

炎症性腸疾患の発症に關与する疾患感受性遺伝子の同定

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 鳴海 由希子

[背景・目的]

炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease: IBD)は潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)とクローン病(Crohn's disease: CD)からなり、腸の慢性炎症を特徴とし、その病因は腸粘膜局所におけるT細胞を主体とした免疫学的生体防御機構の異常とそれに伴う吸収障害と考えられている。難治性、易再発性、治療効果の個人差、QOLの低下および癌化といった諸問題を有することから、病因の解明と高リスク群の患者の検出が求められている。高い家族集積性と一卵性双生児における一致率から遺伝因子の關与が大きい疾患の一つで、この遺伝因子(疾患感受性遺伝子)を同定するために、全ゲノムを対象とした連鎖解析や相関解析および候補遺伝子アプローチ法による症例-対照研究が盛んに行われている。欧米に多い疾患で、白人を対象として複数の疾患感受性領域(IBD1~IBD9)が特定されている。

本研究では、T細胞の持続的活性化による慢性炎症に關連している遺伝子群(T細胞抑制系補助シグナル關連遺伝子)や自己抗体産生に關与している遺伝子を候補遺伝子とし、これらの遺伝子多型の出現頻度を患者と健常者間で有意差検定を行うことで、疾患感受性遺伝子の同定を試みた。

[実験方法]

UC患者114名をUC群、CD患者83名をCD群、一般の健常者200名をコントロール群とした。IBDの病態生理から4つの候補遺伝子(*CTLA4/PDCD1/PTPN11/PADI4*)を選出した。遺伝子内に存在する計11個のsingle nucleotide polymorphisms(SNPs)をPCR-restriction fragment length polymorphism法で、1個のAT repeat多型をfragment analysis法で解析した。また、2つの遺伝子ではSNPsを組み合わせてhaplotypesおよびdiplotypesを構築した。そして、疾患群とコントロール群間で、多型の出現頻度を有意差検定(カイ二乗法とロジスティック回帰分析法)した。

[結果]

- (1) *CTLA4* の G+6230A SNP で、A/A genotype の出現頻度は UC 群で有意に低く、疾患抵抗性を示した。(P = 0.047)
- (2) *PDCD1* 多型では両群間で allele と genotype の出現頻度に有意差はなかった。
- (3) *PTPN11* の rs2301756 SNP で、G allele および G/G genotype の出現頻度は UC 群で有意に高く、疾患感受性を示した。(P = 0.008 と P = 0.018)
- (4) *PTPN11* の rs3741983 SNP で、T allele および T/T genotype の出現頻度は UC 群で有意に高く、疾患感受性を示した。(P = 0.034 と P = 0.031)

- (5) *PTPN11* 多型で, Hap 1 haplotype および Hap 1/Hap 1 diplotype の出現頻度は UC 群で有意に高く, 疾患感受性を示した。(P = 0.011 と P = 0.030)
- (6) *PTPN11* 多型で, Hap 2 haplotype の出現頻度は UC 群で有意に低く, 疾患抵抗性を示した。(P = 0.016)
- (7) *PADI4* 多型で, Hap 1 haplotype および Hap 1/Hap 4 diplotype の出現頻度は UC 群で有意に低く, 疾患抵抗性を示した。(P = 0.037 と P = 0.048)
- (8) *PADI4* 多型で, Hap 2 haplotype および Hap 2/Hap 2 diplotype の出現頻度は UC 群で有意に高く, 疾患感受性を示した。(P = 0.003 と P = 0.008)

Table 4-3. Distributions of haplotypes of *PTPN11* among patients and control subjects

Haplotype	SNP		Number (%) of haplotypes in		Haplotype comparison *		Number (%) of haplotypes in		Haplotype comparison *	
	rs2301756	rs3741983	UC	Controls	OR (95% CI)	P value	CD	Controls	OR (95% CI)	P value
Hap 1	G	T	189 (82.9)	296 (74.0)	1.703 (1.129 - 2.568)	0.011	125 (75.3)	296 (74.0)	1.071 (0.706 - 1.626)	0.747
Hap 2	A	C	34 (14.9)	92 (23.0)	0.587 (0.381 - 0.904)	0.016	31 (18.7)	92 (23.0)	0.769 (0.488 - 1.211)	0.257
Hap 3	G	C	4 (1.8)	5 (1.3)	1.411 (0.375 - 5.307)	0.611	5 (3.0)	5 (1.3)	2.453 (0.701 - 8.590)	0.160
Hap 4	A	T	1 (0.4)	7 (1.8)	0.247 (0.030 - 2.023)	0.193	5 (3.0)	7 (1.8)	1.744 (0.545 - 5.574)	0.348
Total number of haplotypes			228	400			166	400		

*Each haplotype was compared with other haplotypes combined by logistic regression analysis.

Abbreviation: OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Table 4-4. Distributions of diplotypes of *PTPN11* among patients and control subjects

Diplotype	Number (%) of diplotypes in		Diplotype comparison *		Number (%) of diplotypes in		Diplotype comparison *			
	UC	Controls	OR (95% CI)	P value	CD	Controls	OR (95% CI)	P value		
Hap 1 / Hap 1	77 (67.5)	110 (55.0)	1.703 (1.053 - 2.754)	0.030	50 (60.2)	110 (55.0)	1.24 (0.737 - 2.086)	0.418		
Hap 1 / Hap 2	30 (26.3)	69 (34.5)	0.678 (0.408 - 1.128)	0.134	21 (25.3)	69 (34.5)	0.643 (0.362 - 1.142)	0.132		
Hap 1 / Hap 3	4 (3.5)	5 (2.5)	1.418 (0.373 - 5.391)	0.608	3 (3.6)	5 (2.5)	1.463 (0.341 - 6.265)	0.609		
Hap 1 / Hap 4	1 (0.9)	2 (1.0)	0.876 (0.079 - 9.770)	0.914	1 (1.2)	2 (1.0)	1.207 (0.108 - 13.499)	0.878		
Hap 2 / Hap 2	2 (1.8)	9 (4.5)	0.379 (0.080 - 1.785)	0.220	5 (6.0)	9 (4.5)	1.360 (0.442 - 4.188)	0.592		
Hap 2 / Hap 3	0	0	-	-	0	0	-	-		
Hap 2 / Hap 4	0	5 (2.5)	-	-	0	5 (2.5)	-	-		
Hap 3 / Hap 3	0	0	-	-	1 (1.2)	0	-	-		
Hap 3 / Hap 4	0	0	-	-	0	0	-	-		
Hap 4 / Hap 4	0	0	-	-	2 (2.4)	0	-	-		
Total number of subj			114	200			83	200		

*Each diplotype was compared with other diplotypes combined by logistic regression analysis.

Abbreviation: OR, odds ratio; CI, confidence interval.

[考 察]

日本人における UC の疾患感受性遺伝子として 3 つの遺伝子 *CTLA4*, *PTPN11* および *PADI4* を同定した。特に注目した *PTPN11* 遺伝子がコードしている SHP-2 は *CTLA4* や PD-1 と結合して T 細胞や B 細胞の活性化を抑制している (図 1)。rs2301756 SNP で G/G genotype, rs3741983 SNP で T/T genotype, あるいは Hap 1/Hap 1 haplotype を持つヒトでは, SHP-2 の機能が減弱しているのかもしれない。例えば, イントロン内にあるエンハンサーの機能低下や microRNA あるいは non-coding RNA による SHP-2 発現量の低下, あるいは蛋白-蛋白間の結合能の低下などによって, SHP-2 の機能低下による T 細胞や B 細胞の活性化抑制が減弱することで, T 細胞や B 細胞の持続的な活性化およびそれに続く慢性持続性炎症を導くのかもかもしれない。

これらの遺伝子の発現機序および遺伝子産物の機能解析が進めば、UCの発症を分子レベルで解明できる手掛かりとなるかもしれない。さらに、分子機序から標的となる分子に着目したゲノム創薬によって本疾患の治療薬の開発に繋がる可能性もある。

また、疾患感受性遺伝子の多型を biomarkers として遺伝子診断へ応用できる。家族集約性を認める疾患だけに、家族や親類内で発症しやすい人を検出する発症前診断に応用できるであろう。今後も biomarker となる遺伝子多型を同定し、それらを組み合わせることにより、より精度の高い遺伝子診断法を確立し、多くの患者を用いた cohort 研究へと進めていきたい。そしてテーラーメイド医療の実現に繋げたい。

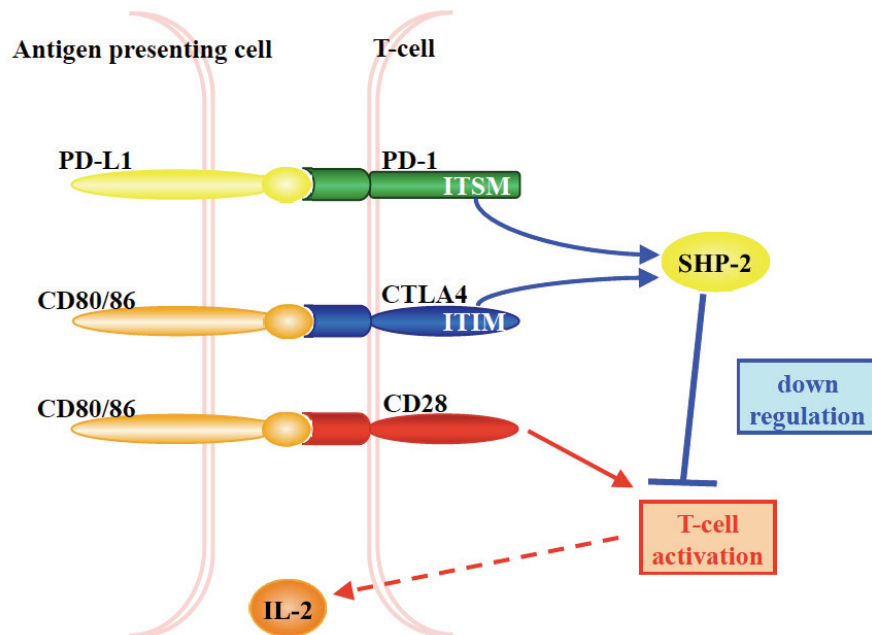


図1 Schematic representation of inhibitory downstream signal pathways of CTLA4 and PD-1 against T-cell activation in T-cells

[基礎となった学術論文]

1. Narumi Y, Isomoto H, Shiota M, Sato K, Kondo S, Machida H, Yanagihara K, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K. Polymorphisms of *PTPN11* coding SHP-2 as biomarkers for ulcerative colitis susceptibility in the Japanese population. *J Clin Immunol*, in press.
2. Chuan CC, Isomoto H, Narumi Y, Sato K, Oishi Y, Kobayashi T, Yanagihara K, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K. Haplotypes of *PADI4* susceptible to rheumatoid arthritis are also associated with ulcerative colitis in the Japanese population. *Clin Immunol* 126:165-171, 2008.
3. Machida H, Tsukamoto K, Wen C-Y, Narumi Y, Shikuwa S, Isomoto H, Takeshima F, Mizuta Y, Niikawa N, Murata I, Kohno S. Association of polymorphic alleles of *CTLA4* with inflammatory bowel disease in the Japanese. *World J Gastroenterol* 11:4188-4193, 2005.