

総 説

ゲノムからみたアレルギー疾患とアレルギー性結膜炎

宮崎 大

鳥取大学医学部視覚病態学

要 約

アレルギー疾患の原因に関して、多くの遺伝的な知見が近年得られるようになってきた。一塩基多型を用いた候補遺伝子解析に始まり、より網羅的なアプローチである全ゲノム関連解析 (GWAS) もアレルギー疾患に応用され、喘息、アトピー性皮膚炎を中心に疾患関連候補遺伝子が判明してきた。それと同時にアレルギーといった複雑かつ common な疾患に遺伝子解析的アプローチを取るときの問題点も浮上してきた。一方、アレルギー性結膜炎の病態に関しては全ゲノムアプローチによる解析

はいまだ行われていない。しかし、ゲノムから得られる知見にはアレルギー疾患全般として共通して理解すべき経路も多く存在する。本総説においては、特に GWAS により得られたアレルギー疾患全般に関する最新の知見を整理し、アレルギー性結膜炎の分子病態に関して遺伝的側面を含めて論じてみたい。(日眼会誌 114 : 783—790, 2010)

キーワード：アレルギー性結膜炎、全ゲノム関連解析

A Review

Genetic Insights of Allergic Diseases and Allergic Conjunctivitis

Dai Miyazaki

Division of Ophthalmology and Visual Science, Tottori University Faculty of Medicine

Abstract

Applied methodologies on genetics have progressed rapidly in recent years. Single nucleotide polymorphism based candidate gene strategy and whole genome scanning technology can provide unprecedented insights into complex diseases, including asthma and atopic dermatitis. The acquisition of genomic information by the genome-wide association studies (GWAS) revolutionized the detection of causative genes. Insights obtained from these discoveries have changed our ways of understanding allergic

diseases, and provide new perspectives of allergic conjunctivitis. In this review, genetics and molecular mechanisms of both common allergic diseases and ocular allergy are discussed, with special emphasis on GWAS.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 114 : 783—790, 2010)

Key words : Allergic conjunctivitis, Genome-wide association study

I はじめに

アレルギー性結膜炎はいわゆる common disease であり、その有病率はほぼ 5 人に 1 人とまでいわれる。しかし、アレルギー性結膜炎は、必ずしも単独で発症するわけではなく、特に重症化しやすい症例においては、アトピー性皮膚炎や喘息などといった疾患を基礎疾患としてもつことが多い。つまり、アレルギー性結膜炎の病態や

治療を考えるうえで、これらの一般的なアレルギー疾患におそらく共通するような病態生理を考慮することは不可欠である。アレルギー疾患の中で最もよく検討されているのは喘息であるが、その危険因子を喘息特異的なものとそうでないものとに振り分けることは困難なことも多い。さらに、病態の本質的な理解にとってゲノム情報はもはや不可欠であるが、アレルギー性結膜炎に限った場合のゲノム面からみた知見はまだあまりに少ない。本

別刷請求先：683-8504 米子市西町 36—1 鳥取大学医学部視覚病態学 宮崎 大

(平成 22 年 1 月 25 日受付, 平成 22 年 6 月 21 日改訂受理) E-mail : dm@grape.med.tottori-u.ac.jp

Reprint requests to : Dai Miyazaki, M. D. Division of Ophthalmology and Visual Science, Tottori University Faculty of Medicine, 36-1 Nishi-cho, Yonago-shi, Tottori-ken 683-8504, Japan

(Received January 25, 2010 and accepted in revised form June 21, 2010)

稿においては、アレルギー疾患全般において、ゲノム面からみた我々の理解はどこまで至ったのかに関して近年の知見を整理し、アレルギー性結膜炎の分子病態および展望に関して論じてみたい。

現在、ヒトのゲノムは 30 億塩基対であることはよく知られている。その中で個人の間で違うのはほぼ 0.4% であり、これがそれぞれの個人の遺伝的な差となる。このような配列の差異は、100~300 塩基ごとに存在する一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) や、より疎に (2,000 塩基に一か所程度) 分布する単純な塩基の短い繰り返し配列、すなわちマイクロサテライトマーカーの分布の差により記述できる¹⁾。そこでこれらを手がかりに多くの疾患関連遺伝子が同定されてきた。アレルギー疾患に関して最初のランドマークとなる成果はアトピー関連遺伝子である。まず染色体 11q13 にマップされ、さらには高親和性 IgE レセプター (FcεRI) β 鎖と同定された²⁾。現在では、抗 IgE 抗体としてこの知見は応用され、重症気管支喘息の標準的な治療法の一つとなっている (喘息予防・管理ガイドライン 2009)。

一方、SNP に関しては HapMap プロジェクト (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) によりゲノムレベルで SNP の分布がカタログ化されてきた。SNP は特定のパターン (ハプロタイプ) でゲノム上に分布することが知られている。このため、ゲノム上にある 1,000 万の SNP を、連鎖不平衡を考慮して選定した tag SNP によりマップすることにより効率的な解析が可能となった。そこで、生物学的な仮説をたて、候補遺伝子を決めたうえで疾患に関連する遺伝子の SNP が探索され、慢性炎症性疾患や common disease においてさまざまな候補遺伝子群が検討されてきた。この結果、喘息およびアレルギーに関しての感受性遺伝子は 100 を超え次々と報告された³⁾。しかし、しだいに報告間の再現性の問題が明らかとなってきた。つまり、有意な遺伝的関連性が別のコホートを用いた場合、必ずしも再現できるというわけではなかった。つまり、より包括的かつバイアスのないゲノムレベルでのアプローチの必要性が逆に浮き彫りにされるようにもなった⁴⁾。

II 全ゲノム関連解析から判明したアレルギー疾患の候補遺伝子

2007 年には、全ゲノムの SNP を対象にした関連解析である全ゲノム関連解析 genome wide association study (GWAS) が脚光を浴びた。全ゲノム関連解析は、基本的に全ゲノム上に高密度に配置した代表的な SNP を用いて、common variant と疾患との関連性を検討する手法である。特にアレルギーに関連した最初の GWAS は、小児喘息に対して行われた。その結果、喘息感受性部位は、17q21 に位置し、機能の不明な小胞体の膜貫通蛋白質 ORM1-like 3 (ORMDL3) と同定された⁵⁾。

一方、アフリカ系を対象にして喘息の GWAS を行った研究においては、喘息への関与がよく知られている α-1 B-adrenergic receptor (ADRA1B) に加え、prion-related protein (PRNP)、dipeptidyl peptidase (DPP 10) が喘息感受性因子と報告された⁶⁾。PRNP は、Creutzfeldt-Jakob 病の病因であるプリオンをコードする遺伝子である。正常型の PrP(C) はリンパ組織、特に T 細胞、B 細胞、さらに Foxp3⁺ 調節性 T 細胞、樹状細胞に発現する。また、Th2 型のマスターサイトカインである IL-4 に反応して、T 細胞は PrP(C) 発現を増大させることが知られている。DPP 10 は、気道上皮に発現し、細胞膜の興奮性を調節し気道の反応性に関与すると示唆された。しかしながら、これらの遺伝子の有意な疾患感受性は別のアフリカ系のコホートでは再現されなかった。このことは、特にアフリカ系に限っただけでも感受性遺伝子に関してかなり多様性があることを示唆していた。一方、メキシコの小児喘息患者を対象にして GWAS を行った結果によれば 9q21.31 が新たな候補領域として同定された。その中では transducin-like enhancer of split 4 (TLE4) の調節領域と推定される SNP (rs2378383) が同定された⁷⁾。TLE4 は B 細胞活性化に関連する転写因子 PAX5 や発癌抑制遺伝子の一つの RUNX3 と相互作用をすることが知られている。喘息に関する GWAS において 5q12 に存在する phosphodiesterase E3 duncce homolog (PDE4D) も感受性遺伝子として報告された⁸⁾。喘息において phosphodiesterase は気道平滑筋の収縮を調節する役割があり、その阻害剤は、喘息の治療薬として知られている。

アトピー性皮膚炎に関しては、感受性因子として chromosome 11 open reading frame 30 (C11orf30, EMSY) が GWAS により同定された⁹⁾。上皮炎症に関与すると考えられる EMSY は、乳癌および卵巣癌の感受性遺伝子である breast cancer type 2 susceptibility protein (BRCA2) に結合して不活化する。EMSY はクロマチン修飾や DNA 修復への関与も示唆されている。さらに、EMSY に関連する SNP, rs7927894 は Crohn 病との関連も示唆されている。アトピー性皮膚炎を対象とした GWAS に関しては、対象症例は少なくなるが、炎症応答に関与する MAP キナーゼカスケードに位置する MAP kinase 5 に加え、Sugen kinase 493 (SGK493) との関連も報告された¹⁰⁾。SGK493 は、アトピー素因との機能的な関連は不明だが、欠損マウスのデータから個体発生において長管骨の伸長に関与するプロテインキナーゼであることが判明している。

III アレルギーにかかわる量的形質を用いた全ゲノム関連解析

GWAS においては、いわゆる数値として得られる IgE レベルといった量的形質 (quantitative trait locus: Q-

TL), さらにコピー数変異との相関をみることも可能である。例えば, Dixon らは, 遺伝子の転写産物量が実際に SNP に影響されるのかを網羅的に検討した¹¹⁾。彼らは, 喘息患者のコホートのゲノムをそれぞれ Epstein Barr virus を用いて形質転換させて作製した cell line から転写産物データを取得し, これを expression QTL として SNP との関連を解析した。作出されたデータベースにおいては, 発現レベルと SNP が多く相関しており (LOD score 3.68~59.1), なかでも最も相関の強い部位は第 17 染色体に集中していた。特にその機能は unfolded protein に対する反応, 細胞周期調節, DNA 修復, 免疫反応, アポトーシスと記述された。

次に血清 IgE レベルと関連する遺伝子も GWAS により探索された。その結果, 予想に違わずともいえるが, IgE receptor α 鎖 (1q23 に位置) が同定された¹²⁾。Th 2 サイトカインローカス (5q31) に位置する DNA 修復蛋白質, RAD 50 の多型も IgE レベルと関連しアトピー性皮膚炎や喘息のリスクを増大させた。さらに Th 2 サイトカイン転写にかかわるマスタースイッチとして知られる signal transducer and activator of transcription 6 (STAT 6) も IgE レベルの調節に関連することも示された。

Chitinase-like protein YKL-40 は炎症やリモデリングに関与する蛋白質であり, その血清レベルは喘息と関連することが知られている¹³⁾。そこで血清中 YKL-40 レベルを指標に GWAS を行った解析によれば, chitinase 3-like 1 (CHI3L1) のプロモーター SNP (-131 C>G, rs 4950928) が喘息感受性遺伝子として同定された。しかし, CHI3L1 (rs4950928) はアトピー性皮膚炎の有無や血清 IgE レベルとの関連は認められなかった¹³⁾。

次に, GWAS を用いて遺伝子のコピー数変異と喘息の関連も検討された。コピー数と信号強度は相関するため, これをもとにして喘息(親子)において第 7 番染色体の T cell receptor γ 部位のコピー数変異が同定された。つまり, 喘息において $\gamma\delta$ T 細胞の関与が示唆された¹⁴⁾。

末梢好酸球は, アレルギーの指標ともいえる。そこで末梢好酸球数を用いて GWAS を行った結果, 好酸球数との相関が推定されていた WD repeat domain 36 (WDR 36), IL-33, v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (MYB), さらに IL-33 レセプター (IL-33 R, ST2L) との関連が報告された¹⁵⁾。WDR 36 は, T 細胞活性化に必須のサイトカインである IL-2 とともに調節を受け T 細胞活性化に関与する。IL-33 は IL-1 スーパーファミリーに属し, 転写調節因子として機能する。IL-33 は, 好酸球の成熟, 生存, 活性化に重要な役割を果たす¹⁶⁾。MYB は, 造血幹細胞の分化, 生存に関与する転写因子である。IL-33 R は, アトピー性皮膚炎, Crohn 病, Celiac 病において関連が知られている。転写因子 GATA-binding protein 2 (GATA 2) 近傍の SNP (3q21, rs4857855) は好塩基球数, 好酸球数との関連, Th 2 型

サイトカイン IL-5 近傍の SNP (5q31, rs4143832) は好酸球数との関連も示された。GATA 2 は好酸球, 好塩基球, 肥満細胞の分化に重要な転写因子であり, IL-5 は B 細胞分化や好酸球の活性化を担うサイトカインである。

Ⅳ 全ゲノム関連解析および候補遺伝子解析によるアレルギー関連遺伝子同定の問題点

ここまでまとめたように GWAS は多くの新たな候補遺伝子を同定したが, やはり再現性という大きな問題点を抱えていることも判明してきた⁶⁾¹⁵⁾¹⁷⁾。特にアレルギーに関しては, 遺伝的背景のみならず環境因子が関与していることは疑う余地はない。実際, 3,334 対の双子に対し, 喘息, 花粉症, アトピー性皮膚炎の発症およびそれぞれの症状の程度の相関を調べた解析によれば, 発症はより遺伝的背景により説明され症状の程度は環境因子により説明されると報告された¹⁸⁾。

アレルギーとの関連がよく知られており, かつ, GWAS のみならず候補遺伝子アプローチを含め結果に再現性がない遺伝子の代表的なものの一つは CD 14 であろう。CD 14 はいわゆる環境や細菌感染に対するセンサーの役割がある。CD 14 は Toll like receptor (TLR) 4 と結合して細菌のエンドトキシンに対する反応を担うばかりでなく種々の細菌産物と Toll like receptor を介して結合しうる。CD 14 プロモーターの SNP-159CT のアトピー性皮膚炎に対する相関は年齢特異的であることが知られている。相関は小児期のみ検出され, 大人になれば観察されなくなる¹⁹⁾。また CD 14-159CT は, 細胞の種類によってもその転写活性に対する影響が異なる²⁰⁾。さらに, 小児において CD 14/-260 の特異的 IgE に対する影響は, ペットを飼っているか, あるいは家畜とふれあう環境にいるかでその影響はまったく逆になり, 環境における微生物産物のレベルがその効果に大きく影響することも示された²¹⁾。CD 14/-260 の喘息に対する影響も環境のエンドトキシンレベルによりまったく逆の効果をもつことも示された²²⁾。また, CD 14 のみならず喘息感受性遺伝子の Clara cell 16-kDa (CC 16) の SNP A38G も環境の影響を受け効果が異なる²³⁾。つまり, 患者の生活環境に依存して悪化因子になることもあれば防御的に働くこともある多型の存在がより問題を複雑にしている。

GWAS に関してもう一つの問題は, 同定されてきた遺伝子の危険率のレベルである。つまり, これまで, アレルギー疾患において同定されている候補遺伝子の危険率はどれもそれほど強いものではない²⁴⁾。また, 喘息感受性の最有力候補であり, かつその重要性が繰り返し報告されているにもかかわらず GWAS で検出されない遺伝子も多い²⁵⁾。Th 2 型サイトカインの代表である IL-13 もそうした遺伝子の一つであり, その他, IL-4, IL-4 レセプター α 鎖 (IL-4RA), CD 14, β 2 アドレナリンレセプター (ADRB 2), 高親和性 IgE レセプター β 鎖 (FCE-

R1B), tumor necrosis factor (TNF), a disintegrin and metalloproteinase domain 33 (ADAM 33) がそうである^{25)~27)}。しかしながら、単純に GWAS や候補遺伝子法で関連が同定されないからといっても病態にとって重要ではないわけではない。候補遺伝子法に基づくアプローチは、遺伝子と遺伝子の相互作用(もっと平たくいえば、それぞれの遺伝子を異なったレベルで発現する各種の免疫担当細胞の時間と空間を隔てた相互作用)、また、メチル化、アセチル化といった epigenetic な DNA の修飾作用は考慮しない。逆にいえば、このような調節や修飾がより強く影響するような遺伝子に関しては、疾患との単純な関連はもはや検出されないはずである。実際、遺伝子の相互作用の因子は無視できないくらい高くなるケースもある。例えば、IL-4、IL-13、IL-4RA、STAT 6 の多型は、すべてあわせると IgE 濃度増加の危険率を単独に比べ最大 10.8 倍上昇させ、喘息発症のリスクを 16.8 倍上げる²⁸⁾。また、epigenetic な制御を受けているため候補遺伝子アプローチを含め検出されにくくなっていると推定される因子もある。例えば、非常に強い喘息感受性遺伝子である IL-4、IL-13 の転写に関しては、Th 2 型 CD 4 リンパ球の場合クロマチン構造の修飾によって制御されている²⁹⁾³⁰⁾。実際、それを制御する histone acetyltransferase や histone deacetylase は、喘息患者の気道において発現が変動する。このことは、実際にヒストン修飾を介して局所で炎症性サイトカインが発現制御されていることを示唆している³¹⁾³²⁾。

さらに、現状の GWAS は common variant を同定するにすぎず、すべての SNP を検証しているわけではない。つまり、疾患関連遺伝子として、強い効果のまれな variant が存在するのか、弱い効果のまれな variant が数多くあるのかは分からない。2008 年からは、SNP のより詳細なカタログづくりとして 1,000 人の塩基配列をすべて決定するというプロジェクトも開始されている (<http://www.1000genomes.org/page.php>)。これにより、rare variant に対する SNP タイピングの効率が飛躍的に増し、これらの関与の実質的な評価が可能となる。しかしながら、これまでの候補遺伝子アプローチや GWAS で得られたデータにおいて少なからずみられるコホート間の不一致や再現性の低さという問題は、明らかにこのまま残る。この理由を考えた場合、もし、共通の common factor により、アレルギーが生じると考えるなら、コホートが違っていようが再現性は高いはずである。すなわち、結果が一致しない報告群において、どちらかあるいはいくつかの結果が偽陽性であるはずだが、生物学的な観点から概観してみると、どうもそうは思えない²⁴⁾。一方、アレルギー自体がそのコホートあるいは環境特異的なリスクと強く関連すると考えるなら、辻褄があう。つまり、再現性が不良であるということは、逆にその候補遺伝子と疾患に関しては、環境因子であれ、

集団特異的な因子と密接に関連していることを示すと解釈するのが妥当であろう。

眼科疾患も含め、最も成功を収めた GWAS は加齢性黄斑変性症における候補遺伝子としての complement factor H、HtrA serine peptidase 1 (HTRA 1) の同定であろう³³⁾³⁴⁾。この場合、遺伝率に対しほぼ 50% 近くを説明するとされた^{35)~37)}。一方、アレルギー疾患において実際に遺伝率に寄与する割合はこのように高くはない。アレルギー性結膜炎の病態に関しても同様のことが想定されると考えられよう。実際面においては、アレルギー疾患の遺伝子診断の可能性は興味深いものがある。しかし、その結果を用いて診断を正確にできるのだろうか。この場合、診断率の向上に寄与するのは単純に odds ratio や危険率のみではなく、そのアレルの頻度でもある³⁸⁾。つまり、多少危険率が高かろうがアレルの頻度がまれであるほど診断率向上に対する寄与もわずかとなる。この点からすれば残念ながら現時点においてアレルギー疾患の単純な遺伝子診断が臨床に役に立つとはいえない。この点に関しては、アレルギーに限らず、危険率がせいぜい 2 程度しかなく、アレルの頻度も多くない候補遺伝子をもつ多因子疾患群に対しても該当すると考えられる。

V アレルギー関連因子とアレルギー性結膜炎

これまで報告されたアレルギーとの遺伝的関連が報告された遺伝子は、候補遺伝子アプローチの結果も含めて、前述のようにほとんどが喘息関連であり、アレルギー性結膜炎に関して GWAS の報告はない。そこでまず喘息関連遺伝子の機能を簡単にまとめてみると、感受性遺伝子は大きく分けて 4 つに分かれる⁴⁾。① Innate immunity と免疫調節(慢性炎症疾患にも関与する)、② Th 2 分化と effector 機能、③ 粘膜免疫関連、④ 肺機能関連として理解される。これら同定された遺伝子群においては明らかに喘息特異的と考えられる遺伝子もあるが、アレルギー性結膜炎にも関与しうると考えられるものも多い。アレルギー性結膜炎の病態を感受性遺伝子の候補として外挿するなら、肺機能関連にかわり、肥満細胞関連が追加されよう。特にアレルギー性結膜炎は、肥満細胞活性化の病態に寄与する程度が高い³⁹⁾⁴⁰⁾。実際、アレルギー性結膜炎において多くの初期の症状は少なくとも mediator 遊離抑制剤やヒスタミン H1 受容体阻害剤により阻害される。また、肥満細胞欠損マウスでは、即時相のアレルギー症状のみならず遅発相の好酸球浸潤も極度に抑制される³⁹⁾。もちろん、重症化あるいは T 細胞主体の免疫が生じた場合、当然 Th 2 の関与する比率も大きくなっていく。この場合、肥満細胞の非存在下でもアレルゲン刺激により好酸球浸潤も誘導される⁴¹⁾。このことは、春季カタルといった重症性アレルギー性結膜炎において T 細胞を主体として抑制するタクロリムスが著効することでも確認される⁴²⁾。

アレルギー性結膜炎に関して遺伝学的に示された最も初期の知見は、アレルギー関連遺伝子の存在が推定されていた 5, 6, 11, 12, 16, 17 番染色体を対象とした連鎖解析である⁴³⁾。その結果によれば、アレルギー性結膜炎との関連は、5, 16, 17 番染色体に認められ、弱い関連が、6 番染色体にあると報告された。

そこで、アレルギー疾患の GWAS で同定された遺伝子に注目して概説してみたい。特に、好酸球数を指標にして同定された IL-33 は最近そのアレルギー性結膜炎における役割が報告された⁴⁴⁾。IL-33 は、巨大乳頭の結膜上皮や血管内皮細胞に発現し、IL-33R を介して Th 2 サイトカインの IL-13 を誘導する。また、IL-33R プロモーターの SNP は、アトピー性皮膚炎との関連も報告されており⁴⁵⁾、Th 2 サイトカインのマーカーともいえる。IL-33R は肥満細胞にも発現がみられ、特に最近では、c-Kit を介した肥満細胞の活性化にも寄与することが報告され注目を浴びている⁴⁶⁾。一方、前述のように GWAS においては、IgE receptor α 鎖と IgE レベルとの相関が報告され¹²⁾、 β 鎖との相関は認められていないが、アトピー性結膜炎や春季カタルにおいては、 β 鎖陽性肥満細胞や好塩基球の増大が示された⁴⁷⁾。同様に IL-5 近傍の SNP も好酸球数を指標とした GWAS により同定されたが、実際に過剰発現させるとアレルギー性結膜炎モデルで好酸球浸潤を悪化させることが示された⁴⁸⁾。

これらの報告は、好酸球と肥満細胞の関連の重要性を再認識させるといえよう。また、GWAS に限らずその他の候補遺伝子アプローチの中で同定されたアレルギー関連遺伝子の中で、実際にアレルギー性結膜炎においてよく報告されているのは eotaxin-1 (CCL 11) であろう⁴⁹⁾。Eotaxin-1 は、CCR 3 を介して、好酸球の活性化に寄与するのみならず肥満細胞活性化に必要な因子でもある^{50)~54)}。アレルギー性結膜炎モデルにおいて、CCR 3 あるいは eotaxin-1 阻害により即時相および遅発相ともに抑制される⁵³⁾⁵⁴⁾。肥満細胞に関連した候補遺伝子を考えた場合、肥満細胞の完全な脱顆粒や活性化には IgE レセプターのアレルゲンのみでなく CCR 1, CCR 2, CCR 3 といったケモカインレセプターの刺激が必要である^{53)55)~58)}。また、CCR 2 や CCR 3 の SNP はスギ花粉症との関連も報告されている⁵⁹⁾。CCR 2 の場合、主要なリガンドは monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1, CCL 2) であるが、喘息の疾患関連候補遺伝子としても報告されており⁶⁰⁾、春季カタルなどの重症アレルギー性結膜炎の涙液のサイトカインアレイを行ったときには顕著な増大を示したものの一つでもある⁶¹⁾。さらに CCR 2 および MCP-1 の阻害は、アレルギー性結膜炎の即時相、遅発相ともに抑制できる⁵⁸⁾。マウスのアレルギー性結膜炎の転写解析の結果によれば、最も上位で誘導されたサイトカインは、実際、これらのリガンドの eotaxin-1 や MCP-1 であった⁵⁴⁾。

また、深川らの最近のマイクロアレイを用いた解析によれば、IL-4 と TNF 刺激下の結膜および角膜の上皮あるいは線維芽細胞において、eotaxin-1 は角膜線維芽細胞 transcriptome の中で top 2 に誘導された遺伝子であった⁶²⁾。このことは、重症のアレルギー疾患における角膜実質由来 eotaxin-1 の病態への関与の重要性を再認識させた。さらに top 10 の中には 10 kDa interferon- γ -induced protein (IP-10, CXCL 10), interferon-inducible T-cell α chemoattractant (I-TAC, CXCL 11), monocyte chemotactic protein 2 (MCP-2, CCL 8), IL-13 レセプターといった遺伝子も認められ、角膜実質細胞の実質的なアレルギー性炎症の moderator としての重要性が示唆された。

アトピー性皮膚炎においては、白内障合併の頻度が高いことが知られている。これに関しては、インターフェロン- γ レセプターのプロモーターの SNP-56T アリルがアトピー性白内障との関連を報告された⁶³⁾。

最後に治療との関連に関して、主として候補遺伝子アプローチによる結果であるが、代表的なもののみいくつか述べてみたい。特に最近話題が多いのは、タクロリムスやシクロスポリンである。これら、カルシニューリン阻害剤は、T 細胞において half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) 値が低いいため T 細胞がこれらの主たる薬剤標的となる。

メカニズムを考えると、カルシニューリン阻害剤は、転写因子 nuclear factor of activated T-cells (NFAT) の核内移行を阻止し、ひいては IL-2 や IL-4 などの転写を抑制することにより作用する。NFAT に関して直接の遺伝的関連は知られていないが、IL-4 は喘息や高 IgE と関連して多くの SNP が知られている⁶⁴⁾。特に NFAT は、IL-4 プロモーターにおける NFAT 結合部位に結合して IL-4 転写を活性化するが、NFAT 結合部位の SNP-590 C/T が高 IgE やアトピーと関連することが示された⁶⁵⁾。

花粉症を含めれば、有望な治療薬の代表は CpG DNA を利用するワクチンであろう。CpG DNA ワクチンは臨床試験において持続性の高いアレルギー抑制効果を示している⁶⁶⁾。CpG は、前述の分類では innate immunity のカテゴリーになり、そのレセプター TLR 9 は抗原提示細胞や B 細胞に存在する。アレルギー性結膜炎モデルにおいて TLR 9 刺激は、これらの免疫調節作用を誘導できる⁶⁷⁾⁶⁸⁾。TLR 9 に関しては、そのプロモーター領域の C-1237T の SNP と内因性アトピー性皮膚炎との関連が家族間のコホートで認められ、プロモーター活性の増大への関与が報告された⁶⁹⁾。しかしながら TLR 9 に関しては、報告によりその結果は必ずしも一致せず、はっきりした結論はでない。

以上、アレルギー疾患全般に関して最近特に注目を浴びている GWAS から得られた知見を総括し、それをもとに眼アレルギー疾患の展望をスナップショットしてみ

表 1 全ゲノム関連解析により同定されたアレルギー関連遺伝子

アレルギー疾患感受性遺伝子	染色体	疾患または関連因子	文献
ORMDL 3	17q21	喘息	Moffatt, et al
α -1 B-adrenergic receptor (ADRA1B)	5q33	喘息	Mathias, et al
prion-related protein (PRNP)	20pter-p12	喘息	Mathias, et al
dipeptidyl peptidase (DPP 10)	2q12.3-q14.2	喘息	Mathias, et al
transducin-like enhancer of split 4 (TLE 4)	9q21.31	喘息	Hancock, et al
phosphodiesterase E3 dunce homolog (PDE4D)	5q12	喘息	Himes, et al
T cell receptor γ /TARP (コピー数変異)	7p15-p14	喘息	Ionita-Laza, et al
chitinase 3-like 1 (CHI3L1)	1q32	喘息	Ober, et al
Protein EMSY (C11orf30)	11q13	アトピー性皮膚炎	Esparza-Gordillo, et al
Protein kinase-like protein Sgk 493 (SGK 493)	2q21	アトピー性皮膚炎	Castro-Giner, et al
MAP kinase 5 (MAP3K5)	6q23	アトピー性皮膚炎	Castro-Giner, et al
IgE receptor α 鎖	1q23	血清 IgE/アトピー性皮膚炎, 喘息	Weidinger, et al
RAD 50	5q31	血清 IgE/アトピー性皮膚炎, 喘息	Weidinger, et al
STAT 6	12q13	血清 IgE/アトピー性皮膚炎, 喘息	Weidinger, et al
WDR 36	5q22	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al
IL-33	9q24	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al
MYB	6q23	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al
ST2L	2q12	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al
GATA 2	3q21	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al
IL-5	5q23	末梢好酸球数/喘息	Gudbjartsson, et al

た。今後、より安価に全ゲノム配列決定が利用できるようになっていくのは明らかであり、遺伝子診断に基づくコンサルテーションや最適な治療が選択できるようになっていくことを望んでやまない。

本論文は日本眼科アレルギー研究会からの総説である。

文 献

- 1) Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al : Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 : 860—921, 2001.
- 2) Shirakawa T, Li A, Dubowitz M, Dekker JW, Shaw AE, Faux JA, et al : Association between atopy and variants of the β subunit of the high-affinity immunoglobulin E receptor. *Nat Genet* 7 : 125—129, 1994.
- 3) Willis-Owen SA, Cookson WO, Moffatt MF : Genome-wide association studies in the genetics of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 9 : 3—9, 2009.
- 4) Xavier RJ, Rioux JD : Genome-wide association studies : a new window into immune-mediated diseases. *Nat Rev Immunol* 8 : 631—643, 2008.
- 5) Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S, et al : Genetic variants regulating ORMDL 3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* 448 : 470—473, 2007.
- 6) Mathias RA, Grant AV, Rafaels N, Hand T, Gao L, Vergara C, et al : A genome-wide association study on African-ancestry populations for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 125 : 336—346. e4, 2010.
- 7) Hancock DB, Romieu I, Shi M, Sienra-Monge JJ, Wu H, Chiu GY, et al : Genome-wide association study implicates chromosome 9q21.31 as a susceptibility locus for asthma in mexican children. *PLoS Genet* 5 : e1000623, 2009.
- 8) Himes BE, Hunninghake GM, Baurley JW, Rafaels NM, Sleiman P, Strachan DP, et al : Genome-wide association analysis identifies PDE4D as an asthma-susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 84 : 581—593, 2009.
- 9) Esparza-Gordillo J, Weidinger S, Folster-Holst R, Bauerfeind A, Ruschendorf F, Patone G, et al : A common variant on chromosome 11q13 is associated with atopic dermatitis. *Nat Genet* 41 : 596—601, 2009.
- 10) Castro-Giner F, Bustamante M, Ramon González J, Kogevinas M, Jarvis D, Heinrich J, et al : A pooling-based genome-wide analysis identifies new potential candidate genes for atopy in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *BMC Med Genet* 10 : 128, 2009.
- 11) Dixon AL, Liang L, Moffatt MF, Chen W, Heath S, Wong KC, et al : A genome-wide association study of global gene expression. *Nat Genet* 39 : 1202—1207, 2007.
- 12) Weidinger S, Gieger C, Rodriguez E, Baurecht H, Mempel M, Klopp N, et al : Genome-wide scan on total serum IgE levels identifies FCER1A as novel susceptibility locus. *PLoS Genet* 4 : e1000166, 2008.
- 13) Ober C, Tan Z, Sun Y, Possick JD, Pan L, Nicolae R, et al : Effect of variation in CHI3L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N Engl J Med* 358 : 1682—1691, 2008.
- 14) Ionita-Laza I, Perry GH, Raby BA, Klanderman B, Lee C, Laird NM, et al : On the analysis of copy-number variations in genome-wide association studies : a translation of the family-based association test. *Genet Epidemiol* 32 : 273—284, 2008.
- 15) Gudbjartsson DF, Bjornsdottir US, Halapi E, Helgadóttir A, Sulem P, Jonsdóttir GM, et al : Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction.

- Nat Genet 41 : 342—347, 2009.
- 16) Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al : IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST 2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 23 : 479—490, 2005.
 - 17) Zhang G, Goldblatt J, LeSouëf P : The era of genome-wide association studies : opportunities and challenges for asthma genetics. *J Hum Genet* 54 : 624—628, 2009.
 - 18) Nystad W, Roysamb E, Magnus P, Tambs K, Harris JR : A comparison of genetic and environmental variance structures for asthma, hay fever and eczema with symptoms of the same diseases : a study of Norwegian twins. *Int J Epidemiol* 34 : 1302—1309, 2005.
 - 19) O'Donnell AR, Toelle BG, Marks GB, Hayden CM, Laing IA, Peat JK, et al : Age-specific relationship between CD 14 and atopy in a cohort assessed from age 8 to 25 years. *Am J Respir Crit Care Med* 169 : 615—622, 2004.
 - 20) LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, Karp CL, Halonen M, Martinez FD, et al : A common single nucleotide polymorphism in the CD 14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *J Immunol* 167 : 5838—5844, 2001.
 - 21) Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, et al : Opposite effects of CD 14/-260 on serum IgE levels in children raised in different environments. *J Allergy Clin Immunol* 116 : 601—607, 2005.
 - 22) Zambelli-Weiner A, Ehrlich E, Stockton ML, Grant AV, Zhang S, Levett PN, et al : Evaluation of the CD 14/-260 polymorphism and house dust endotoxin exposure in the Barbados Asthma Genetics Study. *J Allergy Clin Immunol* 115 : 1203—1209, 2005.
 - 23) Zhang G, Khoo SK, Laatikainen T, Pekkarinen P, Vartiainen E, von Hertzen L, et al : Opposite gene by environment interactions in Karelia for CD 14 and CC 16 single nucleotide polymorphisms and allergy. *Allergy* 64 : 1333—1341, 2009.
 - 24) Shriner D, Vaughan LK, Padilla MA, Tiwari HK : Problems with genome-wide association studies. *Science* 316 : 1840—1842, 2007.
 - 25) Vercelli D : Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 8 : 169—182, 2008.
 - 26) Maier LM, Howson JM, Walker N, Spickett GP, Jones RW, Ring SM, et al : Association of IL 13 with total IgE : evidence against an inverse association of atopy and diabetes. *J Allergy Clin Immunol* 117 : 1306—1313, 2006.
 - 27) Hersh CP, Raby BA, Soto-Quiros ME, Murphy AJ, Avila L, Lasky-Su J, et al : Comprehensive testing of positionally cloned asthma genes in two populations. *Am J Respir Crit Care Med* 176 : 849—857, 2007.
 - 28) Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, Fritsch C, Weiland SK, et al : IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 117 : 269—274, 2006.
 - 29) Santangelo S, Cousins DJ, Winkelmann NE, Staynov DZ : DNA methylation changes at human Th 2 cytokine genes coincide with DNase I hypersensitive site formation during CD 4 (+) T cell differentiation. *J Immunol* 169 : 1893—1903, 2002.
 - 30) Webster RB, Rodriguez Y, Klimecki WT, Vercelli D : The human IL-13 locus in neonatal CD 4⁺ T cells is refractory to the acquisition of a repressive chromatin architecture. *J Biol Chem* 282 : 700—709, 2007.
 - 31) Ito K, Caramori G, Lim S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ, et al : Expression and activity of histone deacetylases in human asthmatic airways. *Am J Respir Crit Care Med* 166 : 392—396, 2002.
 - 32) Barnes PJ, Adcock IM, Ito K : Histone acetylation and deacetylation : importance in inflammatory lung diseases. *Eur Respir J* 25 : 552—563, 2005.
 - 33) Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, et al : Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 308 : 385—389, 2005.
 - 34) Dewan A, Liu M, Hartman S, Zhang SS, Liu DT, Zhao C, et al : HTRA 1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 314 : 989—992, 2006.
 - 35) Edwards AO, Ritter R, 3rd, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA : Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 308 : 421—424, 2005.
 - 36) Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, et al : Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 308 : 419—421, 2005.
 - 37) Yang Z, Camp NJ, Sun H, Tong Z, Gibbs D, Cameron DJ, et al : A variant of the HTRA 1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science* 314 : 992—993, 2006.
 - 38) Jakobsdottir J, Gorin MB, Conley YP, Ferrell RE, Weeks DE : Interpretation of genetic association studies : markers with replicated highly significant odds ratios may be poor classifiers. *PLoS Genet* 5 : e1000337, 2009.
 - 39) Miyazaki D, Tominaga T, Yakura K, Kuo CH, Komatsu N, Inoue Y, et al : Conjunctival mast cell as a mediator of eosinophilic response in ocular allergy. *Mol Vis* 14 : 1525—1532, 2008.
 - 40) Fukuda K, Ohbayashi M, Morohoshi K, Zhang L, Liu FT, Ono SJ : Critical role of IgE-dependent mast cell activation in a murine model of allergic conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 124 : 827—833, e822, 2009.
 - 41) Ueta M, Nakamura T, Tanaka S, Kojima K, Kinoshita S : Development of eosinophilic conjunctival inflammation at late-phase reaction in mast cell-deficient mice. *J Allergy Clin Immunol* 120 : 476—478, 2007.
 - 42) Miyazaki D, Tominaga T, Kakimaru-Hasegawa A, Nagata Y, Hasegawa J, Inoue Y : Therapeutic effects of tacrolimus ointment for refractory ocular surface inflammatory diseases. *Ophthalmology* 115 : 988—992, e985, 2008.
 - 43) Nishimura A, Campbell-Meltzer RS, Chute K, Orrell J, Ono SJ : Genetics of allergic disease : evidence for organ-specific susceptibility genes. *Int Arch Allergy Immunol* 124 : 197—200, 2001.

- 44) Matsuda A, Okayama Y, Terai N, Yokoi N, Ebihara N, Tanioka H, et al : The role of interleukin-33 in chronic allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 4646—4652, 2009.
- 45) Shimizu M, Matsuda A, Yanagisawa K, Hirota T, Akahoshi M, Inomata N, et al : Functional SNPs in the distal promoter of the ST 2 gene are associated with atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* 14 : 2919—2927, 2005.
- 46) Drube S, Heink S, Walter S, Lohn T, Grusser M, Gerbaulet A, et al : The receptor tyrosine kinase c-Kit controls IL-33 receptor signaling in mast cells. *Blood* 115 : 3899—3906, 2010.
- 47) Matsuda A, Okayama Y, Ebihara N, Yokoi N, Hamuro J, Walls AF, et al : Hyperexpression of the high-affinity IgE receptor- β chain in chronic allergic keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 2871—2877, 2009.
- 48) Ishida W, Tsuru E, Tominaga A, Miyazaki JI, Higuchi T, Sakamoto S, et al : Systemic overexpression of IFN- γ and IL-5 exacerbates early phase reaction and conjunctival eosinophilia, respectively, in experimental allergic conjunctivitis. *Br J Ophthalmol* 93 : 1680—1685, 2009.
- 49) Shoji J, Inada N, Sawa M : Evaluation of eotaxin-1, -2, and -3 protein production and messenger RNA expression in patients with vernal keratoconjunctivitis. *Jpn J Ophthalmol* 53 : 92—99, 2009.
- 50) Ono SJ, Nakamura T, Miyazaki D, Ohbayashi M, Dawson M, Toda M : Chemokines : roles in leukocyte development, trafficking, and effector function. *J Allergy Clin Immunol* 111 : 1185—1199 ; quiz 1200, 2003.
- 51) Miyazaki D, Nakamura T, Komatsu N, Nawata N, Ikeda Y, Inoue Y, et al : Roles of chemokines in ocular allergy and possible therapeutic strategies. *Cornea* 23 : S 48—54, 2004.
- 52) Beer F, Kuo CH, Morohoshi K, Goodliffe J, Munro P, Aye CC, et al : Role of β -chemokines in mast cell activation and type I hypersensitivity reactions in the conjunctiva : *in vivo* and *in vitro* studies. *Immunol Rev* 217 : 96—104, 2007.
- 53) Miyazaki D, Nakamura T, Ohbayashi M, Kuo CH, Komatsu N, Yakura K, et al : Ablation of type I hypersensitivity in experimental allergic conjunctivitis by eotaxin-1/CCR 3 blockade. *Int Immunol* 21 : 187—201, 2009.
- 54) Komatsu N, Miyazaki D, Tominaga T, Kuo CH, Namba S, Takeda S, et al : Transcriptional analyses before and after suppression of immediate hypersensitivity reactions by CCR3 blockade in eyes with experimental allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 5307—5313, 2008.
- 55) Toda M, Dawson M, Nakamura T, Munro PM, Richardson RM, Bailly M, et al : Impact of engagement of FcepsilonRI and CC chemokine receptor 1 on mast cell activation and motility. *J Biol Chem* 279 : 48443—48448, 2004.
- 56) Miyazaki D, Nakamura T, Toda M, Cheung-Chau KW, Richardson RM, Ono SJ : Macrophage inflammatory protein-1 α as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. *J Clin Invest* 115 : 434—442, 2005.
- 57) Toda M, Nakamura T, Ohbayashi M, Ikeda Y, Dawson M, Richardson RM, et al : Role of CC chemokines and their receptors in multiple aspects of mast cell biology : comparative protein profiling of FcepsilonRI- and/or CCR1-engaged mast cells using protein chip technology. *Novartis Found Symp* 271 : 131—140 ; discussion 140—151, 2005.
- 58) Tominaga T, Miyazaki D, Sasaki S, Mihara S, Komatsu N, Yakura K, et al : Blocking mast cell-mediated type I hypersensitivity in experimental allergic conjunctivitis by monocyte chemoattractant protein-1/CCR2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 5181—5188, 2009.
- 59) Nakamura H, Higashikawa F, Nobukuni Y, Miyagawa K, Endo T, Imai T, et al : Genotypes and haplotypes of CCR2 and CCR3 genes in Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 142 : 329—334, 2007.
- 60) Szalai C, Kozma GT, Nagy A, Bojszko A, Krikovszky D, Szabo T, et al : Polymorphism in the gene regulatory region of MCP-1 is associated with asthma susceptibility and severity. *J Allergy Clin Immunol* 108 : 375—381, 2001.
- 61) Shoji J, Inada N, Sawa M : Antibody array-generated cytokine profiles of tears of patients with vernal keratoconjunctivitis or giant papillary conjunctivitis. *Jpn J Ophthalmol* 50 : 195—204, 2006.
- 62) Fukagawa K, Okada N, Fujishima H, Nakajima T, Takano Y, Tanaka M, et al : Corneal and conjunctival fibroblasts are major sources of eosinophil-recruiting chemokines. *Allergol Int* 58 : 499—508, 2009.
- 63) Matsuda A, Ebihara N, Kumagai N, Fukuda K, Ebe K, Hirano K, et al : Genetic polymorphisms in the promoter of the interferon γ receptor 1 gene are associated with atopic cataracts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 583—589, 2007.
- 64) Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, Hofler C, Weiland SK, Fritzsche C, et al : A complete screening of the IL4 gene : novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 112 : 893—898, 2003.
- 65) de Guia RM, Ramos JD : The-590 C/T IL4 single-nucleotide polymorphism as a genetic factor of atopic allergy. *Int J Mol Epidemiol Genet* 1 : 67—73, 2010.
- 66) Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, Balcer-Whaley SL, Khattignavong AP, Lindblad R, et al : Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med* 355 : 1445—1455, 2006.
- 67) Miyazaki D, Liu G, Clark L, Ono SJ : Prevention of acute allergic conjunctivitis and late-phase inflammation with immunostimulatory DNA sequences. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3850—3855, 2000.
- 68) Miyazaki D, Kuo CH, Tominaga T, Inoue Y, Ono SJ : Regulatory function of CpG-activated B cells in late-phase experimental allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 1626—1635, 2009.
- 69) Novak N, Yu CF, Bussmann C, Maintz L, Peng WM, Hart J, et al : Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema. *Allergy* 62 : 766—772, 2007.