

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06214・19K21317

研究課題名(和文)全ゲノム関連解析による日本人多発性硬化症の脳灰白質萎縮を規定する遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of genes regulating brain gray matter atrophy in Japanese multiple sclerosis by genome-wide association study

研究代表者

中村 優理 (Nakamura, Yuri)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40822375

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症(MS)患者66例の頭部MRI撮影及びHLAタイピングを施行し、脳容積の減少速度、及び病巣体積の増加速度とHLAの関係について解析を行った。HLA-DRB1*15:01保有者では、全脳容積、脳白質容積の減少速度が速く、DRB1*04:05保有者では、病巣体積の増加が緩徐であった。いずれのHLA遺伝子も脳灰白質容積の減少とは関連していなかった。DRB1*15:01とDRB1*04:05はいずれも日本人MSにおける疾患感受性遺伝子であるが、MSの進行においてそれぞれ異なるメカニズムが機能していることが示唆された。さらに症例数を増やして全ゲノム解析を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MSの脳萎縮は非可逆的な神経軸索変性を反映し、MSの慢性障害進行を予測するバイオマーカーとして注目されている。脳萎縮は進行期に特徴的な所見ではなく、病初期から認められることから、脳萎縮をいかに早期から予防するかがMSの慢性的な障害進行を食い止める上で極めて重要である。今回、日本人MSにおける脳萎縮並びに病巣蓄積と関連するHLA遺伝子を明らかにした。脳萎縮の機序の解明、ひいては治療標的の同定に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：A total of 66 patients with multiple sclerosis (MS) underwent brain MRI volumetry measuring and HLA-DRB1 genotyping. HLA-based differences in MRI parameters including brain volume loss and accumulation of lesion load were assessed. HLA-DRB1*15:01 carriers had a significantly faster reduction in normalized whole-brain white matter volumes than DRB1*15:01 non-carriers, whereas HLA-DRB1*04:05 carriers had a significantly slower increase in lesion volumes than HLA-DRB1*04:05 non-carriers. Our study suggests that distinct HLA-DRB1 alleles could differentially influence brain and lesion volumes over the disease course of MS. We will conduct genome-wide association study to find additional genes regulating brain atrophy and accumulation of lesion load in a larger cohort.

研究分野：神経免疫

キーワード：多発性硬化症 HLA 頭部MRI 脳萎縮

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、MS に対して多数の疾患修飾薬が開発されているが、その全ては再発寛解型 MS に対する再発予防薬であり、慢性的な障害進行には無効である。慢性的な障害進行をいかに防ぐかは MS 診療の最大のアンメットニーズとなっている。MS の脳萎縮は非可逆的な神経軸索変性を反映し、MS の慢性障害進行を予測するバイオマーカーとして注目されている。特に脳灰白質萎縮が障害進行と密接に関連していると言われている。脳萎縮は進行期に特徴的な所見ではなく、病初期から認められることから、脳萎縮をいかに早期から予防するかが MS の慢性的な障害進行を食い止める上で極めて重要である。私たちは、多数例の日本人と欧米人の MRI 画像の比較によって、両者とも全脳容積、大脳皮質容積、深部灰白質容積が障害の進行と強く相関することを見出した (Nakamura et al, J Neuroinflam, 2018)。しかも日本人 MS の方が、深部灰白質の萎縮速度は速かった。17-30%の遺伝子発現が人種により異なるとされ、遺伝的背景の差異がこのような脳萎縮パターンの差を生む一因と考えられる。MS の遺伝性は、その大部分がヒト白血球抗原 (HLA) 遺伝子によって担われており、欧米人では *HLA-DRB1*15:01* が最大の MS リスクアリルである。近年、大規模な全ゲノム解析 (GWAS) により、HLA 以外の領域にも、免疫関連遺伝子における多数の一塩基多型との関連が報告されている。私たちは Japan Multiple Sclerosis Genetics Consortium (JMSGC) を 2009 年に設立し、MS 及び視神経脊髄炎 (NMO) の臨床データと DNA 試料を収集してきた。JMSGC では収集した約 800 例の日本人 MS 患者の試料を利用して GWAS を行い、アジア人で初めて MS の発症に関連する遺伝領域を明らかにした。これらの一部は欧米人と共通するものの、多くは日本人で新規に関連が認められた領域であった。さらに、gene ontology 解析により、欧米人とは異なりイオンチャネルなど中枢神経分子が、日本人 MS に特有なリスク遺伝子となっていることを見出した。一方、私たちは HLA 領域では日本人コホートでは *DRB1*04:05* が最も強いリスク遺伝子であることを発見した。HLA のアリル頻度は集団によって違いが大きく、リスク遺伝子 *HLA-DRB1*04:05* は日本人では頻度が高いが、北部ヨーロッパ系人種においては稀なアリルである。*HLA-DRB1*04:05* を有する日本人 MS は若年発症で軽症、MS らしい脳病巣 (Barkhof 基準を満たす) を呈する割合が低い、髄液 IgG 異常が少ないというユニークな臨床的特徴を有することを私たちは報告し (Nakamura et al, J Neuroinflam, 2016)、人種によって MS の臨床像が異なる一因が遺伝的背景の差による可能性を見出した。大規模コホートを用いた欧米白人での研究では、リスク遺伝子である *HLA-DRB1*15:01* は、脳 MRI における病変の蓄積と脳萎縮に関連する一方、保護的アリルである *HLA-B*44:02* は T2 病変体積を減じ、脳萎縮に抵抗性を有すると報告されている。また、再発寛解型の女性 MS 患者では、HLA リスクの集積が高いほど、発症年齢が高く、頭部 MRI における皮質下灰白質がより急速に萎縮していると報告されているが、いずれも HLA を対象とした研究に限られる。GWAS と頭部 MRI 所見に関する報告としては、グルタミン酸シグナル、神経発達、細胞内カルシウム濃度調整に関わるネットワークが MS の脳皮質厚と関係しているという欧米人 MS を対象とした報告があるが、アジア人を対象として脳萎縮と関連する遺伝子を解析した報告はなく、また人種差に着目した報告はない。以上より、機序が未解明の MS の脳萎縮、とりわけ障害の進行に密接に関連する脳灰白質の萎縮を規定する日本人の遺伝的要因を探索し、当該遺伝子の脳萎縮や障害の進行における役割を明らかにすることで、MS の慢性障害進行における新規治療薬の開発につながると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では大脳各部位、特に障害進行に密接に関わる灰白質容積の減少と有意に関連するリスク遺伝子・保護的遺伝子を同定することを目的とした。

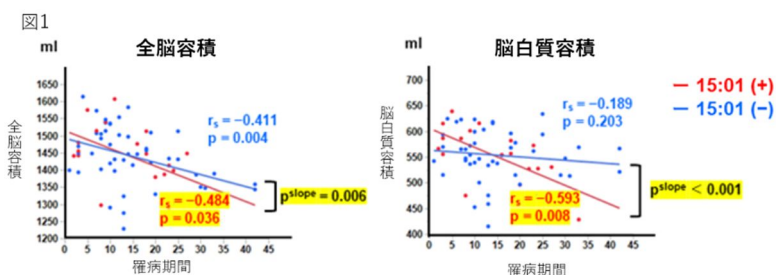
3. 研究の方法

2010年の McDonald criteria を満たす 20 歳以上の MS 患者に対し、脳 3D-MRI を施行した。再発から 4 週間以内の患者は除外した。初発年齢、性別、サブタイプ (RRMS: relapsing-remitting MS か PMS: progressive MS)、MRI 撮像時の年齢、罹病期間、Expanded Disability Status Scale (EDSS) スコア、oligoclonal IgG bands、IgG index、疾患修飾薬の有無についてカルテから臨床情報を収集した。標準化を行った全脳容積・深部灰白質容積・皮質容積・白質容積・FLAIR 病巣体積・T1 病巣体積を icobrain ms (icomatrix, Leuven, Belgium) を用いて計測した。まず、欧米白人で脳萎縮や病巣蓄積と関連していると言われていた MS リスクの HLA 多型について画像的検討を行うこととした。PCR (polymerase chain reaction) により増幅した産物と配列特異的オリゴヌクレオチドプローブ間のハイブリダイゼーションによって患者の HLA-DRB1 の遺伝子型の同定を行った。MRI パラメータと罹病期間との相関関係は Spearman 's rank correlation を用いて解析した。罹病期間と MRI パラメータの関係式については、HLA-DRB1*15:01 あるいは DRB1*04:05 の保有者と非保有者間での切片と傾き (p^{slope}) の有意差について検討し、それぞれのアリルの保有者と非保有者で脳容積の萎縮や病巣体積の蓄積に差異があるか検討した。また、脳萎縮同様、障害進行と密接な関わりをもつとされる脊髄萎縮についても計測ならびに検討を行った。日本人 MS において、どのレベルの脊髄萎縮が疾患進行と関連しているのか明らかにした。脳萎縮計測を行った患者群とは別の MS 患者群 140 例において、頸髄と胸髄の断面積 (C2/C3, C3/C4, T8/T9, T9/T10 椎体レベル) を T2 強調画像で計測した。

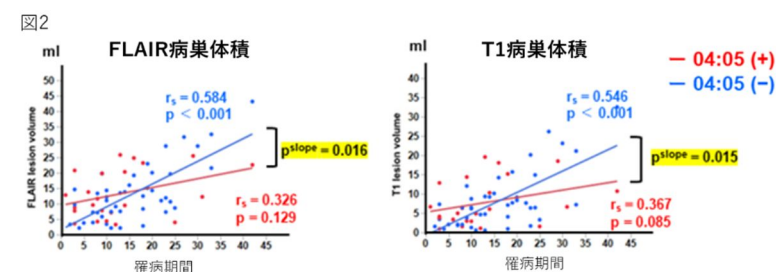
4. 研究成果

2017 年 11 月 ~ 2018 年 12 月の間に MRI を撮影し、条件を満たした患者は 66 例であった。66 例の臨床像であるが、女性は 7 割程度、HLA-DRB1*15:01、DRB1*04:05 の保有率 (28.8%, 34.8%) は既報告と同程度であった。なお、HLA-DRB1*15:01 あるいは DRB1*04:05 の保有者と非保有者で臨床特徴に有意差はなかった。年齢、性別、罹病期間、EDSS スコアで調整を行い HLA-DRB1*15:01 の保有者と非保有者間で各 MRI パラメータを比較したが有意差はなかった。同様に HLA-DRB1*04:05 の保有者と非保有者間で各 MRI パラメータを比較したが有意差はなかった。次に罹病期間と各 MRI パラメータの

式の傾き (p^{slope}) を HLA-DRB1*15:01 保有者と非保有者で比較したところ、全脳容積と脳白質容積において、保有者の方が有意差をもって急峻な傾きであった (図 1)。また、罹病期間と各 MRI パラメータの式

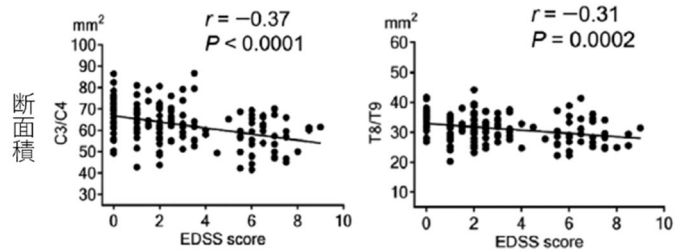


式 (図 2) の傾き (p^{slope}) を HLA-DRB1*04:05 保有者と非保有者で比較したところ、FLAIR 病巣体積と T1 病巣体積において、保有者の方が有意差をもって緩やかな傾きを示した (図 2)。いずれの HLA 遺伝子も脳灰白質容積の減少とは関連していなかった。DRB1*15:01 保有者と DRB1*04:05 保有者の脳 MRI パラメータと罹病期間との関係の違いは、それぞれの allele で異なる疾患メカニズムが機能していることが示唆された。日本人 MS に



において *HLA-DRB1*15:01* と *DRB1*04:05* は各脳容積や病巣容積の経時的変化に影響すると考えられた。さらに、脳萎縮同様、障害進行と密接な関わりをもつとされる脊髄萎縮についても検討を行った。頸髄 (C3/C4)・胸髄 (T8/T9)の断面積が Expanded Disability Status Scale (EDSS) スコアと関連するか検討したところ、MS では頸胸髄両方の断面積と EDSS スコアが負の相関を示した ($r = -0.37$, $p < 0.0001$ [C3/C4], $r = -0.31$, $p = 0.0002$ [T8/T9], 図3)。多変量解析では、頸髄断面積と EDSS スコアが有意に関連し、進行型 MS、年齢、再発回数も EDSS スコアと関連していた。MS では頸髄・胸髄萎縮が疾患障害度と相関するが、特に頸髄萎縮が障害度と関連することが分かった。MS の脊髄断面積と遺伝子の関連を調べることも MS の疾患進行の病態を明らかにする上で有用と考えられた。

図3



GWAS を行うために症例数を増やし、期間内に MS 患者 130 例・健常対照者 22 例の頭部並びに脊髄 MRI 撮影が終了した。健常対照者と比較した場合の MS 患者の各脳部位や脊髄の萎縮パターンの算出を行った上、GWAS でも各脳容積や病巣体積、脊髄断面積と HLA 領域に関連があるかを確認し、その他にこれらと関連する遺伝子があるかについても検討を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukumoto S, Nakamura Y, Watanabe M, Isobe N, Matsushita T, Sakoda A, Hiwatashi A, Shinoda K, Yamasaki R, Tsujino A, Kira J	4. 巻 413
2. 論文標題 Risk HLA-DRB1 alleles differentially influence brain and lesion volumes in Japanese patients with multiple sclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2020.116768	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Y, Liu Z, Fukumoto S, Shinoda K, Sakoda A, Matsushita T, Hayashida S, Isobe N, Watanabe M, Hiwatashi A, Yamasaki R, Kira J	4. 巻 27
2. 論文標題 Spinal cord involvement by atrophy and associations with disability are different between multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 92～99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ene.14038	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Nakamura Y, Watanabe M, Isobe N, Sakoda A, Matsushita T, Tanaka M, Kira J
2. 発表標題 Effect of immunogenic background on JCV infection in Japanese patients with multiple sclerosis
3. 学会等名 60th Annual Meeting of The Japanese Society of Neurology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福元 尚子、中村 優理、渡邊 充、磯部 紀子、松下 拓也、迫田 礼子、林 史恵、吉良 潤一
2. 発表標題 HLA-DRB1*15:01保有者多発性硬化症患者は全脳・白質容積の萎縮が速く、DRB1*04:05保有者は病巣容積の増加が遅い
3. 学会等名 第37回 日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福元 尚子、中村 優理、渡邊 充、迫田 礼子、磯部 紀子、松下 拓也、吉良 潤一
2. 発表標題 日本人多発性硬化症患者におけるHLAアレルの脳容積に対する影響
3. 学会等名 第31回 日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 優理
2. 発表標題 多発性硬化症と視神経脊髄炎関連疾患の障害度マーカーとしては異なるレベルの脊髄断面積が有用である
3. 学会等名 第30回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura Y, Watanabe M, Isobe N, Sakoda A, Hayashi F, Matsushita T, Kira J
2. 発表標題 HLA-DRB1*15:01 protects and DR4 facilitates JCV infection in Japanese patients with multiple sclerosis
3. 学会等名 11th Congress of the Pan-Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura Y, Gaetano L, Matsushita T, Altermatt A, Sprenger T, Radue EW, Wuerfel J, Bauer L, Amann M, Shinoda K, Isobe N, Yamasaki R, Saida T, Kappos L, Kira J
2. 発表標題 A comparison of brain MRI features between Asian and Caucasian patients with multiple sclerosis
3. 学会等名 143rd Annual Meeting American Neurological Association. (国際学会)
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----