

論文内容の要旨

論文題目

Transcriptome Mapping and Functional Analysis of Rheumatoid Arthritis-Related Genes

(発生工学的手法を用いた関節リウマチ発症関連遺伝子の機能解析)

氏名

藤門 範行

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA) は関節滑膜病変を主徴とする全身性の慢性炎症性疾患で、代表的な自己免疫疾患の一つである。患者は人種に関わりなく世界中に分布しており、世界人口の約 1%が罹患するきわめて重要な疾患である。RA の病因には、遺伝的素因、免疫異常、環境要因などが複雑に関与していることが推測されているが、その詳細は不明である。そのため、RA を予防することは現時点では不可能であり、早期診断、早期治療に努める必要がある。しかしながら、現状では RA 特異的疾患マーカーや責任遺伝子の同定が不十分であり、RA 関連遺伝子の同定とその発現制御メカニズムの解明、新たな治療法の開発が強く求められている。

RA の病態解析に有用な動物モデルとして、コラーゲン誘導関節炎 (collagen-induced arthritis: CIA) などの誘導型モデル、MRL/lpr マウスや SKG マウスのような突然変異モデル、発生工学的手法によ

って作製された遺伝子改変モデルなどが知られている。我々は発生工学的手法により HTLV-I-トランスジェニック (transgenic: Tg) マウス、IL-1Ra-ノックアウト (knockout: KO) マウスの2種類のモデルマウスを作製し、これらのモデルがヒトにおける RA の病態を忠実に再現していることを証明している。本研究では、病因の異なる2種類のモデルマウスを用いてマイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行い、RA 関連遺伝子の同定を試みた。さらに、新規 RA 関連遺伝子として同定した DCIR について、発生工学的手法を用いた機能解析を行った。

CHAPTER 1において、HTLV-I-Tg マウスおよび IL-1Ra-KO マウスの2種類のモデルマウスを用いて関節炎発症時の遺伝子発現プロファイルを解析した。マイクロアレイによる解析の結果、HTLV-I-Tg マウスと IL-1Ra-KO マウスの間の遺伝子発現には強い相関があり、両モデルマウスは遺伝子発現において大部分が類似したモデルであるということが示唆された。関節炎の発症あるいは病態形成に、普遍的に関連するような遺伝子を抽出するため、病因の異なる2種類のモデルマウスにおいて、共通かつ有意に発現が変動する遺伝子を SAM (Significance Analysis of Microarrays) 法を利用して抽出した。次に、これらの共通かつ有意に発現が亢進した遺伝子をマウス全ゲノムにマップすることによって発現亢進遺伝子の存在するゲノム領域の抽出を試みた (図1)。その結果、RA との関連が知られている *H-2* 遺伝子クラスターを含む17番染色体のB1サイトバンドに最も強いピークが観察された。また、*Saa* や *Ms4a*、*Ccl1/Slfn* 遺伝子クラスターといった関節炎関連遺伝子クラスターを抽出することに成功した。これらの結果から、網羅的遺伝子発現解析とマウスゲノム情報を利用することにより、特定の染色体領域に関節炎発症関連遺伝子クラスターが存在することが明らかとなった。同定されたクラスターの中には、これまでに連鎖解析、関連解析によって疾患感受性が示唆されている領域と一致するクラスターが存在することから、遺伝子発現情報に基づく機能的アプローチが疾患感受性遺伝子の同定に有用であることが示唆された。

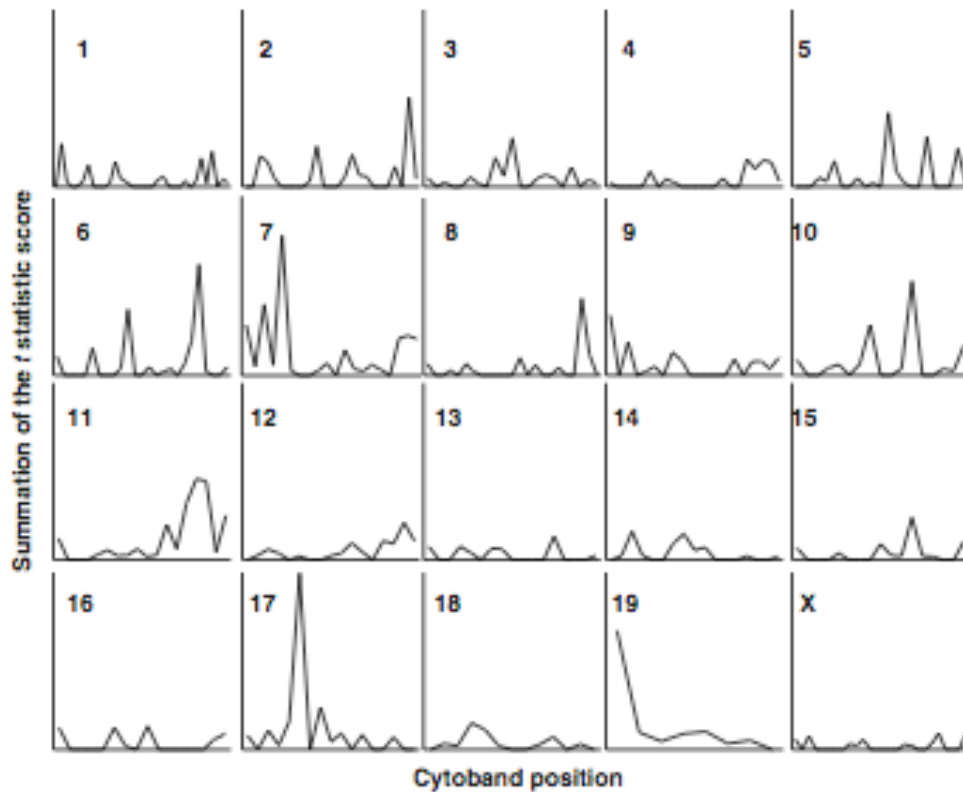


図1 関節炎関連遺伝子のトランスクリプトームマッピング解析

さらに CHAPTER II では、本研究において同定された新規 RA 関連遺伝子について生物学的な機能解析を行った。RA モデルマウスを用いたトランスクリプトームマッピング解析の結果、両モデルマウスにおいて樹状細胞 (dendritic cell: DC) に発現する C 型レクチンレセプター (C-type lectin receptor: CLR) の遺伝子発現が亢進していることを初めて見出した。本研究では、特に抑制性モチーフ (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif: ITIM) を有する DCIR に注目し、その生理機能および RA との関連を明らかにすることを目的とした。DCIR はシグナル伝達モチーフ ITIM と膜貫通領域 (transmembrane: TM)、糖鎖認識ドメインから成る CLR である。ITIM と TM をほぼ完全に欠損するようなターゲティングベクターを構築し、定法に従って DCIR 遺伝子欠損 (DCIR-KO) マウスを作製した。DC 分化における DCIR の役割を解析するために、GM-CSF による骨髄由来 DC (BMDC) の分化誘導を行った結果、DCIR-KO マウスにおいて、CD11c、MHC クラス II 陽性の BMDC

の増殖、分化能が亢進していることが観察された。次に、関節炎における DCIR の役割を解析するため CIA の系を用いた結果、DCIR-KO マウスでは発症率、重症度が有意に上昇した (図 2)。さらに興味深いことに、DCIR-KO マウスが加齢に伴って唾液腺炎、付着部炎を自然発症することを見出した。これらの結果から DCIR は GM-CSF シグナルに抑制的に作用することによって、生体内における骨髄由来 DC の分化、増殖を制御していると考えられる。また、CIA の増悪化および加齢に伴う自己免疫様疾患の自然発症は、DCIR の自己免疫疾患における重要性を示唆すると共に、本研究において初めて作製された DCIR-KO マウスが新たな自己免疫疾患自然発症モデルとして有用であることを示している。

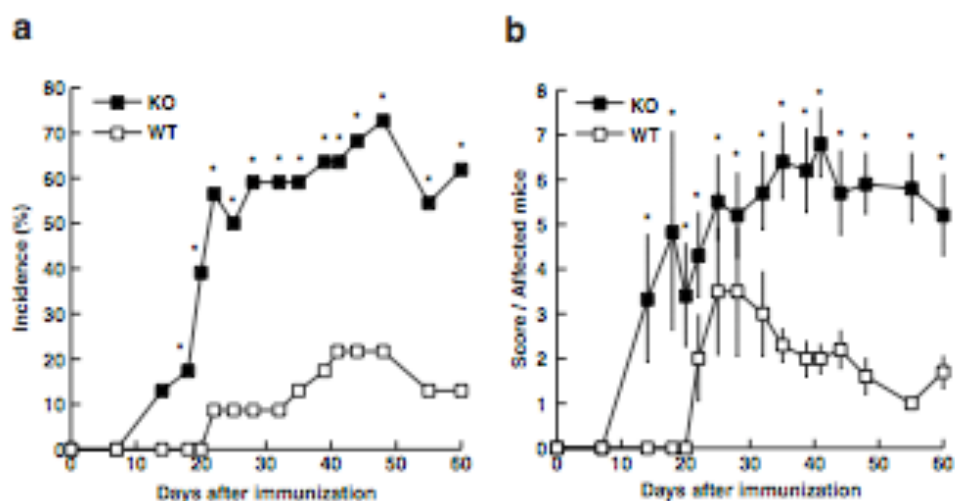


図 2 DCIR-KO マウスにおける CIA の増悪化 (a. 発症率、b. 重症度)

本研究では、RA モデルマウスの網羅的遺伝子発現解析とマウスゲノム情報を利用したトランスクリプトームマッピングにより、多数の RA 関連遺伝子クラスターを同定した。さらに、新規 RA 関連遺伝子として同定した DCIR について発生工学的手法を用いた機能解析を行った結果、DCIR が自己免疫の発症に重要な役割を果たしていることが示唆された。したがって、こうしたアプローチが多因子疾患の感受性遺伝子探索に有用であることが示され、DCIR-KO マウスの解析は RA の病態解明だけでなく、新規治療法の開発にも有用な情報を提供するものと考えられる。