The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Association of the functional polymorphism in the IL15 gene with the severity of Hashimoto’s disease and the differentiation of Th17 cells.
Author(s)	荒川, 裕也
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61585
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　荒川裕也　）	
論文題名	Association of the functional polymorphism in the *IL15* gene with the severity of Hashimoto's disease and the differentiation of Th17 cells. (IL15遺伝子の機能性一塩基多型と橋本病の重症度およびTh17細胞分化との関連)

論文内容の要旨

自己免疫性甲状腺疾患 (AITD) である橋本病 (HD) やバセドウ病 (GD) の病態には、患者間で個体差があり、様々なサイトカインの発現や免疫細胞の動態が病態決定に関与していると考えられる。我々は、炎症誘導性サイトカインであるIL-15がAITDの病態決定に関与していると考え、その遺伝的産生能の個体差がAITDの病態を決定しているのではないかと考えた。

IL-15は、樹状細胞、単球、活性化T細胞、上皮細胞など様々な細胞から産出され、NK細胞やCD8陽性T細胞の増殖及び細胞傷害性の促進やCD4陽性T細胞の分化促進といった機能を持つサイトカインであり、多発性硬化症や関節リウマチなど様々な自己免疫疾患において関連が報告されている。AITDにおいては、橋本病患者の血清IL-15濃度が高値を示すと報告があるが、病態との関連は分かっていない。*IL15*遺伝子には、機能的な一塩基多型（SNP）である+96522 A>T SNP及び+82889 A>G SNPが知られており、+96522 A>T SNPは、3'UTR領域に存在するSNPで、Tアレルにおいて転写活性が高いとの報告がある。また、+82889 A>G SNPは、イントロン3に存在するSNPであり、関節リウマチ患者においてAG型で血中IL-15濃度が低いという報告がある。本研究では、これらのSNPの遺伝子型とAITDの病態との関連を解析し、AITDの病因・病態へのIL-15の遺伝的産生能の影響を明らかにすることを目的とした。さらに、CD4陽性T細胞サブセットの分化増殖へのIL-15による影響を明らかにするため、リコンビナント(r)IL-15を用いて免疫細胞分化増殖への影響を解析した。

本研究では、サイログロブリン抗体（TgAb）もしくは甲状腺ペルオキシダーゼ抗体（TPOAb）が陽性であるHD患者のうち、50歳以前に甲状腺機能低下症を発症した患者を重症群、50歳以上になっても発症していない患者を軽症群と分類した。また、甲状腺刺激ホルモン受容体抗体（TRAb）が陽性で甲状腺中毒症を発症したGD患者において、抗甲状腺剤投与により甲状腺機能正常となるが、投与中止で機能亢進する患者を難治群、抗甲状腺剤投与で寛解後、2年以上無投薬でTRAbが陰性かつ機能正常の患者を寛解群と分類した。SNPタイピングの対象として、HD127名 （重症群55名、軽症群48名）、GD130名 （難治群52名、寛解群43名）、健常人79名のゲノムDNAを用い、+96522 SNPをダイレクトシークエンス法、+82889 SNPをTaqMan PCR法でタイピングした。また、健常人15名、HD重症群13名、HD軽症群12名を対象とし、ELISA法により血清中IL-15濃度の定量を行い、健常人19名を対象としリアルタイムPCR法により*IL15*mRNAの定量を行った。さらに、健常人8名の末梢血単核球をrIL-15で1週間刺激培養し、培養前後の制御性T（Treg）細胞、Th17細胞、Th1細胞のCD4陽性T細胞における割合の変化をフローサイトメトリーで解析した。

その結果、+96522 SNP のAアレル及びAA型が重症群で増加していた（それぞれp=0.042、0.017）。+82889 SNPとAITDの間には有意な関連は見られなかった。血中IL-15濃度は、+96522 AA型で高値を示し（p=0.018）、HD軽症群に比べ重症群で有意に増加していた (p=0.038)。しかし、*IL15*mRNAの発現量と+96522 SNPの遺伝子型との関連は見られなかった。rIL-15刺激によってTh17細胞の増殖は促進され（p=0.007）、Treg細胞はrIL-15非刺激下では減少した（p=0.043）が、rIL-15により細胞比率が維持された。Th1細胞はrIL-15刺激の有無に関わらず増加した。

本研究により、*IL15*遺伝子の+96522 AA型の個体ではIL-15の産生能が高く、その結果Th17細胞の割合が増加することで、橋本病が重症化している可能性が考えられた。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　荒川　裕也　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	岩谷　良則
	副 査	教授	山本　浩文
	副 査	寄附講座教授	尾路　祐介

論文審査の結果の要旨

自己免疫性甲状腺疾患（AITD）である橋本病（HD）やバセドウ病（GD）の病態には、患者間で個体差があり、様々なサイトカインの発現や免疫細胞の動態が病態決定に関与していると考えられる。我々は、炎症誘導性サイトカインであるIL-15がAITDの病態決定に関与していると考え、その遺伝的産生能の個体差がAITDの病態を決定しているのではないかと考えた。

IL-15は、樹状細胞、単球、活性化T細胞、上皮細胞など様々な細胞から産出され、NK細胞やCD8陽性T細胞の増殖及び細胞傷害性の促進やCD4陽性T細胞の分化促進といった機能を持つサイトカインであり、多発性硬化症や関節リウマチなど様々な自己免疫疾患において関連が報告されている。AITDにおいては、橋本病患者の血清IL-15濃度が高値を示すと報告があるが、病態との関連は分かっていない。*IL15*遺伝子には、機能的な一塩基多型（SNP）である+96522 A>T SNP及び+82889 A>G SNPが知られており、+96522 A>T SNPは、3’UTR領域に存在するSNPで、Tアレルにおいて転写活性が高いとの報告がある。また、+82889 A>G SNPは、イントロン3に存在するSNPであり、関節リウマチ患者においてAG型で血中IL-15濃度が低いという報告がある。本研究では、これらのSNPの遺伝子型とAITDの病態との関連を解析し、AITDの病因・病態へのIL-15の遺伝的産生能の影響を明らかにすることを目的とした。さらに、CD4陽性T細胞サブセットの分化増殖へのIL-15による影響を明らかにするため、リコンビナント(r)IL-15を用いて免疫細胞分化増殖への影響を解析した。

本研究では、サイログロブリン抗体（TgAb）もしくは甲状腺ペルオキシダーゼ抗体（TPOAb）が陽性であるHD患者のうち、 50歳以前に甲状腺機能低下症を発症した患者を重症群、50歳以上になっても発症していない患者を軽症群と分類した。また、甲状腺刺激ホルモン受容体抗体（TRAb）が陽性で甲状腺中毒症を発症したGD患者において、抗甲状腺剤投与により甲状腺機能正常となるが、投与中止で機能亢進する患者を難治群、抗甲状腺剤投与で寛解後、2年以上無投薬でTRAbが陰性かつ機能正常の患者を寛解群と分類した。SNPタイピングの対象として、HD127名 （重症群55名、軽症群48名）、GD130名 （難治群52名、寛解群43名）、健常人79名のゲノムDNAを用い、+96522 SNPをダイレクトシークエンス法、+82889 SNPをTaqMan PCR法でタイピングした。また、健常人15名、HD重症群13名、HD軽症群12名を対象とし、ELISA法により血清中IL-15濃度の定量を行い、健常人19名を対象としリアルタイムPCR法により*IL15*mRNAの定量を行った。さらに、健常人8名の末梢血単核球をrIL-15で１週間刺激培養し、培養前後の制御性T（Treg）細胞、Th17細胞、Th1細胞のCD4陽性T細胞における割合の変化をフローサイトメトリーで解析した。

その結果、+96522 SNP のAアレル及びAA型が重症群で増加していた（それぞれp=0.042、0.017）。+82889 SNPとAITDの間には有意な関連は見られなかった。血中IL-15濃度は、+96522 AA型で高値を示し（p=0.018）、HD軽症群に比べ重症群で有意に増加していた（p=0.038）。しかし、*IL15*mRNAの発現量と+96522 SNPの遺伝子型との関連は見られなかった。rIL-15刺激によってTh17細胞の増殖は促進され（p=0.007）、Treg細胞はrIL-15非刺激下では減少した

（p=0.043）が、rIL-15により細胞比率が維持された。Th1細胞はrIL-15刺激の有無に関わらず増加した。

本研究により、*IL15*遺伝子の+96522 AA型の個体ではIL-15の産生能が高く、その結果Th17細胞の割合が増加することで、橋本病が重症化している可能性が考えられた。