

■研究・実践の課題（テーマ）

CFTR遺伝子多型L1156Fのクロライドチャネル機能解析

■主任研究者 北川元二

■共同研究者 藤木理代、近藤志保

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【目的】 膵液中の HCO_3^- 分泌は、膵導管細胞に発現するCystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) アニオンチャネルに依存する。CFTR遺伝子には1,900種類を超える変異および多型があり、そのタイプと頻度は人種により大きく異なる。両方のアレルに重度の変異があると嚢胞性線維症（Cystic fibrosis: CF）を発症するが、遺伝子変異と多型の組み合わせによりCFTR機能が軽度に低下した場合は、慢性膵炎を含むCFTR関連疾患の発症リスクが高まる。我々はこれまでに、日本人のアルコール性慢性膵炎患者では、M470VとL1156Fを併せ持つハプロタイプ(M470V+L1156F)が多いことを明らかにした。本研究では、M470V+L1156F-CFTRタンパクの機能解析、およびアルコールとその代謝物がCFTR発現におよぼす影響を解析した。

【方法】 ①野生型 (Wild-type CFTR) または変異型 (M470V, L1156F, M470V+L1156F-CFTR) をアフリカツメガエル卵母細胞に強制発現させ、 HCO_3^- および Cl^- の輸送活性を測定した。②CFTR依存性 Cl^- - HCO_3^- 交換輸送活性の測定には、野生型または変異型CFTRを強制発現させたCFPAC1細胞（膵導管培養細胞株）を用いた。③CFTRタンパク発現量は、野生型またはM470V+L1156F-CFTRをHEK293細胞に強制発現させ、50 mM エタノール (EtOH)、200 μM アセトアルデヒド (ALD)、100 μM パルミトレイン酸 (POA)、100 μM パルミトレイン酸エチルエステル (POAEE) にて 24-48 時間処理した後、ウェスタンブロッティング法により解析した。

【結果】 ① HCO_3^- および Cl^- の輸送活性は、L1156F, M470V単独による影響を認めなかったが、M470V+L1156Fは野生型に比べ、それぞれ 52%、57%に低下した ($p < 0.01$)。②CFTR依存性 Cl^- - HCO_3^- 交換輸送活性は、M470V、L1156F、M470V+L1156Fにおいて、それぞれ 33%、35%、26%に低下した ($p < 0.01$)。③EtOH+ALD処理、POA処理あるいはPOAEE処理により、CFTR発現量は有意に低下した ($p < 0.05$)。M470V+L1156Fによる相乗効果は認められなかった。

【結論】 M470V と L1156F を併せ持つことによる CFTR の軽度機能低下が、日本人におけるアルコール性慢性膵炎の発症リスクであることが示唆された。