



Lack of association between tyrosine kinase 2 (TYK2) gene polymorphisms and susceptibility to SLE in a Japanese population

京極, 千恵子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2011-02-08

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙3139

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003139>

※ 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。



氏 名 京極 千恵子
博士の専攻分野の名称 博士 (医学)
学 位 記 番 号 博ろ第 3139 号
学位授与の 要 件 学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与の 日 付 平成 23 年 2 月 8 日

【 学位論文題目 】

Lack of association between tyrosine kinase 2 (TYK2) gene polymorphisms and susceptibility to SLE in a Japanese population(日本人におけるチロシンキナーゼ TYK2 遺伝子多型と SLE 疾患感受性との関連解析)

審 査 委 員

主 査 教 授 南 康博
教 授 秋田 穂束
教 授 西尾 久英

(論文博士関係)

学位論文の内容要旨

Lack of association between tyrosine kinase 2 (*TYK2*) gene polymorphisms and susceptibility to SLE in a Japanese population

日本人におけるチロシンキナーゼ *TYK2* 遺伝子多型とSLE疾患感受性との関連解析

(指導教員：神戸大学大学院医学研究科 内科学講座
免疫・感染内科学分野 錦織千佳子 教授)

京極 千恵子

背景：全身性エリテマトーデス (SLE) は、炎症性の自己免疫疾患の一つで、自己抗体の産生と免疫複合体の蓄積により、関節、皮膚、腎臓、肺、心臓、CNSなど全身の多様な臓器に症状が現れる難病の一つである。日本全国に2万人～4万人程の患者がいるといわれ、その男女比は1：9で、出産可能な女性に多く発症する。本来免疫は、細菌やウイルスなどの外来微生物からの防御機構であるが、SLE患者では自己寛容が破綻しているため、自己の免疫力が自身の体を攻撃し、全身にさまざまな炎症反応を引き起こす。紫外線 (海水浴、日光浴、スキーなど)、風邪などのウイルス感染、怪我、外科手術、妊娠・出産、ある種の薬剤 (ケイ酸やニコチン) などとその誘因となることが知られている。根本的な原因は明らかになっていないものの、双子研究 (一卵性双生児ではSLE発症一致率は30%程度、二卵性双生児では5-10%) やSLE家系の研究から、遺伝的要因が大きく関与することが示唆されている。近年、SLEの末梢血単核球細胞 (PBMC) を用いた遺伝子発現量 (マイクロアレイ) 研究により、“Interferon (IFN) signature” と呼ばれる特定の Type I IFN関連遺伝子群がSLE患者で高発現している事が示された。“IFN signature” は、SLEの予防や診断、治療に役立つバイオマーカーとして期待されている。本研究では、このType I IFNに着目し、そのシグナル伝達系に関わる遺伝子の一つであるtyrosine kinase 2 (*TYK2*) とSLE疾患感受性との関連を検討した。

目的：近年、Type I IFNシグナル伝達系の遺伝子多型が、SLEの疾患感受性に関与しているという研究が、白人集団で続いて報告されている。具体的には、IFN-regulatory factor 5 (*IRF5*) (我々が報告)、tyrosine kinase 2 (*TYK2*)、signal transducer and activator of transcription 4 (*STAT4*) がこれまでに報告された遺伝子である。このうち *IRF5* は、その後日本人 (筑波大学と共同研究で、我々が報告) や韓国人においても関連が報告された。本研究では、まだアジア人集団で検討された事の無い *TYK2* に関して、日本人におけるSLE疾患感受性を検討することを目的とした。白人集団において、すでにSLE疾患感受性が示されている3つのSNP (rs12720270, rs2304256, rs280519) に関して、Case-control 関連解析を行った。

方法：血縁関係のないSLE患者411人 (神戸大学、順天堂大学、京都大学の外来患者) と健常者ボランティア467人 (神戸市在住、または勤務) の、末梢血リンパ球から抽出したゲノムDNAをサンプルとした。このうち、SLE患者69人、健常者94人が第1サンプルセット、SLE患者342人、健常者373人が第2サンプルセットである。SNPタイピングは、ABI 7900HT Fast Real-Time PCR System とABI TaqMan® SNP Genotyping Assaysを用いて行った。またタイピング結果は、ランダムに選出したサンプルのダイレクトシーケンシングによって確かめられた。SNP間の連鎖不平衡 (LD) は、Haploview v3.32 softwareにより解析した。Case-control 関連解析は、検定によって行い、 $P < 0.05$ を有意とした。また、International HapMap Project の45人の日本人サンプル (45 JPT) および45人の中国人サンプル (45 HCB) のSNPデータを参考にした。

結果：白人集団で、SLEの疾患リスクに関与すると報告されていた4つのSNP (rs12720270, rs2304256, rs280519, rs12720356)のうち、rs12720356は日本人には存在しない、もしくは非常にレアなSNPであることが、45 JPTのデータから分かった。そこで、残りのrs12720270, rs2304256, rs280519に関して、第1サンプルセットでタイピングを行った結果、いずれのSNPにも有意な関連は見られなかった。しかし、rs12720270-T アリル, rs2304256-A アリル, rs280519-G アリルはSLEで増加傾向にあった。これら3つのSNP間には、非常に強い連鎖不平衡(LD)の関係が存在し、SLEで増加傾向にあるアリルは、いずれも同一ハプロタイプ上に存在する可能性が高いことが示唆された。特にrs12720270-T アリルとrs2304256-A アリルは、完全にリンクしていた(perfect proxy set)。したがって次に、rs2304256をTag-SNPとして選び、第2サンプルセットでのタイピングを行った。その結果、合計SLE411人、健常者467人のCase-control関連解析においても、rs2304256の関連は否定された ([C/C +C/A] vs. A/Aの比較において P = 0.1; SLE: CC 38.9%, CA 43.8%, AA17.3%, control: CC 37.5%, CA 49.5%, AA 13.1%)。最後に、rs2304256の遺伝子型と、SLE患者の臨床症状との相関を検討した。その結果、ルーブル腎炎、CNSループス、漿膜炎、anti-ds DNA、anti-Sm、anti-RNP、anti-SS-A/Ro、anti-SS-B/La、aCL (anticardiolipin)、rheumatoid factorのいずれとも、明らかな関連は示されなかった。

結論・展望：本研究は、これまで白人集団でしか検討されていなかったTYK2のSLE疾患感受性を、初めてアジア集団で検討した。日本人SLEにおいてTYK2は、リスクファクターでない事が示された。

TYK2遺伝子は、JAKファミリーに属し、linkage analysisにより報告されたSLE疾患感受性領域の一つである19p13.2に位置している。その産物であるTYK2蛋白は細胞内シグナル伝達分子で、IFN α がIFN受容体に結合するとリクルートされてきて、JAK-STATシグナルカスケードを活性化させる。その結果、更に多くのType I IFNおよびType I IFN inducible geneの発現が起こる。この一連のType I IFN関連遺伝子群の亢進が、白人集団においてはSLEの発病および病態と深く関わっているのではないかと考えられる。一方、日本人では全く関連がないか、もしくはマイナーなファクターであると考えられ、同じ疾患でも原因となる遺伝子には人種差があることが示唆される。特に、SLEのように多様な病態を示す複合疾患の場合、数多くの比較的弱いリスクファクターが、人種によって異なった浸透度に関与している可能性が考えられる。今後もSLEの疾患感受性遺伝子の検討は、集団ごとに慎重に行っていく必要がある。

本研究で検討を行ったSNPのうち、rs2304256はアミノ酸置換を伴ったが(Val→Phe)、rs12720270とrs280519はイントロンSNPであった。疾患関連を示すSNPは、それ自体が機能的に疾患リスクを発揮している可能性はもちろんある。しかしながら、それと連鎖不平衡の関係にある近傍のSNPが、本質的な疾患リスクである可能性も考えられる。よって今後は、周辺SNPの網羅的タイピングも必要である。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第 2094 号	氏 名	京極 千恵子
論文題目 Title of Dissertation	日本人におけるチロシンキナーゼ <i>TYK2</i> 遺伝子多型と SLE 疾患感受性との関連解析 Lack of association between tyrosine kinase 2 (<i>TYK2</i>) gene polymorphisms and susceptibility to SLE in a Japanese population		
審査委員 Examiner	主 査 南 康博 Chief Examiner 副 査 秋田 穂来 Vice-examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner		

(要旨は1,000字~2,000字程度)

全身性エリテマトーデス (SLE) は、炎症性の自己免疫疾患で、自己抗体の産生と免疫複合体の蓄積により、全身の多様な臓器に症状が現れる難病の一つである。国内に2~4万人程の患者がおり、男女比は1:9で出産可能な女性に発症する。本来免疫は外来微生物等に対する防御機構であるが、SLE患者では自己寛容が破綻しており、免疫系が自身の体を攻撃し、全身に様々な炎症反応を引き起こす。また、紫外線、ウイルス感染、妊娠・出産などがその誘因となることが知られている。その原因は不明であるが、双子研究やSLE家系の研究から、遺伝的要因が大きく関与することが示唆されている。

近年、SLEの末梢血単核球細胞を用いたマイクロアレイ解析により、特定のType I IFN関連遺伝子群がSLE患者で高発現していることが示され、SLEの予防や診断、治療に役立つバイオマーカーとして期待されている。本研究では、Type I IFNに着目し、そのシグナル伝達系に関わる遺伝子の一つであるtyrosine kinase 2 (*TYK2*)とSLE疾患感受性との関連を検討した。

近年、Type I IFNシグナル伝達系の遺伝子多型が、SLEの疾患感受性に関与していることが、白人集団で続いて報告されている。これまでIFN-regulatory factor 5 (*IRF5*)、tyrosine kinase 2 (*TYK2*)、signal transducer and activator of transcription 4 (*STAT4*)が報告されている。本研究では、アジア人集団で検討されたことのない*TYK2*に関して、日本人におけるSLE疾患感受性を検討することを目的とし、白人集団においてSLE疾患感受性が示されている3つのSNP(rs12720270, rs2304256, rs280519)についてCase-control関連解析を行った。

血縁関係のないSLE患者411人と健常者ボランティア467人の末梢血リンパ球から抽出したゲノムDNAをサンプルとした。このうち、SLE患者69人、健常者94人が第1サンプルセット、SLE患者342人、健常者373人が第2サンプルセットである。SNPタイピングは、Real-Time PCR SystemとSNP Genotyping Assaysにより行い、タイピング結果は、ランダムに抽出したサンプルのダイレクトシーケンシングによって確かめた。

SNP間の連鎖不平衡は、Haploview v3.32 softwareにより解析した。Case-control関連解析は χ^2 検定によって行い、 $P < 0.05$ を有意とした。また、International HapMap Projectの45人の日本人サンプルおよび45人の中国人サンプルのSNPデータを参考にした。

その結果、白人集団でSLEの疾患リスクに関与すると報告されている4つのSNP(rs12720270, rs2304256, rs280519, rs12720356)のうち、rs12720356は日本人には存在しない、または極めて稀なSNPであることが示された。他の3つのSNPについて、第1サンプルセットでタイピングを行った結果、いずれのSNPにも有意な関連は見られなかった。しかし、rs12720270-Tアリル、rs2304256-Aアリル、rs280519-GアリルはSLEで増加傾向にあった。これら3つのSNP間には、非常に強い連鎖不平衡の関係が存在し、SLEで増加傾向にあるアリルは、いずれも同一ハプロタイプ上に存在する可能性が高いことが示唆された。

次に、rs2304256 を Tag-SNP として選び、第 2 サンプルセットでのタイピングを行った結果、Case-control 関連解析においても rs2304256 の関連は否定された。さらに、rs2304256 の遺伝子型と SLE 患者の臨床症状との相関を検討したところ、ルーブル腎炎、CNS ループス、漿膜炎、anti-ds DNA、anti-Sm、anti-RNP、anti-SS-A/Ro、anti-SS-B/La、anti-cardiolipin、rheumatoid factor のいずれとも明らかな関連は示されなかった。

本研究は、これまで白人集団でしか検討されていなかった *TYK2* の SLE 疾患感受性を初めてアジア集団で検討したものであるが、従来解明されていなかった日本人 SLE において *TYK2* はリスクファクターでないことを見出したものとして価値ある業績と認める。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。