

発表番号 68

## CFTR を介するソルトバランスと日本人の CFTR 遺伝子の進化

成瀬 達<sup>1)</sup>、近藤孝晴<sup>2)</sup>、石黒洋<sup>2)</sup>、洪繁<sup>1)</sup>、藤木理代<sup>3)</sup>  
 名古屋大学大学院医学系研究科・病態内科学<sup>1)</sup>  
 名古屋大学・総合保健体育科学センター<sup>2)</sup>  
 自然科学研究機構・生理学研究所<sup>3)</sup>

嚢胞線維症(CF)は Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator(CFTR)遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝疾患である。一部の慢性膵炎は CFTR 機能障害を背景に発症する。本研究の目的は、日本人の CFTR 遺伝子を解析することにより、非定型 CF として慢性膵炎が発症する遺伝的背景を明らかにすることである。健常人 162 名と慢性膵炎患者 65 名 (アルコール性 51 人、特発性 14 人) を対象とした。末梢血を採取し、白血球より DNA を抽出し、CFTR 遺伝子変異・多型と機能との関係を解析した。白人の CF 原因遺伝子変異 (E60X, R117H, R334W, R347P, A455E, ΔI507, ΔF508, G542X, G551D, R553X, 621+1G->T, 1078delT, R1162X, S1251N, W1282X, N1303K, 1717-1G->A, 2183AA->G, 3659delC, 3849+10kb C>T) および日本人の CF 遺伝子変異 (R75X, Q98R, M152R, R347H, L441P, L571S, D979A, H1085R, T1086I) を認めなかった。poly T は 7T が主(97.5%)で、新たに健常人に 6T を認めた。(TG)<sub>11</sub> と (TG)<sub>12</sub> のアレル頻度はほぼ 50%であった。アルコール性慢性膵炎では (TG)<sub>12</sub> ホモ接合体の頻度が健常群に比べ有意に (p = 0.044) 高かった。M470 アレル頻度は 40%、V470 アレル頻度は 60%であった。M470 ホモ接合体の頻度はアルコール性膵炎で有意に (p < 0.05) 高く、V470 ホモ接合体の頻度は特発性膵炎で高い傾向にあった。白人とは異なり、主要ハプロタイプは (GATT)<sub>6</sub>- (TG)<sub>12</sub>-M470 と (GATT)<sub>7</sub>- (TG)<sub>11</sub>-V470 であった。リアルタイム定量 PCR 法から、健常人では (TG)<sub>11/11</sub>、(TG)<sub>11/12</sub> および (TG)<sub>12/12</sub> 遺伝型の exon9<sup>-</sup> CFTR の割合は、それぞれ 5%、10%、25% であった。Cl<sup>-</sup> チャネル機能が 90% 以上に保たれる (TG)<sub>11/11</sub>-M/M470 および (TG)<sub>11/12</sub>-M/M470 は日本人では存在しなかった。一方、チャネル機能が 50% 以下となる TG<sub>12/12</sub>-V/V470 も 1% と少なく、日本人のチャネル機能は 50-70% の範囲にあった。即ち、下痢と発汗による塩分喪失は日本人の CFTR 遺伝子に対し逆の方向から選択作用を及ぼしてきたと推定される。CFTR 遺伝子の全 exon の解析から、10 の多型が健常人ならびに慢性膵炎患者に検出され、健常人の 35%、慢性膵炎患者の 51% は何らかの多型を有していた。Q1352H, R1453W などの多型がチャネル機能が低い (TG)<sub>11</sub>-V470 ホモ接合体に合併することが、CF の少ない日本人における慢性膵炎の発症に関与している可能性が示唆された。



## CFTR を介するソルトバランスと日本人の CFTR 遺伝子の進化

成瀬 達 (名古屋大学大学院医学系研究科・病態内科学)

近藤孝晴 (名古屋大学・総合保健体育科学センター)

石黒 洋 (名古屋大学・総合保健体育科学センター)

洪 繁 (名古屋大学大学院医学系研究科・病態内科学)

藤木理代 (自然科学研究機構・生理学研究所)

## 研究目的

Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) は ABC transporter superfamily に属する Cl<sup>-</sup>チャネルである。CFTR 蛋白は 1480 アミノ酸残基からなり、2つの膜貫通部位と2つの nucleotide binding fold (NBF) および regulatory (R) domain から構成され、チャネルの開閉は cAMP により調節されている<sup>1,2)</sup>。CFTR は消化管、気道、汗腺など全身の外分泌腺に発現しており、上皮膜細胞における Cl<sup>-</sup>と水輸送に重要な役割をはたしている。コレラトキシンを始め、病原性大腸菌の enterotoxin は adenylate cyclase 活性を上昇させることにより、CFTR を介する Cl<sup>-</sup>分泌を増加させ、下痢を引き起こす<sup>3)</sup>。下痢は開発途上国における最も頻度の高い乳幼児死因である<sup>4)</sup>。このような環境では、CFTR 機能を低下させるような遺伝的選択が下痢症に対する抵抗性が高まると推定される。一方、高温多湿の日本では、発汗は体温調節の重要なメカニズムである。CFTR 機能の低下は、汗腺における Cl<sup>-</sup>の再吸収の低下をきたし、発熱時や高温の環境において汗からの多量の塩分喪失を引き起こす。即ち、下痢と発汗による塩分喪失は、CFTR 遺伝子に対し逆の方向から選択作用を及ぼしてきたと推定される。

CFTR 遺伝子は第7染色体にあり、嚢胞線維症 (CF) はこの遺伝子変異を原因とする劣性遺伝疾患である<sup>1,2)</sup>。本症では、CFTR 機能不全のため出生時にメコニウムイレウスを起こし、幼少時より下気道感染症を反復する。膵では HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>と水分分泌が低下するため、膵液は粘調となる<sup>5)</sup>。嚢胞線維症の名前は、CFTR 機能不全のため膵管が嚢胞状に拡張し、腺房細胞の脱落と線維化するため膵外分泌不全を生じることに由来する。臨床的には、これらの症状と汗の Cl<sup>-</sup>濃度の上昇で CF の診断がされる<sup>6)</sup>。本症の平均余命は30歳以下である。最近、慢性副鼻腔炎、慢性気管支炎、慢性膵炎<sup>7,8)</sup>、男性不妊症などの患者に CFTR 遺伝子変異を合併することが多いことが明らかとなった。即ち、CFTR 機能が完全に消失しない遺伝子変異では、一部の臓器障害のみを示す非定型 (nonclassic) CF となると考えられている<sup>9)</sup>。CF は白人に多い (1/出生 2,500 人) が、日本人では極めて稀な (1/35 万人)

疾患である<sup>10)</sup>。ところが、日本人の慢性膵炎患者の汗のCl<sup>-</sup>濃度を測定すると、約半数の患者は60 mmol/L以上の高値を示した<sup>11)</sup>。即ち、一部の慢性膵炎はCFTR機能障害を背景に発症することが示唆された。本研究は、日本人のCFTR遺伝子を解析することにより、CFTRを介するソルトバランスが古典的ではなく非定型CFが発症する背景を生み出した遺伝的影響を明らかにすることを目的とする。

## 研究方法

本研究は名古屋大学倫理委員会の承認を受けた。健常人162名と慢性膵炎患者65名(アルコール性51名、特発性14名)を対象とした。末梢血を採取し、白血球よりDNAを抽出し、CFTR遺伝子変異・多型と機能との関係を解析した。

1. CFTR遺伝子変異の解析:白人の20の主要CFTR遺伝子変異はelucigene CF20 kit (AstraZeneca Diagnostics)で、日本人の9のCF変異のスクリーニングはMasscode Systemを用いたSNP typingを用いた。

2. CFTR遺伝子多型の解析:CFTR蛋白産生効率に関与するintron 8とexon 9の結合部のpolyT-(TG)<sub>n</sub>はsense5'-TAATGGATCATGGGCCATGT-3', antisense 5'-TAATGGATCATGGGCCATGT-3'を用いてPCR後、直接シーケンス法にて解析した。Cl<sup>-</sup>チャンネル機能に関与するM470V多型はHph I制限酵素にて解析した。また、健常人50名、慢性膵炎患者50名を対象に全CFTR遺伝子のexon部を直接シーケンスし、新たな多型を検索した。

3. CFTR遺伝子多型と転写効率の解析:鼻粘膜より採取したmRNAを用いて、cDNAを作成、リアルタイム定量PCR法によりCFTR遺伝子多型と転写効率の関係を検討した。

## 研究結果

### 1. CFTR遺伝子変異

ヨーロッパ人に頻度の高い20のCF原因遺伝子変異(E60X, R117H, R334W, R347P, A455E, ΔI507, ΔF508, G542X, G551D, R553X, 621+1G->T, 1078delT, R1162X, S1251N, W1282X, N1303K, 1717-1G->A, 2183AA->G, 3659delC, 3849+10kb C>T)は認めなかった<sup>12)</sup>。また日本人の9のCF遺伝子変異(R75X, Q98R, M152R, R347H, L441P, L571S, D979A, H1085R, T1086I)も認めなかった。

### 2. CFTR遺伝子多型

2.1 poly Tはintron 8とexon 9の境界のsplicing factor結合部位に存在し、後述の(TG)<sub>n</sub>多型と共にsplicingの効率に影響を与える( Fig. 1 )<sup>13)</sup>。5T、7T、9Tが存在するが、7Tの頻度(97.5%)が最も高かった。新たに6T(1.2%)があることが判明した。6Tは健常人のみに認められ、疾患との関連性は不明である。白人の慢性膵炎に多いとされる5Tは<sup>7,8)</sup>、健常群、慢性膵炎群ともに頻度は低く、有意差は認められなかった。

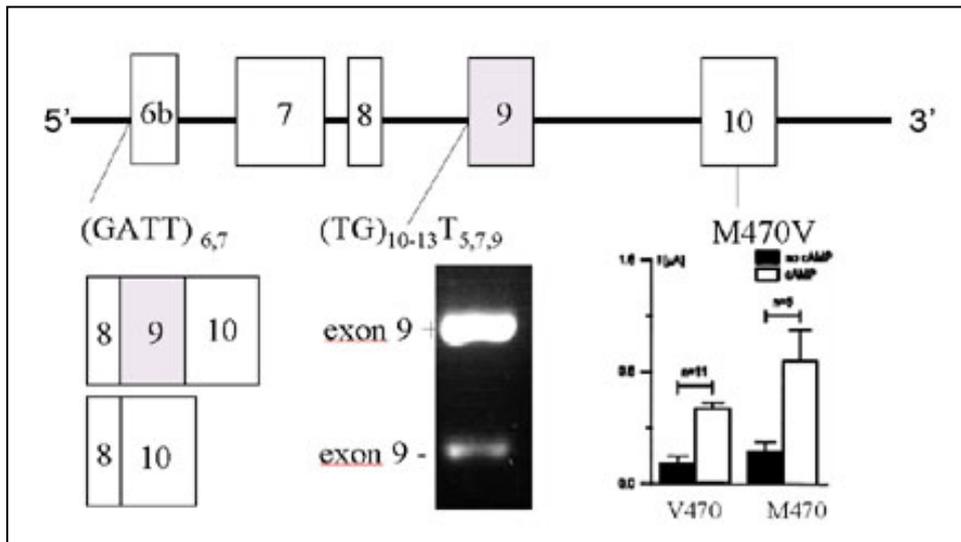


Fig. 1 Poly-T and (TG) repeats at the junction of intron 8 and exon 9 that affect splicing efficiency of exon 9 and M470 that affects Cl<sup>-</sup> channel activities (Ref. 13).

Table 1 Allele frequency of poly-T

	alleles	5T	6T	7T	9T
normal subjects	324	2 (0.6)	4 (1.2)	316 ( 97.5)	2 (0.6)
chronic pancreatitis	130	2 (1.5)	0 (0.0)	125 ( 96.2)	3 (2.3)
alcoholic	102	2 (2.0)	0 (0.0)	97 ( 95.1)	3 (2.9)
idiopathic	28	0 (0.0)	0 (0.0)	28 (100.0)	0 (0.0)
					(%)

2.2 (TG)repeats: (TG)の反復は 8、9、10、11、12、13 が存在する。n が大きいほど splicing 効率が低下し、exon 9 を欠く CFTR 蛋白が増加するため、正常な CFTR 蛋白量が低下する。日本人では(TG)<sub>11</sub> と(TG)<sub>12</sub> のアレル頻度はほぼ 50%で、同じであった。アルコール性慢性膵炎では TG<sub>12</sub> ホモ接合体の頻度が健常群に比べ有意に (p = 0.044) 高かった ( Fig. 2 )。一方、特発性慢性膵炎では TG<sub>11</sub> および TG<sub>12</sub> のホモ接合体の頻度が高い傾向にあった。

2.3 M470V: CFTR の 470 番目のアミノ酸残基はメチオニン(M)またはバリン(V)である。M470 CFTR は V470 CFTR の 1.7 倍の Cl<sup>-</sup>チャネル機能をもつ<sup>13)</sup>。日本人の M アレル頻度は 40%、V アレル頻度は 60%であった。M470 ホモ接合体の頻度はアルコール性慢性膵炎群で有意に (p < 0.05) 高く、V470 ホモ接合体の頻度は特発性慢性膵炎で高い傾向にあった ( Table 2 )。

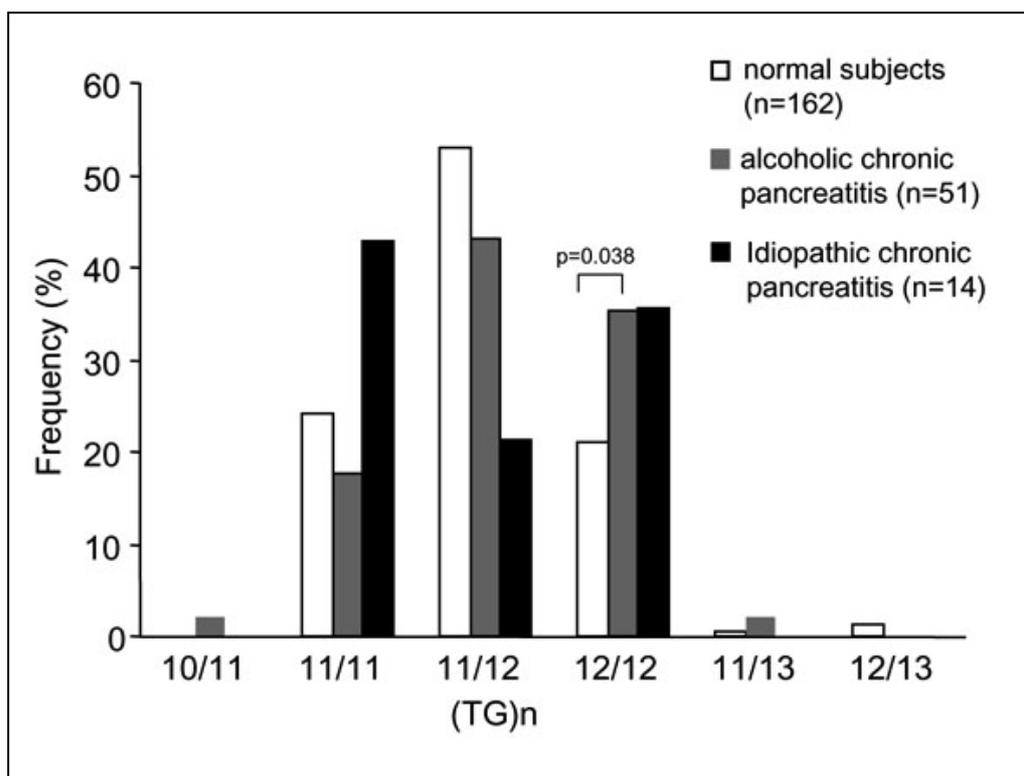


Fig. 2 Frequency distribution of genotypes of TG repeats expressed as % of the total.

Table 2 Frequency of M470V

	n	M/M	M/V	V/V
normal subjects	162	24 (15)	82 (51)	56 (35)
chronic pancreatitis	65	17 (26)	25 (38)	23 (35)
alcoholic	51	14 (27) *	21 (41)	16 (31)
idiopathic	14	3 (21)	4 (29)	7 (50)

\* p<0.05

(%)

### 3. CFTR 遺伝子のハプロタイプ

欧米人では(GATT)<sub>6</sub>-(TG)<sub>10</sub>-M470、(GATT)<sub>6</sub>-(TG)<sub>11</sub>-M470 および(GATT)<sub>7</sub>-TG<sub>11</sub>-V470 が主なハプロタイプである( Fig. 3 )。ところが日本人では(GATT)<sub>6</sub>-TG<sub>12</sub>-M470 と(GATT)<sub>7</sub>-TG<sub>11</sub>-V470が多かった。即ち、白人の M470 アレルでは(TG)<sub>10</sub>または(TG)<sub>10</sub>であり、(TG)<sub>12</sub>は極めて稀であるのに対し、日本人では大部分が(TG)<sub>12</sub>である。一方、V470 アレルでは白人、日本人共に(TG)<sub>11</sub>が多いが、日本人では(TG)<sub>12</sub>が多く、(TG)<sub>13</sub>も存在した。

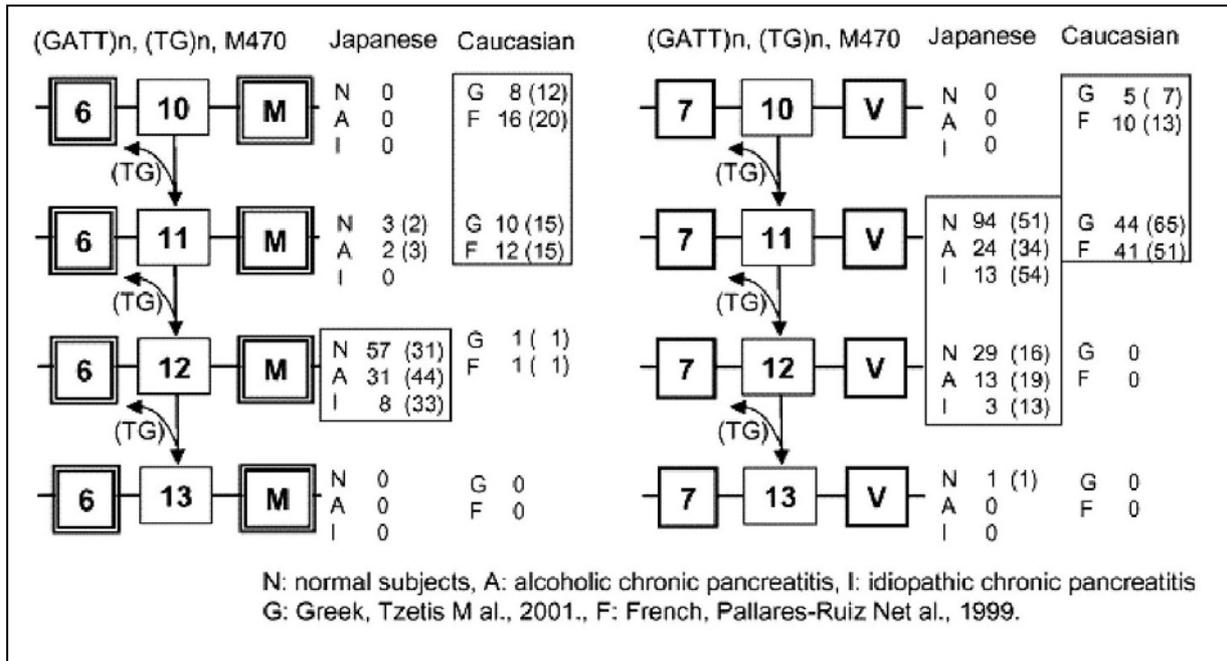


Fig. 3 Haplotype frequency of (GATT)n-(TG)n-M470V in Japanese and Europeans  
 N: normal subjects, A:alcoholic pancreatitis, I: idiopathic pancreatitis. (% of the total).

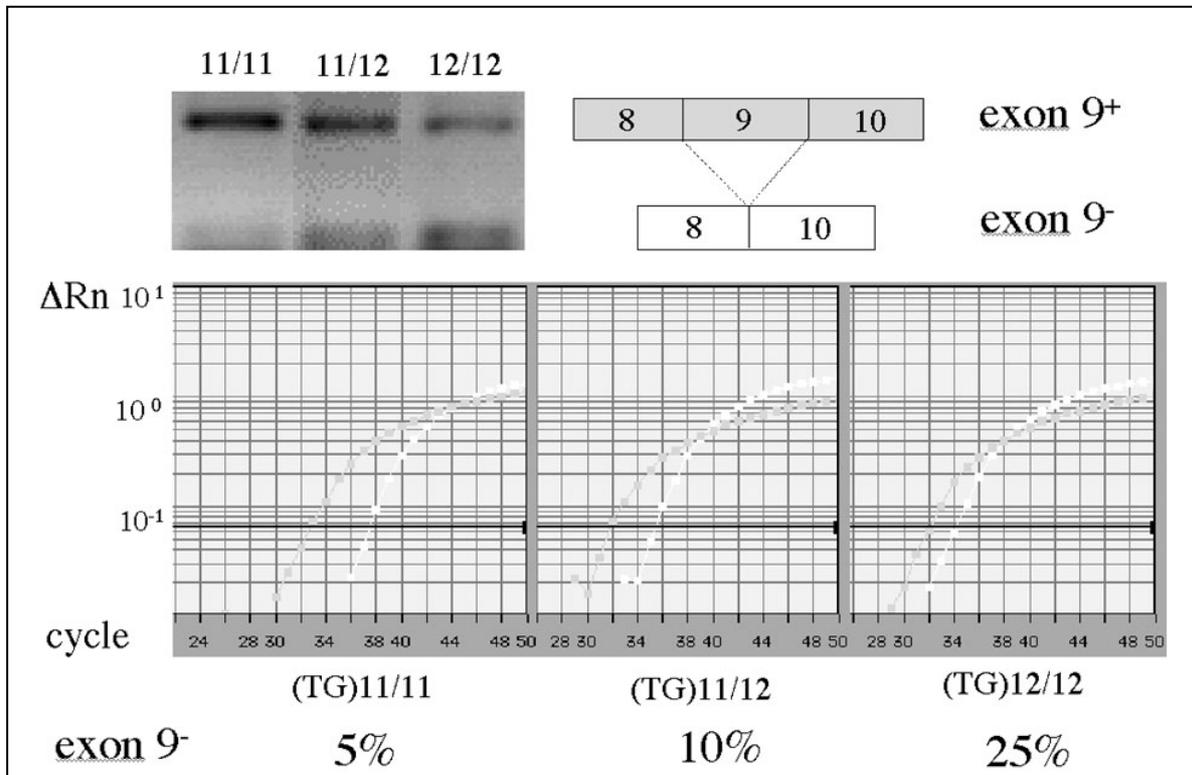


Fig. 4 (TG) repeats and exon 9<sup>-</sup> transcripts in the nasal epithelium of normal subjects.

4. (TG)n 多型と CFTR 遺伝子の鼻粘膜における転写効率

Fig. 4 は鼻粘膜より採取した mRNA における exon 9+ と exon9- CFTR の割合を示したものである。リアルタイム定量 PCR 法から、健常人では(TG)11/11、(TG)11/12 および(TG)12/12 遺伝型の exon9- CFTR の割合は、それぞれ 5%、10%、25%であった。

5. (TG)n-M470V 多型と CFTR 機能

Table 3 は(TG)n-M470V 多型から計算上推定される CFTR 機能を、(TG)10-M470-CFTR を 100%として示したものである。Fig. 3 に示すように Cl<sup>-</sup>チャンネル機能が 90%以上に保たれる TG<sub>11/11</sub>-M/M470 および TG<sub>11/12</sub>-M/M470 は白人には存在するが、日本人では存在しなかった。一方、チャンネル機能が 50%以下となる TG<sub>12/12</sub>-V/V470 も 1%と少なく、日本人のチャンネル機能は 50-70%の範囲にあることがわかる。

Table 3 CFTR Cl<sup>-</sup> channel activities estimated from (TG)n-M470V genotype.

(TG)n	M470V	Cl <sup>-</sup> channel* activity	frequency in control
11/11	M/M	95%	0%
	M/V	77%	2%
	V/V	59%	22%
11/12	M/M	93%	0%
	M/V	67%	42%
	V/V	53%	12%
12/12	M/M	75%	15%
	M/V	73%	6%
	V/V	47%	1%

\*(TG)10-M470=100%

6. 日本人の CFTR 遺伝子多型

CFTR 遺伝子の全 exon の解析から、上記(GATT)n-Tn(TG)n-M470V 多型に加え、頻度の高い 10 の多型が健常人ならびに慢性膵炎患者に検出された ( Fig. 5 )。即ち健常人の 35%、慢性膵炎患者の 51%は何らかの多型を有していた。

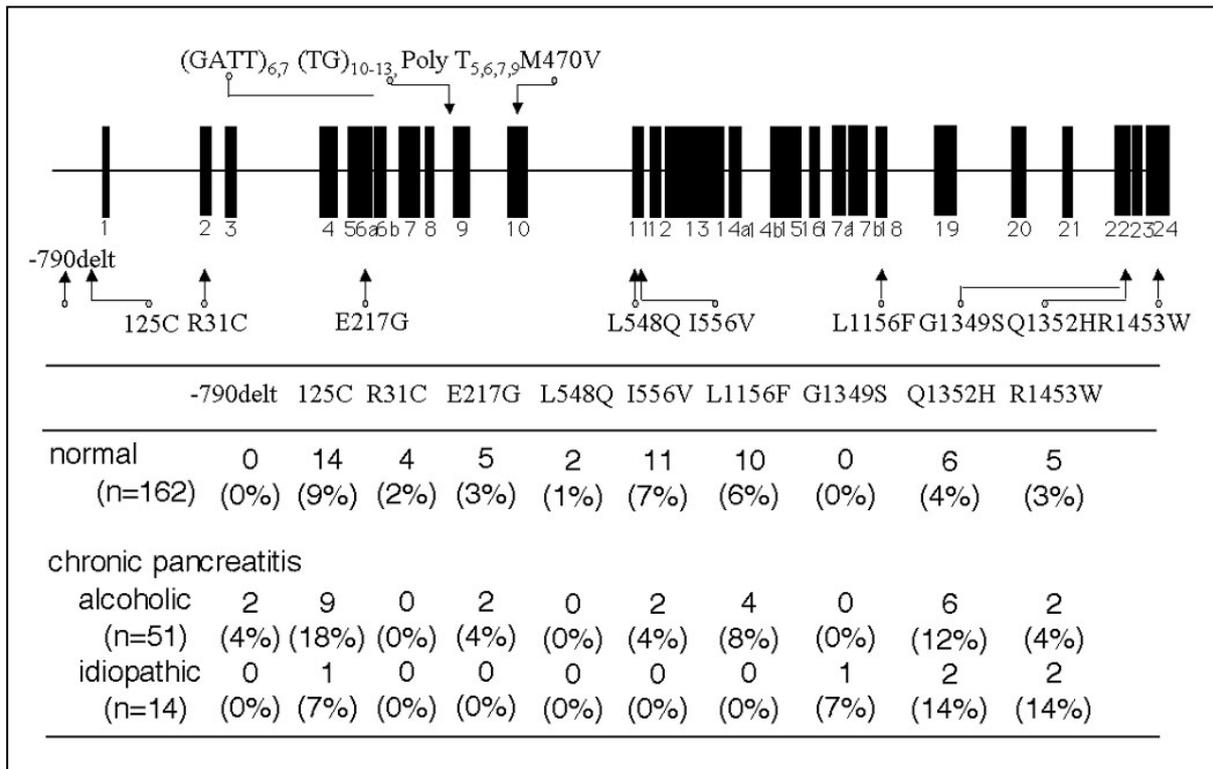


Fig. 5 CFTR gene polymorphism in Japanese.

考 察

CFTR 遺伝子変異により CFTR 蛋白の ( 1 ) 合成、( 2 ) 膜への移行、( 3 ) 調節機能および ( 4 ) チャネル機能の障害または ( 5 ) チャネル数の減少が起きると、Cl<sup>-</sup>輸送障害されるため、上皮膜の水分泌が著しく低下する<sup>2)</sup>。欧米人の遺伝子変異アレルの 70%を占めるΔ F508 変異は、CFTR 蛋白が上皮膜細胞の管腔面に発現できないため、輸精管、汗腺、肺、膵における全ての CFTR 機能は消失し、典型的な CF を示す。一方、intron 8 の 5T ホモ接合体ではチャネルの数は減少するが、機能は保たれる。このため両側輸精管の形成不全による男性不妊症となるが、CFTR 機能は 10%程度に保たれ肺や膵の機能は正常である非定型 CF を発症する<sup>2)</sup>。

CF が極めて稀な日本人に、慢性膵炎などの非定型 CF が白人と同程度の頻度で発症する遺伝的背景が、本研究により初めてわかってきた。即ち、日本人の CFTR 機能を決定する 2 つの主要な CFTR 遺伝子多型が intron 8 の(TG)<sub>11</sub>、(TG)<sub>12</sub>と exon10 の M470V であった。いずれも約 50%の頻度で存在し、前者では CFTR 蛋白量が、後者では Cl<sup>-</sup>チャネル機能が影響される。2 つの多型の組み合わせで決定される遺伝型のうち、予想される CFTR 機能が野生型の 90%以上となる(TG)<sub>11/11</sub>-M/M470 および (TG)<sub>11/12</sub>-M/M470 は日本人では存在しない。コレラトキシンや病原性大腸菌の enterotoxin は、消化管粘膜の上皮細胞に作用し、adenylate cyclase 活性を上昇させることにより、CFTR を介する Cl<sup>-</sup>分泌を増加させ、下痢を引き起こす。従って、CFTR 機能の低下は、下痢による塩分ならびに水分の喪失が原因と

なる乳幼児期の死亡に対し、抵抗性を与えると推定される。

一方、野生型の機能の50%以下となる(TG)<sub>12/12</sub>-V/V470も1%と少なかった。汗腺基底部の上皮細胞より分泌される汗は、血漿とほぼ同一のCl<sup>-</sup>濃度(110 mM)である。汗が皮膚から分泌されるまでに、汗腺の吸収上皮細胞の管腔面に発現しているCFTRを介してCl<sup>-</sup>は再吸収される。CF患者では、Cl<sup>-</sup>チャネル機能障害によりCl<sup>-</sup>が再吸収されないため、汗のCl<sup>-</sup>濃度が高くなる。このCFに特徴的な汗のCl<sup>-</sup>濃度の上昇は、1948年夏にニューヨークを熱波が襲った時、多くのCF患者が汗からの体液喪失に陥ったことから発見された<sup>14)</sup>。高温多湿の日本では、CFTR機能の低下は汗腺におけるCl<sup>-</sup>の再吸収の低下をきたす。従って、50%以下となるCFTR機能の低下は、発熱時や高温の環境において汗からの多量の塩分喪失を引き起こす。下痢と発汗による塩分喪失は、日本人のCFTR遺伝子に対し逆の方向から選択作用を及ぼしてきた結果が、95%がCFTR機能が野生型の53-75%となった可能性が考えられる。

これまでに1,000以上のCFTR遺伝子変異・多型が登録されており(Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. <http://www/genet.sickkids.on.ca/cftr/>)、民族により異なる多型を示す<sup>2)</sup>。私どもの解析から浮かびあがってきた多型(Fig. 5)も韓国人<sup>15)</sup>など東アジアに住む民族に特徴的であった。健常人にも1~9%の頻度で存在するこれらの多型のCFTR機能に及ぼす影響は不明な点が多い。Q1352Hの頻度は、健常人(4.8%)に比べ慢性膵炎で有意に高かった(アルコール性11.5%、特発性14.3%)。また特発性慢性膵炎ではR1453Wの頻度(14.3%)が高い傾向(1人はホモ接合体)にあり、これらの多型は慢性膵炎に関連し発症リスクを高める可能性が考えられる。Q1352H-CFTRまたはR1453W-CFTRをCHO細胞に発現させると、Cl<sup>-</sup>チャネル機能が30-60%に低下する<sup>15)</sup>。更に、V470-Q1352H-CFTRを細胞に発現させるとCl<sup>-</sup>チャネル機能はほとんど消失する。従って、この変異を一方のアレルに有するとCl<sup>-</sup>チャネル機能は全体として25%まで低下すると予想される。実際、Q1352HとR1453Wは(TG)<sub>11</sub>-V470アレル上にあり、慢性膵炎では(TG)<sub>11</sub>-V470ホモ接合体にQ1352HまたはR1453Wを合併する症例が多く見られた。従って、この変異を一方のアレルに有するとCl<sup>-</sup>チャネル機能は全体として25%まで低下すると予想される。

CFTRのチャネル機能に関連するM470Vの遺伝型をX軸に、CFTR蛋白量に関連する(TG)<sub>n</sub>の遺伝型をZ軸に、頻度をY軸に示した(Fig. 6)。蛋白量が低下するがチャネル機能が保たれる(TG)<sub>12/12</sub>-M/M470遺伝型にアルコール性慢性膵炎が、蛋白量は正常だがチャネル機能が低下する(TG)<sub>11/11</sub>-VV470遺伝型に特発性慢性膵炎が高い頻度を示した。

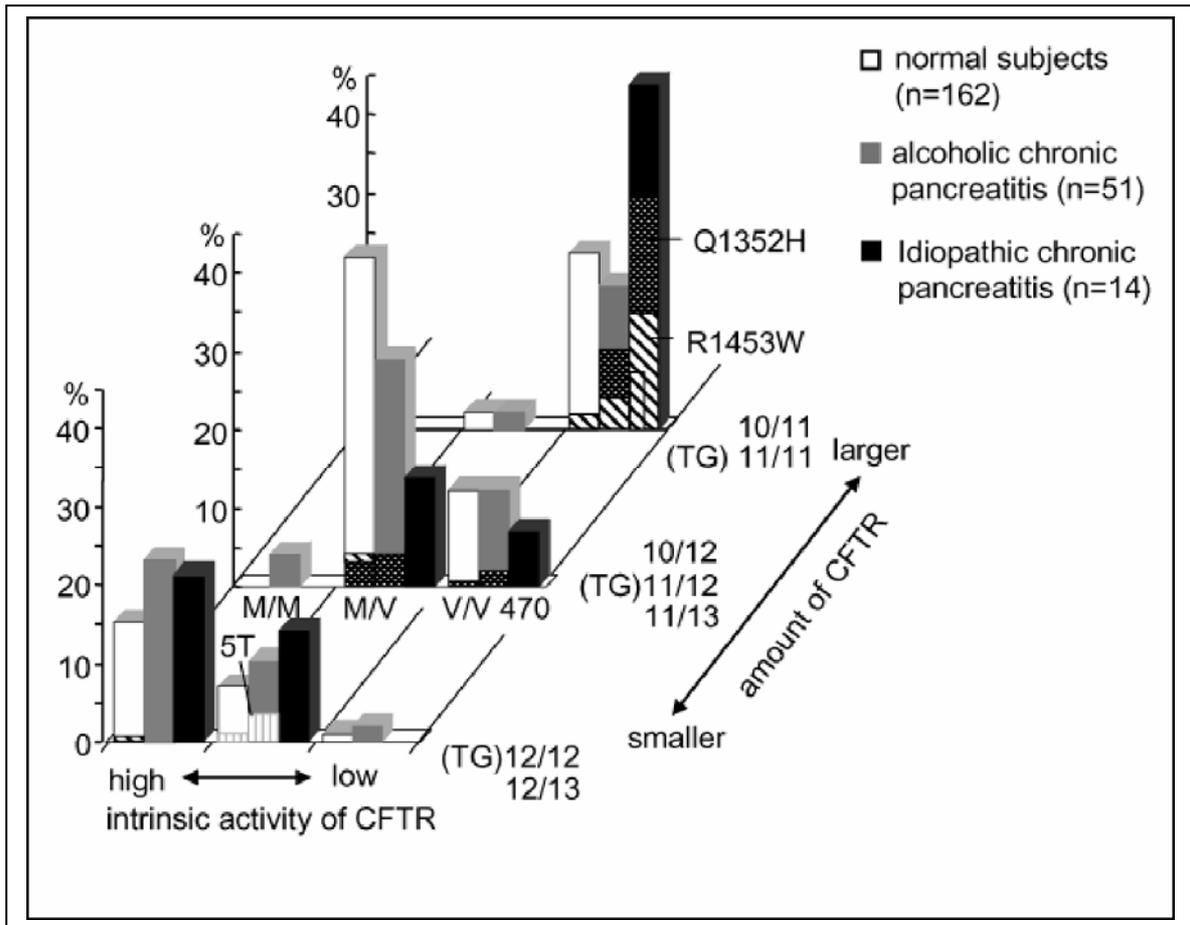


Figure The frequency of each of nine genotypes in normal subjects and patients with chronic pancreatitis. The associated 5T, Q1352H, and R1453 are overlaid on each column.

### 今後の課題

私どもが検索した範囲で、健常人、慢性膵炎患者共に、CF 原因遺伝子変異は認められなかったこと、(TG)n-M470V 多型から予想される日本人の CFTR 機能は野生型 CFTR の 53-75%であること、慢性膵炎患者では Q1352H、R1453W などの多型がチャネル機能が低い TG<sub>11</sub>-V470 ホモ接合体に合併することが多いことが、CF の少ない日本人における慢性膵炎の発症に関与している可能性が示唆された。今後、慢性膵炎に高頻度に合併した多型の機能を解析することにより、CFTR 機能の低下による慢性膵炎の発症機序が明らかになると思われる。また、ソルトバランスが本遺伝子の進化に関与してきたという仮説の傍証を得るためには、中国人や韓国人の(TG)n-M470V 多型と CFTR 機能を日本人と比較する必要がある。

## 文 献

1. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-1073.
2. Zielenski J, Tsui LC. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet* 1995;29:777-807
3. Quinton PM. What is good about cystic fibrosis? *Curr Biol* 1994;4:742-3.
4. Black RE, Morris SS, Bryce J. **Where and why are 10 million children dying every year?** *Lancet*. 2003;361:2226-34.
5. Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, et al. Cystic fibrosis and related diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002;16:511-526.
6. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. *J Pediatr* 1998;132:589-95.
7. Sharer N, Schwarz M, Malone G, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:645-652.
8. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, et al. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:653-658.
9. Knowles MR, Durie PR. What is cystic fibrosis? *N Engl J Med* 2002;347:439-42.
10. Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, et al. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastr Nutr* 1997;24:544-547.
11. Naruse S, Ishiguro H, Suzuki Y, et al. A finger sweat chloride test for the detection of a high-risk group of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2004;28:e80-85.
12. Fujiki K, Ishiguro H, Ko SBH, et al. Genetic evidence for CFTR dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet* 2004;41:e55.
13. Cuppens H, Lin W, Jaspers M, et al. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. The polymorphic (TG)<sub>m</sub> locus explains the partial penetrance of the T5 polymorphism as a disease mutation. *J Clin Invest* 1998;101:487-496.
14. Quinton PM. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. *Physiol Rev*. 1999;79(1 Suppl):S3-22.
15. Lee JH, Choi JH, Namkung W, et al. A haplotype-based molecular analysis of CFTR mutations associated with respiratory and pancreatic diseases. *Hum Mol Genet* 2003;12:2321-2332.

Salt balance via CFTR and evolution of *CFTR* gene in Japanese

Satoru Naruse<sup>1)</sup>, Takaharu Kondo<sup>2)</sup>, Hiroshi Ishiguro<sup>2)</sup>,  
Shigeru Ko<sup>1)</sup>, Kotoyo Fujiki<sup>3)</sup>  
Internal Medicine<sup>1)</sup> and Human Nutrition<sup>2)</sup>,  
Graduate School of Medicine, Nagoya University  
National Institute for Physiological Sciences<sup>3)</sup>

## Summary

Chronic pancreatitis is regarded as non-classic form of cystic fibrosis (CF). In order to understand the genetic background for chronic pancreatitis in Japanese, we examined twenty common CF-causing mutations in Europeans, nine CF-causing mutations in Japanese, and three polymorphisms (poly T, TG repeats, and M470V) of the *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (*CFTR*) gene in 65 patients with chronic pancreatitis (51 alcoholic and 14 idiopathic) and 162 normal subjects. None of the 29 CF-causing mutations were detected. The 7T was the most common (97.5%) haplotype and hence the 7T/7T was a dominant genotype in Japanese. Compared with Caucasians, the 5T and 9T were very rare. 6T was found in 4 normal subjects. The (TG)11 and (TG)12 were dominant haplotypes in Japanese and the ratio was roughly 1:1. Frequencies of the (TG)11/11 (24%), (TG)11/12 (53%), and (TG)12/12 (21%) in normal subjects were significantly ( $p=0.044$ ) different from alcoholic and idiopathic pancreatitis. The ratio of methionine (M-type) and valine (V-type) at position 470 in exon 10 was 2:3 in normal subjects. Genotype analysis revealed two major haplotypes, the (TG)12-M470 (31%) and (TG)11-V470 (51%); the former expresses a smaller amount of intact CFTR proteins and the latter produces proteins with lower intrinsic activity. Hence, CFTR function predicted from the genotypes in the majority of Japanese (97%) is lower (53~75%) than that in Caucasians with the wild type *CFTR* gene. Both secretory diarrhea caused by the activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel and sweat fluid and electrolytes loss caused by the warm and humid climate of Japan might have acted as selective pressure on the *CFTR* gene. Eight patients (12.1%) had Q1352 H (1.9% in control) and three (4.6%) had R1453W (1.9% in control). Association of a mild form of mutation, such as Q1352H, may further reduce CFTR function by as much as 75%. These genetic backgrounds probably explain the association of CFTR dysfunction and chronic pancreatitis in Japan where CF is very rare.