0.1ずつ減少していることが示された。

図1

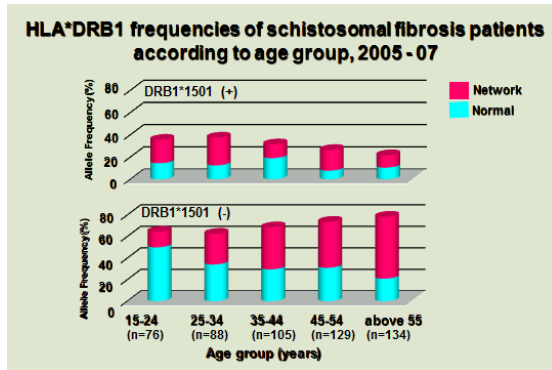
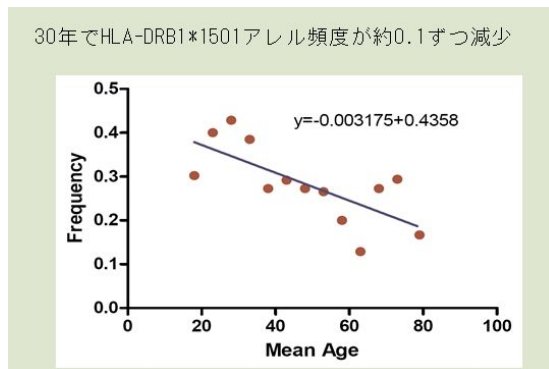


図2



D. 考察

35才以下の若年層で明らかな DRB1*15:01 と肝線維症の相関が認められた ($p < 0.02$, $OR = 2.83$; 2005, $p < 0.02$, $OR = 3.4$; 2007)。しかし、35才以上の群では有意差が認められなかった。

DRB1*15:01 の陽性者の頻度は30歳以降の高齢者では直線的に減少する傾向が有意に認められた。肝線維症は非可逆性に進行するため、若年発症群では早期に死亡した可能性がある。しかし、減少するのが生殖年齢を過ぎてからであるため、遺伝子頻度に影響することはないと予想される

ここで観察された HLA-DR2 グループの主要なアレルである HLA-DRB1*15:01 とすでに日

本で抵抗性との関連が報告されている HLA-DRB1*15:02-DQB1*06:01 について、まとめた。この結果を総合すると、HLA-DRB1*15:01 アレルの感受性が顕著であること、日本で優位に抵抗性を支配する DQB1*06:01 がこの感受性アレルに対しては優位に働かない可能性を示唆する結果となった。

この研究は以下の研究グループとの共同研究である。

千種雄一、林尚子 (獨協医科大学・熱帯病寄生虫センター)

吾妻健 (高知大学医学部・環境保健学)

Edelwisa M. Segubre-Mercado (RITM, Philippines)

Lydia R Leonardo (UP Manila)

Napoleon L Arevalo, Ronald R Lim, Lea M

Agsolid (MOH Sorsogon, Philippines)

E. 結論

フィリピンの若年性住血吸虫性肝線維症と関連する HLA-DRB1*15:01 は年齢が上がると淘汰される可能性がある。しかし、すでに次世代を再生産した後の世代が淘汰されるため、集団中の遺伝子頻度を低下させることはないと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

著書

平山謙二: その他の吸虫症 (肺吸虫症、肝吸虫症、横川吸虫症、肝蛭症)。Today's Therapy 2013、今日の治療指針 2013 版 (Volume 55) — 私はこう治療している。Pp266-267., 医学書院, 総編集; 山口徹、北原光夫、福井次矢, 2013, (2013年1月1日発刊)

英文論文

Takaki A, Yamazaki A, Maekawa T, Shibata H, Hirayama K, Kimura A, Hirai H, Yasunami M. Positive selection of Toll-like receptor 2 polymorphisms in two closely related old world monkey species, rhesus and Japanese macaques. Immunogenetics. 2012 Jan;64(1):15-29. Epub 2011 Jul 9.

Furuta T, Murao LA, Lan NT, Huy NT, Huong VT, Thuy TT, Tham VD, Nga CT, Ha TT,

Ohmoto Y, Kikuchi M, Morita K, Yasunami M, Hirayama K, Watanabe N. Association of mast cell-derived VEGF and proteases in dengue shock syndrome. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(2):e1505. doi: 10.1371/journal.pntd.0001505. Epub 2012 Feb 21.

Del Puerto F, Nishizawa JE, Kikuchi M, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Velarde FU, Miura S, Komiya N, Maemura K, Hirayama K. Protective Human Leucocyte Antigen Haplotype, HLA-DRB1*01-B*14, against Chronic Chagas Disease in Bolivia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Mar;6(3):e1587. Published online 2012 March 20. doi: 10.1371/journal.pntd.0001587

Mbanefo EC, Chuanxin Y, Kikuchi M, Shuaibu MN, Boamah D, Kirinoki M, Hayashi N, Chigusa Y, Osada Y, Hamano S, Hirayama K. Origin of a novel protein-coding gene family with similar signal sequence in *Schistosoma japonicum*. *BMC Genomics*. 2012, 13:260 doi: 10.1186/1471-2164-13-260

Omar AH, Yasunami M, Yamazaki A, Shibata H, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, Hirayama K. Toll-like receptor 9 (TLR9) polymorphism associated with symptomatic malaria: a cohort study. *Malar J*. 2012 May 17;11:168. doi: 10.1186/1475-2875-11-168.

Omar AH, Shibata H, Yasunami M, Yamazaki A, Ofori MF, Akanmori BD, Shuaibu MN, Kikuchi M, Hirayama K. The rs150311303 polymorphism in FcγRIIIa enhances IgG binding capacity. *Scand J Immunol*. 2012 Aug;76(2):167-74. doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02715.x.

Men TT, Huy NT, Trang DT, Shuaibu MN, Hirayama K, Kamei K. (2012) A simple and inexpensive haemozoin-based colorimetric method to evaluate anti-malarial drug activity. *Malar J*. 2012 Aug 9;11:272. doi: 10.1186/1475-2875-11-272.

Boamah D, Kikuchi M, Huy NT, Okamoto K, Chen H, Ayi I, Boakye DA, Bosompem KM, Hirayama K. Immunoproteomics Identification of Major IgE and IgG4 Reactive

Schistosoma japonicum Adult Worm Antigens Using Chronically Infected Human Plasma. *Trop Med Health*. 2012 Sep;40(3):89-102. doi: 10.2149/tmh.2012-16. Epub 2012 Oct 24.

Huy NT, Thao NT, Tuan NA, Khiem NT, Moore CC, Thi Ngoc Diep D, Hirayama K. (2012) Performance of thirteen clinical rules to distinguish bacterial and presumed viral meningitis in vietnamese children. *PLoS One*. 2012;7(11):e50341. doi: 10.1371/journal.pone.0050341. Epub 2012 Nov 28.

Huy NT, Hang le TT, Boamah D, Lan NT, Van Thanh P, Watanabe K, Huong VT, Kikuchi M, Ariyoshi K, Morita K, Hirayama K. (2012) Development of a single-tube loop-mediated isothermal amplification assay for detection of four pathogens of bacterial meningitis. *FEMS Microbiol Lett*. 2012 Dec;337(1):25-30. doi: 10.1111/1574-6968.12002. Epub 2012 Oct 5.

Florencia del Puertoa, Mihoko Kikuchia, b, Juan Eiki Nishizawac, Yelin Rocad, Cinthia Avilasd, Alberto Gianellad, Javier Lorad, Freddy Udalrico Gutierrez Velardee, Kenji Hirayama, 21-Hydroxylase gene mutant allele CYP21A2*15 strongly linked to the resistant HLA Haplotype B*14:02-DRB1*01:02 in Chronic Chagas Disease. *Human Immunology* Available online 31 January 2013

2 . 学会発表

Mihoko Kikuchi, Lydia R. Leonardo, Yuichi Chigusa, Edelwisa M, Segubre-Mercado, Noriko Kobayashi, Naoko Hayashi, Tetsu Inoue, Napoleon L. Arevalo, Ronald R. Lim, Lea M. Agsolid, Ken Agatsuma, Kenji Hirayama. Immunogenetic analysis of Patients with early onset schistosomal fibrosis in Sorsogon Province, the Philippines . Forum Cheju 15, The 15th Japan-Korea Parasitologists' Seminar, Current Trends in Parasitology, Research in Japan and Korea., May 23-25, 2012, Miyazaki Aoshima Palm Beach Hoel, Aoshima, Miyazaki, Japan

Mihoko Kikuchi, Natasha Andrea Fernandez, Lydia R. Leonardo, Yuichi Chigusa, Naoko Hayashi, Tetsu Inoue, Napoleon L. Arevalo,

Ronald R. Lim, Lea M. Agsolid, James Chua, Ken Agatsuma, Kenji Hirayama.
Surveillance on for schistosomal fibrosis in Sorsogon Province, the Philippines . 第 53 回日本熱帯医学会大会, 2012 年 9 月 5 日(水)~6 日(木), とかちプラザ, 帯広

菊池三穂子, Lydia R. Leonardo, 千種雄一, Edelwisa M. Segubre-Mercado, 小林典子, 林尚子, Napoleon L. Arevalo, Ronald R. Lim, Lea M. Agsolid, 我妻健, 平山謙二. フィリピンの若年性住血吸虫性肝線維症と HLA-DRB1*15:01 との相関. 第 21 回日本組織適合性学会大会, 平成 24 年 9 月 15 日-17 日、明治大学駿河台キャンパス リバティホール、東京

平山 謙二: 熱帯感染症と HLA. 第 21 回日本組織適合性学会大会, 平成 24 年 9 月 15 日-17 日、明治大学駿河台キャンパス、リバティホール、東京

Daniel Boamah, Mihoko Kikuchi, Ngyen Tien Huy, Kenta Okamoto, Honggen Chen, Irene Ayi, Daniel Adjei Boakye, Kwabene Mante Bosompem, Kenji Hirayama.
Immunoproteomics Identification of Major IgE and IgG Reactive Schistosoma japonicum Adult Worm Antigens Using Chronically Infected Human Plasma. HUPO 11th Annual World Congress, September 9-13, 2012, Hynes Convention Center, Boston, Massachusetts, USA.

平山 謙二: 淘汰圧としての熱帯感染症, シンポジウム 7 感染症の遺伝学: ゲノムと環境の相互作用 日本人類遺伝学会第 57 回大会 平成 24 年 10 月 24 日-27 日、京王プラザホテル、東京都

Evaristus C. Mbanefo, Yu Chuanxin, Mihoko Kikuchi, Mohammed N. Shuaibu, Daniel Boamah, Masashi Kirinoki, Naoko Hayashi, Yuichi Chigusa, Yoshio Osada, Shinjiro Hamano and Kenji Hirayama: Origin, Diversity and Molecular characterization of a Novel Protein-Coding Gene Family with Similar Signal Sequence in Schistosoma japonicum. 61st ASTM Annual Meeting, November 11-15 2012, Atlanta Marriott

Marquis, Hilton Atlanta, Atlanta GA, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし