

氏 名 (本籍)

^{すず}鈴
^き木
^{たけし}豪 (茨 城 県)

学 位 の 種 類

博 士 (医 学)

学 位 記 番 号

博 甲 第 5461 号

学位授与年月日

平成 22 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

**Tristetraprolin (TTP) gene polymorphisms in patients with
rheumatoid arthritis and healthy individuals**
(関節リウマチ患者と健常人におけるトリステトラプロリン遺伝子多型)

主 査

筑波大学教授

博士 (医学)

土 屋 尚 之

副 査

筑波大学准教授

博士 (医学)

石 井 朝 夫

副 査

筑波大学講師

博士 (医学)

小 原 直

副 査

筑波大学講師

博士 (医学)

古 田 淳 一

副 査

筑波大学講師

博士 (医学)

森 島 祐 子

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

Tristetraprolin (TTP, *ZFP36*) は $\text{TNF}\alpha$ などの mRNA の 3' 非翻訳領域に存在する AU-rich element (ARE) に結合し、その分解を促進することにより $\text{TNF}\alpha$ 産生を調節する細胞内蛋白である。 $\text{TNF}\alpha$ 自体も TTP の発現を誘導し、 $\text{TNF}\alpha$ 過剰産生を抑制するフィードバック機構を形成している。 TTP ノックアウトマウスは生後 1 週から 8 週で発育不全、重度の破壊性関節炎、結膜炎、皮膚炎、脾腫、リンパ節腫脹、骨髓過形成をきたすことが示されている。これらの病態は抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体の投与により抑制されることから、 $\text{TNF}\alpha$ 過剰産生が原因であると考えられる。申請者の所属研究室の先行研究により、これまでに、関節リウマチ (RA) 患者滑膜では、変形性関節症 (OA) 患者と比較して、 TTP 遺伝子発現が有意に高いこと、 CRP が上昇している患者では滑膜組織における TTP/ $\text{TNF}\alpha$ 遺伝子発現の比が低い傾向があることが示され、 RA の疾患活動性と TTP 遺伝子発現との関連の可能性が示唆されている。本研究において、申請者は、ヒト TTP 遺伝子多型と RA の疾患感受性、臨床的活動性との関連を検討するとともに、多型による機能的変化について検討を加えた。

(対象と方法)

申請者は、 RA 患者 20 名、健常対照者 10 名の TTP 遺伝子全長をシーケンスし、プロモーター領域に検出された 2 つの一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) のうち、頻度が多くみられた SNP359 (A/G) (転写開始位置から 194bp 上流) に関して、 RA 患者 155 名、健常対照者 100 名において PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 法を用いて遺伝子型を決定し、疾患感受性との関連を検討した。臨床的活動性との関連に関しては、対象とした患者において経過中の最大 C-reactive protein (CRPmax)、最大赤血球沈降速度 (ESRmax)、最大リウマトイド因子 (RFmax)、最大 IgG (IgGmax) を用い、骨破壊との関連は、レントゲン上の Steinbrocker 分類を用いて検討した。申請者らはさらに、 TNF 阻害薬であるインフリキシマブの使用の有無と SNP359 との関連を検討した。さらに申請者は、 SNP359 によるプロモーター活性への影

響を、PGL3-basic をルシフェラーゼベクターとして HEK293T 細胞とヒト RA 滑膜由来細胞株である MH7A 細胞に遺伝子導入を行い、ルシフェラーゼアッセイにて解析している。

(結果)

1. RA の疾患感受性との関連

アリル A の頻度は RA 患者 (74.5%) と健常人 (76.0%) において統計学的有意差が認められず、RA の疾患感受性との関連は検出されなかった。

2. RA の臨床的活動性との関連

遺伝子型 GG では発症年齢が若く、CRPmax、ESRmax、RFmax が高い傾向にあったが、統計学的有意差は認められなかった。IgGmax に関しては SNP359 と関連が認められなかった。Steinbrocker 分類と SNP359 に関連は認められなかったが、stage 4 の患者における罹病期間が、遺伝子型 GG において (11.4 ± 7.2 年)、遺伝子型 AG および AA と比較して (20.4 ± 8.9 年)、有意に短かった ($p = 0.03$, Student's t-test)。

さらに、RA 患者中遺伝子型 GG である 9 名中 4 名がインフリキシマブ投与を受けており、AG および AA である 146 名中 20 名と比較して有意に高頻度であった ($p = 0.03$, Fisher's exact test)。

3. プロモーター活性に与える影響

ルシフェラーゼアッセイを用いたプロモーター活性の検討では、アリル A ではアリル G と比較して約 1.5 ～ 2 倍プロモーター活性が高かった。

(考察)

申請者らが本研究においてヒト TTP 遺伝子 (*ZFP36*) に見いだした SNP359 は、本研究のサンプルサイズでは、RA 発症との関連は検出されなかったものの、Steinbrocker 分類 stage 4 の患者群において、遺伝子型 GG を有するものは、それ以外の遺伝子型を有するものと比較して、有意に罹病期間が短かった。また、遺伝子型 GG の患者群では、TNF 阻害薬であるインフリキシマブの使用頻度が高かった。これらの知見から、申請者らは、遺伝子型 GG は、RA の重症度と関連する可能性があると考えしている。申請者らはさらに、プロモーター活性の検討により、G アリルはプロモーター活性が低いことを示している。以上の知見を総合し、申請者は、GG 遺伝子型保有者では、TTP 発現量の低下により、TNF α 過剰による炎症状態が重症化しやすくなるのではないかと考察している。また、TTP は TNF α のみならず、GM-CSF、COX-2 産生も調節しているため、これらの分子も SNP359 GG 遺伝子型保有者における炎症性病態を悪化に関与している可能性を指摘している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、本研究において、TNF α 制御分子である TTP のプロモーター領域における SNP と日本人集団における RA の重症度との関連を示唆する知見を示すとともに、当該 SNP がプロモーター活性に与える影響を実験的に示している。これらは新たな知見であり、今後、RA による骨破壊を抑制する新規治療法の分子標的や、RA の臨床経過予測のためのバイオマーカーを開発する上で基礎になる、意義深い知見であると考えられる。

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。