

Title	日本人 I 型糖尿病の発症に關与するHLA遺伝子の分析
Author(s)	山縣, 和也
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37199">https://hdl.handle.net/11094/37199</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【45】

氏名・(本籍)	やま 山	がた 縣	かず 和	や 也
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9696	号	
学位授与の日付	平成3年3月26日			
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	日本人I型糖尿病の発症に関与するHLA遺伝子の分析			
論文審査委員	(主査)			
	教授	垂井清一郎		
	(副査)			
教授	田中	武彦	教授	荻原 俊男

## 論文内容の要旨

### (目 的)

I型糖尿病は、遺伝的背景を有する個体に、自己免疫機序を基盤として膵島傷害が惹起され、インスリン依存性に落ちいる糖尿病の病型である。I型糖尿病発症に関与する遺伝子としてはヒト主要組織適合性抗原遺伝子であるHLA (human leukocyte antigen) 遺伝子が注目されている。HLA抗原は免疫反応における自己、非自己の識別因子であり、顕著な多型性を有し、多くのアロ抗原(タイプ)が知られている。これまで血清学的タイピングにより、白人I型糖尿病はDR3, 4と、日本人I型糖尿病はDR4, 9と相関することが知られていた。しかし最近、遺伝子解析の結果、多くの白人患者ではDQ抗原のβ鎖の57番目のアミノ酸がアスパラギン酸から非アスパラギン酸に置換していることが判明し、DQβ鎖をコードするDQB遺伝子がI型糖尿病の発症遺伝子の一つである可能性が示唆されている。しかしこのアミノ酸が人種差を越えて重要であるかについての知見は得られておらず、日本人患者ではDQB遺伝子が本疾患にどのように関与しているのかは不明である。本研究では、日本人I型糖尿病患者においてDQB遺伝子を含むHLA遺伝子の各領域をDNAレベルで解析し、発症感受性を有する遺伝子について検討した。

### (方 法)

日本人I型糖尿病患者22名、健常コントロール32名のリンパ球からDNAを抽出した後、耐熱性DNAポリメラーゼであるTaqポリメラーゼを用いてPolymerase chain reaction (PCR)を行い、DQB, DQA, TNFβ遺伝子の可変領域を含むそれぞれ241, 237, 497bpの遺伝子断片を増幅した。またDR4, 9を有する日本人I型糖尿病患者10名および健常コントロール10名のDRB遺伝子可変領域

を含む210bpも増幅した。増幅したDQB, DRB遺伝子については各種アロタイプ特異的合成オリゴヌクレオチド (ASO) をプローブとしたドットプロットハイブリダイゼーションを行い, また, DQA, TNF  $\beta$  遺伝子についてはタイプ特異的に切断する制限酵素 (HaeIII, Dde I, Nco I) を用いた遺伝子多型分析 (RFLP) を行い, DNAタイピングをおこなった。一部の症例についてはPCRで増幅したDNAをpUC119ベクターにサブクローンした後, dideoxy法により塩基配列を決定した。

(成績)

- (1) DQBアレルについては, DQ  $\beta$ 鎖の57番目の位置にアスパラギン酸をもつDQW1.2が患者群で有意に減少していた ( $P=0.040$ )。また患者群ではコントロール群に比べて  $\beta$ 鎖の57番目の位置に非アスパラギン酸をもつDQW1.1, DQW8およびアスパラギン酸をもつDQW4, DQW9が増加傾向を示した。
- (2) DQ  $\beta$ 鎖の57番目に非アスパラギン酸 (NA), アスパラギン酸 (A) を有する頻度については, 患者群ではNA/NA, NA/A, A/Aがそれぞれ0%, 47.6%, 52.4%であった。健常群ではそれぞれ10%, 13.3%, 76.7%であり, A, NAの総数は両群で有意差を認めなかった。
- (3) DR  $\beta$ 鎖の57番目がNA/NA, NA/A, A/Aである頻度は, 患者群ではそれぞれ43%, 57%, 0%であった。健常群ではそれぞれ83%, 17%, 0%であり, DR  $\beta$ 鎖57番目のA, NAについては両群で有意な差を認めなかった。
- (4) DQAアレルについては, A1が患者群で有意に減少 ( $P=0.001$ ) しており, A3が患者群で有意に増加 ( $P=0.000$ ) していた。またA3アレルは通常DR4またはDR9に連鎖しているが, 今回の検討ではDR4, DR9を共に有さない2名の患者も両アレルにA3を有していた。このDR4, DR9を有さずにA3アレルを有した2名の患者およびDR4のホモの3名の患者のDQAアレルの塩基配列を可変領域を含む237bpにわたり決定したところ, すでに報告されているA3の配列と一致し, I型糖尿病に特異的な塩基配列は認められなかった。
- (5) TNF遺伝子のNco I切断部位の多型性の頻度については, 患者群と健常群で差を認めなかった。Nco I切断部位を有さない3名の患者では, この部位の塩基配列が, CCATGGからCCATGAと, GからAへの置換を有していたが, 同様の塩基置換は健常人の中にも認められた。

(総括)

- (1) DQ  $\beta$ 鎖57位のアスパラギン酸は, 日本人I型糖尿病の発症抑制因子となり得ないことが明らかになった。
- (2) DR  $\beta$ 鎖57位のアミノ酸や, TNFのNco I切断部位の多型性は日本人I型糖尿病の発症に際して遺伝的マーカーとはならないことが明らかとなった。
- (3) 日本人のI型糖尿病においてはDQAアレルが疾患感受性に深い影響を及ぼし, A1の存在は発症抑制的に, またA3の存在は発症促進的に作用することが明らかになり, 日本人におけるI型糖尿病の発症に深く関与している可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、日本人の I 型糖尿病患者において発症に関与する遺伝子を明らかにする目的で、HLA 遺伝子の DNA を分析した。その結果、日本人においては、白人と異なり DQ $\beta$  鎖 57 番目のアミノ酸よりも DQ $\alpha$  鎖が I 型糖尿病発症に重要であることを明らかにした。本研究により、DQA 遺伝子 (A3, A1) が日本人 I 型糖尿病の発症に関連していることが明らかになり、I 型糖尿病の成因を考える上で重要な示唆が得られた。また、これまで血清学的に判定され I 型糖尿病のマーカーとして使用されている DR 抗原に加えて、DQA という新たな遺伝子マーカーが得られたことは、発症の予測、予防という点で臨床的に重要な知見であり、本研究の成果は学位に値すると考えられる。