

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591258

研究課題名（和文）抗リン脂質抗体症候群と全身性エリテマトーデスの疾患感受性遺伝子に関する研究

研究課題名（英文）Analysis of the susceptible genes of antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus.

研究代表者

堀田 哲也 (HORITA TETSUYA)

北海道大学・北海道大学病院・講師

研究者番号：50399929

研究成果の概要（和文）：

抗リン脂質抗体症候群(APS)や全身性エリテマトーデス(SLE)の遺伝的背景を明らかにすることを目的とし、APS約140名、SLE約500名、健常人コントロール400名からゲノムDNAを抽出し同時に患者データベースを作成した。TNFAIP3の遺伝子多型の解析では、日本人のSLEにおいても関連が明らかとなった。また、理化学研究所や名古屋市立大学で行なわれた日本人集団におけるSLEやAPSのゲノムワイドなSNP解析に協力し、検体の収集ならびに臨床情報の収集を行った。

研究成果の概要（英文）：

To explore the genetic background of antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus, the analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) was performed after the establishment of database of APS and SLE in Japanese population. TNFAIP3 SNP was associated with SLE in Japanese population. In addition, various lupus susceptible genes were found by multicenter genome wide association study.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病アレルギー学

キーワード：一塩基多型、疾患感受性遺伝子、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質抗体症候群

1. 研究開始当初の背景

血栓症や妊娠合併症を引き起こすAPSや代表的な全身性自己免疫疾患であるSLEの原因はいまだに明らかとはなっていないが、環境要因に加えて遺伝的な背景があることがこれ

までの疫学的、基礎的および臨床的研究から明らかとなってきた。これまでHLAや各種の免疫関連分子、血液凝固関連分子の遺伝子多型とAPSやSLEとの関連が報告されてきた。一方で人種による違いも多数報告されてい

るが、これまで日本人 APS や SLE に関する疾患感受性遺伝子に関する報告は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、APS や SLE の発症や様々な臨床症状と関連する遺伝的背景を遺伝子多型、特に一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) を用いて明らかにすることを目的とした。具体的には、これまでの基礎的および臨床的研究に基づき APS や SLE の発症に重要と考えられる免疫関連、血栓症関連の遺伝子解析を行なうとともに、近年の欧米を中心としたゲノムワイドな関連解析で新たに明らかとなった疾患関連候補遺伝子につき、日本人患者集団における再現性を確認、さらには日本人 APS ならびに SLE のゲノム解析を行ない、日本人における APS および SLE の疾患感受性遺伝子を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) ゲノムDNAの抽出ならびにデータベースの作成: APS、SLE を中心に各種自己免疫疾患患者からゲノムDNA、血清、血漿サンプルの収集を行うとともに、臨床データの収集も行い、将来の層別化解析に向け自己免疫疾患患者データベースを作成する。性別、年齢のマッチした健常人コントロールについても同様に DNA サンプルを収集しデータベースを作成する。

(2) 候補遺伝子のSNP解析: これまで検討されてきた IRF-5、TYK2、CD45、 β 2-GPI、血管内皮プロテインCレセプター、Fc γ レセプターなどの遺伝子多型に加え、自己免疫現象に関連すると思われる各種遺伝子 (HLA、CTLA-4、Toll like receptor、補体などの免疫関連分子、STAT4などのシグナル伝達分子) ならびに APS においてはプロテインC、プロテインSなどの血栓症関連分子の遺伝子多型を TaqMan アッセ

イ、制限酵素断片長多型 (RFLP) などの各種 SNP 検出法を用い判定する。そののち各遺伝子多型、ハプロタイプと疾患、各臨床症状との関連を統計学的に解析する。

(3) ゲノムワイドなSNP解析: 疾患感受性候補遺伝子の SNP 解析と並行して、理化学研究所で行なわれる SLE のゲノムワイドな SNP 解析に協力し、日本人における SLE の疾患感受性遺伝子領域を絞り込む。ゲノム解析で得られた知見に基づき詳細なマッピングならびに異なるサンプルでの再現性を確認する。ゲノムワイドな SNP 解析については、理化学研究所などと協力して行う。

(4) 各種自己抗体などの臨床検査: 患者血漿、血清サンプルを用い、従来から頻用されている各種自己抗体の測定や凝固機能検査、各種疾患標識マーカー、疾患活動性マーカーなどに加え、独自に測定系を確立した新しい自己抗体 (ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体など) を測定し、各遺伝子多型との関連を検討する。

4. 研究成果

(1) ゲノム DNA の抽出を行い、APS 約 140 名、SLE 約 500 名の検体を収集した。同時に臨床データの収集を行い、層別化解析のための患者データベースを作成した。健常人コントロールについても同様に DNA サンプルを収集し約 500 名の DNA サンプルを収集した。

(2) これまで欧米人で報告されてきた SLE の疾患感受性遺伝子について、日本人 SLE で関連を検討した。例えば TNFAIP3 の遺伝子多型は当初白人集団で SLE と関連することが報告されたが、日本人の SLE とも関連が明らかとなった (Arthritis Rheum 2010; 62(2): 574-579)。

(3) 疾患感受性候補遺伝子の SNP 解析と並行

して、理化学研究所や名古屋市立大学で行なわれた日本人集団における SLE や APS のゲノムワイドな SNP 解析と協力し、検体の収集ならびに臨床情報の収集を行った (PLoS Genetics 2012 8(1) e1002455)。

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 15 件)

- ① Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. **PLoS Genetics** 2012 8(1) e1002455、査読あり
- ② Hashimoto T, Yasuda S, Koide H, Kataoka H, Horita T, Atsumi T, Koike T. Aberrant splicing of the hRasGRP4 transcript and decreased levels of this signaling protein in the peripheral blood mononuclear cells in a subset of patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther.** 2011; 13(5): R154、査読あり
- ③ K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. The efficacy of antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. **Arthritis Rheum.** 2012; 64(2): 504-512、査読あり
- ④ Kato M, Atsumi T, Kurita T, Odani T, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Hepatitis B Virus Reactivation by Immunosuppressive Therapy in Patients with Autoimmune Diseases: Risk Analysis in Hepatitis B Surface Antigen-negative Cases. **J Rheumatol.** 2011; 38(10): 2209-2214、査読あり
- ⑤ Kato M, Kataoka H, Odani T, Fujieda Y, Otomo K, Oku K, Horita T, Yasuda S, Atsumi T, Tsujino I, Nishimura M, Koike T. The short-term role of corticosteroid therapy for pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue diseases: report of five cases and a literatural review. **Lupus** 2011; 20(10): 1047-1056、査読あり
- ⑥ Fujieda Y, Kataoka H, Odani T, Otomo K, Kato M, Fukaya S, Oku K, Horita T, Yasuda S, Atsumi T, Koike T. Clinical features of reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. **Mod Rheumatol** 2011; 21(3): 276-281、査読あり
- ⑦ Bohgaki M, Matsumoto M, Atsumi T, Kondo T, Yasuda S, Horita T, Nakayama KI,

- Okumura F, Hatakeyama S, Koike T:
Plasma gelsolin facilitates
interaction between $\beta 2$ glycoprotein I
and $\alpha 5 \beta 1$ integrin. **J Cell Mol Med**
2011; 15(1): 141-151、査読あり
- ⑧ Suzuki E, Amengual O, Atsumi T, Oku K,
Hashimoto T, Kataoka H, Horita T,
Yasuda S, Ieko M, Fukushima K, Koike T:
Increased Expression of Phospholipid
Scramblase 1 in Monocytes from
Patients with Systemic Lupus
Erythematosus. **J Rheumatol** 2010;
37(8): 1639-1645、査読あり
- ⑨ Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K,
Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada
R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M, Atsumi
T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S,
Yamanaka H, Nakamura Y and Yamamoto K:
The association of a non-synonymous SNP
in the TNFAIP3 gene with systemic lupus
erythematosus and rheumatoid arthritis
in the Japanese population. **Arthritis
Rheum** 2010; 62(2): 574-579、査読あり
- ⑩ Nakagawa H, Yasuda S, Matsuura E,
Kobayashi K, Ieko M, Kataoka H, Horita
T, Atsumi T, and Koike T. Nicked
· 2-glycoprotein I binds
angiostatin4.5 (plasminogen kringle
1-5) and attenuates its
anti-angiogenic property. **Blood** 2009;
114(12): 2553-2559、査読あり
- ⑪ Sakai Y, Atsumi T, Ieko M, Amengual O,
Furukawa S, Furusaki A, Bohgaki M,
Kataoka H, Horita T, Yasuda S and Koike
T. The effects of phosphatidylserine
dependent antiprothrombin antibody on
thrombin generation. **Arthritis Rheum**
2009; 60(8): 2457-2467、査読あり
- ⑫ Oku K, Atsumi T, Bohgaki M, Amengual O,
Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Koike T:
Complement activation in patients with
primary antiphospholipid syndrome. **Ann
Rheum Dis** 2009; 68(11):1030-1035、査
読あり
- ⑬ Bohgaki T, Atsumi T, Bohgaki M,
Furusaki A, Kondo M, Sato-Matsumura KC,
Abe R, Kataoka H, Horita T, Yasuda S,
Amasaki Y, Nishio M, Sawada K, Shimizu
H, Koike T. Immunological
reconstitution after autologous
hematopoietic stem cell
transplantation in patients with
systemic sclerosis: relationship
between clinical benefits and
intensity of immunosuppression **J
Rheumatol** 2009; 36(6):1240-1248、査読
あり
- ⑭ Horita T, Atsumi T, Yoshida N, Nakagawa
H, Kataoka H, Yasuda S, Koike T. STAT4
single nucleotide polymorphism,
rs7574865 G/T, as a risk for
antiphospholipid syndrome. **Ann Rheum
Dis** 2009; 68(8):1366-1367、査読あり
- ⑮ Harris A, Kamishima T, Horita T, Atsumi
T, Fujita N, Omatsu T, Onodera Y, Terae
S, Koike T, Shirato H. Splenic Volume
in Systemic Lupus Erythematosus. **Lupus**
2009; 18(12):1119-1120、査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- 堀田哲也：ワークショップ 3「自己抗体」：抗リン脂質抗体症候群と遺伝子多型。第 39 回日本臨床免疫学会総会、京王プラザホテル(東京)、2011 年 9 月 15-17 日
- 堀田哲也、中川久子、小谷俊雄、藤枝雄一郎、大友耕太郎、加藤将、保田晋助、

渥美達也、小池隆夫：抗リン脂質抗体患者における AGTRL1 と PRKCH 遺伝子多型の解析、第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会、神戸ポートピアホテル(神戸)、2011 年 7 月 17 -20 日

3. Horita T, Nakagawa H, Kurita T, Odani T, Fujieda Y, Otomo K, Kato M, Yasuda S, Atsumi T, Koike T. Novel Lupus Susceptible Gene Polymorphisms in Patients with Sjögren's Syndrome in Japanese Population. The 74th Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology, Atlanta, Georgia, USA, 7-11 Nov. 2010
4. Horita T, Nakagawa H, Oku K, Kataoka H, Yasuda S, Atsumi T, Koike T. Lupus Susceptible Gene Polymorphisms in Patients with Antiphospholipid Syndrome in Japanese Population. The 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, USA, 13-16 Apr. 2010
5. Horita T, Nakagawa N, Oku K, Kataoka H, Yasuda S, Atsumi T, Koike T. Lupus Susceptible Gene Polymorphisms in Patients with Antiphospholipid Syndrome. The 73rd Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology, Philadelphia, USA, 18-21 October, 2009
6. 堀田哲也、中川久子、片岡浩、保田晋助、渥美達也、小池隆夫：抗リン脂質抗体症候群患者における全身性エリテマトーデスの疾患感受性遺伝子の多型解析、第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会、グランドプリンスホテル新高輪(東京)、2009 年 4 月 23 -26 日

[図書] (計 1 件)

① 堀田 哲也：「血管炎症候群」、今日の治療指針 2009、山口徹、北原光夫、福井次矢編、医学書院、615-617

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀田 哲也 (HORITA TETSUYA)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：5039929

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし