

氏名(本籍)	えの もと ひさ こ (千葉県) 榎本久子(千葉県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4789 号		
学位授与年月日	平成 20 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	アトピー性皮膚炎疾患感受性遺伝子の探求		
主 査	筑波大学教授	博士(医学)	檜 澤 伸 之
副 査	筑波大学教授	医学博士	高 橋 智
副 査	筑波大学准教授	医学博士	柳 久 子
副 査	筑波大学准教授	博士(医学)	竹 田 一 則

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

アトピー性皮膚炎は、慢性的に痒みを伴う皮膚の炎症性疾患である。皮膚の乾燥、アレルギーの起こりやすさなどのアトピー素因に環境因子などの様々な要因が複雑に絡み合って発症する多因子疾患であるが、いまだその明確な原因は解明されていない。アトピー性皮膚炎の遺伝的要因を解明することは、その体質を知ることにつながり、それがより本質的な病態生理の解明にもつながり、さらにアトピー性皮膚炎のより根本的な治療・予防方法の開発にも役立つと考えられる。

アトピー性皮膚炎の双生児研究や家族集積性から遺伝的要因が関与することが知られている。その遺伝様式は単純なメンデル遺伝ではなく、環境・遺伝の双方が発症に関与すると考えられ、一般的に多因子遺伝性疾患の感受性遺伝子は複数あると考えられる。遺伝学的に疾患感受性遺伝子を探求する方法は大きく分けて2つある。一つは家系を用いる連鎖解析で、もう一つは、候補遺伝子による関連解析である。本研究においては、それぞれの方法を用いて、アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子の同定を行った。

これまでに尋常性魚鱗癬の感受性遺伝子として同定された遺伝子の一つに *filaggrin (FLG)* がある。尋常性魚鱗癬は皮膚の高度な乾燥を特徴とする疾患で、高頻度にアトピー性皮膚炎を合併する。*FLG* にはいくつかのナンセンス変異が報告されており、尋常性魚鱗癬やアトピー性皮膚炎と関連することが複数の研究において報告されている。

(対象と方法)

はじめに、日本人アトピー性皮膚炎罹患同胞対家系 77 家系 (289 人, 111 罹患同胞対) を用いた全ゲノム連鎖解析を行った。各家系の構成員の、全ゲノムに均等に配置された 5861 個一塩基置換多型 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) の遺伝子型を Illumina 社の Golden Gate Assay 法により決定した。次に、これらの候補領域に存在する遺伝子について 384 個の tag SNP を選定し、Golden Gate Assay によりアトピー性皮膚炎 105 家系 381 人の遺伝子型決定を行い、伝達不平衡検定による関連解析を行った (二次解析)。さらに 7 遺伝子に存在する 11SNP が二次解析でアトピー性皮膚炎との関連が認められたため、独立した症例対照 (症例 374 人, 対照 744 人) による関連解析を行った (三次解析)。

アトピー性皮膚炎候補遺伝子解析として上記の日本人アトピー性皮膚炎家系、患者とコントロールサンプルを用いて、ナンセンス変異を含む8つの *FLG* の SNP とアトピー性皮膚炎との関連を検討した。

(結果)

全ゲノム連鎖解析の結果, suggestive linkage の領域として 15q21 (LOD = 2.01, NPL = 2.87, $P = .0012$) と, weak linkage の領域として 1q24 (LOD = 1.26, NPL = 2.44, $P = .008$) を検出した。二次解析, 三次解析の結果, アトピー性皮膚炎症例全体では統計学的に有意な水準に達する SNP は認めなかったものの, IgE 値 250IU/L 以上の症例に限った場合に Mothers against decapentaplegic homolog of 3 (*SMAD3*) 遺伝子上の SNP (rs4147358) とアトピー性皮膚炎との有意な関連が認められた ($P < 0.05$)。また伝達不平衡テスト (二次解析) にて, *SORCS3* における3つの SNP (rs7895087, rs10509784, rs11192320) とアトピー性皮膚炎との関連が認められた。

FLG 遺伝子の検討では, 白人特有の R501X と 2282de1A は日本人アトピー性皮膚炎患者 96 人には認められなかった。アジア人のナンセンス変異である S2554X と 3321de1A の解析では, アトピー性皮膚炎患者の約 5% が S2554X のナンセンスアレルを持つのにに対し, コントロールの頻度は 1% であった ($P = 1.2 \times 10^{-4}$)。3321de1A は, アトピー性皮膚炎患者の 3%, アトピー性皮膚炎のみの患者の中では 4% で認められたが, 多型の頻度が低く有意差は認められなかった ($P > 0.05$)。しかし, 表現型を IgE 250IU/L 以上のアトピー性皮膚炎に限局すると関連が認められた ($P = 0.021$)。またその関連は IgE1000IU/L 以上とするとさらに強い関連が認められた ($P = 0.0036$)。S2554X と 3321de1A の少なくともどちらかを持つキャリアの割合はアトピー性皮膚炎, IgE250IU/ml 以上のアトピー性皮膚炎患者ではコントロールよりも有意に高かった。*FLG* ナンセンスキャリアとの最も強い関連は, アトピー性皮膚炎のみの表現型との間に認められた (67 人中 7 人, キャリア頻度 9%, $P = 4.2 \times 10^{-5}$)。S2554X と 3321de1A のほかに解析したミスセンス, イントロン変異と疾患発症との関連は認められなかった。

(考察)

本研究の結果から, 日本人において IgE 上昇を伴うアトピー性皮膚炎の感受性遺伝子 *SMAD3* が同定された。また日本の他施設において全ゲノム解析で有意な結果が報告されている *SORCS3* の結果を追認した。さらに *FLG* のアジア人特有の変異 S2554X と 3321de1A が, やはり IgE 上昇を伴うアトピー性皮膚炎発症と関連していることを追認したアトピー性皮膚炎患者が増加している現在, アトピー性皮膚炎の病態をさらに解明すること, それらを予防・治療につなげていくことが重要である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

12月20日に行われた学位審査では, まずアトピー性皮膚炎一般論, アトピー性皮膚炎の遺伝学的背景が説明され, 次に本研究の内容として, はじめに全ゲノム解析による疾患感受性遺伝子の同定, 続いてアトピー性皮膚炎候補遺伝子研究 (フィラグリン遺伝子関連解析) の結果と考察が発表された。全ゲノム解析の結果から Suggestive linkage である 15q21 に位置する *SMAD3* が IgE 上昇を伴うアトピー性皮膚炎の病態に遺伝的な影響を与えていることが推測された。また日本の他施設において全ゲノム解析で有意な結果が報告されている *SORCS3* の結果が追認された。次にフィラグリン遺伝子とアトピー性皮膚炎の関連解析の結果が示された。*FLG* ナンセンスキャリアとの最も強い関連は, アトピー性皮膚炎のみの表現型との間に認められた (67 人中 7 人, キャリア頻度 9%, $P = 4.2 \times 10^{-5}$)。アジア人特有の変異 S2554X と 3321de1A が, 日本人アトピー性皮膚炎発症と関連していることが追認された。

以上の発表について, 主査副査より質問があった。IgE 値による臨床症状の違い, IgE 上昇例に有意であった *SMAD3* のアトピー性皮膚炎の病態におけるメカニズム, フィラグリン遺伝子の変異と IgE 値や臨床症状

との関連、患者を年齢や症状別に層別化したうえでの解析の必要性、アトピー性皮膚炎患者の増加の原因について、遺伝子型決定法である Golden Gate assay の仕組みについて、IgE 値を 250IU/L や 1000IU/L で層別化する意味、SMAD3 のイントロンに存在する SNP が有意である解釈、フィラグリン遺伝子に変異が多い理由、本研究の臨床的意義、今後の計画、誤字脱字などの質問及び指摘がなされた。発表者はこれらの質問や指摘におおむね妥当に回答した。またこれら議論を踏まえて学位論文の修正が適正に行われた。

本研究は日本人（アジア人）サンプルを用いた初めてのアトピー性皮膚炎全ゲノム解析による疾患感受性遺伝子の研究である。IgE 上昇を伴うアトピー性皮膚炎の候補として挙げられた *SMAD3* 遺伝子の関連性を追認する研究はこれからの課題であり、疾患感受性遺伝子研究としては中途の段階である。さらにデータを収集し関連性を明らかにする必要がある。本研究においてフィラグリン遺伝子の変異がアトピー性皮膚炎発症と関連することが示され、今後は乳幼児を対象とした変異検索により、皮膚の性状と変異の関連、アトピー性皮膚炎発症リスクの検索、さらにスキンケア指導などの介入による予防効果の検討などの計画が示された。今後はこれらの研究成果と臨床症状や治療・予防方法との関連をさらに明らかにすることが期待される。

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。