

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06590

研究課題名(和文) 家族性に発症する肺非結核性抗酸菌症の疾患感受性遺伝子の同定及び機能解析

研究課題名(英文) Identification and function analysis of susceptible genes for familial pulmonary NTM diseases

研究代表者

南宮 湖 (Namkoong, Ho)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：50594644

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：慶應義塾大学医学部倫理委員会から承認を得て(UMIN ID: 000010891)、家族性肺NTM症患者のDNA検体を現時点で10家系合計21名から集積し、DNA検体のエクソーム解析(MiSeq, Illumina社)を行った所、複数の疾患感受性遺伝子の候補が挙げられた。その中でも右図に示す3人の発症者が存在する家系において、強力な候補遺伝子が見つかり、解析を進めた。具体的には、SNP解析により候補遺伝子の存在領域を絞り込み、エクソーム解析によって得られた変異をサンガー法で再度、確認した。その結果、発症者に共通して遺伝子Aのフレームシフトが存在することを見出した

研究成果の概要(英文)：We have gathered DNA samples from 21 Japanese cases of familial PNTM disease (10 families). We have performed exome analysis for the family members who were suspected to have the strong susceptible genes since the three members suffered from pulmonary NTM diseases. Concretely, after SNP analysis, we have confirmed gene A by the sanger sequencing.

研究分野：呼吸器感染症

キーワード：エクソーム解析 肺NTM症 疾患感受性遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

肺非結核性抗酸菌 (NTM) 症は、主に中高年以降の女性に好発する難治性の慢性進行性呼吸器感染症であり、近年、本邦で急激な増加が指摘されている。研究代表者は、厚生労働科学研究委託事業「非結核性抗酸菌症の疫学・診断・治療に関する研究」の一環として、肺 NTM 症の罹患率は7年前と比較して、約2.5倍と急激に増加していること、肺 NTM 症の罹患率は肺結核の罹患率を超えたこと、肺 NTM 症の罹患率は地域間で相違があることを示し (Namkoong H, et al. *Emerg Infect Dis*, 2016)、肺 NTM 症が公衆衛生上、重要な呼吸器感染症であることを明らかにした。

肺 NTM 症は自然軽快、増悪を繰り返し、徐々に進行する。その経過には宿主・病原菌側の両者の関与が推察されるが、その病態は未だに不明な点が多い。特に NTM は弱毒菌で、水や土壌に存在する環境常在菌であるにも関わらず、疫学的事実として、米国においては他人種と比較してアジア人の罹患率が高いこと (Prevots DR et al. *AJRCCM*, 2012) や、やせ型の中高年女性に好発すること (Adjemian J et al. *AJRCCM*, 2012) や、家族集積性のあること (Takahashi M et al. *AJRCCM*, 2000, Colombo RE et al. *Chest*, 2010) から、疾患感受性遺伝子の存在が強く推察されている。

本邦・海外での肺 NTM 症の疾患感受性遺伝子に関する先行研究として、Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 解析やマイクロサテライトマーカーを用いた解析が行われ、NRAMP1・MICA などの遺伝子多型の関与が報告されているが (Sapkota BR et al. *Hum Immunol*, 2008)、先行研究は比較的少数例であり、その再現性や生物学的意義の検証など今後検討すべき課題を含む。

ヒトからヒトへの感染がない肺 NTM 症において、居住環境が異なるにも関わらず、同一家系内に肺 NTM 症を発症することが報告されている。研究代表者は、その家系が有している特有の遺伝子の中に、肺 NTM 症の疾患感受性遺伝子の候補が含まれている事が強く示唆すると考え、家族性に発症する肺 NTM 症患者及び非発症者を含むその家系を集積し、次世代シーケンサーを活用した遺伝学的アプローチを行うことで、疾患感受性遺伝子候補を探索できるのではないかとこの着想を得た。

### 2. 研究の目的

肺 NTM 症の疾患感受性遺伝子を明らかにすることを目的として、研究を開始した。

### 3. 研究の方法

エクソーム解析が臨床研究において広く利用されるようになった。特に、家族性疾患のエクソーム解析から、様々な新規疾患感受性遺伝子が同定されている。研究代表者は慶應義塾大学医学部倫理委員会から承認を得て

(UMIN ID: 000010891)、家族性肺 NTM 症の患者を、現時点で 10 家系から合計 21 名集積した。その中でも、1 家系の内、3 人の発症者が存在し、疾患感受性遺伝子の存在が強く考えられる家系に注目し、解析を進めた。具体的には、SNP 解析 (Genome-Wide Human SNP Array 6.0, Affymetrix 社) により候補遺伝子の存在領域を絞り込んだ上で、エクソーム解析 (MiSeqR, Illumina 社) を実施した。

### 4. 研究成果

上記のエクソーム解析から、遺伝子 A を同定した。また、申請者は CRISPR/Cas9 システムを用いて遺伝子 A のノックアウト (KO) マウスを作成した。遺伝子 A ノックマウスの気道上皮の線毛構造には明らかな形態学的異常は認めず、今後、機能解析を行っていく方針とした。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Namkoong H, Morimoto K, Nishimura T, Tanaka H, Sugiura H, Yamada Y, Kurosaki A, Asakura T, Suzuki S, Fujiwara H, Yagi K, Ishii M, Tasaka S, Betsuyaku T, Hoshino Y, Kurashima A, Hasegawa N. Clinical efficacy and safety of multidrug therapy including thrice weekly intravenous amikacin administration for Mycobacterium abscessus pulmonary disease in outpatient settings: a case series. *BMC Infect Dis*. 2016 Aug 9;16:396. (査読有) (DOI: 10.1186/s12879-016-1689-6)
2. Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. Epidemiology of Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Disease, Japan(1). *Emerg Infect Dis*. 2016 Jun;22(6):1116-7. (査読有) (DOI: 10.3201/eid2206.151086)
3. Namkoong H, Ishii M, Funatsu Y, Kimizuka Y, Yagi K, Asami T, Asakura T, Suzuki S, Kamo T, Fujiwara H, Tasaka S, Betsuyaku T, Hasegawa N. Theory and strategy for Pneumococcal vaccines in the elderly. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(2):336-43. (査読有) (DOI: 10.1080/21645515.2015.1075678)
4. Namkoong H, Fukumoto K, Hongo I, Hasegawa N. Refractory tenosynovitis with 'rice bodies' in the hand due to Mycobacterium intracellulare. *Infection*. 2016 Jun;44(3):393-4. (査読有) (DOI: 10.1007/s15010-015-0844-0)

[学会発表] (計 8 件)

(国際学会発表)

1. Ho Namkoong, Makoto Ishii, Hideki Fujii, Kazuma Yagi, Takanori Asakura, Shoji Suzuki, Tetsuro Kamo, Sadatomo Tasaka, Naoki Hasegawa, Tomoko Betsuyaku. Obesity worsens the outcome of influenza virus infection via impaired IFN-Beta induction and reduced expressions of antimicrobial peptides in mice. ATS International Conference poster session. 2016年5月17日, San Fransisco, USA.

(国内学会シンポジウム)

1. 南宮湖 「近年、急増する肺非結核性抗酸菌症の宿主側因子の解明を目指して」第65回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第63回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会「Meet the up-front translational researchers」朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター(新潟) 2016年10月28日

2. 南宮湖 「世界と日本の肺非結核性抗酸菌症の疫学～持続可能な疫学調査の実施を目指して～」第92回日本結核病学会総会 東京国際フォーラム(東京) 2017年3月23日

(国内学会発表)

1. 南宮湖, 高橋 佑介, 松元 一明, 石井 誠, 田坂 定智, 別役 智子, 木津 純子, 長谷川 直樹 「医薬品副作用データベース(JADER)を用いた肺 Mycobacterium avium complex 症の化学療法の有害事象解析」第56回日本呼吸器病学会学術講演会、2016年4月8日、国立京都国際会館(京都)

2. 南宮湖, 石井 誠, 八木 一馬, 朝倉 崇徳, 鈴木 翔二, 加茂 徹郎, 田坂 定智, 長谷川 直樹, 別役 智子. 「肥満マウスにおけるインフルエンザウイルス感染症の重症化機構の検討」第56回日本呼吸器病学会学術講演会、2016年4月7日、国立京都国際会館(京都)

3. 南宮湖, 朝倉 崇徳, 鈴木 翔二, 八木 一馬, 浅見 貴弘, 上叢 義典, 船津 洋平, 藤原 宏, 鎌田 浩史, 西村 知泰, 石井 誠, 田坂 定智, 長谷川 直樹, 高橋 佑介, 松元 一明, 木津 純子, 別役 智子. 「医薬品副作用データベース(JADER)を用いた肺 Mycobacterium avium complex 症の化学療法の有害事象解析」第91回日本結核病学会総会、2016年5月26日、ホテル日航金沢(金沢)

4. 南宮湖, 西村 知泰, 中村 朗, 朝倉 崇徳, 鈴木 翔二, 加茂 徹郎, 鎌田 浩史, 石井 誠, 長谷川 直樹, 別役 智子. 「抗 IFN 中和自己抗体が検出された播種性 NTM 症の3例」第44回日本臨床免疫学会総会、2016年9月8日、京王プラザホテル(東京)

5. 南宮湖, 「クラリスロマイシンは CD11b+Gr-1+細胞を誘導し、LPS 腹腔内投与 ショックモデル・インフルエンザ後二次性肺炎 球菌性肺炎モデルの予後を改善させる」第20回東京呼吸器病態研究会、2016年11月9日、ホテルモントレー(東京)

(図書)(計8件)

1. 南宮湖, 倉島 篤行, 長谷川 直樹, 森本 耕三 「人間ドックで異常を指摘された中葉舌区陰影」医学書院 呼吸と循環 64巻 1号 112頁(p79-82), 2016.

2. 南宮湖. 特集 呼吸器系のウイルス感染症 インフルエンザ重症化のリスク因子:二次感染 科学評論社 呼吸器内科 第29巻 第5号 434頁(p372-377), 2016

3. 南宮湖, 倉島 篤行, 長谷川 直樹, 森本 耕三 「肺からも血液からも肝臓からも骨髄からも MAC が認められた1例 抗 IFN 中和自己抗体陽性の播種性 NTM 症」医学書院 呼吸と循環 64巻 12号 1242頁(p1214-1217), 2016.

4. 南宮湖.【基本がわかる!胸部X線診断 よくみる疾患の所見はもちろん、読影プレゼンのコツもつかめる!】胸部X線の読影のプレゼンテーションのしかた じつは上級医だって胸部X線の読影は不安でいっぱい 羊土社、レジデントノート. 18巻 4号 164頁(p636-640), 2016.

5. 南宮湖, 長谷川 直樹, 別役 智子. 「非結核性抗酸菌症の疾患感受性遺伝子(総説)」日本臨床免疫学会会誌 40巻 1号 82頁 (Page60-67), 2017.

6. 南宮湖, 長谷川 直樹. 「感染症今月の話題 非結核性抗酸菌症の現状(解説)」日本小児医事出版社、小児科臨床 70巻 3号 444頁(Page437-444), 2017.

7. 南宮湖, 長谷川 直樹.【古くて新しい日和見感染症】細菌感染症 非結核性抗酸菌症(解説/特集) 近代出版、臨床と微生物 44巻 1号 231頁(Page037-043).2017年.

8. 南宮湖, 長谷川 直樹.【肺炎への最新アプローチ-ジェネラリストの立場とスペシャリストの視点から】治療 その他の治療薬や管理 特殊な肺炎への対応 抗酸菌症の最新の考え方 ジェネラリストが抗酸菌症を診る際の do's and don'ts(解説/特集) 医学書院 Medicina 54巻 1号 162頁 (Page126-130).2017年

(産業財産権)

出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:

出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

南宮湖 (Namkoong, Ho)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：50594644

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )