

氏名	ありが ひろゆき 有賀 啓之
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26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	本邦膵炎患者における <i>CFTR</i> 遺伝子異常の検討
論文審査委員	主査 教授 下瀬川 徹 教授 布施 昇男 教授 安田 純

論文内容要旨

【背景】 嚢胞性線維症(cystic fibrosis : CF)は欧米で高頻度に見られる常染色体劣性の疾患である。CFの原因遺伝子である *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) は第7染色体(7q31)上に位置し、約250kb、27エクソンからなる大きな遺伝子であり、これまでに1,900種類以上の遺伝子異常が知られている。1998年にはじめて *CFTR* 遺伝子異常と慢性膵炎との関連が報告された。本邦では、これまでに *PRSSI* 遺伝子(encoding cationic trypsinogen) や *SPINK1* 遺伝子(encoding pancreatic secretory trypsin inhibitor)と膵炎との関連が報告されたが、*CFTR* 遺伝子と膵炎との関連は明らかになっていない。

【目的】 本邦の膵炎患者において *CFTR* 遺伝子異常との関連の有無を明らかにする。

【方法】 当科にて診断し、インフォームドコンセントを得た膵炎患者578例(慢性膵炎286例、急性膵炎232例、自己免疫性膵炎60例)および健常人440例を対象として解析を行った。*CFTR* 遺伝子異常は p.Q1352H、p.R1453W、*5T*、p.M470V、p.L1156F、p.I556V について解析した。*5T*は特異的な TaqMan プローブとプライマーを作成し、real-time PCRにより解析した。慢性膵炎患者37例について次世代シーケンサーにより *CFTR* 遺伝子の全エクソン領域の解析を行った。また汗試験により *CFTR* 遺伝子異常と汗中 Cl⁻濃度との関連性について検討した。

【結果】 p.Q1352H は健常者の4.8% (21/440) に同定され、慢性膵炎では7.3% (21/286)、急性膵炎では6.0% (14/232)、自己免疫性膵炎では5.0% (3/60) であった。p.R1453W では健常者3.6% (16/440)、慢性膵炎の6.6% (19/286)、急性膵炎の3.4% (8/232)、自己免疫性膵炎の3.3% (2/60) に同定され、成因別では非アルコール性慢性膵炎の7.7%に認められ健常者と比べて有意に高頻度であった (p=0.03)。*5T*は慢性膵炎、急性膵炎、自己免疫性膵炎のいずれの患者群でも有意差を認めなかった。p.Q1352H もしくは p.R1453W のいずれかを有する頻度は健常者で8.4%であるのに対し、慢性膵炎群で13.6%と有意に高く (p=0.03)、特に非アルコール性慢性膵炎群で16.4%と高頻度であった (p=0.008)。次世代シーケンサーにより *CFTR* 遺伝子の全エクソン領域を解析した結果、p.M470V、p.I556V、p.L1156F、p.Q1352H、p.R1453W の5つのミスセンス遺伝子異常を同定した。CF-causing 遺伝子異常は認めず、p.M470V、p.I556V、p.L1156F の各 Genotype は患者群と健常群で有意差を認めなかった。汗中 Cl⁻濃度は患者群と健常群でそれぞれ平均 29.2 ± 17.2 mEq/L、29.5 ± 15.0 mEq/L と有意

(書式12)

差を認めなかった。p.Q1352H 保有者や p.R1453W 保有者の汗中 Cl^- 濃度はそれぞれ平均 $18.5 \pm 6.1 \text{ mEq/L}$ 、 $37.1 \pm 9.8 \text{ mEq/L}$ であり、非保有者と有意差を認めなかった。

【結論】 *CFTR* 遺伝子異常の p.Q1352H、p.R1453W が慢性膵炎と関連していたが、急性膵炎や自己免疫性膵炎との関連は認めなかった。この研究により本邦の慢性膵炎患者における遺伝子的背景のひとつとして *CFTR* 遺伝子異常の関与が明らかとなった。

審査結果の要旨

博士論文題目 本邦膵炎患者における *CFTR* 遺伝子異常の検討.....

所属専攻・分野名 医科学専攻 消化器病態学分野.....

氏名 有賀 啓之.....

【背景】*CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) は嚢胞性線維症(cystic fibrosis : CF)の原因遺伝子で、これまでに 1,900 種類以上の遺伝子異常が知られている。1998 年にはじめて *CFTR* 遺伝子異常と慢性膵炎との関連が報告された。本邦では、これまでに *PRSS1* 遺伝子(encoding cationic trypsinogen) や *SPINK1* 遺伝子(encoding pancreatic secretory trypsin inhibitor)と膵炎との関連が報告されたが、*CFTR* 遺伝子と膵炎との関連は明らかになっていない。

【目的】本邦の膵炎患者において *CFTR* 遺伝子異常との関連の有無を明らかにする。

【方法】当科にて診断し、インフォームドコンセントを得た膵炎患者 578 例(慢性膵炎 286 例、急性膵炎 232 例、自己免疫性膵炎 60 例) および健常人 440 例を対象として解析を行った。*CFTR* 遺伝子は p.Q1352H、p.R1453W、*5T*、p.M470V、p.L1156F、p.I556V について PCR - RFLP で解析した。*5T*は TaqMan プローブを用いて SNP genotyping で解析した。慢性膵炎患者 37 例について次世代シーケンサーにより *CFTR* 遺伝子の全エクソン領域の解析を行った。また汗試験により *CFTR* 遺伝子異常と汗中 Cl^- 濃度との関連性について検討した。

【結果】p.Q1352H は健常者の 4.8 %に同定され、慢性膵炎では 7.3 %、急性膵炎では 6.0 %、自己免疫性膵炎では 5.0 %であった。p.R1453W では健常者 3.6 %、慢性膵炎の 6.6 %、急性膵炎の 3.4 %、自己免疫性膵炎の 3.3 %に同定され、成因別では非アルコール性慢性膵炎の 7.7 %に認められ健常者と比べて有意に高頻度であった ($p=0.03$)。 *5T*は慢性膵炎、急性膵炎、自己免疫性膵炎のいずれの患者群でも有意差を認めなかった。p.Q1352H もしくは p.R1453W のいずれかを有する頻度は健常者で 8.4%であるのに対し、慢性膵炎群で 13.6 %と有意に高く ($p=0.03$)、特に非アルコール性慢性膵炎群で 16.4 %と高頻度であった ($p=0.008$)。次世代シーケンサーにより *CFTR* 遺伝子の全エクソン領域を解析した結果、p.M470V、p.I556V、p.L1156F、p.Q1352H、p.R1453W の 5つのミスセンス遺伝子異常を同定した。CF-causing 遺伝子異常は認めず、p.M470V、p.I556V、p.L1156F の各 Genotype は患者群と健常群で有意差を認めなかった。

汗中 Cl^- 濃度は患者群と健常群でそれぞれ平均 29.2 ± 17.2 mEq/L、 29.5 ± 15.0 mEq/L と有意差を認めなかった。p.Q1352H 保有者や p.R1453W 保有者の汗中 Cl^- 濃度はそれぞれ平均 18.5 ± 6.1 mEq/L、 37.1 ± 9.8 mEq/L であり、非保有者と有意差を認めなかった。

【結論】*CFTR* 遺伝子異常の p.Q1352H、p.R1453W が慢性膵炎と関連していた。この研究により本邦の慢性膵炎患者における遺伝子的背景のひとつとして *CFTR* 遺伝子異常の関与が明らかとなった。

第一次審査において指摘された不備が、適切に修正されており、審査の結果、本論文内容が十分学位に値することが確認された。