

論文内容の要旨

Immunohistochemical Differentiation between Chronic Enteropathy Associated with *SLCO2A1* Gene and Other Inflammatory Bowel Diseases

(非特異性多発小腸潰瘍症と他の炎症性腸疾患との免疫組織化学染色による鑑別)
(山口智子, 梁井俊一, 中村昌太郎, 川崎啓祐, 永塚真, 上杉憲幸, 菅井有, 梅野淳嗣,
江崎幹宏, 松本主之)
(Intestinal Research 平成 30 年 3 月電子掲載)

I. 研究目的

非特異性多発性小腸潰瘍症 (chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine ; CNSU) は, 難治性の多発小腸潰瘍より慢性の出血と蛋白の喪失をきたす稀な常染色体劣性遺伝性疾患である. CNSU は若年女性に好発し, 持続的な潜出血による高度の貧血と低蛋白血症を呈する. 最近, 著者らは CNSU の原因遺伝子として prostaglandin E2 の輸送蛋白を規定する solute carrier organic anion transporter family member 2A1 遺伝子 (*SLCO2A1*) を同定し, 本症患者では小腸血管内皮における *SLCO2A1* 蛋白の発現が消失していることを報告し, 本症の名称を chronic enteropathy associated with *SLCO2A1* (CEAS) と改称することを提唱した (Umeno J, et al. *Pros Genet* 2015). しかし, CEAS は稀少疾患であるため, その臨床病理学的特徴が周知されておらず, クロウン病 (Crohn's disease ; CD) や腸管ベーチェット病 (intestinal Behçet's disease ; BD) など他の炎症性腸疾患と誤診されることが少なくない.

本研究では, CEAS と他の炎症性腸疾患 (CD, BD および単純性潰瘍 simple ulcer ; SU) を鑑別するために, 各疾患患者の腸管組織における *SLCO2A1* 蛋白の発現と分布の強度を解析し, その臨床的意義を明らかにすることを目的とした.

II. 研究対象ならび方法

2001~2014 年に著者らの施設で診断した炎症性腸疾患患者のうち, 外科切除された腸管のホルマリン固定パラフィン包埋組織が使用可能であった 25 例 (CD 13 例, BD/SU 9 例, CEAS 3 例) を対象とした. CEAS 症例では *SLCO2A1* 遺伝子の exon 4, 5, 7, 10, 13 における変異を解析した. 対象の腸管組織のパラフィン包埋標本を 4 μ m 厚に薄切し, 連続切片で各々ポリクローナル抗 *SLCO2A1* 抗体 (HPA013742; Sigma-Aldrich, USA) およびモノクローナル抗 CD31 抗体 (Santa Cruz Biotechnology, USA) を用いた免疫組織化学染色を行った. CD31 染色で組織内の血管内皮を同定し, *SLCO2A1* 染色で同部位の発現強度と発現分布を評価した. 発現強度は 0 (陰性), 1 (中), 2 (強) のいずれか, 発現分布は 0 (陰性), 1 (1-30%), 2 (31-60%), 3 (>60%) のいずれかにスコア化した. さらに両者の総和を最終スコア (0, 2, 3, 4, 5) とした. 統計解析には, Fisher の正確検定, χ 二乗検定または Mann-Whitney U 検定を用いた. 本研究は岩手医科大学医学部倫理委員会 (H28-59) の

承認を得て行った。

III. 研究結果

1. 対象全患者の臨床病理学的特徴

診断時年齢の中央値はCD23歳(25-57), BD/SU 51歳(13-69), CEAS 22歳(22-34)とCDとCEASで若年の傾向があるも統計学的有意差はなかった。性別はCDで男性が多く, BD/SU, CEASでは女性が多い傾向にあった。また, 切除部位はCEASでは全例小腸であったが, CD, BD/SUでは回盲部が多くみられた。いずれも有意差は認めなかった。

2. CEAS患者の *SLC02A1* 遺伝子変異

症例1および2は, 各々exon 7および10のホモ変異であった。症例3はexon 5と13のヘテロ変異であった。

3. *SLC02A1* 蛋白の発現

CDとBD/SUでは全例で*SLC02A1*蛋白の発現を認め, 平均最終スコアはCD4.8, BD/SU4.3であった。一方CEASでは*SLC02A1*の発現を認めたのは3例中1例(症例3)のみで, 平均最終スコア(1.6)はCDと比べ, 有意に低値であった($P<0.05$)。

BD/SUにおいて正常と思われる組織と潰瘍部組織とで*SLC02A1*蛋白の発現を比較すると, 平均最終スコアは正常部4.8に対し, 潰瘍部4.2と後方で低下していた($P<0.05$)。

IV. 結 語

*SLC02A1*の免疫組織化学染色は, CEASと他の炎症性腸疾患の鑑別に有用である可能性が示唆された。特に, 遺伝子検査前のスクリーニング検査として適している。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 特任教授 木村 祐輔 (緩和医療科)

副査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)

副査 教授 山内 広平 (内科学講座：呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野)

Chronic enteropathy associated with *SLCO2A1*(CEAS)は稀少疾患であり、その臨床病理学的特徴が未だ十分には解明されておらず、クローン病(Crohn's disease; CD)や腸管ベーチェット病(intestinal Behcet's disease; BD)、単純性潰瘍(simple ulcer; SU)など他の炎症性腸疾患との鑑別が困難な疾患である。本論文は、CEAS と他の炎症性疾患を鑑別するために、各疾患の腸管組織における *SLCO2A1* 蛋白の発現と分布強度を解析し、その臨床的意義を明らかにすることを目的とした論文である。CD, BD, SU と比較し、CEAS では血管内皮における *SLCO2A1* 蛋白発現が有意に低値を示した。また、CEAS 症例において *SLCO2A1* 遺伝子の exon 4, 5, 7, 10, 13 における変異を解析し、2 症例は exon 7 および 10 のホモ変異であり、1 症例は exon 5 と 13 のヘテロ変異であることを初めて示した。本論文は、CEAS と他の炎症性腸疾患の鑑別において、遺伝子検査前スクリーニングとして、*SLCO2A1* の免疫組織化学染色法が有用である可能性を示した研究である。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

SLCO2A1 の正常組織における発現状況、ならびに PGE2 の代謝に関する役割などの基礎的な背景について、また *SLCO2A1* 遺伝子変異を有する他の疾患(肥厚性皮膚骨膜炎等)と CEAS との関連、さらに PGE2 と腸管潰瘍の発生機序について試問を行い、自らの考察を含め適切な回答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Cowden syndrome with multiple venous malformations in the small bowel Gastrointestinal Endoscopy, 84 巻, 4 号 (2016)
- 2) アミロイドーシスにおける十二指腸, 小腸病変の内視鏡所見 消化器内視鏡 29 巻, 4 号 (2017 掲載予定)
- 3) 【画像所見[腸]】cobblestone appearance 胃と腸 52 巻, 5 号 (2017 掲載予定)