

	やまぐち まさゆき
氏 名	山 口 雅 幸
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第178号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	マイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイド相関解析による 子宮内膜症感受性遺伝子領域の検索
論文審査委員	主査 教授 田 中 憲 一 副査 教授 木 南 凌 副査 教授 味 岡 洋 一

博士論文の要旨

【目的】

子宮内膜症は生殖年齢女性の約6-10%に認められる、比較的頻度の高い疾患であり、生活様式の変化、診断法の進化および腹腔鏡検査の発展などにより、近年増加傾向にある。また子宮内膜症は、長期にわたる頑強な月経困難症、性交痛、慢性骨盤痛を呈し、不妊症の主たる原因、悪性病変への二次的変化の可能性など、現在の女性の健康を脅かす最も重大な疾患の一つであると考えられる。しかし本疾患の発症要因は明らかでなく、根本的な治療法は確立されていないのが現状である。

一方、欧米では本疾患の家系内集積が多数報告されており、母親もしくは姉妹に子宮内膜症を認める場合、発症リスクが約2-8倍に上昇するとされる。また双胎研究において一卵性双胎は二卵性双胎に比べ発症一致率が高いという報告も見られ、子宮内膜症発症に何らかの遺伝的要因が関与しているものと強く推察される。

そこで、子宮内膜症発症に関与する疾患感受性遺伝子領域を全ゲノム領域から同定することを目的に以下の解析を行った。

【対象と方法】

患者群は腹腔鏡あるいは開腹術下でr-AFS分類(revised American fertility society)III期、IV期の子宮内膜症症例、または画像診断にて卵巣子宮内膜症性嚢胞を認める臨床的子宮内膜症症例の計600例、対照群は、手術所見で子宮内膜症病変を認めなかった症例、および月経困難症状および不妊治療歴のない2回経産以上の健常婦人の計600例とした。

全ゲノム領域を約100kb間隔に網羅した27039個のマイクロサテライトマーカーを用い、600人を3つの集団に分割し、それぞれ200検体のDNAを等量混合したPooled DNAを鋳型としてPCR反応を行い、3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems)を用いて電気泳動を行った。得られた波形から、各マイクロサテライトマーカーでのアリル頻度を推定し、後述のように有意差検定を施行した。推定アリル頻度の算出は、解析により得られた波形パターンから全てのピークの高さの総和を求め、その値に対してそれぞれのピークの高さの割合を求めることで算出した。有意差検定には、患者・対照間での2×2表ならびに2×m表によるFisherの直接確率法を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。

【結果】

1次スクリーニングでは27039マーカーのうち1394マーカー(5.2%)が有意差を示し、さらに2次スクリーニングでは1394マーカーのうち360マーカー(25.8%)が、さらに3次スクリーニングでは360マーカーのうち83マーカー(23.1%)が有意差を示した。限定された83マーカーにて、600人それぞれの個人DNAを用いたIndividual Genotypingを行ったところ、32マーカーで有意差が確認され、さらにマーカーの順位付けによる信頼性の検討を行った結果、9マーカー(10p14, 9q21.31, 6p21.32, 10q11.21, 9p21.3, 4q28.1, 5q23.1, 10q21.1, 4p15.2)を有力候補として選出した。

【結論】

患者・対照群各600例を対象に、全ゲノム領域に設定された27039個のマイクロサテライトマーカーを用いた相関解析を行った。Pooled DNAによる1次、2次、3次スクリーニングならびにIndividual Genotypingの結果、子宮内膜症感受性遺伝子領域が9マーカー領域に限定された。

(論文審査の要旨)

申請者は子宮内膜症発症に関与する遺伝子領域を全ゲノムから同定することを目的に以下の解析を行った。

患者群は子宮内膜症症例600例、対照群は経産健常婦人の600例とした。

全ゲノム領域を約100kb間隔に網羅した27039個のマイクロサテライトマーカーを用い、200検体のDNAを等量混合したPooled DNAを鋳型として相関解析をおこなった。患者・対照間での2×2表ならびに2×m表によるFisherの直接確率法により $p < 0.05$ を有意とした。

1次スクリーニングでは1394マーカー、2次スクリーニングでは360マーカー、3次スクリーニングでは83マーカーが患者・対照間で有意差を示した。83マーカーを対象にして、600人それぞれのIndividual Genotypingに加えて、マーカーの順位付けによる信頼性の検討を行った結果、9マーカー(10p14, 9q21.31, 6p21.32, 10q11.21, 9p21.3, 4q28.1, 5q23.1, 10q21.1, 4p15.2)が候補領域として選出された。

以上、子宮内膜症感受性遺伝子領域を9マーカー領域に限定した点に、学位論文としての価値を認める。