



Title	Linkage disequilibrium mapping of IDDM1, a human type 1 diabetes susceptibility gene in HLA region
Author(s)	川口, 義彦
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40442">https://hdl.handle.net/11094/40442</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	川口 義彦
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 12699 号
学位授与年月日	平成 8 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Linkage disequilibrium mapping of <i>IDDM1</i> , a human type 1 diabetes susceptibility gene in HLA region (連鎖不平衡法を用いた HLA 遺伝子領域のインスリン依存性糖尿病発症促進遺伝子 <i>IDDM1</i> のマッピング)
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 俊男 (副査) 教授 松沢 佑次 教授 高井新一郎

### 論文内容の要旨

#### 「目的」

インスリン依存性糖尿病 (IDDM) は脾 B 細胞の自己免疫破壊によるインスリン欠乏により特徴付けられ、その発症には遺伝因子及び環境因子が関与する。IDDM 発症に関与する遺伝因子としては 10 個以上の疾患感受性遺伝子がヒトゲノム上にマップされているが、その中でも第 6 染色体短腕 6p21 の HLA 遺伝子領域に存在する *IDDM1* は最も強力な疾患感受性遺伝子である。従来 HLA 遺伝子領域の中でも HLA-DQ 抗原をコードする DQA1, DQB1 遺伝子座の数個の対立遺伝子と IDDM との相関が報告されてきたが、HLA-DQ 遺伝子そのものが *IDDM1* であるのか、あるいは HLA-DQ 遺伝子と連鎖不均衡にある別の遺伝子が *IDDM1* であるのかは未だ不明である。

HLA-DQ 遺伝子より約 800 kb 遠位端側には *HSP70* 遺伝子座が、約 200 kb 中心体側には *TAP1*, *TAP2*, *LMP2* 遺伝子座がそれぞれ存在する。前者の遺伝子産物は炎症反応における modulator として、後者の遺伝子産物は免疫反応における抗原提示に関与する蛋白として、それぞれ IDDM 発症への関与が考えられることから、これらの遺伝子座も *IDDM1* の候補として考慮する必要がある。そこで本研究ではこれらの遺伝子座を HLA-DQ 遺伝子と共に解析することにより、*IDDM1* のマッピングを試みた。

#### 「方法」

*HSP70* 遺伝子座に対しては、IDDM 患者及び健常対照者の genomic DNA を制限酵素 *Pst*I で切断後、Southern blotting を行い、ヒトの *HSP70* genomic DNA と hybridization することにより遺伝子型を決定した。*TAP1*, *TAP2*, *LMP2* 遺伝子座については、アミノ酸変異を伴う一塩基置換部位を含む exon 領域を polymerase chain reaction (PCR) にて増幅の後、制限酵素 *Mbo* I, *Mae* I, *Hha* I でそれぞれ切断し、電気泳動によるバンドの移動度により遺伝子型を決定した。また *TAP1* の *Pvu* II 多型については、対象者の DNA を制限酵素 *Pvu* II で切断、blotting の後、*TAP1*-cDNA と hybridization を行うことにより解析した。DQA1, DQB1 遺伝子座は同領域を PCR にて増幅した後、各種制限酵素で切断、電気泳動を行うことにより遺伝子型を決定した。

#### 「成績」

*HSP70*, *TAP1*, *TAP2*, *LMP2* 各遺伝子座において IDDM との間に有意な相関を示した対立遺伝子は認められなかった。それに対して, *DQA1*, *DQB1* 遺伝子座では *DQA1\*0301*, *DQB1\*0303*, *DQB1\*0401* 各対立遺伝子が IDDM 患者群で有意に高率に認められ, 逆に *DQA1\*0101/0102*, *DQB1\*0601* 各対立遺伝子は低率であった。このことより *HSP70*・*TAP1*・*TAP2*・*LMP2* は *IDDM1* から除外され, *DQA1*, *DQB1* 遺伝子座の近傍に *IDDM1* が存在することが示された。

#### 「総括」

HLA-DQ 遺伝子座が IDDM との相関を認めたのに対し, *HSP70* 遺伝子座及び *TAP*, *LMP* 遺伝子座は IDDM との有意な相関を示さなかったことから, *IDDM1* は *HSP70* 遺伝子座と *LMP* 遺伝子座の間の HLA-DQ 遺伝子を含む約 1 Mb の範囲にマップされた。

近年糖尿病・高血圧などの多因子遺伝疾患に対して罹患同胞対法による全ゲノムレベルからの疾患感受性遺伝子へのアプローチがなされている。罹患同胞対法により疾患感受性遺伝子を数 cM から数 10 cM の範囲内に限定することは可能であるが, それ以上に範囲を狭めていくことは困難であり, 連鎖不平衡法を用いたマッピングが不可欠となる。連鎖不平衡が 1 Mb を越えて存在することは希であり, 同法により疾患感受性遺伝子を 1 ~ 2 Mb 以内の範囲にマップすることが可能となる。本研究でも同法を用いて *IDDM1* を 1 Mb の範囲内にマップすることが可能であった。同法は今後多くの疾患感受性遺伝子のマッピングに威力を発揮するものと期待される。

### 論文審査の結果の要旨

インスリン依存性糖尿病 (IDDM) は種々の環境因子・遺伝因子が発症に関与する多因子疾患であり, その遺伝因子の解析方法は単に IDDM の発症の解明のみならず, 多くの多因子疾患の病態の解明につながるものである。

本研究では, *DQA1*・*DQB1* 遺伝子座と IDDM との間に連鎖不平衡が存在するが, その telomere 側の *HSP70* 遺伝子座及び centromere 側の *TAP1*・*TAP2*・*LMP2* 遺伝子座では IDDM との間に連鎖不平衡が存在しないことから, IDDM 発症促進遺伝子 *IDDM1* が存在する領域を *DQA1*・*DQB1* 遺伝子座を含む 1000 kb の領域内に限定した。糖尿病・高血圧などの多因子疾患の疾患感受性遺伝子の同定のためには, 連鎖解析により感受性遺伝子の存在する染色体領域を限定した後, 連鎖不平衡を用いて更に領域を特定する方法が考えられる。本研究は後者の方法が実際に適用可能であり, 今後多くの疾患感受性遺伝子の同定に貢献し得ることを示していることから, 学位の授与に値するものと考えられる。