

氏 名（本籍） ^{あか}赤 ^い井 ^{さと}智 ^こ子

学 位 の 種 類 博 士 （医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2868 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 8 年 3 月 8 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 62 年 3 月 25 日
 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 日 本 人 の 閉 塞 性 障 害 を 伴 う 慢 性 気 道 過 分 泌 患 者 に
 お け る cystic fibrosis 遺 伝 子 (CFTR gene) 異
 常 の 検 索

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 白 土 邦 男 教 授 成 澤 邦 明

 教 授 佐 々 木 英 忠

論 文 内 容 要 旨

び慢性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis, DPB) 及び閉塞性障害を伴う慢性気管支炎 (chronic bronchitis, CB) は, CFTR 遺伝子変異が原因であることが判明している嚢胞性線維症 (cystic fibrosis, CF) の軽症型と病像において多くの類似点を有している。

CF の病因となる CFTR 遺伝子は, Cl イオンチャンネルである CFTR 蛋白をコードしている。現在 CFTR 遺伝子の変異は 400 種類以上報告されている。3 塩基欠失により CFTR 蛋白の 508 番目のアミノ酸残基 Phe (F508) が欠失する Δ F508 変異は白人 CF 患者染色体の 70% に認められ最も頻度の高い遺伝子変異である。

CFTR 遺伝子に Δ F508 変異をホモに有する CF 患者は, CFTR 蛋白機能異常の結果, 肺機能不全を伴う重症型 CF の臨床像を示すことが知られている。本研究では, DPB 及び閉塞性障害を伴う CB 患者の中に, Δ F508 変異をヘテロに持ち, もう一方の染色体に他の CFTR 遺伝子軽症型変異を持つ軽症型 CF が混じている可能性を考え, CFTR 遺伝子の Δ F508 変異の有無を検討した。この可能性に関して検討するために, DPB 及び閉塞性障害を伴う CB 患者が, Δ F508 変異を有するか否かを検索した。

本院及び関連病院 2 院にて治療を受けた 8 例の DPB 患者 (男性 4 名, 女性 4 名) 及び 18 例の閉塞性障害を伴う CB 患者 (男性 9 名, 女性 9 名), また本院病理部で剖検が行われ DPB と確認された 4 例 (男性 3 名, 女性 1 名), 合計 30 名 (男性 16 名, 女性 14 名, 56 ± 3 才, SEM) に関して, Δ F508 の有無を検討した。26 症例及び健常提供者 4 例 (男性 2 名, 女性 2 名, 35 ± 5 才) から, 全血を 5 ml ヘパリン採血し, DNA を抽出した。剖検例 4 症例では, 心臓のホルマリン固定パラフィン包埋組織から, DNA を抽出した。CFTR 遺伝子の F508 をコードする DNA を含む領域を増幅する 1 組のプライマーを作成し, このプライマーを用いて患者から抽出した DNA を鋳型として, Polymerase Chain Reaction (PCR) 法を用いて増幅した。この増幅により, 正常の CF 遺伝子からは, 81 塩基長の DNA 断片が増幅され, Δ F508 を有する CFTR 遺伝子からは, 3 塩基短い 78 塩基長の DNA 断片が増幅される。PCR で得られた DNA 断片のサイズは, 10% polyacrylamide gel を用いて電気泳動を行い, ethidium bromide で染色して評価した。

DPB 及び閉塞性障害を伴う CB 患者 30 例において, PCR を用いて増幅された CFTR 遺伝子 DNA 断片は全て健常者 4 名と同じ 81 塩基長を示した。30 人の 60 の染色体には Δ F508 変異が存在しなかった。

Δ F508 は白人 CF 患者総数の 70% に検出され, CFTR 遺伝子に最も高頻度に認められる遺伝

子変異である。ΔF508 変異の頻度は北欧北米諸国では 70~80% と高く、南欧諸国では 30~50% と低い傾向にある。ΔF508 変異はおよそ 52,000 年前にヨーロッパ北西部に出現し、異なった速度で中東部や南東部に広がっていったことがハプロタイプ解析から示唆されている。一方 CFTR 遺伝子の他の変異の頻度は民族や地域の間でかなり違っており、民族や地域に特異的に高頻度に見られる遺伝子変異がいくつか報告されているが、ΔF508 以外の遺伝子変異の相対頻度はいずれも数%以下である。

今回の研究では、DPB 及び閉塞性障害を伴う CB 患者 30 人から得られた 60 の染色体に関して検討したが、ΔF508 変異を持つ染色体は見られなかった。本研究における CFTR 遺伝子の ΔF508 変異に関する解析の結果は、CF の病因となる CFTR 遺伝子変異として最も高頻度に認められる遺伝子変異である ΔF508 変異が、DPB 及び閉塞性障害を伴う CB の病因として関与していないことを示している。DPB 及び閉塞性障害を伴う CB は、ΔF508 変異をヘテロに持ち、もう一方の染色体に他の CFTR 遺伝子軽症型変異を持つ軽症型 CF ではないことが、示唆された。

審査結果の要旨

び慢性汎細気管炎（DPB）は、本邦に多く認められる慢性気道過分泌を示す呼吸器疾患である。DPBの発症機序に関しては未だに明らかではないが、家族内発症、HLABw54との関連が報告されており、発症に遺伝子変異が関与している可能性がある。慢性気管支炎（CB）は、気管支の過度の粘液分泌を特徴とするが、CBに著明な閉塞性障害を伴う例では、DPBと類似した臨床像をとる。

DPB及び閉塞性障害を伴うCBは、CFTR遺伝子変異が病因であることが判明している嚢胞性線維症（CF）の軽症型と、慢性気道過分泌症状の他にも、その病像において多くの類似点を有している。従って以前より、DPB及び閉塞性障害を伴うCBの一部にCFが混じっている可能性が論じられてきている。しかし、現在までこの可能性に関して、CFTR遺伝子の異常の点から検討された研究はなかった。

本研究では、この可能性について検討するために、白人のCF患者染色体の70%に認められ最も主要なCFTR遺伝子変異である Δ F508変異に着目した。DPB及び閉塞性障害を伴うCB患者の中に、 Δ F508変異をヘテロに持ち、もう一方の染色体に他のCFTR遺伝子軽症型変異を持つ軽症型CF患者が混じっている可能性を考え、CFTR遺伝子の Δ F508変異の有無を検討した。

8例のDPB患者及び18例の閉塞性障害を伴うCB患者、また剖検でDPBと確認された4例合計30名に関して Δ F508変異の有無を検討した。26症例では全血から、剖検例4症例ではホルマリン固定パラフィン包埋組織から、DNAを抽出した。CFTR遺伝子のF508をコードするDNAを含む領域を増幅する1組のプライマーを作成し、患者から抽出したDNAを鋳型として、PCR法を用いて増幅した。この増幅により、正常のCFTR遺伝子からは、81塩基長のDNA断片が増幅され、 Δ F508を有するCFTR遺伝子からは、3塩基短い78塩基長のDNA断片が増幅される。PCRで得られたDNA断片のサイズは、PCR-PAGE法を用いて評価した。

DPB及び閉塞性障害を伴うCB患者30例において、PCRを用いて増幅されたCFTR遺伝子DNA断片は全て81塩基長を示し、30人の60の染色体には Δ F508変異が存在しないことが明らかになった。本研究におけるCFTR遺伝子の Δ F508変異に関する解析の結果により、DPB及び閉塞性障害を伴うCBの中に、 Δ F508変異をヘテロに持ち、もう一方の染色体に他のCFTR遺伝子軽症型変異を持つ軽症型CFが混じっていないことが示された。日本人の慢性気道過分泌患者においてCFTR遺伝子の Δ F508変異の有無を検討した研究は本研究が初めてであり、DPB及びCBの病態解析のみならず、新しい治療法の開発に際して、極めて有用な知見となり得る。従って、本研究は学位論文に充分値すると考えられる。