

[別紙 2]

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 姜 建宇

本研究は、炎症性腸疾患の感受性遺伝子を同定するために、最近報告された連鎖解析の結果を基に腸管ムチン遺伝子 *MUC3* にみられる多型と炎症性腸疾患発症との関連について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. *MUC3* 蛋白の分子量から推定されるこの遺伝子の大きさとこれまでに報告された *MUC3* 遺伝子の塩基配列との対比、および制限酵素 *PvuII* を用いた Southern 解析の結果から、*MUC3* は相同性の高い 3'領域を持つ 2 つの遺伝子から成るという仮説を立て、RACE (rapid amplification of cDNA ends) 法によりそれぞれの 3'領域の塩基配列を明らかにしてそれを証明した。これにより、*MUC3* がこれまで考えられていたような分泌型のムチンをコードする単一の遺伝子ではなく、ともに膜結合型のムチンをコードする 2 つの遺伝子 *MUC3A* と *MUC3B* から成ることが示された。
2. アミノ酸配列のドメイン検索により、*MUC3A*・*MUC3B* ともに細胞内領域にあるチロシン残基が Src homology 2 (SH2) ドメインを持つ蛋白に認識され細胞内シグナル伝達に関与する特異的なモチーフを形成することが示され、このモチーフを介した細胞内シグナル伝達が両遺伝子の機能に関与すると思われた。
3. Northern 解析により、*MUC3B* の発現が消化管に限局しているのに対し、*MUC3A* は消化管のほかに心・肝でも強く発現しており、*MUC3A* は単なるムチンではなく膜蛋白として何らかの機能を持つものと思われた。*MUC3A* は消化管では特に小腸で強く発現していることが示された。
4. 制限酵素 *PvuII* を用いた Southern 解析により、*MUC3A* の翻訳領域内にある 51 bp を一単位とする反復配列の反復単位の数が通常と異なる rare allele を持つ人はオッズ比 2.64 (95%信頼区間 1.60-4.33,  $p=0.0001$ ) で潰瘍性大腸炎を発症するリスクが高くなることが示された。また、この関連が日本人のみならず白人でも同様に認められることが示された。
5. *MUC3A*・*MUC3B* 遺伝子の 3'領域の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) を direct sequencing 法によりスクリーニングし、ここで認めた各 SNP に対してコントロールに於ける各アレルの頻度を ASO (allele-specific oligonucleotide hybridization) 法また

は direct sequencing 法により明らかにした。これにより、*MUC3A*・*MUC3B* とともに 2 で述べたチロシン残基を含む多型が見られ、シグナル伝達に関与するモチーフを形成するアレルと形成しないアレルが存在することが示された。

6. 5で認めた *MUC3A* と *MUC3B* の各 SNP に対して疾患群で同様に各アレルの頻度を調べ、*MUC3A* では上記のモチーフを形成しないアレルの頻度が Crohn 病兄弟発症例において有意に高いことが示された（兄弟のうちの年少者でオッズ比 2.07, 95%信頼区間 1.26-3.40,  $p=0.0042$ 、年長者でオッズ比 1.97, 1.20-3.23,  $p=0.0075$ ）。次に *MUC3A* が小腸に特に強く発現していることからこの関連を疾患部位別・genotype 別に解析し、このモチーフを形成しないアレルをひとつ持つ場合にはいずれの群においてもコントロールと差がなかったが、このアレルをふたつ持つ場合にはオッズ比 5.48（95%信頼区間 1.71-17.54,  $p=0.0042$ ）で小腸型 Crohn 病を、オッズ比 3.65（1.40- 9.54,  $p=0.0083$ ）で小腸・大腸型 Crohn 病を発症するリスクが高くなることが示された。このことは Crohn 病で報告されている劣性遺伝形式によく一致していた。*MUC3B* でも同様の多型を認めたが、疾患群との関連は全く見られず、*MUC3A* で見られた関連が単なる偶然によるものではないものと思われた。

以上、本論文はこれまで単一の分泌型ムチンの遺伝子と考えられていた *MUC3* が膜結合型のムチンをコードする 2 つの遺伝子 *MUC3A* と *MUC3B* から成ることを明らかにし、このうち *MUC3A* が潰瘍性大腸炎と Crohn 病に異なったメカニズムで関与する可能性があることを示した。本研究は炎症性腸疾患の発症機序の解明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。