



Transforming Growth Factor Beta 1 Gene Polymorphism in Japanese Patients with Systemic Lupus Erythematosus

WANG, BIAO

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2007-03-25

(Date of Publication)

2012-04-19

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3996

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003996>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 1 3 4 】

氏 名・(本 籍)	王 颯 (中国)
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博い第1832号
学位授与の 要 件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の 日 付	平成19年3月25日

【 学位論文題目 】

Transforming Growth Factor Beta 1 Gene Polymorphism in
Japanese Patients with Systemic Lupus Erythematosus
(日本人SLE患者におけるtransforming growth factor β 1遺伝子多型)

審 査 委 員

主 査	教 授	松 尾	雅 文
	教 授	南	康 博
	教 授	黒 田	嘉 和

〔背景〕

全身性エリテマトーデス(SLE)は寛解、増悪を繰り返す多臓器疾患であり、種々の血中自己抗体の出現が特徴的である。何らかの原因により免疫応答あるいは調節異常が起こり、免疫寛容が破綻し、自己反応性T細胞の活性化や多クローン性B細胞活性化が起こる。B細胞から過剰に産生された自己抗体が免疫複合体を形成し組織に沈着することにより、多臓器障害がもたされる。

ヒトでの発症のメカニズムは不明点が多いが、感受性遺伝子と環境因子との相互作用が想定されている。遺伝因子として、従来から主要組織適合複合体(HLA)遺伝子が知られているが、近年サイトカイン、アポトーシスなどに関与する遺伝子の単一塩基多型(SNP)がSLEの疾患感受性の候補遺伝子として報告されている。

Transforming growth factor(TGF)βは、細胞の増殖、分化の調節や形態形成に重要な働きを持つ成長因子であるが、免疫担当細胞にも作用し、免疫調節作用、アポトーシス誘導作用などが知られている。TGFβ1~3が知られているが、主要分子はTGFβ1である。TGFβ1ノックアウトマウスはSLE様の自己抗体を産生し全身炎症を引き起こすことより、TGFβ1のSLEの病態形成への関与が示唆される。TGFβ1のいくつかの多型はSLEとの関連性について報告されているが、一定の結論を見るに至っていない。TGFβ1の血清濃度に関連するTGFβ1T869Cの多型は、日本では全身性硬化症、関節リウマチなどの疾患感受性に関与するとの報告があるが、SLEにおいては検討されていない。そこで、私は日本人集団についてTGFβ1T869Cの多型とSLEの発病および病態形成を検討した。

〔対象と方法〕

1. 神戸大学附属病院と順天堂大学附属病院で診断されたSLE患者196名ならびに健常人106名を対象とした。
2. 末梢血からDNAを抽出し、特異的プライマーでT869C変異点を含むTGFβ1遺伝子のエクソン1の塩基配列部分をPCR法により増幅した。得られたPCR増幅産物を制限酵素 MspAII にて切断し、アガロースゲルで電気泳動した後エチジウムブロマイドで染色し、得られたバンドのパターンにより genotype を同定した(RFLP法)。一部のサンプルで直接シーケンス法により変異点の塩基配列を確認することよりPCR-RFLP法の validity を確認した。
3. 196中の48名SLE患者の血清TGFβ1のタンパク質濃度をELISA法で測定した。
4. 血清自己抗体はELISA法で測定した。
5. SLE患者群と正常対象群との間における遺伝子多型分布の比較は分割表による χ^2 独立性検定で行った。SLE患者における臨床病態と遺伝子型の関連についてはオッズ比(odds ratio, OR)とその95%CI(confidence interval)を計算した。SLE患者群での血清TGFβ1のタンパク質濃度と遺伝子型との関連の解析には

Mann-Whitney のU検定で行い、 $P < 0.05$ を有意とした。

〔結果〕

1. TGFβ1T869C多型の genotype およびアリル頻度は、SLE患者と正常対象群の間に有意な差は認めなかった。
2. SLE患者におけるTGFβ1T869C多型と血清TGFβ1のタンパク質濃度との相関は認めなかった。理由として、N数が少ないため、あるいは疾患の活動性や治療が血清TGFβ1の濃度に影響をしたものと考えられた。
3. TGFβ1T869C多型とSLEの臨床病態に関して検討したところ、TT genotype を持つ患者ではCCとTC genotype の患者と比較して抗SSA/Ro抗体の陽性率と無菌性骨壊死の発症率は有意に高く示した($P = 0.029$, $OR = 2.34$, $95\%CI = 1.077-5.068$; $P = 0.0097$, $OR = 3.75$, $95\%CI = 1.306-10.767$)。一方CC genotype 患者ではTTとTC genotype 患者と比し、抗RNP抗体の陽性率は有意に高かった($P = 0.023$, $OR = 2.51$, $95\%CI = 1.120-5.619$)。

〔考察と結論〕

私の研究ではSLEとTGFβ1多型T869Cが明らかな相関を示さなかったことから、TGFβ1T869C多型がSLEの発症には直接関与しないことが示唆された。しかしながら、SLEの臨床像との関連では、SLEにおけるTGFβ1T869C多型が自己抗体産生と無菌性骨壊死の発症に関わっていることが示唆された。

抗核抗体の検出はSLEの診断、活動性あるいは予後評価する上で極めて重要である。その抗核抗体の産生と病態の形成には、自己反応性T細胞やB細胞のトランジェンスの破綻が密接に関与しているほか、アポトーシスの異常が深く関わっていることが明らかになってきた。アポトーシス細胞の処理が不十分なために、核内のクロマチン断片が遊出し自己抗原となって、自己免疫応答を惹起する可能性がモデルマウスで示されている。TGFβ1はマクロファージによるアポトーシス細胞の貪食を促進する。TGFβ1ノックアウトマウス、TGFβ1タンパク質活性化酵素(TGase)ノックアウトマウス、TGFβ1トランスジェニックマウスの研究より、TGFβ1の過不足あるいは過度産生が自己抗体の産生や細胞のアポトーシスに関わっていることが示された。これは、SLE患者において自己抗体産生にTGFβ1が関与する可能性がある。

一方、無菌性骨壊死の病因また不明である。脂質代謝異常は無菌性骨壊死の危険因子の一つであるが、血清TGFβ1濃度はLDL-コレステロール濃度に相反することが報告されている。TT genotype は低血清TGFβ1型であると報告されており、脂質代謝を介して無菌性骨壊死のリスクが上昇した可能性があると考えた。

以上よりTGFβ1遺伝子T869C多型はSLEの発症に直接関与する可能性は低い、自己抗体の産生、無菌性骨壊死の発症に影響を与える可能性が高いことが示唆された。これらのメカニズムは、今後検討を要することと思われる。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第1823号	氏名	王 颯
論文題目	Transforming Growth Factor beta 1 Gene Polymorphism in Japanese Patients with Systemic Lupus Erythematosus 日本人SLE患者における transforming growth factor β 1 遺伝子多型		
審査委員	主 査 松 尾 雅 文 副 査 南 康 博 副 査 黒 田 嘉 和		
審査終了日	平成 19 年 3 月 7 日		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

<p>全身性エリテマトーデス（SLE）の発症のメカニズムは不明の点が多いが、感受性遺伝子と環境因子との相互作用が想定されている。遺伝的因子として、従来から主要組織適合複合体（HLA）遺伝子が知られているが、近年サイトカイン、アポトーシスなどに関与する遺伝子の単一塩基多型（SNP）がSLEの疾患感受性の候補遺伝子として報告されている。Transforming growth factor（TGF）β は、細胞の増殖分化に重要な働きを持つ成長因子で、免疫調節やアポトーシス誘導などの作用を有する。TGF β 1ノックアウトマウスはSLE様の自己抗体を産生し全身炎症を引き起こすことより、TGF β 1のSLEの病態形成への関与が示唆される。TGF β 1T869Cの多型はその血清濃度と関連し、日本では全身性硬化症、関節リウマチなどの疾患感受性に関与するとの報告があるが、SLEにおいては検討されていない。そこで、私は日本人集団についてTGF β 1T869Cの多型とSLEの発病および病態形成を検討した。</p>
<p>[対象と方法]</p> <p>1. 神戸大学と順天堂大学で診断されたSLE患者196名ならびに健常人106名を対象とした。2. 末梢血からDNAを抽出し、特異的プライマーでT869C変異点を含むTGF β 1遺伝子のエクソン1の塩基配列部分をPCR法により増幅し、制限酵素 MspAII によるRFLP法により genotype を同定した。一部のサンプルでは直接シークエンス法により変異点の塩基配列を確認した。3. 196中の48名SLE患者の血清TGF β 1のタンパク質濃度をELISA法で測定した。4. 血清自己抗体はELISA法で測定した。5. SLE患者群と正常対象群との間における遺伝子多型分布の比較は分割表によるX^2独立性検定で行った。SLE患者群での血清TGF β 1のタンパク質濃度と遺伝子型との関連の解析にはMann-Whitney のU検定で行い、$P < 0.05$ を有意とした。</p>
<p>[結果]</p> <p>1. TGF β 1T869C多型の genotype およびアリル頻度は、SLE患者と正常対象群の間に有意な差は認めなかった。2. SLE患者におけるTGF β 1T869C多型と血清TGF β 1のタンパク質濃度との相関は認めなかった。理由として、N数が少</p>

538

ないため、あるいは疾患の活動性や治療が血清TGFβ1の濃度に影響をしたものと
考えられた。3. TGFβ1T869C多型とSLEの臨床病態に関して検討したところ、
TT genotypeを持つ患者ではCCとTC genotypeの患者と比較して抗SSA/
Ro抗体の陽性率と無菌性骨壊死の発症率は有意に高く示した (P=0.029 と P=
0.0097)。一方CC genotype患者ではTTとTC genotype患者と比し、抗RNP抗体
の陽性率は有意に高かった (P=0.023)。
[考察と結論]
本研究ではSLEとTGFβ1多型T869Cが明らかな相関を示さず、多型がSL
Eの発症には直接関与しないことが示唆された。しかしながら、SLEの臨床像との
関連では、SLEにおけるTGFβ1T869C多型が自己抗体産生と無菌性骨壊死の発
症に関わっていることが示唆された。
抗核抗体の検出はSLEの診断、活動性あるいは予後評価する上で極めて重要であ
るが、その産生にはトレランスの破綻の破綻が密接に関与している。TGFβ1ノッ
クアウトマウス、TGFβ1タンパク質活性化酵素(TGase)ノックアウトマウス、TG
Fβ1トランスジェニックマウスの研究より、TGFβ1の過不足あるいは過度産生
が自己抗体の産生や細胞のアポトーシスに関わっていることが示されたており、SL
E患者において自己抗体産生にTGFβ1が関与する可能性が考えられた。血清TG
Fβ1濃度はLDL-コレステロール濃度に相反することが報告されている。無菌性骨
壊死の病因また不明であるが、TT genotypeは低血清TGFβ1型であると報告され
ており、脂質代謝を介して無菌性骨壊死のリスクが上昇した可能性があると考えた。
以上よりTGFβ1遺伝子T869C多型はSLEの発症に直接関与する可能性は低
いが、自己抗体の産生、無菌性骨壊死の発症に影響を与える可能性が高いことが示唆
された。
以上、本研究はこれまで未知であったSLEとTGFβ1遺伝子多型との関係を、
世界に先駆け明らかにしたものであり、価値ある集積であると認める。よって、本研
究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。