

AGER 遺伝子の Gly82Ser 変異は日本人の気腫合併肺線維症における肺線維化の病態に関与する

研究分担者 花岡正幸

信州大学学術研究院医学系医学部 内科学第一教室 教授

研究要旨

気腫合併肺線維症（combined pulmonary fibrosis and emphysema; CPFE）は胸部 CT にて上葉優位に気腫性変化、下葉優位に線維化を伴う臨床症候群である。気腫性変化のみを伴う慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive pulmonary disease; COPD）とは異なる臨床的特徴を持つ。CPFE において気腫性変化に加えて線維化を発症する機序は明らかにされていない。本研究では CPFE と COPD の病態の違いに RAGE をコードする AGER 遺伝子多型が関連するか検討するために、AGER 遺伝子内の SNP である rs2070600（Gly82Ser）、rs1800625、rs2853807 について TaqMan Probe を用いた Real Time PCR 法でアレルタイプングを行い、血清 sRAGE 値を ELISA 法によって測定した。CPFE 群と COPD 群の 2 群間で CT における気腫性変化の程度に有意差は認められなかったが、rs2070600 の遺伝子型頻度分布に有意差が認められ、minor T allele が CPFE 群に高頻度で認められた。また、dominant model で minor T allele は CPFE と有意な相関を示した。COPD 群と比較して CPFE 群において血清 sRAGE は有意に低値であった。CPFE 群において血清 sRAGE 値を目的変数とした重回帰分析を行ったところ、血清 sRAGE 低値は rs2070600 の minor T allele と有意な関連が認められた。CPFE と COPD の相違点は肺の線維化の有無であることから、RAGE をコードする AGER 遺伝子の SNP rs2070600（Gly82Ser）は CPFE の線維化の病態に関連していることが示唆された。

共同研究者：

金城 匠、北口良晃、和田洋典、安尾将法

A. 研究目的

気腫合併肺線維症（combined pulmonary fibrosis and emphysema; CPFE）は胸部 CT にて上葉優位に気腫性変化、下葉優位に線維化を伴う臨床症候群である。気腫性変化のみを伴う慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive pulmonary disease; COPD）とは異なる臨床的特徴を持つ。CPFE において気腫性変化に加えて線維化を発症する機序は明らかにされていない。The receptor for advantage glycation end products (RAGE)は様々な細胞表面に発現するパターン認識受容体の一つであり、多因子のリガンドと反応し、様々なサイトカイン様活性を発揮することで組織リモデリングや炎症病態の形成に関与する。RAGE は肺組織に高発現し、COPD、特発性肺線維症、肺癌等の肺疾患との関連が報告されている。炎症のバイオマーカーと言われている soluble RAGE (sRAGE) はリガンドを捕捉し、RAGE との相互作用を阻害するデコイレセプターとして働き、上述の肺疾患で低下することが報告されている。本研究では CPFE と COPD の病態の違いに RAGE をコードする AGER 遺伝子多型が関連するか検討した。

B. 研究方法

当院を受診した 50 歳以上で 10 pack years 以上の喫煙歴を有し、精密呼吸機能検査および胸部 CT が施行された CPFE 患者 111 例、COPD 患者 337 例を対象とした。胸部 CT における気腫性変化および線維化の程度を視覚的評価法によって評価した。血液検体より genomic DNA を抽出し、RAGE をコードする AGER 遺

伝子内の SNP である rs2070600 (Gly82Ser)、rs1800625、rs2853807 について、TaqMan Probe を用いた Real Time PCR 法 (StepOne Plus, ABI) でアレルタイピングを行った。血清 sRAGE 値を ELISA 法によって測定した。

C. 研究結果

CPFE 群と COPD 群の 2 群間において肺気腫の程度に有意差は認められなかった。2 群間において rs2070600 の遺伝子型頻度分布に有意差が認められ ($P_c=0.033$)、minor T allele が CPFE 群に高頻度で認められた (Odds Ratio[OR]1.84; $P_c=0.015$)。また、dominant model で minor T allele は CPFE と有意な相関を示した (OR 1.93; $P_c=0.018$)。解析した 3 つの SNP における遺伝子型と肺癌の間には有意な関連は認められなかった。COPD 群と比較して CPFE 群において血清 sRAGE は有意に低値であった ($P=0.014$)。CPFE 群において血清 sRAGE 値を目的変数とした重回帰分析を行ったところ、血清 sRAGE 低値は rs2070600 の minor T allele と有意な関連が認められたが ($P=0.020$)、COPD 群において有意な関連は認められなかった。

D. 考察

rs2070600 の遺伝子型は特発性肺線維症、肺気腫、肺癌の病態に関連し、血清 sRAGE 値は特発性肺線維症、肺気腫、肺癌および rs2070600 の minor T allele の保有で低下すると報告されているが、一定の見解は得られていない。本研究では、2 群間で胸部 CT における気腫性変化の程度に有意差は認められず、CPFE と COPD の相違点は肺の線維化の有無であることから、rs2070600 の遺伝子型が CPFE における線維化に関連すると推測された。CPFE 群において血清 sRAGE はより低値であったが、rs2070600 の minor T allele の頻度の相違、線維化の有無、肺癌の頻度の相違に関連していると推測された。そこで CPFE 群における血清 sRAGE 値を目的変数とする重回帰分析を行ったところ、rs2070600 の遺伝子型における minor T allele の保有のみに有意な相関が認められた。これらの所見より、RAGE が CPFE における肺の線維化の病態に関連することが示唆された。

E. 結論

RAGE をコードする *AGER* 遺伝子の SNP rs2070600 (Gly82Ser) は CPFE の線維化の病態に関連していることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文

Kinjo T, Kitaguchi Y, Droma Y, Yasuo M, Wada Y, Ueno F, Ota M, Hanaoka M. The Gly82Ser mutation in *AGER* contributes to pathogenesis of pulmonary fibrosis in combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE) in Japanese patients. *Sci Rep* 2020;10:12811.



OPEN

The Gly82Ser mutation in *AGER* contributes to pathogenesis of pulmonary fibrosis in combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE) in Japanese patients

Takumi Kinjo¹, Yoshiaki Kitaguchi¹✉, Yunden Droma¹, Masanori Yasuo¹, Yosuke Wada¹, Fumika Ueno¹, Masao Ota² & Masayuki Hanaoka¹

The dominant pathogenesis underlying the combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE) remains unresolved. The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is highly expressed in lung tissues and interacts with distinct multiple ligands, implicating it in certain lung diseases. To elucidate the pathogenesis of CPFE, we genotyped three single nucleotide polymorphisms (SNPs: rs2070600, rs1800625, and rs2853807) of the gene encoding RAGE (*AGER*) in 111 CPFE patients and 337 chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients of Japanese by using StepOne Real-Time PCR System for SNP genotyping assay. Serum levels of soluble RAGE (sRAGE) were measured by ELISA. We found that the allele frequency of rs2070600 was significantly different between the two groups [corrected P (P_c) = 0.015]. In addition, the minor allele was associated with CPFE patients relative to COPD patients in a dominant effect model (Odds Ratio = 1.93; P_c = 0.018). Moreover, the serum sRAGE level was significantly lower in the CPFE group than the COPD group (P = 0.014). The rs2070600 minor allele was significantly associated with reduced sRAGE level in CPFE patients and independently affected sRAGE level reduction in this group (P = 0.020). We concluded that the *AGER* rs2070600 minor allele (Gly82Ser mutation) is associated with the pathogenesis of pulmonary fibrosis in CPFE in Japanese patients.

Some patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) have concomitant pulmonary fibrosis in addition to emphysema, which is known as combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE)¹. CPFE is characterized by upper-lobe emphysema and lower-lobe fibrosis on high-resolution computed tomography (HRCT) of the chest and preserved lung volume with serious diminished gas exchange capacity in pulmonary function tests. Because of frequent complications with pulmonary hypertension, acute lung injury, and lung cancer, the prognosis of CPFE is significantly poor relative to that of patients with emphysema only^{1,2}. To date, the pathogenesis of CPFE remains to be elucidated in terms of how the two conditions co-occur when they are considered to have different physiological and radiological characteristics. Our previous study demonstrated that enrichment of gene expression in fibrotic tissue differs from that in emphysematous lesions in lung tissues from patients with CPFE³. Genetic factors have been suggested to be involved in CPFE pathogenesis.

The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is a multiligand member of the immunoglobulin superfamily of cell surface molecules⁴. It interacts with distinct multiple ligands in ways that implicate it in homeostasis, development, inflammation, and certain lung diseases through modulation of multiple intracellular signaling pathways⁴. RAGE is constitutively highly expressed in the lung⁵, where decreased expression is associated with pulmonary fibrosis⁶ and lung cancer⁷ and upregulated expression has been observed in COPD⁸. The soluble form of RAGE (sRAGE) in the circulation is produced through alternative splicing of RAGE pre-mRNA

¹First Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan. ²Division of Hepatology and Gastroenterology, Department of Medicine, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan. ✉email: kitaguti@shinshu-u.ac.jp

