

学 位 論 文 題 名

Association between a C + 33T Polymorphism
in the IL-4 Promoter Region and Total Serum IgE Levels

(インターロイキン 4 遺伝子プロモーター領域の
C + 33T 多型と血清総 IgE 値との相関)

学位論文内容の要旨

(研究目的)

喘息やアレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアトピー性疾患の患者において血清総 IgE 値は高値を示すことが知られている。血清総 IgE 値は遺伝と環境要因によって決定されるが、遺伝要因の候補として、連鎖解析により 5 番染色体長腕上のいくつかの遺伝子が報告されている。我々は 5 番染色体長腕上に存在するインターロイキン 4 遺伝子のプロモーター領域に新たな多型 C+33T を見いだした。インターロイキン 4 は免疫グロブリンのクラススイッチにおいて IgE の産生に重要な役割を果たすことから、この多型を遺伝要因の候補の一つとして、日本人の集団について血清総 IgE 値との相関分析を施行した。

(対象と方法)

対象は喘息患者 120 人、健常者 120 人からなる合計 240 人の日本人である。この内 230 人は非喫煙者であり、10 人は既喫煙者であるが、研究開始時において少なくとも 2 年間は禁煙をしている。喘息患者は北海道大学医学部附属病院第一内科外来にて臨床症状、可逆性の閉塞性換気障害、メサコリンに対する気道過敏性試験をもとに喘息と診断されている。健常者は健康診断を希望したものから、喘息を含めたアレルギー性疾患の既往のない者、何らかの薬剤の投与を受けていない者を選んだ。血清総 IgE 値の測定は radioimmunosorbent test (IgE RIST) を用いた。C+33T 多型の同定は制限酵素 *MnI* を用いた PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法を使用した。

(統計分析)

初めに 240 人について、血清総 IgE 値に対する C+33T 多型、喘息の有無、年齢、性別の影響と、C+33T 多型と喘息の相互作用を要因分散分析 (factorial analysis of variance) で検討した。次に喘息患者 120 人、健常者 120 人の各々の集団について血清総 IgE 値に対する C+33T 多型、喘息の有無、年齢、性別の影響を重回帰分析にて検討した。血清総 IgE 値は分布を正規化するために対数化した。

(結果)

240 人において C+33T 多型は Hardy-Weinberg 均衡を満たしており、喘息患者、健常人は同一の集団から抽出されたことを示した。喘息患者と健常人の間で C+33T 多型頻度の違いは認められなかった。喘息患者の血清総 IgE 値は $2.40 \pm 0.62 \log \text{IU/ml}$ (mean \pm SD) であり、健常人の $1.75 \pm 0.60 \log \text{IU/ml}$ よりも有意 ($p < 0.001$) に高値であった。240 人について対立遺伝子 T (T allele) を持つ者は持たない者に比べて有意に高値の血清総 IgE 値を示した ($p=0.016$, 2.12 ± 0.55 VS $1.81 \pm 0.56 \log \text{IU/ml}$)。血清総 IgE 値に対する C+33T 多型と喘息の有無の相互作用は認められなかった。喘息患者と健常者を分けた分析では、喘息患者においては対立遺伝子 T を持つ者は持たない者に比べて有意に高値の血清総 IgE 値を示した ($p=0.039$) が、健常人においては有

意ではなかった($p=0.129$). また, FEV1.0%を喘息の重症度の指標として, 対応のない場合の t 検定を施行したが, 対立遺伝子 T を持つ者と持たない者との間で有意な違いは認められなかった.

(考察)

我々の分析では, 日本人の集団においてインターロイキン 4 遺伝子プロモーター領域の C+33T 多型と喘息の発症や重症度との関係は認められなかった. しかし喘息患者においてのみアトピーの指標の一つである血清総 IgE 値との相関を認めた. これは喘息が発症する過程において, その原因となる遺伝的または環境的な要因が, C+33T 多型の持つ潜在的な血清総 IgE 値への影響が発揮される上で必要となる可能性を示唆している. 今後, この多型の IL-4 遺伝子の転写過程や転写後のメッセンジャーRNA の安定性に及ぼす影響等の機能的な研究や C-589T 等他の多型とのハプロタイプ (haplotype) を同定した分析が期待される.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 正 治

副 査 教 授 小 野 江 和 則

副 査 教 授 大 野 重 昭

学位論文題名

Association between a C + 33T Polymorphism in the IL-4 Promoter Region and Total Serum IgE Levels

(インターロイキン4遺伝子プロモーター領域の
C + 33T多型と血清総IgE値との相関)

喘息やアレルギー性鼻炎, アトピー性皮膚炎などのアトピー性疾患の患者において血清総 IgE 値は高値を示すことが知られている。血清総 IgE 値は遺伝と環境要因によって決定されるが, 遺伝要因の候補として, 連鎖解析により5番染色体長腕上のいくつかの遺伝子が報告されている。申請者は5番染色体長腕上に存在するインターロイキン4遺伝子のプロモーター領域に新たな多型 C+33T を見いだした。インターロイキン4は免疫グロブリンのクラススイッチにおいて IgE の産生に重要な役割を果たすことから, 申請者は, この多型を遺伝要因の候補の一つとして, 日本人の集団について血清総 IgE 値との相関分析を施行した。

対象は喘息患者 120 人, 健常者 120 人からなる合計 240 人の日本人である。この内 230 人は非喫煙者であり, 10 人は既喫煙者であるが, 研究開始時において少なくとも2年間は禁煙をしている。喘息患者は北海道大学医学部附属病院第一内科外来にて臨床症状, 可逆性の閉塞性換気障害, メサコリンに対する気道過敏性試験をもとに喘息と診断されている。健常者は健康診断を希望したものから, 喘息を含めたアレルギー性疾患の既往のない者, 何らかの薬剤の投与を受けていない者を選ばれた。血清総 IgE 値の測定は radioimmunosorbent test (IgE RIST) を用いられた。C+33T 多型の同定は制限酵素 *Mnl* I を用いた PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法が使用された。

初めに 240 人について, 血清総 IgE 値に対する C+33T 多型, 喘息の有無, 年齢, 性別の影響と, C+33T 多型と喘息の相互作用を要因分散分析 (factorial analysis of variance) で検討し, 次に喘息患者 120 人, 健常者 120 人の各々の集団について血清総 IgE 値に対する C+33T 多型, 喘息の有無, 年齢, 性別の影響を重回帰分析にて検討している。血清総 IgE 値は分布を正規化するために対数化された。

240 人において C+33T 多型は Hardy-Weinberg 均衡を満たしており, 喘息患者, 健常人は同一の集団から抽出されたことが示された。喘息患者と健常人の間で C+33T 多型頻度の違いは認められなかった。喘息患者の血清総 IgE 値は $2.40 \pm 0.62 \log \text{IU/ml}$ (mean \pm SD) であり, 健常人の $1.75 \pm 0.60 \log \text{IU/ml}$ よりも有意 ($p < 0.001$) に高値であった。240 人について対立遺伝子 T (T allele) を持つ者は持たない者に比べて有意に高値の血清総 IgE 値を示した ($p=0.016$, 2.12 ± 0.55 VS $1.81 \pm 0.56 \log \text{IU/ml}$)。血清総 IgE 値に対する C+33T 多型と喘息の有無の相互作用は認められなかった。喘息患者と健常者を分けた分析では, 喘息患者においては対立遺伝子 T を持つ者は持たない者に比べて有意に高値の血清総 IgE 値を示した ($p=0.039$) が, 健常人においては有

意ではなかった($p=0.129$). また, FEV1/FVC を喘息の重症度の指標として, C+33T 多型との相関関係を分析したが, 有意ではなかった. 本研究においては, 日本人の集団においてインターロイキン4遺伝子プロモーター領域の C+33T 多型と喘息の発症や喘息患者の肺機能との関係は認められなかった. しかし喘息患者においてのみアトピーの指標の一つである血清総 IgE 値との相関を認めた. これは喘息が発症する過程において, その原因となる遺伝的または環境的な要因が, C+33T 多型の持つ潜在的な血清総 IgE 値への影響が発揮される上で必要となる可能性を示唆している. 今後, この多型の IL-4 遺伝子の転写過程や転写後のメッセンジャーRNAの安定性に及ぼす影響等の機能的な研究や C-589T 等他の多型とのハプロタイプ (haplotype) を同定した分析が期待される.

審査にあたり, 副査大野教授より, 1) 対立遺伝子+33T の人類の進化の過程での影響, 2) 特異的 IgE と C+33T 多型との相関についての検討結果, 3) C+33T 多型の機能的側面の研究方法, 4) C+33T 多型の日本人以外の現在までの報告の有無について, 副査小野江教授からは, 1) 寄生虫感染の観点から C+33T 多型の生存への影響, 2) 塩基配列の違いが IgE 産生の違いに至るまでの機序について, 主査西村教授からは, 1) 喘息患者に限って多型間で有意差が生じたのは何故か, 2) 喘息患者をアトピー性と非アトピー性に分けて分析した場合の結果, 3) 本研究とこれまでに報告された日本人以外の研究結果との相違点と一致点について質問があった. 申請者はこれらの質問に対して, 文献を引用しながら, 概ね適切な解答を行った.

審査員一同は本研究を高く評価し, 申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した.