

びまん性肺疾患の遺伝子的アプローチ

植松史行 内山美寧 佐藤 研 貫和敏博

●近年の分子生物学の進歩により、びまん性肺疾患の一部でもその分子遺伝学的な機構が解明されつつある。これらは他のびまん性肺疾患の成り立ちを考えるうえで、重要なヒントを与えてくれるにちがいない。

*

キーワード：びまん性肺疾患、遺伝子、 $\alpha 1$ -アンチトリプシン欠損症、嚢胞性線維症

びまん性肺疾患は、「肺間質における支持組織の広範囲な増加」¹⁾と定義され、胸部X線写真上は両側肺野の広い範囲に陰影が認められることを特徴とする。すなわち、びまん性肺疾患における病変の場は多くの場合、肺の末梢であり、そこは肺胞腔および間質（肺上皮細胞、血管、リンパ管、結合織などを含む）からなる。

このようにびまん性肺疾患では、本来は肺野全体にわたって病変が存在することから、肺野全体にその原因が存在する可能性がある。すなわち、その個体のもっている遺伝的な素因が、発症に関連しているのではないかと考える余地がある。

病因のひとつとしてアトピー性素因の関与や気道過敏性が考えられている気管支喘息は、かならずしも上記の定義にあてはまらないが、肺野全体にわたるその原因が存在すると考えられている疾患であることから、ここではびまん性肺疾患に含めて論じることとする。

■遺伝子解析の可能なびまん性肺疾患

1. $\alpha 1$ -アンチトリプシン ($\alpha 1$ -AT) 欠損症

1963年、LaurellとErikssonは、血清蛋白の電気泳動において、 $\alpha 1$ グロブリン分画の泳動ピークを認めない症例の存在に気づいた。これは

血清中の $\alpha 1$ グロブリンの90%を占める $\alpha 1$ -ATという糖蛋白の欠損によるものであることが明らかになった。その後、 $\alpha 1$ -AT欠損症と肺気腫の関連が明らかにされ、 $\alpha 1$ -AT欠損症は、若年で肺気腫を発症する常染色体劣性の遺伝性疾患であるとみなされるようになった。欧米では小児肝硬変の原因としても知られている。

$\alpha 1$ -AT遺伝子はヒト第14染色体長腕31-32.3領域に同定されたsingle copy geneであって、7個のexonと6個のintronからなる全長12.2 kbの遺伝子である。 $\alpha 1$ -ATは、394個のアミノ酸からなる分子量約52,000の糖蛋白であり、各種のセリンプロテアーゼ、とくに細胞外蛋白を分解する強力な好中球エラスターゼ(NE)に対して阻害活性を示すセリンプロテアーゼインヒビターの一つである。 $\alpha 1$ -ATはそれらのうちでもっとも高濃度で血中に存在している。

$\alpha 1$ -AT欠損症の個体では、健常人に比べてす

サイドメモ

インプリンティング

個体の発生にさいし、両親は子に対して染色体の半量ずつを分かち与える。しかし両親の子の形質に対する寄与は、まったく同等ではない。受精卵において父親由来の成分と母親由来の成分をたがいに移し替える実験を行った結果、胎児が完全に発育を遂げるためには、母親由来と父親由来の成分が、それぞれ1つずつ必要であることが明らかになった。このことから、母親由来と父親由来の成分は、胎児の発生において、たがいに異なる役割を担っていることがわかる。こうした両親が子に対して異なった遺伝的寄与を行っている現象をインプリンティングという。その結果として、胎児におけるある遺伝子の活動性は、その個々の対立遺伝子が母親由来であるか父親由来であるかにより影響を受ける。インプリンティングを制御しているメカニズムとしては、DNAのメチル化による遺伝子の発現調節機構などが考えられている。

Diffuse diseases of the lung—molecular genetical approach

FumiYuki UEMATSU, Mine UCHIYAMA, Ken SATOH and Toshihiro NUKIWA: 東北大学加齢医学研究所腫瘍制御研究部門呼吸器腫瘍研究分野

くなくとも20倍肺気腫にかかりやすい。最終的には α 1-AT欠損症の80~90%が肺気腫を発症すると考えられる。とくに α 1-AT欠損症の喫煙者においては、30~40歳代の若年で肺気腫を発症してくる。 α 1-AT欠損者では肺胞腔に拡散する α 1-ATの量が少なく、炎症時にはNE優位となるために、肺胞構造が破壊されていくと考えられている(protease-antiprotease均衡理論)。さらに、タバコの煙にはオキシダントが含まれ、また炎症によって好中球やマクロファージからラジカルが放出されるが、これらは α 1-ATの活性中心であるMet³⁵⁸を酸化、失活させることが知られている。これもNE優位の環境をつくりだし、肺胞の破壊を助長させていると考えられる。一方、喫煙や粉塵曝露などの要因が存在しない場合には、肺気腫の発症は緩やかである。

α 1-AT遺伝子は強い多型性を示し、20種類以上の異なる遺伝子異常が見出されている(表1)²⁾。それらは以下のような3つのタイプに分類される。①少ないながらも血中に α 1-ATを証明できるdeficient型、②血中に α 1-ATを証明できないnull型、③本来のNE阻害活性に異常をきたしたdysfunction型である。これらとは別に、正常型の遺伝子も多数存在する。欧米人における α 1-AT欠損症の多くは、S型あるいはZ型とよばれる欠損型に基づいている。現在までに日本で報告されている α 1-AT欠損症は12家系であり、その頻度は欧米に比べ非常に少ない³⁾。遺伝的解析がなされているのはMnichinan 1家系、Siiyama 7家系、Mmalton 1家系の計9家系である。Siiyamaは、日本における多発欠損型であり、この7家系ではすべてに血族結婚がみられた。一方、欧米白人に多いZ型欠損型は、日本人では遺伝子解析で同定された例はない。

血中あるいは肺胞腔における α 1-ATのレベルの低下が疾患の中心となっているため、 α 1-ATの経静脈的投与が行われている。さらに、 α 1-ATの標的臓器への到達を改善するために、吸入療法が試みられている。アデノウイルスベクターに α 1-AT遺伝子を組み込み、気道上皮細胞に感染させて局所において α 1-ATを産生させることをめざした遺伝子治療もはじめられている⁴⁾。

2. 嚢胞性線維症 (cystic fibrosis : CF)

CFは外分泌腺の機能障害を特徴とする多臓器疾患であり、常染色体劣性の遺伝形式をとる。肺および膵がおもに侵され、分泌物の粘度の上昇が

みられる。慢性の呼吸器感染症を生じ、20~30歳代で死に至ることが多い。白人の間ではもっとも頻繁にみられる遺伝性疾患であり、およそ2,500人の新生児に1人の割合でみられる。1989年、この疾患の原因遺伝子として第7染色体上のCFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) 遺伝子が分離され、核酸配列から予想される蛋白は1,451個のアミノ酸からなる膜貫通型蛋白であることが明らかになった⁵⁾。その立体構造は、N末端から6個の細胞膜貫通構造、第1のATP結合部(NBF1)、イオン輸送の制御に関与するRドメイン、6回細胞膜を貫通する構造、第2のATP結合部(NBF2)の5つの機能ドメインからなると予想されている(図1)⁶⁾。この蛋白はcAMP依存性輸送蛋白スーパーファミリーに属すると考えられ、膵、耳下腺、汗腺、小腸、生殖系の上皮細胞で強く発現している。肺では気道上皮細胞では少なく、粘膜下分泌腺の上皮細胞で強く発現していることが明らかになってきた。

CFTR遺伝子においてももっとも高頻度に認められる異常は、exon 10のPhe⁵⁰⁸をコードする3塩基の欠失であり、 Δ F508とよばれ全CF症例の約70%にみられる。これ以外にも、現在までに230にも及ぶ遺伝子異常がみつかった⁷⁾。その多くは、2つのNBFドメイン内のアミノ酸配列領域に認められており、ATPとの結合がCFTRの機能発現に重要であることを示している。 Δ F508もまたNBF1に存在する遺伝子異常である。

CFTR遺伝子さまざまな細胞に導入した実験結果により、CFTRは塩素イオンチャンネルそのものであることが明らかになった^{7,8)}。CFTRの異常による病態発生の機構としては、塩素イオンの移動障害に伴う水分の移動障害、細胞内小器官のpH調節障害、細胞膜のリサイクリングの制御障害などが考えられている。

■その他のびまん性肺疾患

1. 特異性間質性肺炎

特異性間質性肺炎は肺胞壁の炎症と線維化により特徴づけられる疾患であり、肺胞腔を病変の主座とする肺炎とはさまざまな点で異なっている。病変がびまん性に存在する場合には、生体に重大な支障をきたし、治療に抵抗して慢性進行性の経過をとり、致死的となる場合が多い。この特異性間質性肺炎のなかには、常染色体優性の遺伝形式をとるものがあることが知られている。このよう

表1 いままでに知られている $\alpha 1$ -アンチトリプシン遺伝子の異常²⁾

対立遺伝子	変異の型 ^{a)}	基本となる ^{b)} 対立遺伝子	変異のある exon	基本遺伝子 との差異 ^{c)}	欠損のメカニズム	
Z	s	M1A213	V	E342K	細胞内蓄積	
S	s	M1V213	III	E264V	細胞内分解	
MHeerlen	s	M1A213	V	P369L	?	
MMallion	d	M2	II	Δ F52	細胞内蓄積	
MMineral Springs	s	M1A213	II	G67E	NE 阻害活性不全	
MProcida	s	M1V213	II	L41P		
MNichinan	d	M1V213	II	Δ F52	?	
	s			E148R		
I	s	M1V213	II	R39C	?	
PLowell	}	s	M1V213	III	D256V	細胞内分解
NullCardiff						
Sityama	s	M1V213	II	S53F	細胞内蓄積	
WBethesda	s	M1A213	V	A336T	細胞内分解	
ZWrexham	s	M1A213	II	S-19L	?	
	s		V	E342K		
ZAusborg	}	s	M2	V	E342K	?
ZTun						
NullGranite Falls	d	M1A213	II	partial Δ Y160, X160	mRNA 分解	
NullBellingham	s	M1V213	III	K217, X217	mRNA 分解	
NullMattawa	i	M1V213	V	Insert L353, F253, X376	?	
NullIsola de Procida	d	?	II-V	delete 10 kb, including exons II-V	遺伝子欠失	
NullHong Kong	d	M2	IV	partial Δ L318, X334	細胞内蓄積	
NullBolton	d	M1V213	V	partial Δ P362, X373	?	
NullDevon	s	?	II	G115S	?	
NullLudwigshafen	s	M2	II	I92D	?	
NullClayton	i	M1V213	V	partial insert P362, X376		
NullNewport	{	s	M1A213	II	G115S	?

a) s=塩基置換, d=塩基欠失, i=塩基挿入

b) 変異が生じたと考えられる, もとの対立遺伝子

c) アミノ酸は一文字表記による, たとえば E342K は, 342 番のグルタミン酸がリジンに置換したことを示す, Δ F52 は 52 番のフェニルアラニンの欠失を示す, X はストップコドンを示す。

なものをとくに家族性間質性肺炎とよんでおり, 病因の面から注目されている⁹⁾。

特異性間質性肺炎の多発家系において, 間質性肺炎に侵されていない家族の気管支肺胞洗浄液細胞を検討したところ, およそ半数ですでに肺胞の炎症が認められたとする報告がある¹⁰⁾。

最近著者らの経験した, 間質性肺炎の家族的集積の疑われる 1 例をここに示す(図 2)。この症例では, 5 人兄弟のうちの 3 人に間質性肺炎がみられた。また, そのうちの 2 人は肺癌を合併している。

2. アトピー遺伝子と気管支喘息

気管支喘息の背景には, アトピー素因と気道過敏性という 2 つの因子が想定されている。双生児を用いた研究などからそのいずれも遺伝性を示すことが明らかにされている。

近年, Cookson と Hopkins は制限酵素断片長多型 (restriction fragment length polymorphism: RFLP) マーカーを用いた解析を行い, アトピー遺伝子の存在を提唱している。すなわち彼らは ①皮膚テスト陽性, ②血清総 IgE 高値, ③特異的 IgE 高値の 3 点を満たすものをアトピー

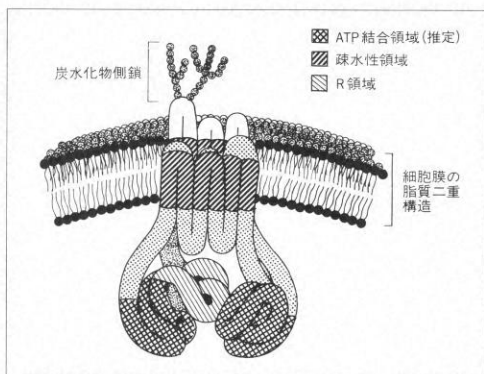


図1 アミノ酸一次構造から推定された CFTR 蛋白質の模式図⁹⁾
2つの ATP 結合領域 (NBF1 および NBF2), R 領域などを示す。▲はもっとも高頻度に見られる変異である $\Delta F 508$ の位置である。

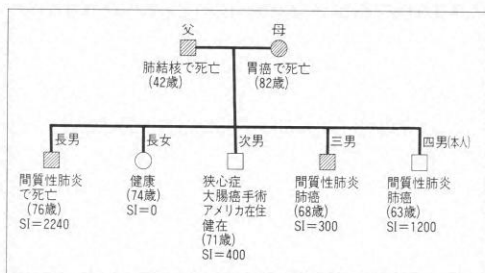


図2 自験間質性肺炎の兄弟発症例

と定義し、第11番染色体長腕のマーカー D11S97 (pms51) とアトピーとの間に有意な連鎖を見出した¹¹⁾。さらに、このアトピー遺伝子の伝達は両親の一方(多くの例では母親)を通じてのみ行われるといい、一種の「遺伝子インプリンティング」(子に伝えられる情報に対する寄与が、父親と母親とで均等ではない現象)〔「サイドメモ」参照〕が考えられている¹²⁾。

アトピー遺伝子の本体については明らかにされていないが、最近 IgE に対する高親和性受容体の β サブユニット (Fc ϵ RI- β) が D11S97 と同じ第11染色体長腕 13 領域に存在することがわかり、アトピーと密接に連鎖していることが明らかになった。Fc ϵ RI は抗原によって引き起こされる

肥満細胞の脱顆粒や、IgE 産生を増強させるサイトカインの放出に関与するとされており、その β サブユニットが第11番染色体上のアトピー遺伝子の候補であるという考えが提出されている¹³⁾。

3. サルコイドーシス

サルコイドーシスは、多臓器に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫(サルコイド結節)が形成される原因不明の疾患である。その肺病変の主体は、直径 300 μ m までのサルコイド結節が肺の間質に形成されることであり、臓側胸膜や小葉間結合組織にも同様の病変がみられることがある。1869年、Hutchinson によって最初の症例が報告されて以来、サルコイドーシスの家族性発症がみられたとする報告の数は増してきており、現在までに世界で

450例以上の症例が報告されている。ただしそれが共通の因子に対する曝露によるものか、あるいは遺伝的な素因に基づくものかは不明である。

一方、サルコイドーシスの発症が抗原の認識に直接関与するT細胞受容体の多様性と関連しているという報告がなされている。T細胞受容体には $\alpha\beta$ 型と $\gamma\delta$ 型の2種類が存在することが知られているが、一部のサルコイドーシス患者では、末梢血中の $\gamma\delta$ 型受容体の増加が認められたという。さらに、本症の γ 鎖および δ 鎖では、同一の塩基配列を示すクローンの増加する例が認められたという。これらはT細胞受容体が本症関連抗原の認識に関与することを示唆している¹⁴⁾。

4. 慢性ベリリウム症

慢性ベリリウム症 (chronic beryllium disease: CBD) は、ベリリウムへの曝露により惹き起こされるサルコイドーシス類似の肉芽腫性肺疾患である。ベリリウムは硬度、熱および電気伝導性に優れたなどの特性をもち、合金、セラミックス、真空管、原子炉、宇宙航空産業など広い分野で利用されるようになってきている。そのため、近年これらの産業の従事者、あるいはベリリウムの採鉱、抽出の従事者などの間でCBDの増加がみられる。その病因としては、免疫学的な機構が考えられている。CBD患者の肺には、ベリリウムと特異的に反応するCD4⁺T細胞の蓄積がみられる。この反応は、MHC class II抗原が抗原提示細胞の表面に発現されているときにのみ起こることが知られている。この観点から、HLA class II抗原に属するさまざまな対立遺伝子と、病気との関連が調べられた。その結果、HLA-DPB1*0201とCBDとの関連が報告されている¹⁵⁾。

■おわりに

びまん性肺疾患のみならず呼吸器疾患全体を見渡したとしても、その原因遺伝子が同定されて解析が進められた例はわずかに $\alpha 1$ -AT欠損症とCFにすぎない。しかしヒトの全ゲノムが急ピッチで解明されようとしている今日、他の呼吸器疾患においても遺伝子レベルで原因が明らかにされる日もそう遠くないように思われる。

文献

- 1) Thurlbeck, W. M. et al.: Abnormal structure and function of the lung. *In*: Diffuse Diseases of the Lung: A Team Approach. B. C. Decker, Philadelphia, 1991, pp. 13-31.
- 2) Crystal, R. C.: $\alpha 1$ -antitrypsin deficiency. *In*: Update: Pulmonary Diseases and Disorders (ed. by Fishman, A. P.). McGraw-Hill, New York, 1992, pp. 19-36.
- 3) 貫和敏博・他: 日本の $\alpha 1$ -antitrypsin欠損症における遺伝子変異とその背景. 日本胸部疾患学会雑誌. **30**: 1420-1426, 1992.
- 4) Rosenfeld, M. A. et al.: Adenovirus mediated transfer of a recombinant $\alpha 1$ -antitrypsin gene to the lung epithelium *in vivo*. *Science*. **252**: 431-434, 1991.
- 5) Rommens, J. M. et al.: Identification of the cystic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. *Science*. **345**: 1059-1065, 1989.
- 6) Gelehrter, T. D. and Collins, F. S.: Anatomy of the human genome: Gene mapping and linkage. *In*: Principles of Medical Genetics. Williams and Wilkins, Baltimore, 1990, pp. 193-228.
- 7) Anderson, M. P. et al.: Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. *Science*. **253**: 202-205, 1991.
- 8) Rich, D. P. et al.: Effect of deleting the R domain on CFTR-generated chloride channels. *Science*. **253**: 205-207, 1991.
- 9) Bitterman, P. B. and Crystal, R. G.: Is there a fibrotic gene? *Chest*. **78**: 549-550, 1980.
- 10) Bitterman, P. B. et al.: Familial idiopathic pulmonary fibrosis—evidence of lung inflammation in unaffected family members. *N. Engl. J. Med.* **314**: 1343-1347, 1986.
- 11) Cookson, W. O. C. M. et al.: Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet*. **i**: 1292-1294, 1989.
- 12) Cookson, W. O. C. M. et al.: Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet*. **340**: 381-384, 1992.
- 13) Sandford, A. J. et al.: Localisation of atopy and β subunit of high-affinity IgE receptor (Fc ϵ RI) on chromosome 11q. *Lancet*. **341**: 332-334, 1993.
- 14) 田村尚亮: サルコイドーシスにおけるT細胞レセプターを介した抗原認識の多様性. 日本胸部疾患雑誌. **30**: 86-91, 1992.
- 15) Richeldi, L. et al.: HLA-DPB1 glutamate 69: a genetic marker of beryllium disease. *Science*. **262**: 242-244, 1993.