

審査の結果の要旨

氏名 山田 亮

本研究は、複合遺伝性疾患の一つである慢性関節リウマチ (RA) とインターロイキン-3 遺伝子のプロモータ領域の1塩基多型 (SNP) との間に関連を検出し、その SNP の機能上の役割について解析を加えた。また、SNP を用いたゲノムワイドな複合遺伝性疾患関連遺伝子解析を実施する上で必要と考えられる、2 遺伝子座の組合せ効果について、最尤法による推定法を構築しその RA 関連遺伝子検出への応用について、考察している。

1. インターロイキン-3 遺伝子のプロモータ領域(転写開始点より 16 塩基対 5'側)の SNP につき、ACR revised criteria(1987)を満足する日本人 RA 患者 254 人と 881 人のコントロールとの間で、関連検定を行った。SNP のジェノタイプピングは、PCR-ASO アッセイにより行われた。アレル頻度による χ^2 検定において、0.0002 の p 値が、またオッズ比として 2.24(95%信頼区間 1.44-3.49)が得られた。
2. RA の疫学的に特徴的な亜集団である、非高齢発症の女性群においては、この関連がさらに強く認められ、 χ^2 検定における p 値として、0.000004 が、またオッズ比をとって 7.27(95%信頼区間 2.80-18.89)が得られた。
3. 同 SNP はインターロイキン-3 遺伝子のプロモータ領域に位置するものであることから、その転写調節に及ぼす影響について、ルシフェラーゼアッセイを実施した。同アッセイにおいては、Jurkat 細胞を使用し、Dual SeaPansy ルシフェラーゼシステムを用いてプロモータ活性を測定した。SNP を含むプロモータ領域を、長短併せ 2 分節について、PMA+Ionomycin 刺激によるプロモータ活性の変化を比較したが、ジェノタイプ間で有意な差は認めなかった。
4. インターロイキン-3 遺伝子及び、その隣接遺伝子である GM-CSF 遺伝子について、SNP の検出を試み、インターロイキン-3 のコーディング領域の SNP および、GM-CSF 遺伝子のコーディング領域の SNP が検出された。これら 2 SNP につき、同様にケースコントロール関連検定を行ったが、インターロイキン-3 のプロモータ SNP よりも強い関連は検出されなかった。これら、3 SNP の間の連鎖不平衡状態についても解析を行い、この 3 SNP の存在する範囲には有意な連鎖不平衡が存在していることが確認された。
5. 本研究の検体収集地域である関東圏と関西圏との間の集団的遺伝的階層化の有無について、マルコフ連鎖モンテカルロ法による推定プログラムを作成し、次のことを確認した。両圏間には、階層化が例え存在するとしても、複合遺伝性疾患関連遺伝子を SNP を用いてケースコントロール関連解析によって検出しようとする試み

を否定するほどに大きいことはないと予測された。

6. ゲノム上に物理的に独立して存在する2遺伝子座が相互に影響を及ぼしあいながら、疾患感受性を規定している状態を想定し、それぞれの遺伝子座に存在するSNP2個が形成する複合ジェノタイプに、相対危険度を設定することによりモデル化した。2SNPの観測データから、最尤推定法により2遺伝子座間の関係を推定するプログラムを作成した。そのプログラムを、小規模ながら、複数のSNPについて行った、RA ケースコントロール関連解析データへ適用し、その実用性について検討し、さらに、大規模ケースコントロール解析における有用性について、シミュレートした。

以上、本論文は、候補遺伝子手法によってインターロイキン-3を取り上げ、SNPを用いたケースコントロール関連解析より、同遺伝子もしくはその近傍にRA関連遺伝子が存在することを明らかにするとともに、SNPを用いてゲノムワイドにRA関連遺伝子探索を行うにあたっての解析手段として、2遺伝子座の相互作用を推定しそれを関連遺伝子検出に応用するための遺伝統計学的方法論を提示した。これらは、RA関連遺伝子の検出に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。