京都大学	博士（医学）	氏　名	寺尾　知可史
論文題目	*MBP* and *AIRE* are genetic determinants for predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population (MBP と AIRE 遺伝子は日本人における関節リウマチの疾患感受性遺伝因子である)		

（論文内容の要旨）

＜背景＞関節リウマチ(以下 RA)は世界最多の慢性関節炎である。その発症に関わる遺伝因子として、HLA 特に HLA-DRB の関与が知られてきた。しかし、HLA は全遺伝因子の 1/3-1/2 を説明できるに過ぎない。HLA 以外の遺伝因子も多数が報告されてきたが、それらの関与は人種差が大きく、全遺伝因子の一部しか説明できない。よって RA にはまだ未発見の遺伝因子が多数存在するものと考えられている。

＜目的＞一塩基多型(以下 SNP)を用いた大規模な全ゲノム関連解析(以下 GWAS)にて、未知の RA 疾患感受性遺伝因子を発見する。新規遺伝因子が人種を超えて RA と関連しているかを検証する。新規感受性遺伝因子の機能解析を行う。

＜方法＞990 人の RA 患者と 1,236 人の健常人 DNA 検体を用い、イルミナ社のインフィニウムアレイにてタイピングを行い、225,079SNP に関して関連解析を行った(GWAS1)。結果を 2,138 人と 1,803 人の症例対照群で追加タイピングにて確認した。

その後 GWAS サンプルの増加に伴い、1,247 人の RA 患者と 1,486 人の健常人にて 277,420SNP に関して関連解析を行った(GWAS2)。結果を 4168 人と 5003 人の症例対照群にて確認した。関連を見出された新規遺伝因子の遺伝子発現との関わりをアレル特異的 RT-PCR あるいはデータベースのデータを抽出して解析した。関連遺伝因子領域のタンパクの滑膜における発現を RA 患者および対照患者の滑膜を用い免疫組織化学にて検討した。また、領域のタンパクに対する血中の自己抗体の有無に関し RA と対照群の血漿を用い ELISA 法及び Westernblot 法にて検討した。

＜結果＞GWAS1,2 とも、HLA 領域は強い関連を示したが、非 HLA 領域に関しては有意な未報告の領域は認められなかった。GWAS1 に関し、p 値が上位の SNP を追加タイピングし、ミエリン塩基性蛋白(以下 MBP)遺伝子上の SNP である rs2000811 が GWAS の有意水準に達することを見出した(p 値 $2.7x10^{-8}$)。GWAS2 においては p 値が 0.001 より小さく、免疫系の遺伝子における SNP を探索した。その結果、AIRE 遺伝子上の rs2075876 と rs760426 に着目するに至った。確認タイピングの結果、両 SNP とも有意水準に達した(p 値は各々 $3.6x10^{-9}$ と $4.4x10^{-8}$)。欧米人における RA との関連を調べるため GWAS データで結果を確認したが、両遺伝子とも関連は否定的であった。このことから、両遺伝子と RA との関連は日本人特異的なものと考えられた。アレル特異的 RT-PCR の結果、MBP 遺伝子の発現上昇に rs2000811 リスクアレルが関わっていること、免疫組織化学の結果、RA 滑膜表面に MBP タンパクが発現していることを見出した。また、RA 患者に抗 MBP 抗体が高頻度に出現していること、それらの抗体がシトルリン化 MBP を主に認識していることを証明した。

AIRE の SNP はアミノ酸置換変化を伴う SNP と強い連鎖不平衡にあった。データベースから遺伝子の発現と SNP との相関を調べた結果、rs2075876 のリスクアレルは AIRE の発現と負の相関が認められた。

＜結論＞MBP、AIRE 遺伝子は日本人 RA の発症の遺伝的因子であることが示された。MBP 遺伝子の発現上昇と AIRE 遺伝子の発現低下が RA 発症に関わっている可能性が示唆された。MBP タンパクが RA 滑膜に発現していること、MBP に対する抗体が RA に存在し、主にシトルリン化 MBP を認識していることが示された。

（論文審査の結果の要旨）

関節リウマチ(以下 RA)の発症関連遺伝因子は大部分が未知である。本学位授与申請者らは一塩基多型(以下 SNP)を用いた大規模な全ゲノム関連解析にて、RA 関連遺伝因子を発見することを目的に 990 人の RA 患者と 1,236 人の健常人 DNA を用い、225,079SNP に関して関連解析を行い(GWAS1)、 2,138 人と 1,803 人の症例対照群で確認した。その後 1,247 人と 1,486 人の症例対照群にて 277,420SNP に関して関連解析を行い (GWAS2)、4168 人と 5003 人の症例対照群にて確認した。

その結果、関連 SNP として GWAS1 でミエリン塩基性蛋白(以下 MBP)上の SNP を、GWAS2 では autoimmune regulator(AIRE)上の SNP を見出した(p 値 $2.7x10^{-8}$ と $3.6x10^{-9}$)。実験的手法により、MBP の発現上昇にリスクアレルが関連していること、RA 滑膜に MBP タンパクが発現していること、RA 患者に抗シトルリン化 MBP 抗体が高頻度に出現していることを証明した。AIRE の SNP はアミノ酸置換変化を伴う SNP と強く連鎖しており、リスクアレルは AIRE の発現と負の相関が認められた。

これらの結果から、MBP および AIRE 遺伝子は日本人 RA の発症の遺伝的因子であり、それら遺伝子の発現やタンパクが RA 病態と関わっていることが示唆された。

以上の研究は RA 発症の遺伝的背景および病態の解明に貢献し、RA の新たな遺伝的マーカー、血清学的マーカーとして寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２３年６月２４日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降