

(書式12)

氏名	いしかわ りょう 市川 遼
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2020年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	トランスクリプトーム解析を用いた日本人クローン病疾患感受性遺伝子の同定
論文審査委員	主査 教授 正宗 淳 教授 亀井 尚 教授 上月 正博

論文内容要旨

【背景と目的】クローン病 (Crohn's disease; CD) や潰瘍性大腸炎からなる炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease; IBD) はその発症に遺伝要因と環境因子が関与する多因子疾患である。ゲノムワイド関連解析 (genome wide association study; GWAS) により 200 以上の領域に疾患感受性があることが確認されているが、その多型と疾患発症のメカニズムが未解明のままである。近年、expression quantitative trait locus (eQTL) 解析が数多く行われ、これを活用すれば相関を示す遺伝子多型が、どの遺伝子の発現にどの程度影響しているか予測することが可能となった。本研究では日本人 CD 患者の病態に関連があると考えられる腸管粘膜固有層単核球 (lamina propria mononuclear cells; LPMCs) の CD4 陽性 Effector Memory T 細胞 (Tem) を採取し、eQTL 解析を行い、さらに既存の eQTL データも活用し、日本人 CD 発症にかかわる疾患感受性遺伝子の同定を行う。

【対象と方法】先行研究のジェノタイプングデータ (日本人 CD 患者 713 例、健常人コントロール 2063 例) を用いて、新たに線形混合モデル (linear mixed model) による GWAS を行った。日本人 IBD 患者 20 例のジャポニカアレイによるジェノタイプングと、腸管切除標本中の LPMCs に存在する Tem の RNA シーケンスを行い eQTL 解析を行った。さらに Genotype Tissue Expression (GTEx) より全血、Epstein-Barr virus (EBV) 不死化リンパ球、S 状結腸、横行結腸、回腸末端の組織における eQTL データをリファレンスとし、GWAS の結果を使用してトランスクリプトームワイド関連解析 (transcriptome-wide association study; TWAS) を行った。

【結果】IBD 患者 LPMC 由来 Tem の RNA シーケンスによって、32,363 遺伝子の発現が確認された。eQTL 解析により候補 ($p < 1e-04$) となる相関が 22,632 ペア、2,463 遺伝子が確認された。この中には、GWAS で相関が候補レベル以上を示した多型として 6 番染色体の 19 SNPs が含まれており、腸管の Tem における tenascin-XA (TNXA) 遺伝子の発現と有意な相関を示した (PGWAS = $6.34e-09$, PeQTL = $3.49e-05$)。TWAS では HLA 領域の複数の遺伝子発現と CD との関係を確認したほか、全血で TNFSF15 (FDR = $1.35e-13$)、APOBEC3A (FDR = $6.79e-02$) の 2 遺伝子、EBV 不死化リンパ球で ERV3-1 (FDR = $2.20e-02$) および RAP1A (FDR = $9.45e-02$)、横行結腸で NPIP9 (FDR = $7.66e-02$) および IGLV3-29 (FDR = $9.70e-02$)、S 状結腸で ZNF713 (FDR = $3.03e-02$)、WDR31 (FDR = $8.07e-02$) が有意に相関を示した。

【結論】日本人 IBD 患者の LPMC 由来 Tem の eQTL データが構築された。これに既存の eQTL データベースと GWAS を組み合わせた統合解析により、日本人クローン病の発症にかかわる遺伝子として全血中の TNFSF15 の発現がもっとも日本人 CD の発症と関連することが示された。

審査結果の要旨

博士論文題目 トランスクリプトーム解析を用いた日本人クローン病疾患感受性遺伝子の同定

所属専攻・分野名 医科学専攻・消化器病態学分野

学籍番号 B6MD5016 氏名 市川 遼

【背景と目的】

クローン病 (Crohn's disease; CD) や潰瘍性大腸炎からなる炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease; IBD) はその発症に遺伝要因と環境因子が関与する多因子疾患である。ゲノムワイド関連解析 (genome wide association study; GWAS) により 200 以上の領域に疾患感受性があることが確認されているが、その多型と疾患発症のメカニズムが未解明のままである。近年、expression quantitative trait locus (eQTL) 解析が数多く行われ、これを活用すれば相関を示す遺伝子多型が、どの遺伝子の発現にどの程度影響しているか予測することが可能となった。本研究では日本人 CD 患者の病態に関連があると考えられる腸管粘膜固有層単核球 (lamina propria mononuclear cells; LPMCs) の CD4 陽性 Effector Memory T 細胞 (Tem) を採取し、eQTL 解析を行い、さらに既存の eQTL データも活用し、日本人 CD 発症にかかわる疾患感受性遺伝子の同定を行う。

【対象と方法】

先行研究のジェノタイプングデータ (日本人 CD 患者 713 例、健常人コントロール 2063 例) を用いて、新たに線形混合モデル (linear mixed model) による GWAS を行った。日本人 IBD 患者 20 例のジャポニカアレイによるジェノタイプングと、腸管切除標本中の LPMCs に存在する Tem の RNA シーケンスを行い eQTL 解析を行った。さらに Genotype Tissue Expression (GTEx) より全血、Epstein-Barr virus (EBV) 不死化リンパ球、S 状結腸、横行結腸、回腸末端の組織における eQTL データをリファレンスとし、GWAS の結果を使用してトランスクリプトームワイド関連解析 (transcriptome-wide association study; TWAS) を行った。

【結果】

IBD 患者 LPMC 由来 Tem の RNA シーケンスによって、32,363 遺伝子の発現が確認された。eQTL 解析により候補 ($p < 1e-04$) となる相関が 22,632 ペア、2,463 遺伝子が確認された。この中には、GWAS で相関が候補レベル以上を示した多型として 6 番染色体の 19 SNPs が含まれており、腸管の Tem における tenascin-XA (TNXA) 遺伝子の発現と有意な相関を示した ($PGWAS = 6.34e-09$, $PeQTL = 3.49e-05$)。TWAS では HLA 領域の複数の遺伝子発現と CD との関係を確認したほか、全血で TNFSF15 ($FDR = 1.35e-13$)、APOBEC3A ($FDR = 6.79e-02$) の 2 遺伝子、EBV 不死化リンパ球で ERV3-1 ($FDR = 2.20e-02$) および RAP1A ($FDR = 9.45e-02$)、横行結腸で NPIP9 ($FDR = 7.66e-02$) および IGLV3-29 ($FDR = 9.70e-02$)、S 状結腸で ZNF713 ($FDR = 3.03e-02$)、WDR31 ($FDR = 8.07e-02$) が有意に相関を示した。

【結論】

日本人 IBD 患者の LPMC 由来 Tem の eQTL データが構築された。これに既存の eQTL データベースと GWAS を組み合わせた統合解析により、日本人クローン病の発症にかかわる遺伝子として全血中の TNFSF15 の発現がもっとも日本人 CD の発症と関連することが示された。

本論文は第一次審査の結果に基づいて適切に修正した。日本人炎症性腸疾患における感受性遺伝子を、ゲノムワイド関連解析、メモリーT細胞の eQTL 解析、トランスクリプトームワイド関連解析で同定した研究で、新規性があり、内容も興味深い。学位に値する研究である。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。