

学位論文題名

Sequence variants of the SPP1 gene are associated with total serum IgE levels in a Japanese population

(日本人における SPP1 遺伝子多型と血清総 IgE 値との関係)

学位論文内容の要旨

【背景】これまでの多くの遺伝解析の結果から、アレルギー性疾患を含む種々の免疫炎症性疾患の感受性遺伝子は特定の染色体領域にクラスターを形成して存在していることが明らかとなってきた。共通の遺伝子群が異なる免疫炎症性疾患の病態に遺伝的な影響を与えている可能性があり、生体の包括的な免疫反応や炎症のネットワークを調節する遺伝子群がアレルギー疾患の病因、病態においても中心的な役割を果たしている可能性がある。SPP1 (osteopontin, early T lymphocyte activation protein 1, bone sialoprotein I) は活性化 T 細胞、マクロファージなどにより産生されるリン酸化糖蛋白で、マクロファージの遊走、活性化による Th1 免疫反応の誘導、B 細胞の活性化、アポトーシスなど幅広く生体の免疫、炎症反応に関与している。SPP1 遺伝子は 4 番染色体長腕に存在し、近年その遺伝子多型と多発性硬化症、SLE、C 型肝炎など、いくつかの免疫炎症性疾患との関連が報告された。さらには SPP1 遺伝子多型の特定のハプロタイプと SPP1 産生亢進や自己免疫性リンパ増殖性疾患の進行との関連を認めた報告もある。

これらの事実をもとに、我々は SPP1 遺伝子がアレルギー性疾患の発症や病態においても重要な役割を果たしている可能性があると考えた。最近、今野らは蜂毒の免疫療法において SPP1 がその効果発現の重要な生物学的マーカーであることを報告し、SPP1 の Th1 誘導活性がアレルギー反応を修飾する可能性があることを報告した。しかし喘息や IgE 反応性などのアレルギー形質における SPP1 遺伝子多型の意義を検討した報告は未だ存在しない。

【目的】日本人において SPP1 遺伝子多型と血清総 IgE 値、アトピー及び喘息との遺伝的関連解析を行い、SPP1 遺伝子のアレルギー形質における意義を検討する。

【方法】対象は札幌市及び近郊在住の非血縁成人 611 人。当科において気管支喘息と診断された 268 人の喘息患者を含む。喘息の診断は咳、喘鳴、呼吸困難等のうち反復する症状を 2 つ以上持ち、かつ気道可逆性または気道過敏性のあるものとした。健常対象群 343 人は、喘息を含む慢性呼吸器疾患の既往歴のない群とした。全対象者において血清総 IgE 値及び 10 種類の吸入抗原に対する特異的 IgE 値を測定した。アトピーの定義は、1 つ以上の吸入抗原に対する特異的 IgE 値が陽性的場合と定義した。特異的 IgE 値は、IgE CAP RAST 法で 0.35UA/ml 以上、または MAST 法で 1.0 lumicont 以上の場合に陽性とした。これまでに日本人では SPP1 遺伝子プロモーター領域に 4 ヶ所、エクソン領域に 3 ヶ所、イントロン領域に 10 ヶ所の遺伝子多型が報告されているが、今回はこれまでに免疫炎症性疾患と遺伝的な関連の報告が認められる 3 つのプロモーター領域及び 2 つのエクソン領域の多型について検

討した (-1687A/G; -381T/C; -94deletion/G; 5891C/T; 7052T/C)。遺伝子型はそれぞれの対立遺伝子に特異的なプライマーを用いた PCR(Allele-specific PCR)によって同定した。

【結果】

喘息の有無によらずアトピー群は非アトピー群に比べ血清総IgE値が高かった。またアトピーの有無によらず喘息患者では非喘息健康人に比べ血清総IgE値が高かった。いずれのSPP1遺伝子多型も喘息及びアトピーの有無とは関連が認められなかった。本研究は、611人の対象者からなり、ある特定の遺伝子型の疾患発症の相対危険度が1.7以上である場合に、統計学的に $p=0.05$ の有意水準において80%以上の検出力があると推定された。従って本研究ではSPP1遺伝子の影響が喘息やアトピーに対してこれより小さい場合には、その影響を検出できなかった可能性がある。一方、健康対照群において、血清総IgE値はSNP5891C/T($P=0.009$, ANOVA)及びSNP7052T/C($p=0.001$)と有意な関連を認めた。特に遺伝子型5891T/T及び7052C/Cを有する者では、血清総IgE値が有意に高かった。遺伝子多型-1687A/G、-381T/C、-94deletion/Gでは血清総IgE値との関連は認められなかった。また喘息患者においてはいずれの多型においても血清総IgE値との関連は認められなかった。今回検討した5つの遺伝子多型から構成されるハプロタイプの検討では、健康群において-1687A/-381T/-94deletion/5891T/7052Cが総IgE値高値と関連する傾向にあった($p<0.1$)。また多変量解析にて性別、年齢、喫煙状況、アトピーの有無で補正した場合にも同様の結果が得られた。

【考案】

遺伝子多型を用いた疫学的研究は対象とする疾患の発症や病態における特定の遺伝子の意義を検討するために非常に有効な手段の一つである。今回の検討からは、SPP1遺伝子が多発性硬化症やSLE、C型肝炎、リンパ増殖性疾患等の免疫炎症性疾患に加えて、血清総IgE値とも関連することが推測された。特に興味深い結果は、多発性硬化症の発症と関連する遺伝子型(5891C/C)では血清総IgE値が低く、SLEの進行度に関係すると報告された遺伝子型(7052C/C)では血清総IgE値が高値であるという結果である。疫学的にはTh1病態が優位と考えられる多発性硬化症の患者では、アレルギー症状が少なく、喘息の発症が少ないことが報告されており、一方Th2病態が優位であるSLEでは、IgE産生の増加も報告されている。SPP1遺伝子多型が、Th1/Th2のバランスなどの免疫学的状態に促進的または抑制的に作用し、多発性硬化症、SLEなどの免疫炎症性疾患の発症や血清IgE値の多寡に影響している可能性が考えられた。

血清IgE産生には少なくとも2つの独立した遺伝的な制御機構が知られている。1つは抗原特異的なIgE産生で、もう1つは抗原非特異的なベースラインレベルでのIgEの産生である。今回SPP1遺伝子多型とIgEとの相関が、健康者のみ、さらには抗原特異的IgE反応(アトピー)とは独立して認められたことは、SPP1遺伝子が抗原特異的なIgE応答ではなく、IgEのベースラインレベルの調節に関与していることが推測される。今回、喘息患者群ではSPP1遺伝子多型と血清総IgE値との間には有意な関連は認められなかった。喘息患者ではアトピーの有無にかかわらず血清総IgE値が高値であり、喘息に特徴的な遺伝因子、環境因子によって惹き起こされるIgE産生の誘導は、SPP1遺伝子の影響を凌駕してしまう可能性も考えられる。

5891C/Tと7052T/Cの遺伝子多型はどちらもアミノ酸置換を伴っておらず、それ自体が遺伝子の機能に影響を与えているとは考えづらい。SPP1遺伝子のエクソン7にはアミノ酸置換を伴う多型も報告されているが、今回検討した日本人対象者においては、同部位には多型性は認められなかった。従ってSPP1遺伝子内またはその近傍に存在する未知の機能的な

多型が血清総 IgE 値の多寡に真の影響を与えている可能性も考えられた。

【結語】 SPP1 の遺伝子多型は抗原特異的な IgE 反応とは独立して、血清総 IgE 値のベースラインレベルの制御に影響を与えている可能性がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 上 出 利 光
副 査 教 授 佐々木 秀 直
副 査 教 授 西 村 正 治

学 位 論 文 題 名

Sequence variants of the SPP1 gene are associated with total serum IgE levels in a Japanese population

(日本人における SPP1 遺伝子多型と血清総 I g E 値との関係)

多くの遺伝解析の結果から、アレルギー性疾患を含む種々の免疫炎症性疾患の感受性遺伝子が特定の染色体領域にクラスターを形成して存在していることが明らかとなり、共通の遺伝子群が異なる免疫炎症性疾患の病態に遺伝的な影響を与えている可能性が想定されている。オステオポンチンとしても知られる SPP1 は活性化 T 細胞、マクロファージなどにより産生されるリン酸化糖蛋白で、マクロファージの遊走、活性化による Th1 免疫反応の誘導、B 細胞の活性化など幅広く生体の免疫、炎症反応に関与している。SPP1 遺伝子は 4 番染色体長腕に存在し、近年その遺伝子多型と多発性硬化症、SLE、.C 型肝炎など、免疫炎症性疾患との関連が報告された。さらに蜂毒の免疫療法において SPP1 がその効果発現の生物学的マーカーとして有用で、SPP1 の Th1 誘導活性がアレルギー反応を修飾する可能性が報告された。しかし喘息や IgE 反応性などのアレルギー形質における SPP1 遺伝子多型の意義を検討した報告は未だ存在しない。本研究は日本人において SPP1 遺伝子多型と血清総 IgE 値、アトピー及び喘息との遺伝的関連解析を行い、SPP1 遺伝子のアレルギー形質における意義を検討することを目的として行った。対象は札幌市及び近郊在住の、268 人の喘息患者を含む非血縁成人 611 人。喘息の診断は咳、喘鳴、呼吸困難等のうち反復する症状を 2 つ以上持ち、かつ気道可逆性または気道過敏性のあるものとした。健常対象群 343 人は、喘息を含む慢性呼吸器疾患の既往歴のない群。全対象者において血清総 IgE 値及び 10 種類の吸入抗原に対する特異的 IgE 抗体価を測定した。アトピーの定義は、1 つ以上の吸入抗原に対する特異的 IgE 抗体価が陽性の場合と定義した。これまでに免疫炎症性疾患との遺伝的な関連が報告された 3 つのプロモーター領域及び 2 つのエクソン領域の多型について検討した (-1687A/G; -381T/C; -94deletion/G; 5891C/T; 7052T/C)。遺伝子型はそれぞれの対立遺伝子に特異

的なプライマーを用いた PCR によって同定した。いずれの SPP1 遺伝子多型も喘息及びアトピーの有無とは関連が認められなかった。一方、健常対照群において、血清総 IgE 値は SNP5891C/T 及び SNP7052T/C と有意な関連を認めた。特に遺伝子型 5891T/T 及び 7052C/C を有する者では、血清総 IgE 値が有意に高かった。また喘息患者においてはいずれの多型においても血清総 IgE 値との関連は認められなかった。5 つの遺伝子多型から構成されるハプロタイプの検討では、健常群で -1687A/-381T/-94deletion/5891T/7052C が総 IgE 値高値と関連する傾向にあった。

遺伝子多型を用いた疫学的研究は対象とする疾患の発症や病態における特定の遺伝子の意義を検討するために非常に有効な手段の一つである。今回の検討からは、SPP1 遺伝子が多発性硬化症や SLE、C 型肝炎、リンパ増殖性疾患等の免疫炎症性疾患に加えて、血清総 IgE 値にも遺伝的な影響を与えることが推測された。特に興味深い結果は、多発性硬化症の発症と関連する遺伝子型 (5891C/C) では血清総 IgE 値が低く、SLE の進行度に関係すると報告された遺伝子型 (7052C/C) では血清総 IgE 値が高値であるという結果である。SPP1 遺伝子多型が、Th1/Th2 のバランスなどの免疫学的状態に促進的または抑制的に作用し、多発性硬化症、SLE などの免疫炎症性疾患の発症や血清 IgE 値の多寡に影響している可能性が考えられた。

審査にあたり、副査佐々木教授より、1) SPP1 遺伝子の長さや連鎖不平衡係数についてどう考えるか、2) 単一遺伝子で多因子が関係した疾患を説明する難しさ、3) 多発性硬化症、SLE、さらには血清総 IgE 値との関連で、本当に今回の SPP1 遺伝子多型が関係しているといえるのかについての質問があった。主査の上出教授からは、1) アミノ酸置換を伴わない SPP1 遺伝子多型にどのような生物学的な意義があるのか、2) 遺伝子型によって血清総 IgE 値に差がみられたが、実測値ではどのくらいの差があり、臨床的な意味はどのようなものなのか、3) SPP1 遺伝子多型と、なんらかの感染症との関係について質問があった。副査西村教授からは、今回のような遺伝子多型の研究の意義と臨床応用をどう考えていくかについて質問があった。申請者はこれらの質問に対して、自験データと文献を引用して概ね適切な回答を行った。

審査員一同は、本研究が、血清総 IgE 値と SPP1 遺伝子多型の関係を初めて報告した点を高く評価し、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有すると判定した。