

Multigene Analysis Unveils Distinctive Expression Profiles of Helper T-cell-related Genes in the Intestinal Mucosa that Discriminate Between Ulcerative Colitis and Crohn's Disease

井星, 陽一郎

<https://hdl.handle.net/2324/1470530>

出版情報：九州大学，2014，博士（医学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



氏 名： 井 星 陽 一 郎

論文題名 Multigene Analysis Unveils Distinctive Expression Profiles of Helper T-cell-related Genes in the Intestinal Mucosa that Discriminate Between Ulcerative Colitis and Crohn's Disease

(多遺伝子発現解析は潰瘍性大腸炎とクローン病を判別する腸管粘膜におけるヘルパーT細胞関連遺伝子の異なる発現プロファイルを明らかにする)

区 分： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

[背景]炎症性腸疾患（IBD）の病因は未だ不明であるが、疾患感受性がある個体において、腸内細菌などの環境因子も寄与し、腸管局所における異常な免疫応答がおきると考えられている。その病態にヘルパーT（Th）細胞および制御性T（Treg）細胞関連のサイトカインなどの免疫学的分子が関与しており、IBD患者の消化管粘膜において過剰発現している。潰瘍性大腸炎（UC）とクローン病（CD）とは以前より粘膜固有層単核球の全く異なるサイトカインプロファイルが指摘されてきた。しかし粘膜組織全体においては、両者を判別するような発現プロファイルの差異は明らかにされていない。

[方法]九州大学病院と関連の2施設において、診療目的で内視鏡検査を受けるIBD患者、および非腸炎コントロールとして大腸ポリープ又は大腸癌の患者を対象とした。事前に文書による説明を行い、同意が得られた場合に限り対象とした。内視鏡下に大腸または小腸の炎症部粘膜（UC 40 サンプル[UCI]、CD 20 サンプル[CDI]）、および非炎症部粘膜（UC 47 サンプル、CD 22 サンプル、コントロール 25 サンプル）より生検サンプルを採取した。生検サンプルはRNA安定化保存液に浸し凍結保存し、後日それを破砕し全RNAを抽出した。吸光光度計によりRNAの濃度を測定し、逆転写反応により相補的DNAを合成した。そのテンプレートにおけるTh1、Th2、Th17、およびTregに関連した17種類のサイトカインや転写因子の発現をTaqManプローブ法による定量的リアルタイムPCRによって測定した。内因性コントロールとしてribosomal RNAを用いた。これらのマーカーの発現による、炎症部と非炎症部の判別能、およびUCIとCDIの判別能を受信者動作特性(ROC)曲線分析で評価した。また線形判別分析(LDA)により、UCIとCDIの判別能の高い多変量判別式を検索した。また線形判別分析でUCIとCDIの判別に寄与したマーカーについて、それらの多次元的な相関や分布を教師なし分析法である主成分分析(PCA)によっても評価した。

[結果]単一マーカーによる単変量解析にて、炎症部粘膜では非炎症部粘膜に比べ、多くのターゲットの著しい発現増加がみられた。17ターゲット中、UCの炎症部では非炎症部に比べ16ターゲットの有意な増加が、CDの炎症部では非炎症部に比べ9ターゲットの有意な増加が見られた。しかしUCIとCDIの比較ではマーカーの発現は概ね同等であった。最大の差異

は UCI 優位のインターロイキン (IL) -21 と IL-13 にみられたが、それらによる両者の判別能は ROC 曲線下面積 (AUC) でそれぞれ 0.704 と 0.664 にとどまった。しかし線形判別分析によるステップワイズ選択で両者の判別に有用なマーカーからなる線形判別式が得られ、2 ないし 7 マーカーの組み合わせにより判別能は $AUC = 0.875-0.975$ まで達した。その中で、5 マーカー (interferon- γ , IL-12 p35, T-bet, GATA3, および IL-21) と 7 マーカー (RORC, TNF- α , IL-12 p40, T-bet, GATA3, IL-13, および IL-21) の多変量判別式による判別能はそれぞれ $AUC = 0.949$, $AUC = 0.975$ であった。両者とも誤判別率は 8.3% で、1 個抜き法による交差検証でも誤判別率は 13.3% にとどまった。PCA によっても UCI と CDI の発現差異が描出可能であった。

○ [考案] 生検サンプルにおけるサイトカイン等の発現には、組織中の様々な構成成分の影響が含まれる。また生検サンプルを採取した IBD 患者の遺伝的、臨床的、内視鏡的な多様性やサンプリングの影響が、遺伝子発現解析に反映されうる。このような状況の下での UC と CD の炎症部粘膜における Th 細胞関連のマーカーの発現差異の同定は、我々の多変量マーカーによる判別が診断に有用である可能性を示し貴重であると考えられる。従来の方法では UC と CD の鑑別が困難な分類不能腸炎などが、有用性が想定されるケースである。またこの Th 細胞関連のマーカーの多遺伝子解析は、根底にある病態を反映しうることにより、UC と CD とが生物学的に異なる炎症で特徴づけられることを示唆している。この多遺伝子発現解析は、IBD 診療において診断的バイオマーカーとしての応用が期待される他、モニタリングや特徴的なサブセットの定義への応用も期待される。

○ [結論] UC と CD の炎症部の粘膜は Th 細胞関連のマーカーの組み合わせにより高い精度で判別出来る。