

おわりに

文 献

幾つかの宿主遺伝子の幾つかの polymorphism がインターフェロン治療感受性に関係していると示唆するデータが得られてはいるものの、現時点では、それらを全て総合しても、ウイルス側因子 (viral load, viral genotype, viral mutations, etc) のみを以てする治療効果予測の精度には及ばない。即ち、現状ではウイルス側因子が「主」で、宿主側因子が「従」である。勿論、真に重要な宿主遺伝子多型を未だ見つけ得ないでいる可能性は当然にしてある。しかし、ひょっとすると、真に重要なウイルス側因子をも我々は見落として来ているのかもしれない。

- 1) Matsushita M, Hijikata M, Matsushita M, Ohta Y and Mishiro S: Association of mannose - binding lectin gene haplotype LXPA and LYPB with interferon - resistant hepatitis C virus infection in Japanese patients. *J Hepatol* 29: 695 - 700, 1998.
- 2) Hijikata M, Mishiro S, Miyamoto C, Furuichi Y, Hashimoto M and Ohta Y: Genetic polymorphism of the MxA gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patients: revisited by analyzing two SNP sites (-123 and -88) in vivo and in vitro. *Intervirology* 44: 379 - 382, 2001.

4 呼吸器感染症と自然免疫関連遺伝子多型

徳江 豊

東北大学加齢医学研究所

呼吸器腫瘍研究分野

Respiratory Infection and Innate Immunity -
Associated Gene Polymorphism

Yutaka TOKUE

*Department of Respiratory Oncology and Molecular Medicine,**Institute of Development, Aging and Cancer,**Tohoku University*

要 旨

目的: マンノース結合レクチン (MBL) などの自然免疫機構に関与する遺伝子には多型が存在し、蛋白レベルの質的・量的変化が報告されている。これら自然免疫機構関連物質の遺伝子多型が呼吸器感染を繰り返す原因の一つとなる可能性があり、種々の呼吸器感染症の宿主感受性と遺伝子多型の関連を検討した (東北大学倫理委員会承認済み)。

対象・方法: 1) 明らかな免疫的基礎疾患を認めず、肺炎または気管支炎を1年に2回以上繰

Reprint requests to: Yutaka TOKUE
Infection Control and Prevention Center
Gunma University Hospital
3-39-15 Showa-machi,
Maebashi 371-8511 Japan

別刷請求先: 〒371-8511 前橋市昭和町3-39-15
群馬大学医学部附属病院感染制御部 徳江 豊

り返す患者, 2) 非結核性抗酸菌症, アスペルギルス症などによる慢性呼吸器感染患者, 3) 健常人ボランティアを対象に, 末梢血あるいは口腔粘膜より DNA を抽出し, 標的遺伝子の既知の多型を含む領域をポリメラーゼ連鎖反応で増幅し, 直接塩基配列決定または制限酵素断片多型解析により遺伝子多型を判定した。

結果: MBL 遺伝子多型はコントロール群 17/53 (32.0%) に比し, 非結核性抗酸菌症, アスペルギルス症では差がなかったが, 繰り返し感染群で 26/38 (76.5%) と有意に頻度が高く ($p < 0.05$), MBL 遺伝子多型が反復感染のリスクファクターとなっていることが示唆された。

序 文

呼吸器系は常に外界の病原微生物などの攻撃にさらされている。このため呼吸器系には複雑な免疫防御機構が備わっており, 侵入した多くの病原微生物は自然免疫機構によって速やかに認識され, 処理される¹⁾²⁾。この呼吸器系における自然免疫機構は抗菌ペプチド, 補体, パターン認識受容体によって構成され, これらの自然免疫機構に異常をきたすと, 易感染性, 反復気道感染につながる。

人における自然免疫機構の構成要素のひとつにマンノース結合レクチン (Mannose Binding Lectin, MBL) がある³⁾⁴⁾。MBL は補体 C1q に類似した構造を持つパターン認識受容体であり, マンノースや N-アセチルグルコサミンなど微生物表面の糖鎖を直接認識して結合する⁵⁾。この MBL は肝臓で生成される炎症急性期蛋白であり, また肺サーファクタント蛋白の SP-A, SP-D と共にコレクチンファミリーに属する。MBL の基本構造は 32 kDa の相似なサブユニットの 3 量体で構成され, さらに血清中では 3 量体基本構造が数個集まり, 多量体を形成して存在する。MBL は Ca^{2+} 存在下にグラム陽性・陰性菌, 真菌, ある種のウイルス表面上に結合すると, オプソニン効果を発現する。また MBL は MBL 関連セリンプロテアーゼ (MASP-1 及び MASP-2) を介して, 補体系路を活性化することも知られており, この経路は第 3 経路 (またはレクチン経路) と呼ばれる⁶⁾⁷⁾。

ヒト MBL 遺伝子は第 10 染色体に存在し, 4 つの exon で構成され⁸⁾。このうち exon1 の codon 52, 54 及び 57 における遺伝子多型が知られている。人種間で遺伝子多型の頻度に差があるが, 日

本人を含むアジア系人種においては codon 54 の遺伝子多型が約 1 割の人にみられる⁹⁾。この遺伝子多型が存在すると MBL の 3 量体の形成不全が生じ, 血清 MBL 値が低下する。さらに最近の研究から MBL 遺伝子多型による血清 MBL 値低下が, 様々な病原菌に対する易感染性の背景因子となっていることがわかってきた¹⁰⁾。

本研究では MBL 遺伝子多型の感染背景・予後因子としての重要性に注目し, 反復呼吸器感染症例を対象として, MBL 遺伝子多型がこれらの易感染性に及ぼす影響を検討した。また MBL の肺内動態についても, 気管支肺胞洗浄液 (BALF) 等を用いて検討を加えた。

方法と結果

1. 反復呼吸器感染症例における MBL 遺伝子多型の頻度

明らかな免疫疾患がないにもかかわらず, 感染を繰り返すような患者に MBL 遺伝子多型がかかわっているかを検討した。反復呼吸器感染症例として 1 年間に 1 回以上の頻度で 2 年以上連続して, 急性気道感染症の診断で当科及び当科関連病院を受診した 62 例を対象とした。また検血検体の 52 例分を健常成人の対照群として, この両群における MBL 遺伝子多型の頻度を比較した。血液検体より DNA を抽出し, MBL 遺伝子 exon1 の遺伝子多型部位を含む領域を PCR で増幅し, 多型部位に特異的な制限酵素で処理し, 電気泳動パターンから MBL 遺伝子型を判定する方法を用いた (図 1)。反復感染症例群における MBL 遺伝子多型の頻度は 62 例中 34 例, 54.8% であり, 対照群の健常人の頻度 32.7% に対して, MBL 遺伝子

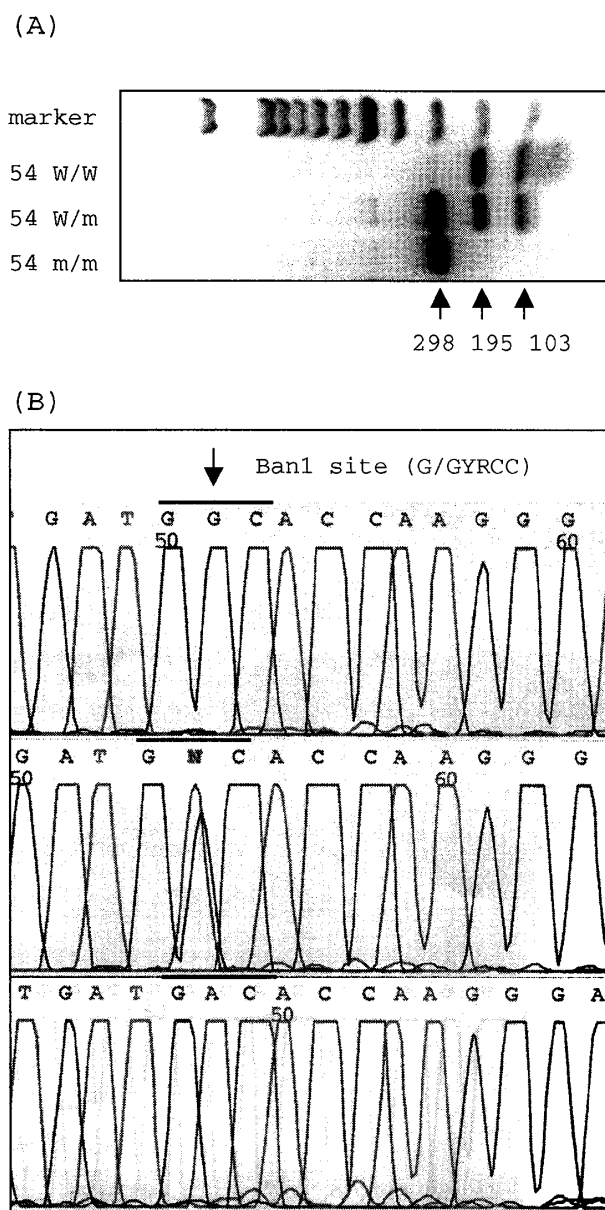


図1

多型の頻度が有意に高いことが示された。このことは MBL 遺伝子多型が、反復呼吸器感染の一つの背景因子となっている可能性を示す。

2. 気管支肺胞洗浄液 BALF における MBL 値の検討

MBL は肝由来の炎症急性期蛋白であり、通常は血清中に存在し、炎症に際して血管外に滲出し、作用すると考えられている。そこで、肺炎に際して MBL が気道において検出されるか否かを検討

した。対象は肺炎急性期に気管支肺胞洗浄を行ない得た感染性肺炎症例 5 例および対照群として健常者 5 例であり、これらの気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の MBL 値を測定した。BALF 中の MBL 値は ELISA 法にて検出した。結果を表 1 に示すが、健常者群 5 例全例で MBL が測定感度以下であるのに対して、肺炎患者群の BALF では全例において MBL を検出し得た。このことから肺炎時に MBL は血管内から気道に滲出して、感染防御因子として働いている可能性があると考えられた。

3. びまん性汎細気管支炎、非定型抗酸菌症、肺アスペルギルス症における MBL 遺伝子多型の頻度

MBL の気道における感染防御因子としての役割を、びまん性汎細気管支炎 (DPB)、非定型抗酸菌症、肺アスペルギルス症患者において MBL 遺伝子多型の頻度で検討した。対象としては当科関連病院に通院または入院した、DPB、非定型抗酸菌症、肺アスペルギルス症患者、それぞれ 49 例、50 例、23 例である。この結果を表 2 に示す。DPB における MBL 遺伝子多型頻度は、51.0% (49 例中 25 例) であり、これは先述の健常成人対照群の 32.7% に比較して有意に高いものであった。このことは DPB において MBL 遺伝子多型がひとつの背景因子になっている可能性があることを示すと考えられる。次に非定型抗酸菌症、肺アスペルギルス症における MBL 遺伝子多型頻度は、それぞれ 44.0% (50 例中 22 例)、34.7% (23 例中 8 例) であり、これらは対照群に比較して有意差はなかった。非定型抗酸菌症、肺アスペルギルス症のような慢性感染状態に比して DPB のように主に感染によって炎症を繰り返している状態において、MBL はより重要な防御因子として働いていると考えられた。

考 察

MBL と同じくコレクチンファミリーに分類される SP-A 及び SP-D に関しては、様々な病原

表1 BALF中のMBL濃度

No.	MBL ng/mL	Status of Lung for BAL
1	78.0	<i>P. carinii</i> pneumonia
2	11.0	<i>P. carinii</i> pneumonia
3	29.0	Bacterial pneumonia
4	19.0	Bacterial pneumonia
5	11.0	Bacterial pneumonia
6	ND	Normal volunteer
7	ND	Normal volunteer
8	ND	Normal volunteer
9	ND	Normal volunteer
10	ND	Normal volunteer

表2 各種呼吸器感染症におけるMBL遺伝子多型の頻度

MBL genotype	DPB (n=49)	NTM (n=50)	Aspergillus (n=23)	control (n=52)
54 G/G	24 (49.0)	28 (56.0)	15 (65.2)	35 (67.3)
54 G/A	22 (44.9)	21 (42.0)	7 (30.4)	12 (23.1)
54 A/A	3 (6.1)	1 (2.0)	1 (4.3)	5 (9.6)
Low MBL variant	25 (51.0)	22 (44.0)	8 (34.7)	17 (32.7)

微生物に接着し、オプソニン化や病原菌凝集の役割を担い、呼吸器系における重要な感染防御因子となっていることがこれまでの研究からわかっている。しかしながら MBL の気道免疫における役割に関しては、まだ不明点が多い。今回我々は、肝由来の急性期蛋白である MBL が肺炎の際に血管より滲出し、宿主免疫に寄与していることを示唆する結果を示した。また MBL については SP-A 及び SP-D と異なり、MASP-1 及び MASP-2 を介して補体系を活性化する作用があり、その点からも重要な感染防御因子である可能性がある。最近の研究で cystic fibrosis において MBL 遺伝子多型が存在すると、反復気道感染から肺の早期荒廃をきたし、予後が悪くなることが報告された¹¹⁾。一方、DPB も慢性反復性呼吸器感染症であり、末期には緑膿菌感染をきたしてくるなど、cystic fibrosis に類似した特徴を有する。DPB も

原因不明の反復呼吸器感染をきたす気道疾患であるが、今回の我々の検討で、MBL の遺伝子多型が DPB の患者群において有意に高値であり、cystic fibrosis における DF506 のように、ひとつの原因遺伝子になっている可能性があることを示した。もちろん MBL 遺伝子多型は日本人の約 1 割の人口に見られる、比較的一般的な遺伝子多型であり、この点から単一の感染背景因子とはいえないが、MBL の遺伝子多型による血清 MBL 値の低下が、さまざまな感染疾患の背景因子となっている可能性があり、今後より詳細な検討が行う必要があると考えられた。

文 献

- 1) Medzhitov R and Janeway C Jr: Innate immunity. *N Engl J Med* 343: 338-344, 2000.

- 2) McCormack FX and Whitsett JA: The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung. *J Clin Invest* 109: 707-712, 2002.
- 3) Turner MW: Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 17: 532-540, 1996.
- 4) Jack DL, Klein NJ and Turner MW: Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunol Rev* 180: 86-99, 2001.
- 5) Kuhlman M, Joiner K and Ezekowitz RA: The human mannose-binding protein functions as an opsonin. *J Exp Med* 169: 1733-1745, 1989.
- 6) Matsushita M and Fujita T: Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 176: 1497-1502, 1992.
- 7) Matsushita M, Endo Y, Nonaka M and Fujita T: Complement-related serine proteases in tunicates and vertebrates. *Curr Opin Immunol* 10: 29-35, 1998.
- 8) Sastry K, Herman GA, Day L, Deignan E, Bruns G, Morton CC and Ezekowitz RA: The human mannose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *J Exp Med* 170: 1175-1189, 1989.
- 9) Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y, Iwata K, Matsumoto M, Nakao K, Kanai K, Yoshida N, Baba K and Mishiro S: Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol* 143: 645-651, 1998.
- 10) Sumiya M, Super M, Tabona P, Levinsky RJ, Arai T, Turner MW and Summerfield JA: Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 337: 1569-1570, 1991.
- 11) Garred P, Pressler T, Madsen HO, Frederiksen B, Svejgaard A, Hoiby N, Schwartz M and Koch C: Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 104: 431-437, 1999.