

陳 俊全 論文内容の要旨

主 論 文

Haplotypes of *PADI4* susceptible to rheumatoid arthritis are also associated with ulcerative colitis in the Japanese population
(関節リウマチ感受性遺伝子である *PADI4* 遺伝子のハプロタイプは日本人の潰瘍性大腸炎患者にも関連する)

Chun Chuan Chen, Hajime Isomoto, Yukiko Narumi, Kayoko Sato, Yuuki Oishi , Tsutomu Kobayashi , Katsunori Yanagihara , Yohei Mizuta , Shigeru Kohno , Kazuhiro Tsukamoto

Clinical Immunology

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻
(指導教授：河野 茂教授)

緒言

炎症性腸疾患 (IBD) は消化管粘膜の慢性炎症を主徴とする疾患群であり、潰瘍性大腸炎 (UC)、クローン病 (CD) がその代表的なものである。その明らかな原因は未だ不明であるが、多因子性によるものであるというコンセンサスが得られており、遺伝的素因、過剰な免疫反応、腸管内微生物の関連が指摘されている。このうち、遺伝的素因に関しては、ヒトゲノム塩基配列の同定以降、CDに関連するとされる 16q12(IBD1)の発見以来、現在までに数ヶ所の遺伝子部位の変異が IBD と関連する可能性があることが示唆されてきた。

一方、関節リウマチ (RA) は自己免疫が原因である疾患であり、IBD、特に UC に関しては、自己抗体の存在、また UC の合併症として関節炎が認められる例もあることから、両疾患間に何らかの関連性があることが推測される。今回、我々は関節リウマチの原因可能性遺伝子として最近同定された 1p36 に存在する peptidylarginine deiminase type4(*PADI4*)が、以前から指摘されている IBD7 と同部位である点にも着目し、日本人患者において *PADI4* の haplotypes や diplotypes が IBD に関与しているか検討した。

対象と方法

当研究は日本人を対象とし、当科並びに関連施設にて診断された UC 患者 114 名、CD 患者 83 名、また健常人ボランティア 200 名を対象とした。UC、CD の診断は内視鏡的、放射線学的、組織学的、臨床学的に基づいて行われ、WHO の分類に従った。なお、RA、多発性硬化症、全身性エリテマトーデスを合併している IBD 患者は除外した。遺伝子多形の検討は、*PADI4* の haplotype (GenBank accession number:NT_030584) に従い、

日本人の関節リウマチ患者に関係するとされる、Padi4_92、Padi4_96、Padi4_102 の 3 ヶ所の single nucleotide polymorphisms (SNPs) を選択し解析を行った。ゲノム DNA は、Wako 社の DNA Extractor WB-Rapid Kit を使って全血より抽出した。その DNA を鋳型にして、次に各々の SNP に対する primer を作成し PCR-RFLP 法を行った。PCR 産物の大きさは Padi4_92 が 192bp、Padi4_96 が 316bp、Padi4_102 が 400bp であった。PCR 反応に続き、制限酵素は Msp I、HaeIII、Rsa I の 3 種類を使用した。制限酵素処理後、Padi4_92 に関しては 6% polyacrylamide gel、Padi4_96、Padi4_102 に関しては 2% agarose gel を使用し電気泳動にて産物を確認した。患者群、対照者群における性別、年齢別のカイ 2 乗、t 検定を使用した統計学的処理を行った。各々の対立遺伝子の頻度を SNP Alyze6.01 standard (Dynacom Inc.,Yokohama,Japan) にて解析し、SPSS 15.0 program package (SPSS Japan Inc.,Tokyo,Japan) にて統計学的処理を行った。

結果

今回の実験では、PADI4 におけるこれら 3 種の SNP の遺伝子型分布は 7 つの型に分類された。haplotype の分布は type1 (_92 がシトシン、_96 がチミン、_102 がシトシン) が UC 患者群において対照群と比較して有意に低下 ($p=0.037$, $OR=0.702$) しており、type2 (_92 がグアニン、_96 がシトシン、_102 がシトシン) では逆に UC 患者群が有意に増加 ($p=0.003$, $OR=1.722$) していた。さらに UC 患者においては haplotype2 の diplotype (Hap2/Hap2) が対照群と比較して明らかに増加していた。 ($p=0.008$, $OR=3.215$) なお CD 患者と対照群、UC 患者と CD 患者間、また IBD のサブグループ間では haplotypes や diplotypes の分布の違いは認めなかった。

考察

PADI 酵素群は蛋白に結合したアルギニンをシトルリン化する作用を有す。シトルリン化された epitope は RA に特異的な自己抗体の標的であることが知られており、抗環状シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体) は RA 診断に有用なマーカーである。またシトルリン化された蛋白-MHC 結合は自己抗原として認識される。その中でも、染色体 1p36 に存在する PADI4 遺伝子の haplotype2 由来の PADI 酵素は関節の滑膜組織、関節に浸潤した単核球、好中球から過剰に放出され自己抗原を発現することが報告され、同遺伝子が RA と関連していることが同定された。今回の我々の研究では、比較的对象とした症例数が少ないことや、UC 患者血液中の自己抗体の測定が行えなかったという問題点は残したが、RA 患者と同様に自己免疫疾患の側面をもつ日本人の IBD 患者、今回は特に潰瘍性大腸炎患者において、PADI4 遺伝子の haplotypes がこの疾患の発症、進展に関与している可能性を示唆するものと考えた。