

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18552

研究課題名(和文)全ゲノム関連解析によるハンナ型間質性膀胱炎の疾患感受性遺伝子と新規治療標的の探索

研究課題名(英文)Genome-Wide Association Study of Hunner-type Interstitial Cystitis

研究代表者

秋山 佳之(AKIYAMA, Yoshiyuki)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20529135

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ハンナ型間質性膀胱炎(HIC)148例、control 896例からなるコホートより509,305バリアントのジェノタイプデータを得て、日本人集団のリファレンスパネルを用いた遺伝型imputationを行い、常染色体上の7,994,849バリアント、X染色体上の219,983バリアントを得た。HLA遺伝子のバリアントについてはHLA imputationを行い2287バリアントを得た。MHC領域のファインマッピングを行い、有意水準を満たすバリアントとしてrs1794275を同定し連鎖不平衡関係にあるHLA-DQB1遺伝子の75番目アミノ酸残基も強い関連を示した( $P = 1.4 \times 10^{-6}$ )。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、世界中で精力的に病態解明研究が行われているにも関わらず未だ病因不明の難病であるハンナ型間質性膀胱炎の発症に遺伝的要因が関与することを世界で初めて全ゲノム関連解析を施行して明らかにした。過去の研究から、HICは免疫学的異常を伴うことが示唆されていたが、本研究で特定された疾患感受性遺伝子領域は古典的MHCクラスII領域のバリアントであり、非常に合理的な結果である。本研究結果からハンナ型間質性膀胱炎が免疫関連疾患であることはほぼ間違いなく、今後の治療法開発や病態解明の進歩に大きく寄与する点で学術的・社会的意義は大きい。現在、Nature関連雑誌への投稿を準備中である。

研究成果の概要(英文)：To examine the roles of human leukocyte antigen (HLA), which has been known to be associated with the risk of various autoimmune diseases, for Hunner-type interstitial cystitis (HIC) pathogenesis in Japanese, we fine-mapped HLA in 1,044 individuals (148 patients with HIC and 896 controls). We identified that one of the class II HLA alleles of HLA-DQB1 was significantly associated with HIC risk. The conditional analysis demonstrated that no other HLA alleles remained significant after conditioning on the HLA-DQB1, suggesting that HLA-DQB1 could explain most of the MHC risk associated with HIC risk. The HLA amino acid residue-based analysis suggested that the amino acid position 75 of HLA-DQB1 plays a key role in the susceptibility to HIC (presence of valine being a risk,  $P = 1.4 \times 10^{-6}$ ).

研究分野：泌尿器科学

キーワード：全ゲノム関連解析 ハンナ型間質性膀胱炎 HLA imputation GWAS

## 1. 研究開始当初の背景

間質性膀胱炎 (IC) は、膀胱痛や頻尿などの症状をきたす膀胱の慢性炎症性疾患である。特有の症状により生活の質 (QOL) は著明に低下するが、病因は不明で客観的診断基準を欠き、確立した治療もない。2015 年には泌尿器科領域の成人疾患として初の指定難病となった。

IC には膀胱内に「ハンナ病変」がある症例とない症例があるとされながら、両者の差異は明確ではなかった。この点に関し、私たちは多数症例を用いた解析の結果、ハンナ病変を有する IC (ハンナ型 IC) は、ハンナ病変を有しない IC (現在、膀胱痛症候群と称される) と比べて、膀胱組織のリンパ球・形質細胞浸潤や膀胱上皮の剥離が顕著であることを最新の画像解析ソフトを用いて定量的に明確に示した (Maeda D, Akiyama Y et al., 2015)。更に浸潤しているリンパ球のレパトリー解析を行い、T細胞、B細胞が共にクローナル増殖を起こしていることを突き止めた。なかでも、一部の症例では特定の B細胞が圧倒的なドミナンスで増殖していることが判明した。また、浸潤形質細胞では免疫細胞の炎症部位への遊走に關与するケモカインレセプターである CXCR3 受容体の発現が亢進していることを同定した (Akiyama Y et al., 2016)。以上から、ハンナ型 IC では間質の免疫性炎症と上皮の広範な剥離がみられることを明らかにした。しかしながら、この特徴的な免疫性炎症や尿路上皮剥離を来す原因は、遺伝的背景を含め未だ明らかにはされていない。

いっぽう、同疾患の発症に關与する疫学的因子として、性差 (女性が圧倒的な数的優位を占める)、感染、加齢などの環境要因がこれまでに挙げられている。しかし、上記の間質における免疫性炎症や尿路上皮剥離といった形態学的所見と疫学的要因との關連性やそれらの遺伝学的背景はこれまで国内外において明らかにされておらず不明である。

## 2. 研究の目的

本研究では、ハンナ型 IC 患者の全ゲノム關連解析を行い、発症に關わる疾患感受性遺伝子領域の探索を行う。これまでにハンナ型 IC の全ゲノム關連解析に關する研究は世界的にも報告されておらず、実行されれば世界初の試みとなる。さらに、得られた感受性遺伝子領域と多様な生物学的データベースや当科にて完備している臨床病理学的データとの照合を行い、治療標的となる遺伝子を絞り込む。これらによって、ハンナ型 IC の発症に關与する遺伝的要因を明らかにし、病態生理の解明や新たな治療標的の発見や治療薬の開発を目的とする。現在ハンナ型 IC の国内患者数は約 2 千人である。

## 3. 研究の方法

患者末梢血より得られたゲノム DNA を用いて、ヒトゲノム全域に存在する約 1000 万か所の一塩基多型 (SNP) を網羅的に解析し、得られたゲノムデータから発症リスクとの關連を解析する。さらに、研究協力施設である大阪大学大学院医学系研究科遺伝統計学講座が開発・公表した日本人コホートのリファレンスパネルを用いて MHC 領域内のジェノタイプデータについては HLA imputation を行い、MHC 領域のファインマッピングも行う。比較対照は同講座の保有する数千人の健常日本人コホートのゲノムデー

タを用いる。

#### 4 . 研究成果

Asian Screening Array chip (ASA chip) によりジェノタイピングして得られたデータに対し、クオリティコントロールを行った結果、ハンナ型 IC 148 例、control 896 例における 509,305 バリエントのジェノタイプデータを得た。これを基に、日本人集団のリファレンスパネルを用いた遺伝型 imputation を行った結果、常染色体上の 7,994,849 バリエント、X 染色体上の 219,983 バリエントが得られた。また、HLA 遺伝子のバリエントについて HLA imputation を行ったところ、2287 バリエントが得られた。

得られた imputed dosage を用いて、ハンナ型 IC に関するケースコントロール関連解析を行ったところ、ゲノムワイド有意水準を満たすシグナルは全ケースを用いた解析では検出されなかった。最も強い関連を示したバリエントは 6 番染色体 MHC 領域の SNP rs1794275 であった ( $P = 1.8 \times 10^{-7}$ , OR 2.09 [95% CI 1.59-2.76])。

HLA imputation の結果を用いた MHC 領域のファインマッピングでは、最も強い関連を示したバリエントは rs1794275 であり、これは region-wide な有意水準 ( $0.05/[MHC \text{ 領域における検定数}] = 4.3 \times 10^{-6}$ ) を満たした。

この SNP は HLA-DQB1 遺伝子の 75 番目アミノ酸残基と強い連鎖不平衡関係にあり、このアミノ酸残基も強い関連を示した ( $P = 1.4 \times 10^{-6}$ , OR 1.94 [95% CI 1.48-2.55])。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akiyama Y, Luo Yi, Hanno P, Maeda D, Homma Y.	4. 巻 Epub Ahead of Print
2. 論文標題 Interstitial cystitis/bladder pain syndrome: The Evolving Landscape, Animal Models, and Future Perspectives.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International journal of Urology	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14229	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yoshiyuki Akiyama, Daichi Maeda, Hiroto Katoh, Haruki Kume, Yukio Homma
2. 発表標題 Comparative transcriptome analysis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome with Hunner lesions and Bacillus Calmette Guerin related cystitis by next generation RNA sequencing: Discovery of disease specific genes and associated biological pathways
3. 学会等名 35th European Association of Urology annual meeting. 2020 July 18th. (Virtual) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	岡田 随象  (Okada Yukinori)	大阪大学大学院医学系研究科・遺伝統計学講座・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------