〈原 著〉

超高齢者の免疫遺伝学的研究 —両親の家族歴と百寿者のヒト白血球型 (HLA-DR) 出現頻度の関連性—

秋坂 真史 野原由美子 鈴木 信

〈要 約〉 長寿の遺伝的要因の一つを調べるため、家族歴としての両親の死亡年齢と、百寿者のヒト白血球抗原 (HLA-DR) 型の関連性に関する検討を行った。家族歴では、父親と母親の平均死亡年齢は対照群で母親が有意に高く、両群とも全体的に母親の方が父親より長命の傾向を示した。HLA-DR 型の出現頻度では DR1 が百寿群に有意に高かったが、DRw9 は有意にはならなかった。しかし、百寿群と対照群別にみた両親の死亡年齢と HLA 出現頻度の関係においては、対照群で群全体の平均死亡年齢に比べ、DRw9 は有意に低かった。この傾向はまた、両親の死亡年齢の推移にしたがった DR 型の出現頻度の比率分布においても認められた。本研究で家族歴と HLA が同一の対象で調べられたことにより、長寿に関する家族歴と HLA-DR のより積極的な関連性の存在と、さらにその他の DR 型の一部にも有意差が認められたものも見出されたため、単一の遺伝子座位によらぬ比較的広い関連性がある可能性も示唆された。

Key words : 百寿者, 家族歴, ヒト白血球抗原 (HLA-DR), 長寿, 遺伝

緒 言

Antigen) DR 型の関連性についての検討を行った。

対象と方法

沖縄県は全国的に長寿県として知られ、また全世界においても最長寿地域の一つと考えられている。したがって、その長寿に関する要因については、これまでも医学のみならず疫学・栄養や社会・文化などの観点からも議論されてきた。しかしながら、現在のところ、ヒトの長寿に関する遺伝的要因についての報告はきわめて少ない状況にある。

ところが近年は長寿に関する遺伝的因子の重要性も論議され、とくに百寿家系での積極的研究も期待されている¹⁾。一方で我々は、これまで HLA と長寿の関連性²⁾および長寿の遺伝素因に関する家族歴³⁾等について報告を行ってきた。しかしこれらは、別個に為されたものであり、同一の対象において確認されたものではなかった。そこで我々は、沖縄住民の遺伝的要因の一つを調べるため、祖父母以前の代から当地に定住している沖縄住民 (以下、沖縄人) の、家族歴としての両親の死亡年齢と、疾病回避という免疫遺伝学的観点から白血球抗原 (以下、HLA: Human Leukocyte

対象は、1987年6月から1990年9月までの期間に沖縄県高齢者名簿に記載され、死亡者と同一人を除く398名の百歳以上長寿者 (以下、百寿者と略す) のうち、血清学的 HLA 型 (Phenotype) の検索と、両親もしくは片親の死亡年齢及び死因に関する家族歴を確認できた87名 (男性15名、女性72名; 100~106歳, 平均年齢101.6歳) である。また対照は、一般の健康者148名 (男性60名、女性88名; 50~75歳, 平均年齢66.4歳) の計235名である。

これら沖縄人の一人ひとりから、まず直接面接による聞き取り調査を実施し、父母の死亡年齢と死因を調査した。家族歴に関しては、同胞や子供の死亡年齢まで含めた家族歴を問題にすると、対照については未だ生存者が多いため、両親の死亡年齢についてのみ検討した。この際、対象の百寿者については、本人に聴取しながらも息子や娘を含めた2人以上の家族を交えて確認しつつ調査を進めた。死因については、病死または老衰死であるのか、それとも単に、事故死や戦死、あるいは自殺等であるのかを区別することを主眼とした。なお、調査に際しては、戦死・事故死・自殺等を

M. Akisaka, Y. Nohara, M. Suzuki : 琉球大学医学
部地域医療研究センター

受付日 : 1995. 10. 30, 採用日 : 1995. 12. 18

除き、病死もしくは老衰と考えられるものに限定し、不明な点が残るものについては全て除外した。

同時に許諾を得て採血を行い、血清学的に HLA タイピングを行った。リンパ球分離には Ficoll-Conray 比重遠心法、HLA タイピングには Terasaki らの方法⁴⁾に基づき、第 9 回国際組織適合性ワークショップ血清を用いた。HLA の検索については、本研究ではクラス II に属する DR 型について調べた。まず HLA-DR 型の出現頻度を百寿者と対照で比較し、次に親の死亡

年齢と HLA-DR の型との関連性を検討した。統計は平均値の検定については t 検定、出現頻度については χ^2 検定によった。

結 果

図 1 に、親の死亡年齢の分布と平均死亡年齢の比較を示す。百寿者、対照群ともに母親の方が長命であり、とくに対照群では有意に高かった。また、父親および母親の平均死亡年齢を、百寿群と対照群で比較した場合

図 1 両親の死亡年齢の分布

表 1 HLA-DR 出現頻度の比較

HLA antigen	対照群 (N = 148)		百寿群 (N = 87)		P	Pc	RR
	n	PF (%)	n	PF (%)			
DR1	3	2.0	7	8.0	0.041	1.23	3.969
DR2	54	36.4	33	37.9			
DR3	2	1.3	1	1.1			
DR4	79	53.4	43	49.4	0.590		
DR5	5	3.4	3	3.4			
DRw6	4	2.7	0	0	0.299		
DR7	1	0.7	1	1.1			
DRw8	33	22.3	8	9.2	0.012	0.36	2.425
DRw9	38	25.7	23	26.4			
DRw10	2	1.4	1	1.1			
DRw11(5)	7	4.7	1	1.1	0.263		
DRw12(5)	16	10.8	14	16.1	0.311		
DRw13(6)	10	6.8	1	1.1	0.058	1.74	5.878
DRw14(6)	12	8.1	11	12.6	0.363		
DR blank	30	20.3	27	31.0			

PF (%) : 出現頻度 P : Fisher's exact probability test による p-level (<0.05)

Pc : corrected p-level RR : relative risk

図2 両親の平均死亡年齢と群全体の平均死亡年齢の比較

合、いずれも有意差は認めなかった。

同じ対象における HLA-DR 型の出現頻度を求め、百寿者と一般高齢者の間で比較した(表1)。百寿者で DR1 が有意に高く ($p=0.041$, Relative Risk=3.969), また DRw8 が有意に低かった ($p=0.012$, RR=2.425)。しかし、その他の DR 型については、両群で有意差が見られなかった。

図2に、両親の死亡年齢と、HLA-DR 型との関係について群別にまとめた。百寿群、対照群それぞれの DR 型における親の平均死亡年齢と各群における全体の平均死亡年齢を比較すると、百寿群では有意差は見られなかった。しかし対照群では有意差を認め、DRw9 で全体の平均死亡年齢よりも有意に低く ($p=0.0126$), DRw13 において有意に高かった ($p=0.0084$)。

図3に親の死亡年齢と DR 型出現比率の分布様態を示した。父親、母親ともに、子に DRw9 を有するものの比率が、親が長寿であったものほど減少する傾向が認められた。

考 察

長寿要因を考える際、様々な疾病罹患を回避して長寿を達成できたと考える立場も有り得るが、HLA を介しての免疫防御能を調べる方法が有力なものの一つと考えられる。HLA と疾病の関連性に関しては多くの例がまとめられ報告されている⁵⁾が、HLA と長寿の関連性を積極的に調べた報告は、ごく一部の論文¹⁾²⁾⁶⁾⁷⁾を除いて、これまでのところほとんど知られていない。さらに、家系あるいは家族歴の観点から、長寿の遺伝性についての報告は意外に少ない。Abbott らは、90歳

図3 親の死亡年齢と HLA-DR 型の出現比率の変化

長寿を達成した男女の配偶者の死亡年齢と子供の死亡年齢を調べ、長寿男性の妻の死亡年齢と子供の死亡年齢との間には相関を認めたが、その逆すなわち長寿女性の夫の死亡年齢と子供の死亡年齢との間には相関を認めなかったとし、母親が子供に与える様々な生活習慣上の要因を含めて女性を介した長寿性の重要性を示唆した⁹⁾。この報告は死亡年齢という時間因子の調査であるが、家系内遺伝性の重要性を示唆している。また、鈴木らは沖縄の百寿者を対象として長寿の遺伝素因に関する家族歴の case-control study を行った³⁾。その結果、女同胞や全同胞、さらに全家族群において長寿の遺伝性は確認され、とくに男性を介した長寿性も示唆された。この種の研究で大きな問題は対照群の選定にあると思われるが、この研究では戸籍確認と慎重な問診によって信憑性の高い長寿群を対象とし、かなり厳密な case-control study を実施している。ここで対照群は、厳密には百寿者と同年代で百歳まで生存できなかった人々、ということになろう。しかし本来この設定は retrospective には不可能である。そこで第二の選択として鈴木らの設定が考えられる。しかしその厳密性のためか、一つの自治体全域にわたる協力を得たにも関わらず対照数は11名ときわめて少ない結果となった。本研究においては、百寿者を含め対象自体は全く別であるものの、鈴木らと同様、すべて沖縄人とした。基本的に、ある集団内で疾病や長寿の遺伝を考慮する場合、沖縄人や沖縄百寿者のように同一民族でしかも同一地域（とくに島嶼地域）に何世代にもわたって生存してきた集団遺伝的均一性の高い対象群、並びにそれと同一地域の対照群の選択が望ましいと考えられる。また、本研究では対照群として一般健常者を扱った。そうした理由は、一つには、本研究が鈴木らの研究と高田らの研究の延長線上にあり、その主眼は対照の厳密な選定ではなく沖縄人としての同一対象における家族歴と HLA の関連性にあったこと、第二にこの種の研究の対照概念に確立された一定の解釈や通念が未だなく、したがって異なる方法で選んだ対照で行った結果そのものにも興味ももてること、第三に国勢調査によると1950年の時点における沖縄県の60歳から64歳までの人口が17,800名であるのに対し、その40年後にあたる1990年の100歳から104歳までの百寿人口は160名(0.89%)と、沖縄であってさえ百寿達成は絶対値としての数字上は稀な現象であり、したがって一般健常者を対象としても研究目的によっては大きな誤りではないと考えたことなどによってである。

その結果、両親の平均死亡年齢では、百寿群、対照群とも母親の方が長命であり、とくに対照群で母親が父親より有意に高い結果になった。百寿群と対照群を男女別に比較してみると有意差は見られなかったが、百寿者の親が明治時代を活動の絶頂期とする戦前の世代であり、当時の平均寿命が40歳代の時期であったことを考慮すると、両親もまたかなりの長寿であったと考えられる。

他方で長寿に関与する遺伝因子として、Takata らは HLA に着目し、血清学的に調べた HLA 抗原型の出現頻度を、長寿群と一般対照群とで比較した²⁾。その中で彼は、82名の百寿者と20名の90歳代長寿者の HLA 抗原出現頻度を、他の年代層の健康成人のそれと比較しているが、90歳以上長寿群は DR1の頻度が高く($p=0.0367$, $RR=13.3$)、DRw9の頻度は低かった($p=0.0001$, $RR=5.2$)。また百寿群と対照群を比較した結果でも、DR1頻度は $p=0.0042$, $RR=12.3$ と高く、DRw9頻度は逆に $p=0.00004$, $RR=4.8$ と低かった。

我々の結果でも、頻度においては同様に、百寿群に DR1が有意に高かった($p=0.041$, $RR=3.969$)。しかし、その有意性は小さく、検索抗原数を考慮に入れた補正 p 値では $p_c=1.23$ と有意にならなかった。ただし、補正 p 値に関する有意性については、Takata らの結果においても、 $p_c=0.125$ と統計的有意差となるには至っていない。すなわちこの点でも同様であった。とはいえ、彼らの研究とは全く異なる対象の沖縄百寿者と一般健常者を調べた我々の結果でも、一部の出現頻度で同様の結果が示されたことは興味深いことと思われる。

DR1型については、ヒトにおいてはカンジダ抗原と微量 PHA (phytohaemagglutinin) に対する反応性は DR1と特異的に相関があるといわれている⁹⁾¹⁰⁾。同様なことがマウスでも確認されており、H2系マウスの長寿群では微量 PHA に対する反応性が最も高かった¹¹⁾。このような免疫応答能の違いが、ヒトにおいても生存上有利に働く可能性もある。

本研究では、出現頻度の比較においては、DRw9について有意とはならなかった。DRw9の高頻度に関しては、systemic lupus erythematosus (SLE)¹²⁾、alcoholic liver cirrhosis¹³⁾、diabetes mellitus¹⁴⁾等との関係も指摘されている。ただし、日本人そのものに DRw9の出現頻度が高いこと¹³⁾や、以上の報告では日本人集団におけるものがほとんどで対象数もけっして十分ではないと思われることなど、今後多くの研究が待たれる。

ところで、HLA の出現頻度の比較では有意差が出なかった DRw9が、両親の死亡年齢と DR 型との関係について群別に比較した場合、対照群で群全体の平均よりも有意に低かった。百寿群でも有意にはならなかったが、低い傾向を示した。また、対照群で DRw13が有意に高かった。これまでのところ DRw13について明確な病的意義を論じた報告は少ない。本研究においては、一部の DR 型の他、対照群の DRw13が10名と十分な数とは言えず、また百寿群でも1名と比較するに至らなかったため、今後の検討が必要であろう。さらに本研究では、百寿群で DRw8が有意に低かった ($p=0.012$, $RR=2.425$) が、DRw8は若年性リウマチ関節症等との相関が知られ、DRw9と同様、自己免疫疾患のリスクファクターの一つであるとされている⁵⁾。とくに DRw9は、横断的な地域差・集団差で有意にならなくとも、長寿性すなわち時間推移による生存確率を問題とすると、高頻度になる可能性があることが示唆されたことは興味深い。

そこで、この結果をさらに検討するため、親の死亡年齢と DR 型の比率分布を調べてみた。その結果、父親・母親のいずれの群でも、子に DRw9を有するものの比率は長寿になるにつれて（死亡年齢が高くなるにつれて）減少していたが、これは疾患特異性のある DRw9が、加齢とともに選択的に減少していく可能性のあることを示唆している。その他の DR 型でも、一部に特徴的な増減傾向を示したものが見られるが、それらの例数が少ないことや性に共通のパターンを示さないこと、さらにかつては周産期女性には不慮の病死が多く伴ったことなど本結果のみでは結論は難しいと考えられる。しかしながら本研究において、親の死亡年齢すなわち親の長寿性と子の HLA-DR 型を同一対象において調査した結果も、過去に行ったものとはほぼ同様の傾向を示したことは、長寿家系と特定の HLA 型出現頻度の関連性を支持するものと考えられる。ただし DR 型の出現頻度の比較において、これまでの報告の結論の中で強調された DR1のような長寿群における強陽性型が弱陽性型に傾き、対照群で圧倒的に優勢であった DRw9が有意にならなかったなど、若干の差異が示されたこともまた興味深い。今後は、以後に行った phenotyping あるいは haplotype 分類の結果、さらには DNA-typing の結果を踏まえて検討したいと考えている。

なお本研究で、HLA 型のクラス II、とくに DR 型に焦点をあてて調べた理由は、DR 抗原が免疫応答の中

心的役割を為す活性型 B 細胞や T 細胞の膜表面に出現していること、ならびにその多様性がきわめて高いことが知られ疾病関連性の報告が多いこと、さらに長寿との関連性について論じることを試みた従来の論文が、主に DR を問題にしていたこと等の理由からである。もっとも中には、Proust らの報告⁶⁾のように、フランス在住の90歳代を中心とした長寿者に多いハプロタイプを示したものも見られるが、彼らの言う A1/Cw7/B8/DR3のハプロタイプは、我々の結果では見なかった。また日本人自体に、このタイプはきわめて稀とされている¹⁵⁾。しかも彼らの結果は、コーカサス系ヨーロッパ人の、施設入所中の主に90歳代老年者であり、有意差の出たのは長寿者の男女間のみにおいてであった。したがって、日本人を含めてヒトの長寿と HLA 抗原型との関連性を積極的に支持することは難しいものと考えられる。

また近年は、従来の疾病罹患者のみならず、百寿を中心とする長寿者に対しても、直接 DNA を調べる genotyping が行われるようになってきた。これまでのところ、高血圧に関与する ACE 遺伝子や動脈硬化に作用する Apo-E 遺伝子のごとき成人病に関するものに限られている¹⁶⁾。しかし今後は、ヒトの長寿との関連の中において、遺伝子を積極的に探る意義はますます重要性を帯びてくると言われている¹⁷⁾。この意味においても、我々と基本的観点は同一であり、HLA に限らず遺伝学的立場からの DNA に対するアプローチは、老年医学においても今後の重要な課題の一つになってくるものと思われる。

文 献

- 1) Schaechter F, Cohen D, Kirkwood T: Prospects for the genetics of human longevity. *Hum Genet* 1993; 91: 519—526.
- 2) Takata H, Suzuki M, Ishii T, Sekiguchi S, Iri H: Influence of major histocompatibility complex region genes on human longevity among Okinawan-Japanese centenarians and nonagenarians. *Lancet* 1987; II: 824—826.
- 3) 鈴木 信, 森 久恒, 安里哲好, 佐久川肇, 石井寿晴, 細田泰弘: 百寿に関する医学的研究(1) —長寿の遺伝素因に関する家族歴の case control study—. *日老医誌* 1985; 22 (5): 457—467.
- 4) Terasaki PI, Bernoco D, Park MS: Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C, and -D antigens. *Am J Clin Pathol* 1978; 69: 103—120.
- 5) Tiwari JL, Terasaki PI: HLA and Disease

- Associations, Springer-Verlag, New York, 1985, p28—48.
- 6) Proust J, Moulias R, Fumeron F, Beckkhoucha F, Gussone M, Schmid M, Hors J: HLA and longevity. *Tissue Antigens* 1982; 19: 168—173.
 - 7) 高田 肇, 鈴木 信, 石井寿晴, 関口 進, 細田泰弘, 入久 巳: 百歳老人の免疫遺伝学的研究—ヒトの長寿とHLA抗原—. *体力研究* 1986; 62 (Suppl): 65—71.
 - 8) Abbott MH, Murphy EA, Bolling DR, Abbey H: The familial component in longevity, a study of offspring of nonagenarians II. Preliminary analysis of the completed study. *Johns Hopkins Med J* 1974; 134: 1—16.
 - 9) Nose Y, Komori K, Inoue H: Role of macrophages in T lymphocyte response to Candida allergen in man with special reference to HLA-D and DR. *Clin Exp Immunol* 1981; 45: 152—157.
 - 10) Takata H, Sonoda A, Haranaka M: An analysis of PHA response and the association with HLA-DRI and DQw1. In: *HLA in Asia-Oceania 1986*, Aizawa M (ed), Hokkaido University Press, Sapporo, 1986, p890—893.
 - 11) Nose Y, Komori K, Inoue H: Relation between HLA-D and in vitro and in vivo responsiveness to Candida allergen. *Clin Exp Immunol* 1980; 40: 345—350.
 - 12) Takata H, Sekiguchi S, Konoeda Y: HLA and systemic lupus erythematosus in Japanese. In: *Immunogenetics in Rheumatology*, Dawkins RL, Excerpta Medica, Amsterdam, 1982, p226—228.
 - 13) Miyamoto K, Ishii H, Takata H: Associations of HLA-B40 and DRw9 with Japanese alcoholic liver cirrhosis. *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 18 (Suppl 1): 467—471.
 - 14) Bertrams J, Baur MP: Insulin-dependent diabetes mellitus. In: *Histocompatibility testing 1984*, Albert ED, Baur MP, Mayer WR (eds), Springer-Verlag, Berlin, 1984, p348—358.
 - 15) 今西 規, 徳永勝士, 赤座達也, 吉田孝人: 日本人集団における HLA 遺伝子の対立遺伝子頻度とハプロタイプ頻度. *今日の移植* 1991; 4 (Suppl 2): 147—185.
 - 16) Schaechter F, Faure-Delanef L, Guenot F, Rouger H, Froguel P, Lesueur-Ginot L, et al: Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nature Genetics* 1994; 6: 29—32.
 - 17) Boerxmeer FM: Apo E and ACE gene: Impact on human longevity. *Nature Genetics* 1994; 6: 4—5.

Abstract

Family History and the Frequency of Human Leukocyte Antigen (HLA-DR) in Centenarians

Masafumi Akisaka, Yumiko Nohara and Makoto Suzuki

There are a few reports that associate several loci of the human leukocyte antigen (HLA) with longevity, such as DR1 which is significantly frequent in the very old, especially in Okinawa centenarians. In contrast DR9 is decreased. This report investigates 87 healthy Okinawan centenarians and 148 healthy Okinawan controls examined since 1987 with HLA phenotyping and family history questionnaires. The mean age in centenarians was 101.6 years, and that of controls was 66.4. We inquired the age and the cause of death of the parents of the subjects. Subjects whose parent's deaths were by suicide, homicide, accident, war or due to war trauma, were excluded and only those resulting from illness or natural causes were included. The relation between

age of death of parents and DR types were studied. Compared to controls, DR1 was significantly increased in the centenarians ($p=0.036$, RR 4.239), and DR8 was decreased ($p=0.012$, RR=0.412). When the mean age of death of parents for each DR group and that of total was determined, the mean death age of those with DR9 was significantly lower than the mean of the total ($p<0.05$). More over, when the frequency rate of the DR types were compared with the parents' death age, that of DR9 decreased as the age of death increased. It is suggested that some loci of HLA-DR relate to longevity and some genetic protection against immunerelated diseases contributes to long-lived lineage.

Key words: *Centenarians, Family history, Human leukocyte antigen (HLA), Longevity, Genetics* (Jpn J Geriatr 1996; 33: 180—185.)

Research Center of Comprehensive Medicine, School of Medicine, University of Ryukyus