

氏名(本籍)	ひ 上 光 輝 (兵庫 県)			
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	博 甲 第 5845 号			
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of <i>SPI1</i> with systemic lupus erythematosus (<i>SPI1</i> 遺伝子 3' 非翻訳領域の機能的多型と全身性エリテマトーデスの関連)			
主査	筑波大学教授	博士(医学)	檜 澤 伸 之	
副査	筑波大学講師	博士(農学)	藤 栄 治	
副査	筑波大学助教	博士(薬学)	船 越 祐 司	
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	野 口 恵美子	

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus: SLE) は全身性自己免疫疾患であり、複数の遺伝・環境素因によって引き起こされる多因子疾患である。SLE の病態形成に I 型インターフェロンパスウェイが重要であると考えられていることから、本研究は、I 型インターフェロンパスウェイを候補パスウェイとして、新たな疾患感受性遺伝子を見いだすことを目的とした。

(対象と方法)

GoldenGate アッセイ (Illumina) を用い、インターフェロン関連 55 遺伝子に存在する 384 個の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) を搭載したカスタムアレイを作製し、日本人 SLE 患者 104 名、日本人対照健常者 102 名について遺伝子型タイピングを施行し、関連のスクリーニングを行った。

SPI1 遺伝子の関連解析は、日本人 SLE 患者 400 名、日本人対照健常者 450 名について、タグ SNP 6 ヶ所と、*SPI1* 遺伝子上流 17 kb に存在し、急性骨髄性白血病との関連が報告されている SNP 1 ヶ所のタイピングを、TaqMan 法あるいはダイレクトシーケンス法により施行した。また、*SPI1* 遺伝子の全エクソンおよび発現調節領域について、患者 15 検体、健常者 16 検体のリシーケンシングによる機能的多型の探索を行った。

SLE との関連が検出された 3' 非翻訳領域 (untranslated region, UTR) に位置する SNP rs1057233 遺伝子型と *SPI* 遺伝子発現との関連を、GENEVAR データベース (<http://www.sanger.ac.uk/humgen/genevar/>) を用いて解析するとともに、*SPI* 遺伝子の 3'UTR を luciferase 遺伝子の 3'UTR に挿入したレポーターアッセイを用いて確認した。

マイクロ RNA 結合部位の検索は TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) を用いて行い、miR-569 が遺伝子発現におよぼす影響を、レポーターベクターと miR-569 の同時導入により検討した。

(結果)

一次スクリーニングの結果、*SPI* 遺伝子のイントロン 2 に位置する SNP rs4752829 に有意な関連が検出さ

れた。そこで、SPI 遺伝子を候補遺伝子と考え、7 個所の SNP について関連研究を施行したところ、イントロン 2 に存在する SNP rs10769258 と rs4752829 について、SLE との有意な関連が認められた (オッズ比 [OR] 1.79, 95% 信頼区間 [CI] 1.19-2.70、P=0.005 および OR 1.49, 95%CI 1.11-2.01、P=0.008、優性モデル)。リシーケンシングにより、これらの多型と強い連鎖不平衡にある 3'UTR 多型 rs1057233 が検出された。

GENEVAR データベースを用いた解析では、rs1057233 リスクアリル T と SPI1 遺伝子の発現に相関が認められた (P=0.0002)。また、レポーターアッセイによって、rs1057233 多型と遺伝子発現の相関が確認された。マイクロ RNA である miR-569 の結合部位が、rs1057233 によって変化することが見出された。さらに、SPI1 3'UTR 配列を含むレポーターベクターと miR-569 との同時導入により、mi-569 が rs1057233 非リスクアリルを含むレポーターベクターの発現を抑制する一方、リスクアリルの発現は抑制しないことが明らかとなった。

(考察)

本研究により、SPI1 発現量の増加と関連する 3'UTR SNP rs1057233T が、SLE の疾患感受性と関連することが初めて見出された。この SNP が SPI1 発現に影響する分子機構として、リスクアリルにおける miR-569 結合部位の消失が一つの可能性と考えられた。近年、同じ Ets ファミリーに属する ETS1 多型と SLE との関連が報告されており、本研究結果と考え合わせると、SLE の病因における重要な因子として、Ets ファミリーに注目する必要があると考えられた。

SPI1 は造血細胞の分化に影響するため、SPI1 の発現亢進により、造血細胞のプロファイルが変化すること、また、SPI1 は転写因子であることから、この多型により、ミエロイド系細胞・B 細胞における遺伝子発現プロファイルが変化することなどが考えられた。また、SPI1 は IRF と相互作用することから、インターフェロンシグナルの変化による関与も考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は SPI1 遺伝子を有力な SLE 感受性遺伝子と考え、SLE との関連を詳細に解析したものである。SPI1 遺伝子 3' 非翻訳領域に存在する SNP rs1057233 が、SPI1 遺伝子の発現と相関し、日本人集団において SLE 感受性と関連することを明らかにした。今後、他集団で結果の追認、機能的な解析などを介して、SLE の発症メカニズムの解明に向けた知見に発展することが期待される。

著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。