

氏 名（本籍） お ご けん いち
 根 来 健 一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 7 4 5 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 13 年 3 月 26 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科
 （ 博 士 課 程 ） 内 科 学 系 専 攻

学 位 論 文 題 目 日 本 人 ク ロ ー ン 病 に お け る ， T N F α 遺 伝 子 5' 側 領
 域 の 多 型 に 関 す る 研 究

（ 主 査 ）

論 文 審 査 委 員 教 授 下 瀬 川 徹 教 授 名 倉 宏

 教 授 本 郷 道 夫

論文内容要旨

研究目的

TNF α 遺伝子はクローン病感受性遺伝子座位の一つである第6染色体 HLA 領域上に存在し、臨床的にもクローン病の病態に深く関与することが示されていた。最近、TNF α 遺伝子の5'側領域に新たに3ヶ所の一塩基置換多型(-1031C, -863A, -857T)が報告され、TNF α 機能に影響を及ぼすことが示された。これら多型がTNF α の産生を促すことでクローン病の病態に関与して遺伝的危険因子の一つとして作用していると考え、分子遺伝学的に相関解析を行った。また、TNF α 遺伝子近傍にある HLA DQB1 *0401, *0402 が日本人クローン病に相関することが知られているが、これら TNF α 多型や HLA のクローン病との相関が、それぞれ独立しているものなのかどうかを検討するために、相互の連鎖解析を行った。

研究方法

日本人炎症性腸疾患患者、クローン病105例、潰瘍性大腸炎115例、および健常コントロール195例を対象とし、末梢血単核球よりDNAを抽出した。TNF α 遺伝子5'側領域を直接シーケンス法にて読み取り、多型を解析した。HLA DQB1 は、PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP) 法にて解析した。TNF α 多型と DQB1 対立遺伝子との連鎖解析は、EM アルゴリズムを用いたコンピュータプログラムを用いて行った。

研究結果

TNF α 遺伝子5'側領域多型-1031C, -863A, -857T の対立遺伝子頻度が、健常コントロールでそれぞれ17.9%, 15.9%, 16.0%であるのに対し、クローン病ではそれぞれ24.8%, 22.4%, 26.7%と有意に高く、潰瘍性大腸炎では低めの傾向を示した。さらに対立遺伝子頻度は小腸型クローン病で最も高く、これら多型がとくに小腸病変と関係している可能性が示唆された。また、HLA DQB1 *0401 と *0402 がクローン病と相関しており、*0401 は -857T と強い連鎖を、*0402 は -1031C と弱い連鎖を示していた。

結論

TNF α 遺伝子がクローン病の感受性遺伝子である可能性を明らかにした。少なくとも、TNF 遺伝子/HLA の存在する近傍の領域に、クローン病の感受性遺伝子の一つが存在することが強く示唆された。

研究の意義・独創的な点

以前より TNF α 遺伝子は、疾患病態、モデル動物、罹患同胞対を用いた連鎖解析、マイクロサテライトマーカーを用いた相関研究などから、クローン病の感受性遺伝子である可能性を強く示唆されていた。本研究により、より解像度の高い遺伝子マーカーである一塩基置換多型との相関が示され、クローン病の感受性遺伝子である可能性はより強固なものとなった。このような感受性候補遺伝子相関研究では、集団の階層化をできるだけ少なくするために、単一民族での解析が好ましいと考えられている。日本人は遺伝的には比較的均一であると考えられ、その点では、本解析の結果は信頼性が高く、他民族での研究の先鞭をなすと思われた。

審査結果の要旨

本学位論文は、日本人の炎症性腸疾患患者を対象とし、TNF α 遺伝子5'側領域の一塩基置換多型(SNP)、及び、HLA DQB1遺伝子との相関解析を行い、TNF α 遺伝子がクローン病の疾患感受性遺伝子である可能性を明らかにしている。さらにそれがクローン病の小腸病変と相関し、HLA DQB1遺伝子と連鎖不平衡にあることも、合わせて明らかにした。本学位論文は以下のような特徴があげられる。

- ① TNF α 遺伝子は、疾患病態、抗TNF α 抗体の治療効果、罹患同胞対を用いた連鎖解析、マイクロサテライトマーカーを用いた相関研究、モデル動物での検討、など数多くの証拠から、クローン病の感受性遺伝子である可能性を強く示唆されていたにもかかわらず、遺伝子レベルでTNF α とクローン病を結びつける証拠が乏しく、世界中でTNF α とクローン病との関連について注目が集まっていた。本研究が、解像度の高い遺伝子マーカーであるSNPを用いて、世界で初めてTNF α 遺伝子とクローン病との相関を示すに至り、TNF α 遺伝子がクローン病の感受性遺伝子である可能性はより強固なものとなった。
- ② 日本人では比較的稀な疾患である炎症性腸疾患の症例を、クローン病、潰瘍性大腸炎ともに100例以上と十分な症例数を用いていること、多型の解析において全例シーケンス法を用いており、手技的には最も確実な方法であること、連鎖解析において最新の遺伝学的手法にもとづいたアルゴリズムを使用していることなど、きわめて信頼性のあるデータを提示している。
- ③ このような感受性候補遺伝子相関研究では、集団の階層化をできるだけ少なくするために、単一民族での解析が好ましい。日本人は遺伝的には比較的均一であると考えられ、その点では、本解析の結果は信頼性が高く、他民族での研究の先鞭をなすと思われる。

クローン病において、疾患全体と一塩基置換多型との相関を示したのは本研究が世界で初めてである。今まで原因不明であった疾患の感受性遺伝子を、ついに明らかにする足がかりを示したことは賞賛に値する。これは、多数の遺伝子の関与が疑われているヒト通常疾患で、一塩基置換多型を遺伝的マーカーとして感受性遺伝子を絞り込んだという意味でも、非常に意義深いものであると考えられる。本研究の内容は以下の論文に掲載済みであり、研究の質・量・先見性など高く評価でき、十分学位に値するものと思われる。

Crohn's disease is associated with novel polymorphisms in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology*. 1999 Nov ; 117(5) : 1062-8.