

Title	IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes.
Author(s)	有光, 潤介
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47560
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	あり 有	みつ 光	じゅん 潤	すけ 介
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)			
学位記番号	第 20933 号			
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻			
学位論文名	IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. (IL-18 遺伝子多型は単球からの IL-18 産生能に影響を及ぼす。)			
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 吉崎 和幸 教授 片山 一郎			

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

IL-18 はアレルギー発症において、促進及び抑制の二面性を有するサイトカインである。IL-18 がアレルギー疾患の発症にどのように関与するのか、IL-18 構造遺伝子内の SNP (single nucleotide polymorphism) の存在の有無および喘息との連鎖を検討したところ、IL-18 構造遺伝子領域に新規 SNP IL-18-105A/C を同定し、喘息に関与する SNP であることを示した。本研究では、105A/C は、アミノ酸変異を伴わない SNP であることより、この SNP がどのように喘息発症と関与するのかを明らかとすることを目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

1. 他のアレルギー疾患や非アトピー型喘息との関与

IL-18-105A/C の検出は、全血より QIA amp DNA Kit 用いて DNA を抽出し、sense primer ; TGT-TTA-TTG-TAG-AAA-ACC-TGG-AAT-T、anti-sense primer ; CCT-CTA-CAG-TCA-GAA-TCA-GT で PCR 法により遺伝子断片を増幅し、TaqI 制限酵素の切断の有無により判断した。喘息 522 人 (アトピー型 357 人、非アトピー型 165 人) とアレルギー症状を有さない対照 139 人において、喘息患者の IL-18-105A アレルが対照群に比し高値 (OR; Odds Ratio 1.64, $p=0.02$) であり、アトピー型、非アトピー型に分類すると、それぞれ (OR 1.53, $p=0.005$)、(OR 2.17, $p=0.001$) であった。喘息患者において、アトピー性皮膚炎合併群と非合併群に分類した場合、アトピー性皮膚炎非合併群で対照群に比し、有意に 105A 遺伝子頻度が高値 (OR 1.82, $p<0.01$) であった。また、喘息患者において、アレルギー性鼻炎合併群、非合併群に分類した場合、非合併群で対照群に比し高値 (OR 1.72, $p<0.01$) であった。

2. 105A/C と-137G/C の連鎖不均衡

105A/C はアミノ酸変異を伴わないため、プロモーター領域の SNP との関連を解析した。-137G/C と-607A/C は、遺伝子の転写活性に影響を与える SNP であると示されている。喘息患者 122 例の遺伝子を用い、アレル特異的プライマーを用いて PCR 法による SNP の解析により、両者ともに 105A/C との間に連鎖不均衡を認め、-137G/C により強い連鎖不均衡があることが示された ($p<0.0001$, $D=0.545$)。

3. IL-18 SNP と末梢単球からの IL-18 産生能

健常者の末梢血単核球をマグネットビーズ法にて分離し、 2.0×10^6 個/ml に調整した後、LPS ($10 \mu\text{g/ml}$) もしくは A23187 ($1 \mu\text{M}$) + PMA (10 ng/ml) 非存在下、存在下で 24 時間培養し、その上清中の IL-18 を ELISA で測定した。遺伝子型が 105A/A である場合、105A/C に比して IL-18 産生が増加していた ($p=0.049$)。また、同様に、-137G/G である単球において、-137G/C である単球に比べて、LPS もしくは PMA+A23187 の刺激により分泌される IL-18 は有意に増加していた ($p=0.02$, $p=0.01$)。以上のことは、IL-18 が過剰産生されやすい遺伝背景 (105A/A、-137G/G) が、アトピー型、非アトピー型喘息発症に関与することを示唆する。

4. IL-12 SNP と喘息発症

IL-18 は IL-12 の存在の有無により、ナイーブ T 細胞の Th1 のみならず Th2 細胞への分化に関与することが示されている。また、Th1 細胞においても、抗原と IL-18 が作用すると、RANTES、GM-CSF、IL-13、IL-9 などのケモカイン、サイトカインの産生が誘導され、動物モデルへの移入実験において、好酸球増多を特徴とするアレルギー性炎症と気道過敏性の亢進が観察されることが報告されている。この喘息誘発マウスでは、血清中の IgE 抗体は上昇せず、ヒトの非アトピー型喘息と類似する。ヒトの非アトピー型喘息 (の一部) が、Th1 細胞の存在と IL-18 の過剰なシグナルで発症すると仮定すると、IL-12 の過剰産生、過剰シグナルの遺伝子多型と組み合わせることにより、非アトピー (Th1) 型喘息が、さらに効率よく予測できる可能性がある。そこで、機能的 IL-12 の産生に関与する SNP である IL-12p40-1188A/C をアレル特異的なプライマーを用いて PCR 法により検討した。喘息 121 人 (アトピー型 94 人、非アトピー型 27 人) とアレルギー症状を有さない対照 22 人において、対照群と喘息群では、遺伝子頻度に差は認めなかったが、喘息群を非アトピー型とアトピー型に分類すると、非アトピー型喘息において、C の遺伝子頻度が高く ($p<0.01$)、機能的 IL-12 が過剰産生されやすい遺伝的背景が観察された。

[総括]

IL-18-105A/C、-137G/C 遺伝子多型は、IL-18 の産生能に影響し、過剰産生されやすい遺伝背景が、喘息の発症に関与しているものと考えられる。非アトピー型喘息は IL-18 と IL-12 ともに過剰産生されやすい遺伝的背景が、アトピー型喘息では、IL-18 が過剰産生される一方、IL-12 の産生は抑制されている遺伝的背景が関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

IL-18 はアレルギー疾患の発症病態において、促進もしくは抑制する 2 面性の作用を有することが示されている。喘息患者の IL-18 構造遺伝子領域に遺伝子多型 (105A/C) を同定し、喘息患者では健常者に比べて、A アレルを高頻度に認めたが、その作用機序は解明していなかった。

本研究は、IL-18 遺伝子多型と IL-18 産生能の関連について解析を行った。

その結果、IL-18-105A/C、-137G/C 遺伝子多型は、IL-18 の産生能に影響し、過剰産生されやすい遺伝背景が、喘息の発症に関与しており、非アトピー型喘息は IL-18 と IL-12 ともに過剰産生されやすい遺伝的背景が、アトピー型喘息では、IL-18 が過剰産生される一方、IL-12 の産生は抑制されている遺伝的背景が関与していることを明らかにした。

本研究は、喘息発症において、IL-18 の役割と、まだ病因が明らかでない非アトピー型喘息の発症に Th1 細胞が関与することを示したものであり、学位の授与に値すると考えられる。