

審査の結果の要旨

氏名 庄嶋 淳子

本研究は環境や菌側の因子に加え、宿主の複数の内的素因が関与し発症すると考えられている肺抗酸菌症について、肺結核症と肺非結核性抗酸菌症を代表する肺 MAC 症のそれぞれについて、マイクロサテライトマーカーを用いた疾患関連解析の手法で疾患感受性遺伝子の探索を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 日本人肺 MAC 症患者集団について、ゲノムワイドに設置された 19,651 個のマイクロサテライトマーカーとプールド DNA を用いた解析が行われた。三段階スクリーニングと続く個人解析の結果、Bonferroni による多重検定補正の有意水準を満たすマーカーは無かったが、D13S791、D11S0536i、D6S0009i、D17S1290 の 4 マーカーにおいて、同じアリルで繰り返し P 値が 0.05 未満を示した。このうち、P 値が最も小さく (A6 アリルにおいて  $P=0.0007$ ,  $OR=1.53$ )、HLA 領域の MICA 遺伝子のエクソン 5 に存在する D6S0009i /MICA-TM マーカーが選出された。
2. 肺 MAC 症患者病変部と肺癌患者非癌部の手術標本について、抗 MICA 抗体を用いた免疫染色を行った。両標本における細気管支上皮と肺泡マクロファージ、また肺 MAC 症における肉芽腫の類上皮細胞と多核巨細胞が染色陽性であり、肺組織におけるタンパクレベルでの発現分布が示された。さらに、A6 アリルと non-A6 アリルのヘテロ接合型であるヒト気管支上皮細胞を用いて発現比を測定した結果、A6 アリル由来の mRNA は non-A6 の mRNA に比し有意に高く発現していた (正鎖プライマー解析 ;  $P<0.0001$ 、相補鎖プライマー解析 ;  $P=0.0075$ )。
3. D6S0009i/ MICA-TM マーカーと連鎖不平衡にある周囲の既知候補遺伝子 HLA-B と -DRB1 遺伝子の疾患関連解析を行ったところ、多重検定補正後も有意なアリルは検出されず、MICA-TM マーカーの疾患との関連が最も強いことが示された。一方 A6 を含むハプロタイプは B\*5201-A6-DRB1\*1502 と B\*4403-A6-DRB1\*1302 に大きく分かれ、そのうち前者のハプロタイプに含まれる DRB\*15 は過去の関連解析で抗酸菌との関連が指摘されているアリルであった。
4. ベトナム人肺結核症患者集団について、Th1 系免疫関連遺伝子群近傍に設置されたマイクロサテライトマーカーをスクリーニングした結果、多重検定補正後も有意な疾患抵抗性を示した IFNGR2 遺伝子近傍の 2 マーカー (IFNGR2-1; 補正  $P=0.0096$ ,  $OR=0.47$ 、IFNGR2-2 ; 補正  $P=0.0216$ ,  $OR=0.46$ ) が選出された。2 マーカー周囲のタグ SNP について疾患関連解析を行った結果、単独で有意差を示した SNP はなかったが、マイクロサテライトマーカーを含む A-325-GGCAT-252-CT ハプロタイプの有意な疾患抵抗性が示された ( $P=0.0021$ )。本ハプロタイプは IFNGR2 遺伝子に主に存在した。

5. 疾患抵抗性ハプロタイプの主成分である IFNGR2 遺伝子の機能的領域(プロモーター領域と全エクソン)について、ベトナム人対照 16 例における SNP スクリーニングを行い、プロモーター領域に既知 3SNP が検出された。疾患関連解析の結果、これらの SNP は単独では有意な関連を示さなかったが、ATC ハプロタイプは既に検出された有意ハプロタイプ上に存在し、疾患抵抗性であることが示された(P=0.0409)。尚、ATC ハプロタイプの第 1 番目の SNP は転写因子 NF- $\kappa$ B の結合推定部位内に存在していることが明らかとなった。

以上、本論文は肺抗酸菌症疾患感受性遺伝子の探索を行い、肺 MAC 症においては MICA 遺伝子、肺結核症においては IFNGR2 遺伝子をそれぞれ新たな候補遺伝子として見出した。前者においては、疾患関連解析の結果を MICA 遺伝子の mRNA レベル、タンパクレベルでのヒト肺組織における発現解析に発展させることにより、MICA 遺伝子のアレル特異的な発現量の違いが気道炎症に影響して肺 MAC 症の疾患感受性因子となっている可能性が示された。後者では、抗酸菌が細胞内寄生するマクロファージを活性化するインターフェロン $\gamma$ の受容体である IFNGR2 遺伝子の発現制御に関与する可能性がある疾患抵抗性ハプロタイプを検出し、今後の発現解析が待たれる。このように個々の宿主因子を探索し、機能解析の結果を集積することで、疾患の病態からみた新たな治療法の開発への道が開けるものと期待される。本論文の結果は今後の肺抗酸菌症の病態解明にとって重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。