

令和元年6月19日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15631

研究課題名(和文) ベーチェット病におけるERAP1-ERAP2とHLAクラスIのエピスタシスの検討

研究課題名(英文) Epistasis between HLA class I alleles and single nucleotide polymorphisms in ERAP1-ERAP2 for Behcet's disease

研究代表者

竹内 正樹 (Takeuchi, Masaki)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：80794081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、我々は小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子であるERAP1がベーチェット病の発症リスクにおいてHLA-B*51と遺伝子間相互作用(エピスタシス)を示すことをトルコ人において報告した。本研究では、日本人ならびにトルコ人・イラン人を対象に、ERAP1およびERAP2について詳細な遺伝子解析を施行したのちに、HLA-B*51およびHLA-A*26とのベーチェット病におけるエピスタシスを検討した。本研究により、ERAP1-ERAP2遺伝子領域の複数の一塩基多型がHLA-B*51およびHLA-A*26とベーチェット病の発症において遺伝子相互作用を示すことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ベーチェット病の感受性遺伝子はこれまでに複数同定されているが、その発症メカニズムの全容解明には至っていない。本研究によりERAP1、ERAP2とMHCクラスI遺伝子の相互作用が示されたことで、ベーチェット病の病因となりうる特定のペプチドが存在する可能性とMHCクラスI分子が通した抗原提示が病態に深くかかわっていることが示唆された。本研究は、ベーチェット病の遺伝要因だけでなく病態理解にも大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Behcet's disease is a systemic inflammatory disease clinically manifested as oral ulcers, uveitis, skin lesions and genital ulcers. Although disease pathogenesis remains unclear, it is thought that both multi genetic and environmental factors are associated with the onset of Behcet's disease. Recently, we reported that a single nucleotide polymorphism (SNP) in the locus of ERAP1, a gene of endoplasmic reticulum aminopeptidase, showed epistasis with the HLA-B*51 allele for the risk of Behcet's disease in the Turkish population. In this study, we conducted dense genotyping and imputation for the locus of ERAP1-ERAP2 and evaluated epistasis between HLA class I alleles and SNPs located in ERAP1-ERAP2. This study revealed the epistasis for the risk of Behcet's disease between HLA class I alleles such as HLA-B*51 and HLA-A*26, and SNPs in the locus of ERAP1-ERAP2.

研究分野：眼科学

キーワード：ベーチェット病 エピスタシス MHCクラスI ERAP1 ERAP2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ベーチェット病は全身の諸臓器に急性の炎症を繰り返す原因不明の難治性炎症性疾患であり、眼症状、口腔内アフタ、皮膚症状、外陰部潰瘍を4主症状とする。近年、本病に対して有効な治療法(抗TNF抗体療法)が確立されてきたが、本剤に不応答性の患者も少なからず存在し、今なお我が国の中途失明の主要な原因疾患である。ベーチェット病は、世界的には地中海沿岸から中近東、東アジアに至る北緯30度から北緯45度付近のシルクロード沿いの地域で多く発症する疾患であり、日本はトルコやイランと並んで本病の最多発国の一つである。厚生労働省の全国疫学調査によると、国内の患者数は15,000人程度と推定されている(日本眼科学会雑誌2012;116(4):394-426.)。

ベーチェット病の発症機構は未だ明確ではないが、本病は特定の遺伝的要因のもとに何らかの環境要因が関与して発症する多因子遺伝性疾患と考えられている。遺伝的要因として、HLAクラスI領域が本病と顕著に相関することが人種を超えて知られており、疾患感受性アリルとしてHLA-B*51およびHLA-A*26が報告されている(Ann Rheum Dis 2010;69(4):747-754.)。近年の我々の研究は、トルコ人集団において小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子の一つであるERAP1(endoplasmic reticulum aminopeptidase 1)のリスクアリルが、疾患の発症に対してHLA-B*51アリルと遺伝子間相互作用(エピスタシス)を示すことをトルコ人集団において見出した(Nat Genet 2013;45(2):202-207.) (図1)。ERAP1は小胞体に存在し、HLAクラスI分子に提示前のペプチドのトリミングに関与することから、ERAP1を介したHLA-B*51分子への抗原ペプチドの提示過程がベーチェット病の病態において重要であることが示唆される。

一方、HLA-B*51が日本人のベーチェット病患者においても強い疾患感受性を示すにも関わらず、日本人集団ではHLA-B*51とERAP1のエピスタシスに関する詳細な解析は未だ実行されていない。また、小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子はERAP1の他にERAP2も存在する。さらに、HLAクラスI遺伝因子はHLA-B*51の他にHLA-A*26もベーチェット病に感受性を示しており、これらの小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子とHLAクラスI遺伝因子間のエピスタシスを詳細に解析する必要がある。

このような学術的背景から本研究では、日本人集団ならびにトルコ人・イラン人集団を対象に、小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子であるERAP1およびERAP2と、HLAクラスI遺伝因子であるHLA-B*51およびHLA-A*26とのベーチェット病におけるエピスタシスを総合的に検討する。

2. 研究の目的

ベーチェット病は全身の諸臓器に急性の炎症を繰り返す原因不明の難治性炎症性疾患であり、特定の遺伝的要因のもとに何らかの環境要因が関与して発症する多因子遺伝性疾患と考えられている。ベーチェット病は人種を超えてHLA(human leukocyte antigen:ヒト白血球抗原)の特定のタイプ、HLA-B*51アリルやHLA-A*26アリルと顕著に相関することが知られている。近年、我々は小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子であるERAP1遺伝子が疾患の発症リスクに対してHLA-B*51と遺伝子間相互作用(エピスタシス:epistasis)を示すことをトルコ人集団において報告した。本研究では、日本人集団ならびにトルコ人・イラン人集団を対象に、小胞体アミノペプチダーゼ遺伝子であるERAP1およびERAP2について、HLA-B*51およびHLA-A*26とのベーチェット病におけるエピスタシスを検討する。

3. 研究の方法

本申請研究は2年度にわたり研究を遂行する。平成29年度は、日本人集団(ベーチェット病患者、健常者)を対象に、ERAP1-ERAP2遺伝子領域の網羅的なSNP解析を実行するとともに、各検体におけるHLA-AおよびHLA-Bのアリル情報を取得し、ERAP1およびERAP2とHLAクラスI遺伝因子(HLA-B*51およびHLA-A*26)間のエピスタシスを検討する。平成30年度は、トルコ人ならびにイラン人集団を用いて、日本人集団で得られた結果の再現性の検討を行い、本エピスタシスの人種間差を評価する。さらに、同定された遺伝情報をもとに、機能解析を実行し、ベーチェット病の発症機序の解明を行う。

4. 研究成果

平成29年度は研究計画に基づいて研究を遂行し、以下の研究成果が得られた。

1 ERAP1-ERAP2遺伝子領域の網羅的なSNP解析: ERAP1-ERAP2遺伝子領域について、HapMapプロジェクトの日本人集団のデータからtag SNPを網羅的に抽出しジェノタイプを行った。日本人集団(ベーチェット病患者640例、健常者1,531例)でジェノタイプングを行い遺伝子型情報を取得した。得られた遺伝情報を、IMPUTE2ソフトウェアを使用しimputationを遂行した。リファレンスデータとして、1000人ゲノムプロジェクトの多人種データを使用した。

Imputation解析により取得した詳細な遺伝情報を解析し、ERAP1-ERAP2遺伝子領域内のSNPとベーチェット病の相関性を評価した。

2. 日本人集団を対象としたHLA-AおよびHLA-Bジェノタイプング: 日本人集団のうち、患者全640例および健常者1,327例においてHLA-AおよびHLA-Bのアリル情報をすでに取得しているため、残りの健常者204例について、HLA-AおよびHLA-Bジェノタイプングを実

行した。

3. ERAP1 および ERAP2 と HLA クラス I 遺伝子間のエピスタシスの検討：
HLA-B*51 アリルまたは HLA-A*26 アリル保有の有無に層別化して、ERAP1 および ERAP2 と HLA クラス I 遺伝子間のエピスタシスを検討した。 HLA-B*51 アリルまたは HLA-A*26 アリルの陽性患者においてのみ、有意な相関を示す SNP を抽出し、リスク SNP と HLA クラス I 遺伝子間のエピスタシスを検討した。検討によって ERAP1-ERAP2 遺伝子領域の複数の SNP と HLA-B*51 アリルおよび HLA-A*26 とのエピスタシスが同定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 18 件)

1. Demirkaya E., Zhou Q., Smith C.K., Ombrello M.J., Deutch N., Tsai W.L., Hoffmann P., Remmers E.F., **Takeuchi M.**, Park Y.H., Chae J., Barut K., Simsek D., Adrovic A., Sahin S., Caliskan S., Chandrasekharappa S.C., Hasni S.A., Ombrello A.K., Gadina M., Kastner D.L., Kaplan M.J., Kasapcopur O., Aksentijevich I.: Brief Report: Deficiency of Complement 1r Subcomponent in Early-Onset Systemic Lupus Erythematosus: The Role of Disease-Modifying Alleles in a Monogenic Disease. *Arthritis Rheumatol*, **(69)**:1832-1839, 2017. (査読有)
2. Higashi K., Meguro A., **Takeuchi M.**, Yamane T., Kitaichi N., Horie Y., Namba K., Ohno S., Nakao K., Sakamoto T., Sakai T., Tsuneoka H., Keino H., Okada A.A., Takeda A., Fukuhara T., Mashimo H., Ohguro N., Oono S., Enaida H., Okinami S., Mizuki N.: Investigation of the association between IL10 gene polymorphisms and Vogt-Koyanagi-Harada disease in a Japanese population. *Ophthalmic Genet*, **(38)**:187-189, 2017. (査読有)
3. Ishido M., Horita N., **Takeuchi M.**, Shibuya E., Yamane T., Kawagoe T., Ishido T., Minegishi K., Yoshimi R., Kirino Y., Hirohata S., Ishigatsubo Y., Takeno M., Kaneko T., Mizuki N.: Distinct clinical features between acute and chronic progressive parenchymal neuro-Behcet disease: meta-analysis. *Sci Rep*, **(7)**:10196, 2017. (査読有)
4. Ishido T., Horita N., **Takeuchi M.**, Kawagoe T., Shibuya E., Yamane T., Hayashi T., Meguro A., Ishido M., Minegishi K., Yoshimi R., Kirino Y., Kato S., Arimoto J., Ishigatsubo Y., Takeno M., Kurosawa M., Kaneko T., Mizuki N.: Clinical manifestations of Behcet's disease depending on sex and age: results from Japanese nationwide registration. *Rheumatology (Oxford)*, **(56)**:1918-1927, 2017. (査読有)
5. Kawagoe T., Ota M., Meguro A., **Takeuchi M.**, Yamane T., Shimazaki H., Takeuchi M., Okada E., Teshigawara T., Mizuki N.: Associations between CRYBA4 gene variants and high myopia in a Japanese population. *Clin Ophthalmol*, **(11)**:2151-2156, 2017. (査読有)
6. **Takeuchi M.**, Mizuki N., Meguro A., Ombrello M.J., Kirino Y., Satorius C., Le J., Blake M., Erer B., Kawagoe T., Ustek D., Tugal-Tutkun I., Seyahi E., Ozyazgan Y., Sousa I., Davatchi F., Francisco V., Shahram F., Abdollahi B.S., Nadji A., Shafiee N.M., Ghaderibarmi F., Ohno S., Ueda A., Ishigatsubo Y., Gadina M., Oliveira S.A., Gul A., Kastner D.L., Remmers E.F.: Dense genotyping of immune-related loci implicates host responses to microbial exposure in Behcet's disease susceptibility. *Nat Genet*, **(49)**:438-443, 2017. (査読有)

7. Yamazoe K., Meguro A., **Takeuchi M.**, Shibuya E., Ohno S., Mizuki N.: Comprehensive analysis of the association between UBAC2 polymorphisms and Behçet's disease in a Japanese population. *Sci Rep*, (7):742, 2017. (査読有)
8. Ohno T., Meguro A., **Takeuchi M.**, Yamane T., Teshigawara T., Kitaichi N., Horie Y., Namba K., Ohno S., Nakao K., Sakamoto T., Sakai T., Nakano T., Keino H., Okada A.A., Takeda A., Fukuhara T., Mashimo H., Ohguro N., Oono S., Enaida H., Okinami S., Mizuki N.: Association Study of ARMC9 Gene Variants with Vogt-Koyanagi-Harada Disease in Japanese Patients. *Ocul Immunol Inflamm*, 1-7, 2018. (査読有)
9. Suwa A., Horita N., Ishido T., **Takeuchi M.**, Kawagoe T., Shibuya E., Yamane T., Hayashi T., Meguro A., Ishido M., Minegishi K., Yoshimi R., Kirino Y., Kato S., Arimoto J., Fukumoto T., Ishigatsubo Y., Kurosawa M., Kaneko T., Takeno M., Mizuki N.: The ocular involvement did not accompany with the genital ulcer or the gastrointestinal symptoms at the early stage of Behçet's disease. *Mod Rheumatol*, 1-17, 2018. (査読有)
10. Suzuki T., Horita N., **Takeuchi M.**, Ishido T., Mizuki Y., Mizuki R., Kawagoe T., Shibuya E., Yuta K., Yamane T., Hayashi T., Meguro A., Ishido M., Minegishi K., Yoshimi R., Kirino Y., Kato S., Arimoto J., Fukumoto T., Ishigatsubo Y., Kurosawa M., Takeno M., Kaneko T., Mizuki N.: Clinical features of early-stage possible Behçet's disease patients with a variant-type major organ involvement in Japan. *Mod Rheumatol*, 1-7, 2018.
11. Nakamura J., Meguro A., Ishii G., Mihara T., **Takeuchi M.**, Mizuki Y., Yuda K., Yamane T., Kawagoe T., Ota M., Mizuki N.: The association analysis between HLA-A*26 and Behçet's disease. *Sci Rep*, (9):4426, 2019. (査読有)
12. 竹内正樹, 水木信久: ゲノムから迫るぶどう膜炎の発症メカニズム. *あたらしい眼科*, (34):945-951, 2017. (査読有)
13. 竹内正樹, 水木信久: ベーチェット病の発症メカニズム. *臨床免疫・アレルギー科*, (68):328-333, 2017. (査読有)
14. **竹内正樹**, 水木信久: ベーチェット病の全ゲノム網羅的相関解析. *血管炎*, 日本臨牀社. 461-465, 2018 (査読有)
15. **竹内正樹**: 留学体験記. *Eye Bank Journal*, (22):30-33, 2018. (査読有)
16. **竹内正樹**: 眼炎症外来の事件簿 6歳女児に発症したステロイド抵抗性の片眼性ぶどう膜炎. *臨床眼科*, (72):1702-1705, 2018. (査読無)
17. **竹内正樹**: 眼炎症外来の事件簿 強膜炎治療中に隅角の白色塊を認めた1例. *臨床眼科*, (73):72-75, 2019. (査読無)
18. **竹内正樹**: 眼炎症外来の事件簿 ステロイド抵抗性を示す高度な片眼性前眼部炎症がみられた13歳女児. *臨床眼科*, (73):422-425, 2019. (査読無)

[学会発表](計 14 件)

<一般講演>

1. **Takeuchi M.**: Dense genotyping of immune-related loci implicates host responses to microbial exposure in Behçet's disease susceptibility, アメリカ国立衛生研究所 TARI meeting, ベセスダ, 2017年2月
2. **竹内正樹**: ベーチェット病の疾患感受性遺伝子解析. アメリカ国立衛生研究所金曜会, ベセ

スダ, 2017年3月

3. **竹内正樹**, 目黒明, 桐野洋平, 大野重昭, 石ヶ坪良明, Ahmet Gül, Daniel Kastner, Elaine Remmers, 水木信久: 免疫関連遺伝子領域を対象としたベーチェット病のゲノムワイド関連解析, 日本眼炎症学会, 大阪, 2017年7月
4. **Takeuchi M**, Meguro A, Ishihara M, Mizuki M: Genetic associations with lung sarcoidosis diagnosed by nuclear medical imaging. アジアオセアニア核医学会, 横浜, 2017年10月
5. **Takeuchi M**, Meguro A, Kirino K, Ohno S, Ishigatsubo Y, Gül A, Kastner DL, Remmers EF, Mizuki N: Largest genetic analysis for Behçet's disease by dense genotyping of immune-related loci. Japan-Korea Joint Meeting on Behçet's Disease, 横浜, 2017年12月
6. **竹内正樹**: ゲノムワイド関連解析研究データの imputation によるサルコイドーシスの新規感受性遺伝子の同定および遺伝要因の解明. 日本応用酵素協会 全身性炎症疾患の病因・病態の解明に関する研究助成 第7回研究発表会, 東京, 2018年1月
7. **Takeuchi M**: Imputation of dense genotype data identified novel association of a human leukocyte antigen class I allele with ocular Behçet's disease. The 18th World Ophthalmology Congress, Barcelona, 2018年6月
8. **竹内正樹**, 石原麻美, 南場研一, 大野重昭, 蕪城俊克, 高瀬博, 望月學, 後藤浩, 水木信久: サルコイドーシスにおける新たな疾患感受性遺伝子. 日本眼炎症学会, 東京, 2018年7月
9. **Takeuchi M**: Whole-genome imputation study implicates TLR2 locus variants that confer risk for Behçet's disease by increasing innate immune response against microbes. The 18th International Conference on Behçet's Disease, Rotterdam, 2018年9月
10. Novel association of human leukocyte antigen class I allele with ocular Behçet's disease by imputation of dense genotype data. The 18th International Conference on Behçet's Disease, Rotterdam, 2018年9月
11. **竹内正樹**: ゲノムワイド関連解析データのインピュテーション法によるベーチェット病の新規感受性遺伝子の同定. 第2回日本ベーチェット病学会, 横浜, 2018年12月

<特別講演・シンポジウム>

1. **竹内正樹**: 新たな遺伝性疾患の発見, 神奈川県立こども医療センター講演会, 横浜, 2018年1月
2. **Takeuchi M**: Immunogenetics of Behçet's disease: Lessons from genome-wide association studies. The 19th Korean Society of Behçet's Disease Annual Meeting, Seoul, 2018年10月
3. **竹内正樹**: ベーチェット病の『現在』～遺伝子解析研究を中心に～. 第2回日本ベーチェット病学会, 横浜, 2018年12月

〔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

日本ベーチェット病学会 <http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~jbehcet/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：目黒明

ローマ字氏名：Akira Meguro

ローマ字氏名：Dan Kastner

ローマ字氏名：Ahmet Gül

ローマ字氏名：Mahdi Mahmoudi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。