

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19390271

研究課題名(和文) リウマチ膠原病のゲノム医療に向けての遺伝因子、環境因子、遺伝子環境相互作用の解析

研究課題名(英文) Studies on the genetic factors, environmental factors and their interactions towards the establishment of genome medicine of rheumatic diseases.

研究代表者

土屋 尚之 (TSUCHIYA NAUYUKI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号：60231437

研究代表者の専門分野：膠原病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：全身性エリテマトーデス、全身性強皮症、関節リウマチ、疾患感受性遺伝子、*BLK*, *STAT4*, *IRF5*

#### 1. 研究計画の概要

- (1) 日本人集団におけるリウマチ・膠原病の疾患感受性遺伝子、臨床経過関連遺伝子を検出する。また、集団間における疾患感受性遺伝子の比較により、集団特異的および集団を超えて共通の疾患感受性遺伝子を同定する。
- (2) 実験的方法およびバイオインフォマティクスを用いた方法により、疾患関連遺伝子多型による機能的変化を解析する。
- (3) 遺伝子環境相互作用の解明への応用を目的として、自然免疫系遺伝子多型とリウマチ・膠原病との関連を検討する。
- (4) 複数の疾患感受性遺伝子における遺伝子型の組み合わせにより、膠原病発症リスク推定を試みる。

以上の検討により、リウマチ・膠原病の病因解明に貢献するとともに、日本人集団のリウマチ・膠原病において寄与度の高い遺伝因子を同定し、個別化医療に有用なバイオマーカーの検出を試みるとともに、予防医学の構築上有用な知見を得ることを目的とする。

#### 2. 研究の進捗状況

- (1) ヨーロッパ系集団において全身性エリテマトーデス(SLE)との関連が見出された*IRF5*, *STAT4*, *BLK*, *TNFAIP3*, *TNIP1*遺伝子が日本人集団においてもSLEと関連することを見出した。
- (2) *BLK*, *TNIP1*, *STAT4*においては、リスクアレル頻度、オッズ比が日本人集団においてヨーロッパ系集団よりも高く、日本人SLEにおける遺伝的寄与度が高いこと、*IRF5*については、ヨーロッパ系集団におけるリスクハプロタイプが日本人集団には存在せず、逆にヨーロ

ッパ系集団には存在しないSNPが日本人において有意な関連を示すことを見出した。

- (3) *BLK*が全身性強皮症(SSc)、関節リウマチ(RA)とも関連すること、*STAT4*, *IRF5*がSScとも関連することを見出した。ほぼ同時期に公表された国外の研究者らの結果とあわせ、これらの遺伝子が、人種を超えた、膠原病共通の疾患感受性遺伝子であることを明らかにした。

- (4) 新たな疾患感受性遺伝子として、*SPI1* 3'非翻訳領域SNPとSLEとの関連を見出すとともに、その多型に伴う機能的変化を実験的方法およびバイオインフォマティクスを用いた方法により解析し、いずれも、リスクアレルにおける*SPI1*発現亢進を見出した。また、*TLR9*とSLE、*IL10*受容体とSScとの関連を見出した。
- (5) これまでに複数の研究者による独立な確認が得られているSLE感受性遺伝子として、*HLA-DRB1*, *IRF5*, *STAT4*, *BLK*, *FCGR2B*, *TNFAIP3*, *TNIP1*の7遺伝子を選び、これらの遺伝子に個人が保有するリスクアレルの総数とSLE発症との関連を検討した。健常対照群の中央値である6アレル保有者を標準とした場合、リスクアレルを9個保有しているとリスクが3.41倍、10個以上保有していると9.80倍上昇し、逆に4個の時は0.49倍、3個以下の場合には0.19倍に低下することを見出した。また、これらの遺伝子間に、明らかな遺伝子間相互作用は検出されなかった。

- (6) HapMapドナーより樹立されたB細胞株のトランスクリプトームのデータベース(GENEVAR)を利用して、任意のSNPと任意の遺伝子のmRNAレベルとの関連を解析する方法を確立した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

研究期間中に、ヨーロッパ系集団における大規模 SNP 解析研究が報告されたが、これにより見出された主要な疾患感受性遺伝子に関する、日本人集団における SLE との関連の知見を示すとともに、個々の遺伝子の遺伝学的寄与度に顕著な集団差が見られることを見出し、日本人におけるゲノム医療を確立する上で基礎となるデータを報告した。

同時に、*IRF5*, *STAT4*, *BLK* など、複数の膠原病に共通する疾患感受性遺伝子が予想以上に多いことも明らかにすることができた。

いくつかの遺伝子においては、高密度 SNP タイピング、リシーケンシングにより、原因的と思われる多型部位を同定し、機能解析により、機能的影響を示した。

また、環境因子に対する応答において重要と思われる複数の自然免疫系遺伝子(*TLR7*, *IRF5* など)の多型と SLE, SSc などの関連を見出した。これらは、今後の遺伝子環境相互作用の検討上、有益な示唆を与えるものである。

さらに、任意の SNP の遺伝子型と任意の遺伝子の発現レベルとの関連を網羅的に検討可能なプログラムを作成した。

これらの知見を応用し、日本人集団において、7 個の SLE 関連遺伝子におけるリスクアレル数と SLE との関連を示し、個人における発症リスク推定に応用しうる知見を提供した。

以上のように、3 年間の研究により、当初計画した 4 年間の研究目標を達成し、その成果を多数の論文として発表しえたと考える。

### 4. 今後の研究の推進方策

これまでの研究により、ヨーロッパ系集団・アジア系集団に共通するリウマチ・膠原病関連 common SNP はほぼ見出されたと考えられるため、候補遺伝子アプローチおよびゲノムワイドアプローチの併用により、特にアジア系集団、日本人集団において寄与度の高い膠原病感受性遺伝子を、common variant, rare variant, コピー数多型 (copy number variation, CNV) を含めて、包括的に検出する。

また、実験的方法、バイオインフォマティクスによるアプローチを駆使して、確立した疾患関連遺伝子多型の分子機構を解明し、日本人集団において有用性の高い治療の分子標的を見出すとともに、臨床経過や薬物応答性予測に有用なバイオマーカーを開発する。

さらに、遺伝子環境相互作用を検討するために、膠原病患者末梢血におけるウイルス DNA、RNA の存在を、最新の解析技術を用いて

検討し、宿主側の遺伝子多型との相互作用を考慮に入れて、リウマチ膠原病発症における遺伝子環境相互作用を分子レベルで明らかにする。

### 5. 代表的な研究成果

(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 30 件)

1. Ito I, --- Tsuchiya N (10 名中 10 番目) . Association of the *FAM167A-BLK* region with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2010;62:890-895. 査読あり
2. Ito I, --- Tsuchiya N (15 名中 15 番目) . Replication of association between *FAM167A (C8orf13)-BLK* region and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis Published Online First*: 9 September 2009. doi:10.1136/ard.2009.118760. 査読あり
3. Ito I, --- Tsuchiya N (12 名中 12 番目) . Association of a functional polymorphism in the *IRF5* region with systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum* 2009;60:1845-1850. 査読あり
4. Ito I, --- Tsuchiya N (15 名中 15 番目) . Replication of the association between *C8orf13-BLK* region and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Arthritis Rheum* 2009; 60:553-558. 査読あり
5. Kawasaki A, --- Tsuchiya N (18 名中 18 番目) . Role of *STAT4* polymorphisms in systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study of the *STAT1-STAT4* region. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R113. 査読あり

[学会発表] (計 35 件)

1. Ito I, --- Tsuchiya N (11 名中 11 番目) . Association of *FAM167A (C8orf13) - BLK* region with systemic sclerosis. 2009 American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting, October 17-22, 2009, Philadelphia (米国)

[その他]

ホームページ

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/community-med/publiccmd/GE/CCP004.html>