



KIR3DL1/S1 genotypes and KIR2DS4 allelic variants in the AB KIR genotypes are associated with Plasmodium-positive individuals in malaria infection

谷口, 道子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2010-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4961

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004961>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	谷口 道子
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博い第 4961 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 22 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

KIR3DL1/S1 genotypes and KIR2DS4 allelic variants in the AB KIR genotypes are associated with Plasmodium-positive individuals in malaria infection(KIR AB 遺伝子型に属する KIR3DL1/S1 と KIR2DS4 変異対立遺伝子がマラリア感染に関連する)

審 査 委 員

主 査	教 授	森 康子
	教 授	堀田 博
	教 授	熊谷 俊一

学位論文の内容要旨

***KIR3DL1/S1* genotypes and *KIR2DS4* allelic variants**

in the AB *KIR* genotypes are associated with

***Plasmodium*-positive individuals in malaria infection**

**KIR AB 遺伝子型に属する KIR3DL1/S1 と KIR2DS4
変異対立遺伝子がマラリア感染に関連する**

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻

感染制御学

(指導教員：川端真人教授)

谷口道子

マラリア感染に関する自然免疫の重要性は、蚊を媒介して感染する *Plasmodium* 原虫増殖の防御策として注目されてきている。感染した赤血球 (iRBC: infected red blood cell) 内に寄生したマラリア原虫が作り出すタンパクは多種報告されている。最近の研究により、NK(ナチュラルキラー) 細胞による iRBC 認識の要因として、マクロファージなどが分泌するサイトカインの作用に加え、NK 細胞による直接の iRBC 認識の必要性が注目されているが、具体的なメカニズムは明らかではない。一方、KIR (Killer cell immunoglobulin-like receptor) に関しては、NK 細胞上に表現されるレセプターの中でも多様性に富み、活性化(activating)と抑制化(inhibitory) の相反する機能を持つ 2 種のレセプターからなることが知られている。*KIR* 遺伝子の組み合わせとリガンドとの相性が、この 2 方向性の発現バランスに影響し、エイズや肝炎などの感染症における関連性が検証されている。しかし、マラリアを含めた原虫感染症においては報告はない。

本研究の目的は、個人が保持する *KIR* 遺伝子の種類は iRBC を認識し排除することによって、マラリア原虫の増殖の抑制効率を反映するものであり、その結果、症状の回復に影響を及ぼしているという仮説を立て、マラリア感染と *KIR* 遺伝子との関連性を検討した。

方法は、マラリア感染率の高いソロモン国の住民(メラネシア系)を対象に、ソロモン諸島ガダルカナル州内の 4 つの村で、地元の病院・クリニックに来院した患者 (77 人) から濾紙採血し、濾紙検体から抽出した DNA を PCR 法により血中の原虫を判定し、陽性と陰性のグループに分類した。その 2 グループ間で KIR 遺伝子型、KIR AB 遺伝子型、KIR3DL1/S1 遺伝子、そして KIR2DS4 の発現遺伝子の出現頻度を解析した。

マラリア原虫陽性と陰性間の KIR 遺伝子型と KIR 遺伝子頻度の比較

KIR 遺伝子は、染色体 19q13.4 上に位置し、14 種類の機能遺伝子と、2 種類の偽遺伝子から成ることが現在確認されており、人種別に多様な KIR 遺伝子型が確認されている。本研究の 77 検体のメラネシア系対象者からは、23 個の KIR 遺伝子型が確認された。KIR 遺伝子は、細胞外の免疫グロブリン様領域の個数により、活性型 (S-short: KIR2DS1/2/3/4/5: KIR3DS1) と抑制型 (L-long: KIR2DL1/2/3/5: KIR3DL1/2/3) に分類される。KIR2DL4 は例外で、活性と抑制の両機能を保持する。本研究では、KIR3DL1(抑制)と KIR2DS4(抑制・活性)とのペアが、*Plasmodium* 原虫陽性のグループに高頻度の傾向がみられた (陽性グループ 91.9%、陰性グループ 72.5%、 $P=0.0383$)。

KIR 遺伝子型はさらに、構成する遺伝子の種類により A と B の 2 グループに分類される。KIR2DL2, 2DL5, 3DS1, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS5、これら 7 個の KIR 遺伝子いずれかを保持している遺伝子型グループは B、7 個ともすべて保持しない遺伝子グループは A (AA) とされている。グループ B は、多種類の活性遺伝子と抑制遺伝子の組み合わせから構成されるため、多様な遺伝子型が存在する。その KIR A/B

遺伝子型に関しては、全体のメラネシア系対象者では、KIR AB 遺伝子型が最も高頻度 (51.9%) に認められた。

マラリア感染における KIR3DL1/S1 遺伝子型

KIR3DL1/S1 の遺伝子型は、エイズを含めた他の感染症との関係において最も研究されている KIR 遺伝子の一つであることから、本研究のマラリア感染との関係を検討したところ、マラリア原虫陽性患者は KIR3DL1 (活性) / KIR3DS1 (抑制) ヘテロ型を高い頻度で保持する傾向が見られた ($P=0.0223$)。一方、KIR3DS1 (活性) / KIR3DS1 (活性) ホモ型は原虫陰性患者に高頻度で見られた ($P=0.1175$)。この2つの傾向により示唆されることは、原虫陽性患者では、活性化 KIR3DS1 遺伝子が抑制化 KIR3DL1 遺伝子によりアレルレベルで制御されることにより、KIR3DS1 より活性化される NK 細胞が *Plasmodium* 原虫増殖の制御を効率よく実行できないことにあると推測された。

さらに詳しく解析するため、今回マラリア原虫陽性者に高頻度で認められた KIR3DL1(抑制)と KIR2DS4(抑制・活性)のペアを KIR2DS4 異型 (細胞膜上発現型 KIR2DS4*001/002、あるいは分泌型 KIR2DS4*003/004/006) とに分類し、それと KIR3DL1/S1 遺伝子型との組み合わせをマラリア原虫陽性と陰性間で検討した。その結果、マラリア原虫陽性者に高頻度で認められたのは、KIR3DL1 (活性) / KIR3DS1 (抑制) ヘテロ遺伝子型と KIR2DS4 細胞膜上発現型を保持する KIR AB 遺伝子型であった ($P=0.04302$)。KIR3DL1 と KIR2DS4 の両遺伝子は、テロメア染色体領域に位置し、遺伝連鎖の傾向にあることが報告されている。さらに、この両遺伝子は、A ハプロタイプを構成する KIR 遺伝子の中で、テロメア染色体領域に存在する唯一の遺伝子であることから、抑制 KIR3DL1 が KIR2DS4 の活性機能を制御し、その結果生じた抑制と活性のバランスが、個人のマラリア原虫に対する抵抗力に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

以上の結果から、*Plasmodium* 原虫感染の抵抗性の個人差を決定する要因の一部として、KIR A/B 遺伝子型における (1) KIR3D 遺伝子型 (KIR3DL1/S1) を構成する活性遺伝子 (KIR3DS1) と抑制遺伝子 (KIR3DL1)、(2) KIR2DS4 アレルの細胞表面発現型と分泌型、その2点の組み合わせが重要であると結論した。本研究は、マラリア感染者を対象として行った最初の KIR 遺伝子解析であり、今後のマラリアと KIR との関連性研究の必要性を示すものである。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2076号	氏 名	谷口 道子
論文題目 Title of Dissertation	<p><i>KIR3DL1/S1</i> genotypes and <i>KIR2DS4</i> allelic variants in the AB <i>KIR</i> genotypes are associated with <i>Plasmodium</i>-positive individuals in malaria infection</p> <p>KIR AB 遺伝子型に属する KIR3DL1/S1 と KIR2DS4 変異対立遺伝子 がマラリア感染に関連する</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 森 康子 Chief Examiner 副 査 堀 田 博 Vice-examiner 副 査 熊 谷 俊一 Vice-examiner</p>		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

マラリア感染に関する自然免疫の重要性は、蚊を媒介して感染する *Plasmodium* 原虫増殖の防御策として注目されてきている。感染した赤血球 (iRBC: infected red blood cell) 内に寄生したマラリア原虫が作り出すタンパクは多種報告されている。最近の研究により、NK(ナチュラルキラー) 細胞による iRBC 認識の要因として、マクロファージなどが分泌するサイトカインの作用に加え、NK 細胞による直接の iRBC 認識の必要性が注目されているが、具体的なメカニズムは明らかではない。一方、KIR (Killer cell immunoglobulin-like receptor) に関しては、NK 細胞上に表現されるレセプターの中でも多様性に富み、活性化(activating)と抑制化(inhibitory) の相反する機能を持つ2種のレセプターからなることが知られている。*KIR* 遺伝子の組み合わせとリガンドとの相性が、この2方向性の発現バランスに影響し、エイズや肝炎などの感染症における関連性が検証されている。しかし、マラリアを含めた原虫感染症においては報告はない。

本研究の目的は、個人が保持する *KIR* 遺伝子の種類は iRBC を認識し排除することによって、マラリア原虫の増殖の抑制効率を反映するものであり、その結果、症状の回復に影響を及ぼしているという仮説を立て、マラリア感染と *KIR* 遺伝子との関連性を検討した。

方法は、マラリア感染率の高いソロモン国の住民(メラネシア系)を対象に、ソロモン諸島ガダルカナル州内の4つの村で、地元の病院・クリニックに来院した患者(77人)から濾紙採血し、濾紙検体から抽出したDNAをPCR法により血中の原虫を判定し、陽性と陰性のグループに分類した。その2グループ間で *KIR* 遺伝子型、*KIR* AB ハプロタイプ型、*KIR3DL1/S1* 遺伝子、そして *KIR2DS4* の発現遺伝子の出現頻度を解析した。

マラリア原虫陽性と陰性間の *KIR* 遺伝子型と *KIR* 遺伝子頻度の比較

KIR 遺伝子は、染色体19q13.4上に位置し、14種類の機能遺伝子と、2種類の偽遺伝子から成ることが現在確認されており、人種別に多様な *KIR* 遺伝子型が確認されている。本研究の77検体のメラネシア系対象者からは、23個の *KIR* 遺伝子型が確認された。*KIR* 遺伝子は、細胞外の免疫グロブリン様領域の個数により、活性型 (S-short: *KIR2DS1/2/3/4/5*; *KIR3DS1*)と抑制型 (L-long: *KIR2DL1/2/3/5*; *KIR3DL1/2/3*) に分類される。*KIR2DL4* は例外で、活性と抑制の両機能を保持する。本研究では、*KIR3DL1*(抑制)と *KIR2DS4*(抑制・活性)とのペアが、*Plasmodium* 原虫陽性のグループに高頻度の傾向がみられた(陽性グループ91.9%、陰性グループ72.5%、 $P=0.0383$)。

KIR ハプロタイプは、構成する遺伝子の種類によりAとBの2グループに分類される。グループAは、*KIR2DL2*と *KIR2DL5*を除いたすべての抑制遺伝子と、2個の偽遺伝子、そして1個の活性遺伝子(*KIR2DS4*)から構成された確立したハプロタイプである。一方、グループBは、多種類の活性遺伝子と抑制遺伝子の組み合わせから構成されるため、多様

なハプロタイプが存在する。その KIR A/B ハプロタイプに関しては、全体のメラネシア系対象者では、KIR AB 遺伝子型が最も高頻度 (51.9%) に認められた。

マラリア感染における KIR3DL1/S1 遺伝子型

KIR3DL1/S1 の遺伝子型は、エイズを含めた他の感染症との関係において最も研究されている KIR 遺伝子の一つであることから、本研究のマラリア感染との関係を検討したところ、マラリア原虫陽性患者は KIR3DL1 (活性) / KIR3DS1 (抑制) ヘテロ型を高い頻度で保持する傾向が見られた ($P=0.0223$)。一方、KIR3DS1 (活性) / KIR3DS1 (活性) ホモ型は原虫陰性患者に高頻度で見られた ($P=0.1175$)。この 2 つの傾向により示唆されることは、原虫陽性患者では、活性化 KIR3DS1 遺伝子が抑制化 KIR3DL1 遺伝子によりアレルレベルで制御されることにより、KIR3DS1 より活性化される NK 細胞が Plasmodium 原虫増殖の制御を効率よく実行できないことにありと推測された。

さらに詳しく解析するため、今回マラリア原虫陽性者に高頻度で認められた KIR3DL1(抑制)と KIR2DS4(抑制・活性)のペアを KIR2DS4 異型 (細胞膜上発現型 KIR2DS4*001/002、あるいは分泌型 KIR2DS4*003/004/006) とに分類し、それと KIR3DL1/S1 遺伝子型との組み合わせをマラリア原虫陽性と陰性間で検討した。その結果、マラリア原虫陽性者に高頻度で認められたのは、KIR3DL1 (活性) / KIR3DS1 (抑制) ヘテロ遺伝子型と KIR2DS4 細胞膜上発現型を保持する KIR AB 遺伝子型であった ($P=0.04302$)。KIR3DL1 と KIR2DS4 の両遺伝子は、テロメア染色体領域に位置し、遺伝連鎖の傾向にあることが報告されている。さらに、この両遺伝子は、A ハプロタイプを構成する KIR 遺伝子の中で、テロメア染色体領域に存在する唯一の遺伝子であることから、抑制 KIR3DL1 が KIR2DS4 の活性機能を制御し、その結果生じた抑制と活性のバランスが、個人のマラリア原虫に対する抵抗力に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

以上の結果から、Plasmodium 原虫感染の抵抗性の個人差を決定する要因の一部として、KIR A/B 遺伝子型における (1) KIR3D 遺伝子型 (KIR3DL1/S1) を構成する活性遺伝子 (KIR3DS1) と抑制遺伝子 (KIR3DL1)、(2) KIR2DS4 アレルの細胞表面発現型と分泌型、その 2 点の組み合わせが重要であると結論した。本研究は、マラリア感染者を対象として行った最初の KIR 遺伝子解析であり、今後のマラリアと KIR との関連性研究の必要性を示すものである。

よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。