

平成 30 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05670

研究課題名(和文) HLA imputation法を用いた自己免疫疾患のバイオマーカーの同定

研究課題名(英文) Identification of biomarkers of autoimmune diseases using HLA imputation

研究代表者

岡田 随象 (Okada, Yukinori)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70727411

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト主要組織適合性複合体(MHC)領域内のHLA遺伝子配列の個人差は、多数の自己免疫疾患の遺伝的背景の大半を説明する。HLA遺伝子多型を遺伝統計解析手法によりコンピューター上で高精度に決定する、「HLA imputation法」の日本人集団への適用拡大を行った。日本人集団900名を対象に、MHC領域内における高密度一塩基多型(SNP)およびHLA遺伝子配列を実験的に決定した。HLA imputation法の適用を、自己免疫疾患である関節リウマチやバセドウ病の日本人集団ゲノムワイド関連解析データに適用し、リスクHLA遺伝子多型を同定した。

研究成果の概要(英文)：The major histocompatibility complex (MHC) region at chromosome 6 defines risk of a variety of human complex diseases. The HLA imputation method can computationally impute HLA gene variants from the single nucleotide polymorphism (SNP) genotype data in the MHC region. By constructing the HLA imputation reference panel of the Japanese population (n = 900), we conducted HLA imputation analysis for the genome-wide association study (GWAS) data of autoimmune diseases including rheumatoid arthritis and Graves' disease, which provided biomarker HLA variants with disease risk.

研究分野：遺伝統計学

キーワード：遺伝統計学 HLA遺伝子 バイオインフォマティクス ゲノム

1. 研究開始当初の背景

ヒト6番染色体の単腕上に位置する主要組織適合性複合体(MHC)領域は、自己免疫疾患や感染症、悪性腫瘍、精神疾患など多彩な疾患の発症において強い影響を持つことが知られている。MHC領域内に存在するHLA遺伝子が責任感受性遺伝子と考えられ、オッズ比 = 2 ~ 10 と高いリスクを伴うため疾患の発症や病態の進行を予測するバイオマーカーとしての活用が期待されている。

しかし、(1): 複数のHLA遺伝子が短いゲノム領域に密集、(2): 各HLA遺伝子ごとに遺伝子多型が数十種も存在、(3): HLA遺伝子多型タイピングが高額、といった事情によりMHC領域内の疾患リスク遺伝子多型の同定は遅れていた。

我々は、一般集団で得られたMHC領域内の一塩基多型(SNP)とHLA遺伝子多型を参照データとして、ゲノムワイド関連解析におけるHLA遺伝子多型をコンピューター上で高精度に推定する手法(HLA imputation法)を開発し、追加費用無しでのHLA遺伝子の網羅的解析を実施可能にした。

HLA imputation法の適用に際しては予め、1,000人規模の多数の健常人を対象にMHC領域内のSNPとHLA遺伝子多型を実験的に決定し、参照データを作成しておく必要がある。現在、各人種集団におけるHLA imputation法の実装に向けた国際競争が進んでいるが、日本人集団を対象とした参照データが存在しないため、日本人集団に対しては実装ができない状況が続いていた。

2. 研究の目的

本研究は、本人集団を対象とした大規模参照データの作成によるHLA imputation法の日本人集団への適用拡大、および日本人集団を対象とした自己免疫疾患のゲノムワイド関連解析へのHLA imputation法の適用を通じた、疾患発症や病態進展を予測するバイオマーカーの同定を目的とする。

3. 研究の方法

(1)日本人集団におけるHLA imputation参照データの作成

HLA imputation法の実施においては予め、1,000人規模の多数の健常人を対象にMHC領域内のSNPと計8個のHLA遺伝子の遺伝子多型(HLA遺伝子アレルおよびアミノ酸多型)を実験的に決定し、参照データを作成しておく必要がある。参照データ中の情報と、疾患罹患者を対象としたゲノムワイド関連解析におけるMHC領域内SNPデータを、マルコフ連鎖モンテカルロ法(MCMC)等のアルゴリズムを用いて照合することにより、疾患罹患者におけるHLA遺伝子多型をコンピューター上で高精度に決定することが可能になる。

本研究では日本人集団から収集された900の一般健常人を対象とした参照データの作成を行う。

(2)日本人集団の自己免疫疾患ゲノムワイド関連解析へのHLA imputation法の適用

作成した日本人集団のHLA imputation法参照パネルを用いて、日本人集団の自己免疫疾患(関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、乾癬)のゲノムワイド関連解析におけるHLA imputation法の実施と、疾患バイオマーカーHLA遺伝子多型の同定を行う。

自己免疫疾患以外の疾患のゲノムワイド関連解析においても、HLA遺伝子のリスクが認められた場合には、HLA imputation法の適用を実施する。

4. 研究成果

(1)日本人集団におけるHLA imputation参照データの作成

日本人集団908名を対象としたHLA遺伝子配列参照データベースを構築し、NBDCヒトデータベース(JGA)における一般公開を行った。本データベースの公開により、HLA遺伝子配列をコンピューター上で高精度に予測し、HLA遺伝子多型が有する疾患リスクの網羅的解析を可能にする「HLA imputation法」の日本人集団に対する実装を初めて実施した。並行して、複雑なHLA遺伝子配列構造を可視化する目的で、情報量エントロピー正規化指標(イプシロン:)による連鎖不平衡関係の評価と、多次元ビッグデータ圧縮技術であるDisentanglerの適用を行った。

結果として、HLA遺伝子配列における人種間の違いは、HLA領域全域を貫く人種特異的HLA遺伝子多型ハプロタイプによって特徴づけられること、特に日本人集団においては人種特異的に比較的高頻度(~8%)に存在するHLAハプロタイプが存在することが明らかになった。この成果は、HLA imputation法の実施に際しての人種特異的HLA遺伝子配列参照データの必要性の議論に一定の結論を与える成果と考えられた。

(2)日本人集団の自己免疫疾患ゲノムワイド関連解析へのHLA imputation法の適用

作成したHLA参照データを用いてがん疾患を含む多数の疾患の大規模ゲノム解析データに対してHLA imputation法を適用し、疾患バイオマーカーとしてのHLA遺伝子配列変異を複数同定した。特に、自己免疫疾患の一つであるパセドウ病に対しては、複数のクラスIおよびクラスII HLA遺伝子(HLA-DPB1/A/B/DRB1)におけるアミノ酸配列の変異が疾患発症を引き起こしていることを明らかにした。

関節リウマチのゲノムデータに対してHLA imputation法を適用し、非古典的HLA遺伝子であるHLA-DOAが、既知の古典的HLA遺伝子とは独立な罹患リスクを有すること、HLA-DOA遺伝子のリスク多型がHLA-DOAの遺伝子発現量変化を生じること、を報告した(理化学研究所統合生命医科学研究センターとの共同研究)。

EGFR 陽性肺腺がんのゲノムデータに対して HLA imputation 法を適用し、HLA クラス II 領域に、複数の独立した疾患リスクが存在することを報告した（国立がん研究センター研究所、理化学研究所統合生命医科学研究センターとの共同研究）。

節外性 NK/T 細胞リンパ腫（NKTCL）のゲノムデータに対して HLA imputation 法を適用し、HLA-DPB1 遺伝子のアミノ酸配列変異の組み合わせが疾患リスクを有することを報告した（中国中山大学との共同研究）。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 18 件）

1. Ishigaki K, Kochi Y, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, Sumitomo S, Yamaguchi K, Nagafuchi Y, Nakachi S, Kato R, Sakurai K, Shoda H, Ikari K, Taniguchi A, Yamanaka H, Miya F, Tsunoda T, Okada Y, Momozawa Y, Kamatani Y, Yamada R, Kubo M, Fujio K, Yamamoto K. (2017) Polygenic burdens on cell-specific pathways underlie the risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 49:1120-1125. doi:10.1038/ng.3885.
2. Wakamatsu TH, Ueta M, Tokunaga K, Okada Y, Loureiro RR, Costa KA, Sallum JM, Milhomens JA, Inoue C, Sotozono C, Gomes JÁ, Kinoshita S. (2017) Human Leukocyte Antigen Class I Genes Associated With Stevens-Johnson Syndrome and Severe Ocular Complications Following Use of Cold Medicine in a Brazilian Population. *JAMA Ophthalmol* 135:355-360. doi:10.1001/jamaophthalmol.
3. Saxena R, Plenge RM, Bjornes AC, Dashti HS, Okada Y, Gad El Haq W, Hammoudeh M, Al Emadi S, Masri BK, Halabi H, Badsha H, Uthman IW, Margolin L, Gupta N, Mahfoud ZR, Kapiri M, Dargham SR, Aranki G, Kazkaz LA, Arayssi T. (2017) A multi-national Arab genome-wide association study identifies new genetic associations for Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 69:976-985. doi:10.1002/art.40051.
4. Molineros JE, Yang W, Zhou XJ, Sun C, Okada Y, Zhang H, Chua KH, Lau YL, Kochi Y, Suzuki A, Yamamoto K, Ma J, Bang SY, Lee HS, Kim K, Bae SC, Zhang H, Shen N, Looger LL, Nath SK. (2017) Confirmation of five novel susceptibility loci for Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and integrated network analysis of 82 SLE susceptibility loci. *Hum Mol Genet* 26:1205-1216. doi:10.1093/hmg/ddx026.
5. Nakayama A, Nakaoka H, Yamamoto K, Sakiyama M, Shaukat A, Toyoda Y, Okada Y, Kamatani Y, Nakamura T, Takada T, Inoue K, Yasujima T, Yuasa H, Shirahama Y, Nakashima H, Shimizu S, Higashino T, Kawamura Y, Ogata H, Kawaguchi M, Ohkawa Y, Danjoh I, Tokumasu A, Ooyama K, Ito T, Kondo T, Wakai K, Stiburkova B, Pavelka K, Stamp LK, Dalbeth N; Eurogout Consortium., Sakurai Y, Suzuki H, Hosoyamada M, Fujimori S, Yokoo T, Hosoya T, Inoue I, Takahashi A, Kubo M, Ooyama H, Shimizu T, Ichida K, Shinomiya N, Merriman TR, Matsuo H. (2017) GWAS of clinically defined gout and subtypes identifies multiple susceptibility loci that include urate transporter genes. *Ann Rheum Dis* 76:869-877. doi:10.1136/annrheumdis-2016-209632.
6. Shiraishi K, Okada Y, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Ashikawa K, Kunitoh H, Matsumoto S, Takano A, Shimizu K, Goto A, Tsuta K, Watanabe S, Ohe Y, Watanabe Y, Goto Y, Nokihara H, Furuta K, Yoshida A, Goto K, Hishida T, Tsuboi M, Tsuchihara K, Miyagi Y, Nakayama H, Yokose T, Tanaka K, Nagashima T, Ohtaki Y, Maeda D, Imai K, Minamiya Y, Sakamoto H, Saito A, Shimada Y, Sunami K, Saito M, Inazawa J, Nakamura Y, Yoshida T, Yokota J, Matsuda F, Matsuo K, Daigo Y, Kubo M, Kohno T. (2016) Association of variations in HLA-class II and other loci with susceptibility to lung adenocarcinoma with EGFR mutation. *Nat Commun* 7:12451 doi:10.1038/ncomms12451.
7. Okada Y, Suzuki A, Ikari K, Terao C, Kochi Y, Ohmura K, Higasa K, Ashikawa K, Kanai M, Hirata J, Suita N, Teo YY, Xu H, Bae SC, Takahashi A, Momozawa Y, Matsuda K, Momohara S, Taniguchi A, Yamada R, Mimori T, Kubo M, Brown MA, Raychaudhuri S, Matsuda F, Yamanaka H, Kamatani Y, Yamamoto K. (2016) Contribution of a non-classical HLA gene, HLA-DOA, to the risk of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 99:366-74 doi:10.1016/j.ajhg.2016.06.019.
8. Li Z, Xia Y, Feng LN, Chen JR, Li HM,

- Cui J, Cai QQ, Sim KS, Nairismägi ML, Laurensia Y, Meah WY, Liu WS, Guo YM, Chen LZ, Feng QS, Pang CP, Chen LJ, Chew SH, Ebstein RP, Foo JN, Liu J, Ha J, Khoo LP, Chin ST, Zeng YX, Aung T, Chowbay B, Diong CP, Zhang F, Liu YH, Tang T, Tao M, Quek R, Mohamad F, Tan SY, Teh BT, Ng SB, Chng WJ, Ong CK, **Okada Y**, Raychaudhuri S, Lim ST, Tan W, Peng RJ, Khor CC, Bei JX. (2016) Genetic risk of extranodal natural killer T-cell lymphoma: a genome-wide association study. *Lancet Oncol* 17:1240-7. doi:10.1016/S1470-2045(16)30148-6.
9. Nagafuchi Y, Shoda H, Sumitomo S, Nakachi S, Kato R, Tsuchida Y, Tsuchiya H, Sakurai K, Hanata N, Tateishi S, Kanda H, Ishigaki K, **Okada Y**, Suzuki A, Kochi Y, Fujio K, Yamamoto K. (2016) Immunophenotyping of rheumatoid arthritis reveals a linkage between HLA-DRB1 genotype, CXCR4 expression on memory CD4(+) T cells, and disease activity. *Sci Rep* 6:29338. doi: 10.1038/srep29338.
10. Jing J, Pattaro C, Hoppmann A, **Okada Y**; CKDGen Consortium, Fox CS, Köttgen A. (2016) Combination of mouse models and genomewide association studies highlights novel genes associated with human kidney function. *Kidney Int* 90:764-73 doi:10.1016/j.kint.2016.04.004.
11. **Okada Y**, Muramatsu T, Suita N, Kanai M, Kawakami E, Iotchkova V, Soranzo N, Inazawa J, Tanaka T. (2016) Significant impact of miRNA-target gene networks on genetics of human complex traits. *Sci Rep* 6:22223. doi: 10.1038/srep22223.
12. **Okada Y**, Momozawa Y, Ashikawa K, Kanai M, Matsuda K, **Kamatani Y**, Takahashi A, Kubo M. (2015) Construction of a population-specific HLA imputation reference panel and its application to Graves' disease risk in Japanese. *Nat Genet* 47:798-802. doi: 10.1038/ng.3310.

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等
(該当無し)

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡田 随象 (OKADA, Yukinori)
大阪大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70727411

(2)研究分担者

(該当無し)

(3)連携研究者

(該当無し)

(4)研究協力者

(該当無し)