

[236]

氏 名（本籍）	<div><div><div>むら</div><div>き</div><div>よし</div><div>ふみ</div></div><div>村 木 祥 文（山 口 県）</div></div>		
学 位 の 種 類	博 士（医 学）		
学 位 記 番 号	博 甲 第 3783 号		
学位授与年月日	平成 17 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	<div><div>Polymorphisms of IL-1β Gene in Japanese Patients with Sjögren's Syndrome and Systemic Lupus Erythematosus</div><div>(日本人シェーグレン症候群患者と全身性エリテマトーデス患者における IL-1β 遺伝子の多型)</div></div>		
主 査	筑波大学教授	医学博士	二 宮 治 彦
副 査	筑波大学教授	医学博士	有 波 忠 雄
副 査	筑波大学教授	医学博士	川 上 康
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	大根田 絹 子

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

インターロイキン（IL）-1 β は、様々な免疫応答に関与している炎症性サイトカインである。その遺伝子は、染色体 2q 13-21 上に位置し、7つのエクソンを含み、プロモーター領域の -511 と -31、エクソン 4 上の 3263、イントロン 4 上の 3877 及びエクソン 5 上の 3953 の 5 箇所の一塩基多型が報告されている。それらの多くは IL-1 β 産生への関与が指摘され、自己免疫疾患では、関節リウマチ（RA）、多発性硬化症（MS）および全身性エリテマトーデス（SLE）について報告がある。

シェーグレン症候群（SS）は、外分泌腺の破壊を伴う炎症を特徴とする自己免疫疾患である。唾液腺の破壊に IL-1 β や TNF- α の関与が、さらに乾燥性角結膜炎には IL-1 β の関与が指摘されている。

本研究は、SS の疾患感受性と IL-1 β 遺伝子多型の関係を調べるために、PCR-RFLP により多型を解析し、SS 患者、SLE 患者および健常人（HC）の遺伝子型頻度を比較し、それら多型と SS および SLE の表現型（症状）との関係を検討した。

（対象と方法）

SS 患者、SLE 患者及び健常人

SS 患者:101 名、SLE 患者:103 名、HC:106 名を対象として、末梢血を採取し genomic DNA を調製した。SS 患者は、原発性 SS（pSS）43 名、二次性 SS（sSS）58 名であった。SLE 患者 103 名には sSS は含まれなかった。

IL-1 β 遺伝子多型タイピング

Genomic DNA を鋳型とした PCR-RFLP 法による 5 箇所の多型解析を実施し、遺伝子型を決定した。各多型における対象間の遺伝子型頻度を比較検討した。

血清中 IL-1 β 濃度

各対象の血清中 IL-1 β 濃度を、ELISA 法により測定した。

統計解析

各多型における対象間の遺伝子型頻度の比較は χ^2 検定により、各多型の遺伝子型と臨床症状等の疾患特異性の関係は分散分析あるいは χ^2 検定を用いて解析した。連鎖不均衡解析を実施した。

(結果)

RFLP 解析

3263 以外、全ての遺伝子型を確認することができた。

IL-1 β 遺伝子型と SS と SLE の関係

SS における -511, -31 および 3877 の遺伝子型頻度に差が認められた

(-511CC/CT/TT : vs HC $p = 0.053$, vs SLE $p = 0.028$, -31 TT/TC/CC : vs SLE $p = 0.027$, 3877 AA/AG/GG : vs HC $p = 0.039$, vs SLE $p = 0.054$)。これらの差は、-511CC 保持率, -31TT 保持率, 3877AA 保持率とした場合明白である

(-511CC/CT+TT : vs HC $p = 0.029$, vs SLE $p = 0.014$, -31TT/TC+CC : vs HC $p = 0.111$, vs SLE $p = 0.041$, 3877AA/AG+GG : vs HC $p = 0.028$, vs SLE $p = 0.039$)。

これまでの報告と同様に、-511 と -31 における遺伝子型頻度は、ほぼ一致した。4 多型の連鎖不均衡解析の結果 D' 値 = 0.622 ~ 1.000 であり、それら多型は連鎖不均衡であることが示され、独立していないことが認められた。

IL-1 β 遺伝子型と血清中 IL-1 β 濃度

多くの検体で検出限界以下のため十分な検討ができなかった。

IL-1 β 遺伝子型と SS および SLE の疾患特異性の関係

SS 患者の -511 CC 保持者および -31 TT 保持者に抗 SSA 抗体陽性者が多い傾向が示された ($p = 0.040$ および 0.025)。SS および SLE の特徴的な他の症状や発症時年齢と遺伝子型の関係は認められなかった。

(考察)

3 箇所 (-511, -31, 3877) の遺伝子型頻度あるいはその偏りが、SS と健常人あるいは SLE 間で有意に異なることを示した。そのうち 2 箇所 (-511, -31) は、プロモーター領域に位置することより、それら多型が IL-1 β 遺伝子発現や IL-1 β 産生へ影響を与えることが想定される。イントロン 4 上にある 3877 の多型も、将来 IL-1 β 遺伝子のマーカーになる可能性も考えられる。

本研究の結果、SS の病態に IL-1 β が関与していると報告されていることと考え合わせれば、これらの多型が SS の発症・病因と直接的あるいは間接的に影響を与えることも予想され、SS における IL-1 β の役割に関する将来の研究において意味があると思われる。

IL-1 β 産生と多型の関係を明確にするには多数の未治療患者より血清を採取しその濃度を測定するかプロモーターアッセイのような *in vitro* の研究が必要である。

SS において、-511CC 保持者および -31TT 保持者に抗 SSA 抗体陽性者が多い傾向が示されたことに関して、現時点で IL-1 β と抗 SSA 抗体産生における直接の関係を示すことはできないが、自己抗体産生の複雑な過程で何らかの関与が認められるかもしれない。

(結論)

IL-1 β 遺伝子の 3 箇所の遺伝子多型における SS 患者の遺伝子型分布が、健常人、SLE 患者と比べて有意に

異なることを示した。これらは、IL-1 β 遺伝子多型さらに IL-1 β の機能が SS の発病と病因・病態に関与していることを示唆する。一方 SLE 患者においては、遺伝子多型分布は HC と同様であり、SLE の発症に関して、これら IL-1 β 遺伝子多型分布の傾向は、関係が少ないことが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

- 1) 本研究で明らかとなったシェーグレン症候群患者における IL-1 β 遺伝子 SNPs とシェーグレン症候群の病態との関連性は明らかにされていない。IL-1 β が炎症性サイトカインとしてシェーグレン症候群においても病態に直接あるいは間接的に関与する可能性はこれまでも示唆されてきており、今後 IL-1 β 遺伝子 SNPs とシェーグレン症候群の病態との関連を明らかにする研究への発展が望まれる。
- 2) シェーグレン症候群患者の病態との関連性では SS-A 抗体陽性との関連性のみが明らかとなっているが、シェーグレン症候群の病態をより詳細に検討し本研究の成果との関連を解析することが望まれる。
- 3) IL-1 β 遺伝子のプロモーター領域と SNPs との関連を本研究では調査していないが、本研究で明らかとなった SNPs (-511, -31) には既報において記述がなかったとしている。-31 が TATABox に該当するが、シェーグレン症候群患者には T 保持者は少なく、IL-1 β の発現との関連性は明らかに出来なかった。
- 4) シェーグレン症候群患者の遺伝子多型分布で、ヘテロが多く、ハーディー・ワインベルグの法則に合致していない。しかしながら、本研究における遺伝子多型の解析方法に問題があるとは思われなかった。よって、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。