

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790550
 研究課題名 (和文) 新しい共役刺激分子ブチロフィリンライク 2 の抗原特異的 IgE 応答における役割
 研究課題名 (英文) A Role of Butyrophilin Like 2 as New Co-stimulatory Molecule in Antigen-specific IgE Responsiveness
 研究代表者
 高橋 大輔 (TAKAHASHI DAISUKE)
 愛知医科大学・医学部・助教
 研究者番号：00431370

研究成果の概要：

ブチロフィリンライク 2 (BTNL2) はダニ抗原特異的 IgE 応答に関与する遺伝子の一つである可能性があることを初めて報告できた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：ブチロフィリンライク 2、6p21、アレルギー、一塩基多型、ハプロタイプ、連鎖不平衡、ダニ抗原特異的 IgE 応答、アミノ酸変異

1. 研究開始当初の背景

①ブチロフィリンライク 2 (butyrophilin-like 2: BTNL2) は、6 番染色体短腕領域 (6p21) に存在しそのタンパク構造が既知の共役刺激分子 B7 と高い相同性を示すことから、新規の共役刺激分子と考えられている。BTNL2 遺伝子と全身性の免疫炎症性疾患であるサルコイドーシスの発症との関連が複数の人種で報告された。

BTNL2 遺伝子の exon 領域に存在する一塩基多型 (rs2076530 G/A) が、サルコイドーシス発症の強い危険因子であることが示された。対立遺伝子 A は翻訳段階でフレームシフトを起こし終止コドンとなるためタンパク構造が短くなり、結果として蛋白の細胞膜

内ドメインが形成されず、BTNL2 は細胞表面に発現できず細胞質内に留まる。対立遺伝子 A は BTNL2 の機能の欠落をもたらすと考えられる。

一方、染色体 6p21 はダニ抗原を始めとする種々のアレルゲンに対する特異的 IgE 反応性や気管支喘息との遺伝的な関連が報告されている。同領域には HLA 抗原、TAP、TNF- α などの遺伝子が存在し、それぞれの遺伝子が種々のアレルギー反応に対して一定の影響を与えている可能性が高い。しかしながらそれぞれの遺伝子の寄与度や、これらの遺伝子以外の遺伝子の存在については、これまでにほとんど検討が行われていない。本研究において我々は、6p21 に存在するアレル

ギー感受性候補遺伝子の一つとして BTNL2 に着目した。

既に、喘息患者 436 名、健常対照者 446 名の計 882 名について、BTNL2 遺伝子 rs2076530 の遺伝子タイピングが終了しており、興味ある結果を得た。すなわちダニ (*Dermatophagoides farinae*: Der f) 抗原に対する特異的 IgE 反応の有無と同多型との遺伝的関連を検討したところ、対立遺伝子 A (BTNL2 の機能を欠落させる) をホモで持つ群 (AA) は、そうでない群 (GG or AG) と比較して、ダニ抗原に対する特異的 IgE 抗体が陽性となるオッズ比が 1.56 (p=0.0051) と有意に高く、BTNL2 の機能低下はサルコイドーシス発症に関連するのみならず、ダニ抗原に対する特異的な IgE 応答とも関連する可能性が考えられた。

②一方、*in vitro* において末梢血から分離した単核球を Der f 抗原 (抗原溶液中の LPS の濃度は測定感度以下であった) で刺激したところ、BTNL2 の遺伝子発現が亢進した。これらの検討から、BTNL2 はダニをはじめとする種々の抗原に対する特異的 IgE 応答に関与する共役刺激分子である可能性が示唆された。これまでに、BTNL2 遺伝子と免疫炎症性疾患の病態との関連を検討した遺伝疫学的な報告は、先に述べた一塩基多型 (rs2076530) を含む BTNL2 遺伝子多型について、サルコイドーシス、多発性硬化症、ウェゲナー肉芽腫症、グレーブス病について行われている。BTNL2 分子の機能に関する最新の知見として、マウスを用いた実験において BTNL2 が細胞性免疫応答に対して抑制的に作用する可能性が報告されている。

2. 研究の目的

抗原特異的 IgE 応答における BTNL2 の意義を検討する

3. 研究の方法

BTNL2 の遺伝子データベースに基づき、さらに 2 つの SNP を選択 (1 つはコーディング SNP、もう 1 つはイントロン SNP) し、863 人の非血縁日本人 (*Der f* 2 抗原特異的 IgE 陽性 447 名、陰性 416 名) について、症例対照研究を行った。

4. 研究成果

年齢、性別、喫煙歴、喘息の有無で補正すると、サルコイドーシス発症のリスクと報じられた rs2076530 の AA ホモ型はオッズ比 1.55 (p=0.0060) で *Derf2* に対する抗原特異的 IgE 応答のリスクとなっていた (Table 4)。

Table 4 Genetic impact on sensitization to Der f of three single nucleotide polymorphisms in the BTNL2 gene

SNP	Genotype	Odds Ratio (95% CI)*	
		Unadjusted	Adjusted†
6813A > G (rs3817963)	AA	Reference	Reference
	AG	0.80 (0.60–1.06)	0.77 (0.56–1.06)
	GG	0.74 (0.45–1.22)	0.68 (0.38–1.16)
11084A > G (rs2076530)	AA	Reference	Reference
	AG or GG	0.81 (0.50–1.33)	0.75 (0.56–1.02)
	AA or AG	Reference	Reference
12155C > T (rs2836267)	GG	0.78 (0.45–1.33)	0.78 (0.45–1.33)
	GG	Reference	Reference
	GA	0.84 (0.58–1.21)	0.76 (0.50–1.15)
11084A > G (rs2076530)	AA	1.23 (0.84–1.77)	1.30 (0.85–2.00)
	GG	Reference	Reference
	GA or AA	1.01 (0.72–1.41)	0.99 (0.67–1.45)
12155C > T (rs2836267)	GG or GA	Reference	Reference
	AA	1.38 (1.05–1.81)‡	1.55 (1.13–2.10)§
	CC	Reference	Reference
12155C > T (rs2836267)	CT	1.03 (0.78–1.36)	0.85 (0.62–1.16)
	TT	0.91 (0.53–1.57)	0.72 (0.38–1.34)
	CC or CT	Reference	Reference
12155C > T (rs2836267)	TT	1.01 (0.78–1.32)	0.83 (0.61–1.12)
	CC or CT	Reference	Reference
	TT	0.90 (0.53–1.52)	0.77 (0.42–1.41)

*Odds Ratios were calculated using logistic regression analysis.

†The adjusted value was calculated after adjusting for gender, age, smoking status, and asthmatic status.

‡p = 0.021, §p = 0.0060.

rs2076530G を含むハプロタイプの一つは、*Der f* 2 特異的 IgE 応答が低いことと有意に相関していた (p=0.019) (Table 5)

Table 5 Association analysis of haplotypes in BTNL2 gene with sensitization to Der f

Haplotype	Haplotype Frequency*			Sensitized to Der f		Haplotype-specific Score	p value
	6813	11084	12155	Sensitized to Der f	Not sensitized to Der f		
1	G	G	C	0.076	0.121	-2.352	0.019
2	G	G	T	0.183	0.173	-0.552	0.562
3	A	G	T	0.086	0.097	-0.531	0.582
4	A	G	C	0.030	0.019	0.912	0.355
5	A	A	C	0.618	0.587	1.645	0.098

*The frequency of each haplotype in 863 subjects was estimated using the Haplo.Stats program.²⁸

Haplotypes with frequencies less than 1% are not listed.

Note that haplotype-specific scores give effect estimates, negative haplotype-specific scores are associated with a protective effect, and positive haplotype-specific scores are associated with an increased risk.

HLA-DR や TNF- α 、TAP など 6 p 2 1 近傍に位置する遺伝子の相互作用や BTNL2 自身の機能解析を進めていく必要もあるが、現段階では、BTNL2 はダニ抗原特異的 IgE 応答に関与する遺伝子の一つである可能性がある。

本研究を通じて、BTNL2 がアレルギー性疾患と関連があることを初めて報告できた。

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 1 件)

① S Konno, D Takahashi, N Hiza wa, et al. Genetic Impact of a Butyrophilin-like 2 (BTNL2) Gene Variation on Specific IgE Responsiveness to *Dermatophagoides farinae* (*Der f*) in Japanese. *Allergology International*, 58, 29-35, 2009, 査読あり。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 大輔 (TAKAHASHI DAISUKE)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号: 00431370