

喘息発症における染色体11q13領域の意義に関する研究

学位論文内容の要旨

喘息は複合的な疾患であり、種々の遺伝的および環境的な要因の交互作用によって発症する。遺伝的要因の解明は、発症ハイリスク群の同定および発症予防、発症後の診断、病態把握および治療に貢献する可能性がある。ゲノムワイドな連鎖解析や疾患感受性候補遺伝子を標的とした関連解析が行われた結果、多くの染色体領域が喘息または喘息に関連した種々の表現型と関連することが報告されてきた。なかでも染色体11番長腕は、アトピーとの関連が報告された最初の染色体領域であり、その後いくつかのゲノムワイド解析にて血清IgE値や喘息と関連することが繰り返し指摘され、喘息感受性遺伝子が存在する有力な染色体領域として注目されている。我々のグループは、日本人においても染色体11q13領域と血清総IgE値に有意な関連があり、同領域に存在するIgEの高親和性受容体βサブユニット遺伝子(FCER1B)の一塩基多型(single nucleotide polymorphism; SNP)が、喘息患者において血清IgE値に影響を及ぼすことを報告した。今回、日本人において喘息の発症や喘息の病態における染色体11q13領域の意義を検討するために、同領域に存在する遺伝子群から、これまでの病態生理学的な検討から喘息に深く関与することが機能的に想定される3つの遺伝子に注目した。

研究1 「Cholinergic receptor, muscarinic 1(CHRM1)遺伝子多型と喘息発症の関連についての検討」

研究2 「Fc fragment of IgE, high affinity I receptor for beta subunit (FcεR1β)および Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)遺伝子多型と喘息感受性についての検討」

研究3 「日本人における Chemoattractant receptor expressed on Th2 cells (CRTH2)機能的遺伝子多型の喘息における意義についての検討」

研究1では、659名の非血縁日本人(健常対照群333名、喘息群326名)を用いて、CHRM1のSNPsと喘息発症との遺伝的関連を検討した。HapMapプロジェクトのデータを参考に、8つのSNPsについて検討した。CHRM1遺伝子の転写調節領域に存在する2個のSNPs(-9697C>T、-4953A>G)は喘息発症と有意に関連していた。-9697TTは-9697CCに比べ喘息発症のオッズ比が0.29(95%CI, 0.12-0.73, p=0.008)と低く、一方-4953GGは-4953AAに比べ喘息発症のオッズ比は1.86(95%CI, 1.04-3.34, p=0.038)と高い値を示した。ハプロタイプ解析では、-9697T/-6965T/-4953Aハプロタイプにおいて有意に喘息発症のリスクが低く(p=0.00055)、一方-9697C/-6965T/-4953Gハプロタイプで有意に喘息発症のリスクが高かった(p=0.02)。また*in vitro*の機能解析では-9697T/-4953Aハプロタイプは-9697C/-4953Gハプロタイプに比べ約37%転写活性が低下しており、CHRM1遺伝子の転写調節領域

のハプロタイプが転写活性に影響を与えることを示した。

研究2では、788名において *FcεR1β* 遺伝子多型 (-109T>C、-654C>T) と *PAI-1* プロモーター4G/5G 多型の喘息発症における交互作用を検討した。*FcεR1β*-109TT 遺伝子型をもつ人において、*PAI-1* 5G/5G 遺伝子型の存在は、*PAI-1* 4G 対立遺伝子をもつ場合に比べ、喘息発症のリスクが有意に低下した(オッズ比 0.21 95%CI, 0.09-0.48, $p=0.00023$ 、表 2-3)。*FcεR1β*-654CC 遺伝子型をもつ人においても同様に、*PAI-1* 5G/5G 遺伝子型は、*PAI-1* 4G 対立遺伝子をもつ場合に比べ、有意に喘息発症のリスクが低下した(オッズ比 0.38 95%CI, 0.21-0.70, $p=0.0019$ 、表 2-3)。さらに、遺伝子型が-109T/-654C ハプロタイプのホモの人では、*PAI-1* 5G のホモ遺伝子型が *PAI-1* 4G のホモ遺伝子型にくらべ喘息発症のオッズ比が 0.20 (95%CI 0.084-0.46; $p=0.00015$) と低値を示した。同様の交互作用は *PAI-1* 4G/5G 多型と *FcεR1β*-109C/T、-654C/T 多型による回帰分析によっても示された (*FcεR1β*-109C/T と *PAI-1* 4G/5G 多型との交互作用は $p=0.0017$ 、*FcεR1β*-654C/T と *PAI-1* 4G/5G との交互作用は $p=0.031$)。*FcεR1β* と *PAI-1* の多型はいずれもそれ自身では喘息との関連を認めなかったが、喘息の発症に相乗的に 2 つの遺伝子が働いていることが示された。

研究3では3'非翻訳領域に存在する4個のSNPsについて喘息や喘息関連因子への影響を787名で検討した。なかでも1651G 対立遺伝子と1544G-1651G ハプロタイプはアフリカ系アメリカ人と中国人において喘息発症や重症度との関連が報告されている。しかし、日本人においては、いずれのSNPsも喘息発症との関連を認めなかった。さらに日本人の1544G>C、1651G>A 多型の対立遺伝子および遺伝子型頻度はアフリカ系アメリカ人および中国人と有意に異なっており、民族間での遺伝背景の違いが明らかとなった。

染色体11q13領域の検討に限っても、*CHRM1* が関与するコリン作動性神経による副交感神経系、*PAI-1* や *FcεR1β* などのマスト細胞を介した気道リモデリングに関与する経路、さらに *CRTH2* などが関与する気道のアレルギー炎症を持続、亢進させる経路など、喘息の発症や病態を形作る経路は多彩かつ複雑である。臨床的にも、患者によって病像や臨床経過は様々であり、これは患者ごとに背景にある様々な分子学的経路の病態への寄与度が異なることを示唆する。同じ経路に関与する各遺伝子間の交互作用については、さらに多方面から研究されることで、より一層、喘息病態との関連が明らかになるものと期待される。研究3で示したように民族により遺伝背景が異なるため、今後日本人における遺伝子多型と喘息の発症や病態についてのデータが蓄積されることが必要である。それらのデータが病態生理学的な経路毎に分類し整理されることで、個々の喘息患者の病態把握が容易になり、喘息の予防や治療戦略を合理的に行えることが期待される。

結語：今回の研究の結果、日本人において染色体11q13領域の複数の遺伝子が喘息の発症に遺伝的な影響を及ぼしていることが示唆された。今後、それぞれの遺伝子の相対的な役割、遺伝子間の交互作用やその分子的なメカニズムについてのさらなる検討が必要である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 正 治

副 査 教 授 有 賀 正

副 査 教 授 清 水 宏

学位論文題名

喘息発症における染色体11q13領域の意義に関する研究

喘息は複合的な疾患であり、種々の遺伝的および環境的な要因の交互作用によって発症する。染色体 11 番長腕は、アトピーとの関連が報告された最初の染色体領域であり、我々も過去に日本人における染色体 11q13 領域と血清総 IgE 値との有意な関連、さらには同領域に存在する高親和性 IgE 受容体β鎖遺伝子(FcεR1β)の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) と、喘息患者における血清総 IgE 値との関連を報告した。今回、日本人において喘息の発症における染色体 11q13 領域の意義をさらに検討するために、同領域に存在する遺伝子群から、病態生理学的に喘息に深く関与することが機能的に想定される 3 つの遺伝子に注目し、喘息群 384 名、健常対照群 403 名を用いて患者対照研究を行った。

研究 1 「ムスカリン受容体 1(CHRM1)遺伝子多型と喘息発症の関連についての検討」

研究 2 「高親和性 IgE 受容体 β 鎖 (FcεR1β)および Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)遺伝子多型と喘息発症についての検討」

研究 3 「日本人における Chemoattractant receptor expressed on Th2 cells (CRTH2)機能的遺伝子多型の喘息における意義についての検討」

研究 1 では、*CHRM1* 遺伝子の転写調節領域に存在する 2 個の SNPs (-9697C>T、-4953A>G)が喘息発症と有意に関連した。-9697TT は-9697CC に比べ喘息発症のオッズ比が 0.29 (95%CI, 0.12-0.73, $p=0.008$)と低く、一方-4953GGは-4953AA に比べ喘息発症のオッズ比は 1.86 (95%CI, 1.04-3.34, $p=0.038$)と高い値を示した。ハプロタイプ解析では、-9697T/-6965T/-4953A ハプロタイプは有意に喘息発症のリスクが低く ($p=0.00055$)、一方-9697C/-6965T/-4953G ハプロタイプは有意に喘息発症のリスクが高かった($p=0.02$)。また *in vitro* の機能解析では-9697T/-4953A ハプロタイプは-9697C/-4953G ハプロタイプに比べ約 37%転写活性が低下しており ($p=0.019$)、*CHRM1* 遺伝子の転写調節領域のハプロタイプが転写活性に影響を与え、喘息の発症に遺伝的な影響を及ぼす可能性を示した。

研究2では、*FcεR1β*遺伝子多型 (-109T>C、-654C>T) と *PAI-1* プロモーター4G/5G 多型の喘息発症における交互作用を検討した。遺伝子型が-109T/-654C ハプロタイプのホモの人では、*PAI-1* 5G のホモ遺伝子型が *PAI-1* 4G のホモ遺伝子型に比べ喘息発症のオッズ比が 0.20 (95%CI 0.084-0.46; p=0.00015) と低値を示した。*FcεR1β*と *PAI-1* の多型はいずれもそれ自身では喘息との関連を認めなかったが、喘息の発症に相乗的な影響を与えていると考えられた。

研究3では、*CRTH2* 遺伝子多型のうち、1651 遺伝子多型を含む4個のSNPsについて検討した。アフリカ系アメリカ人と中国人において1651G 対立遺伝子、1651GG 遺伝子型と1544G/1651G ハプロタイプの存在は喘息発症のリスクであることが報告された。さらに1544G/1651G ハプロタイプは1544C/1651A ハプロタイプに比べ mRNA の安定性が高いことが示されている。しかし、今回日本人においては、いずれのSNPsも喘息発症との関連を認めなかった。統計学的検出力を検討したところ、今回用いた対象人数は喘息発症への遺伝子効果を同定するのに十分であると考えられた。3つの民族間での健常対照群におけるハプロタイプ頻度の比較により、日本人では mRNA の安定性が低い1544C/1651A ハプロタイプが多く、民族間で遺伝背景が大きく異なることが示された。

最後に *CHRM1*、*FcεR1β*と *PAI-1* 遺伝子が喘息発症に及ぼす影響を検討したところ、*CHRM1* と他2つの遺伝子は互いに独立して喘息の発症に関与することがわかった。

審査にあたり、副査清水教授より 1)喘息の定義と、今回検討した遺伝因子が喘息の重症度や血清 IgE 値などの臨床的な因子に与える影響について、2) 今回検討した遺伝子のノックアウトマウスやトランスジェニックマウスの報告を踏まえて、今後どのように治療などに結び付けていくのかについての質問があり、副査有賀教授より 1)今回検討した遺伝子多型の影響が喘息発症に防御的に作用していることの意味合いについて、2) 環境要因の違いが遺伝子の効果にもたらす影響について、3)11q13 領域に注目した理由について質問があった。主査西村教授からは、1)各遺伝子多型とアトピーとの関連について、2) 遺伝子多型によって特に発症リスクが低い人を同定した研究結果からは、これらの分子を治療のターゲットとするのは難しいのではないかと、3)*CHRM1* について今後の蛋白レベルでの解析や *in vivo* での受容体活性の検討についての質問があった。

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。この研究によって染色体 11q13 領域が喘息において重要な領域であることが再確認された。また *CHRM1* 遺伝子多型と喘息発症との関連およびその多型の機能を世界で初めて明らかにした研究として高く評価され、今後の喘息の病態のさらなる解明につながることを期待される。

審査員一同は、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、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ものと判定した。