

## 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 4 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591264

研究課題名（和文） 関節リウマチの重症度、治療反応性に関わる遺伝子多型の検索

研究課題名（英文） Search for genetic polymorphisms associated with RA severity and the response to treatment.

研究代表者

大村 浩一郎（OHMURA KOICHIRO）

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：40432372

研究成果の概要（和文）： 関節リウマチ（RA）の治療反応性に関わる遺伝子多型を検索するため、tocilizumab（抗 IL-6R 抗体）に対する治療反応性に関連する遺伝子多型を検索することを主眼とし、tocilizumab を多数使用している数施設（大阪大学、産業医科大学、慶応大学、埼玉医科大学総合医療センター、北海道大学、和歌山医科大学、筑波大学）と共同して、検体および臨床情報収集を行った。420 検体の DNA と臨床情報（治療反応性）データが集まり、全ゲノムタイピングを開始する準備が整った。

研究成果の概要（英文）： We collected 420 DNA samples and clinical information from multiple institutes which has many rheumatoid arthritis (RA) patients under treatment with tocilizumab. Now we are ready to start genome-wide association study on finding the polymorphisms which are related to the response to tocilizumab treatment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
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・アレルギー内科学

キーワード：関節リウマチ、SNP、疾患関連遺伝子、治療反応性、全ゲノム関連解析、HLA、CCP、ACPA

## 1. 研究開始当初の背景

RA は原因不明の全身関節の慢性炎症性疾患であり、治療が遅れると重度の関節変形をきたし日常生活に多大な影響をきたす。RA に対する薬物治療の進歩は目覚しく、メトトレキサートを中心とする免疫抑制剤や抗 TNF 阻害薬をはじめとする生物学的製剤の登場で多くの難治性 RA 患者がその恩恵を受

けている。一方、RA 治療の目標が単なる痛みや関節炎の抑制ではなく、寛解・治癒に置かれるようになり、より早期に診断し、より早期から強力な治療を行うことが推奨されるようになってきたため、感染症をはじめとする重篤な副作用の頻度も増加している。このような状況で、薬剤の治療反応性予測が非常に重要になってきている。また、早期診

断の重要性が増しており、抗 CCP 抗体 (ACPA)陰性 RA の診断を効率よく行う必要性も増している。

## 2. 研究の目的

第1には tocilizumab の治療反応性予測に有用な SNP を発見することである。第2には抗 CCP 抗体陰性 RA の診断能上昇に寄与する遺伝因子を検索することである。

## 3. 研究の方法

tocilizumab 治療反応性予測には、まず臨床情報の整った多くの DNA 検体が必要であるため、tocilizumab を多く使用する全国の主要施設に依頼し、DNA 検体と臨書情報を取集した。

抗 CCP 抗体陰性 RA に関連する HLA を解析するために、多くの RA 検体をもつ全国主要施設に依頼して抗 CCP 抗体陰性 RA の検体を収集した。HLA-DRB1 のタイピングを行い、関連を確認した。また、抗 CCP 抗体陰性 RA を RF(+) と RF(-)に分けて HLA-DRB1 アレルとの関連を解析した。

## 4. 研究成果

Tocilizumab 反応性臨床情報の整った 420 検体の DNA を収集し、全ゲノム関連解析を行う準備が整った。来期にすぐにつながる大きな成果である。

表1に示すように、ACPA 陰性 RA 患者 368 例、健常人検体 1508 例の set1 コホートと replication 用コホート (set2) としてさらに 501 例の ACPA(-)RA 検体と 500 例の健常人検体をそろえ、計 ACPA(-)RA 869 例と健常人 2008 例の HLA-DRB1 の DNA タイピングをおこなった。Set2 の健常人データは HLA 研究所にある健常人データを性別をマッチさせて提供していただいた。

表1 ACPA(-)RA と健常人の基礎データ

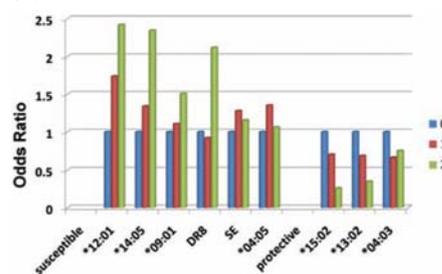
Classification	ACPA(-)RA	Control
<i>Set 1</i>		
Sample #	368	1508
Female %	79.7%	52.9%
Age (mean)	54.7	46.5
<i>Set 2</i>		
Sample #	501	500
Female %	80.8%	80.0%
Age (mean)	62.4	NA

表2 ACPA(-)RA と関連する HLA アレル

DRB1 allele	p	OR
*12:01	0.000088	1.72
*14:03	0.0043	1.81
*04:05	0.0063	1.26
*15:02	0.0001	0.68
*13:02	0.00059	0.66

2つのコホートを合わせた結果を表2に示す。それぞれのコホートでもほぼ同様の結果であった。HLA-DRB1 \*12:01, \*14:03, \*04:05 が Bonferoni 補正を入れても抗 CCP 抗体陰性 RA と有意に関連することが示され、また、\*15:02、\*13:02 が抑制性に働くことも示された。

図1.



関連する DRB1 アレルの数と odds ratio (OR) の関連を図1に示す。\*04:05 以外は関連アレルの dose dependency が認められた。

表3 ACPA(-)RA と関連する HLA diplotype

DRB1 allele	p	OR
*09:01/*12:01	0.00013	3.62
*08:03/*0803	0.021	2.54
*08:03/*15:02	0.00011	0.18
*15:02/*15:02	0.024	0.27

また、2つのアレルの組 (diplotype) でみた場合、表3に示すように、\*09:01/\*12:01 が OR 3.62 と高く、また疾患抵抗性に働く diplotype としては\*08:03/\*15:02 が最も強く、OR 0.18 であった。

次に抗 CCP 抗体陰性 RA を RF(+) と RF(-)に階層化してそれぞれと関連する HLA-DRB1 アレルを検索した。その結果を表4、表5に示す。

表4 ACPA(-)RF(+) と関連する DRB1 アレル

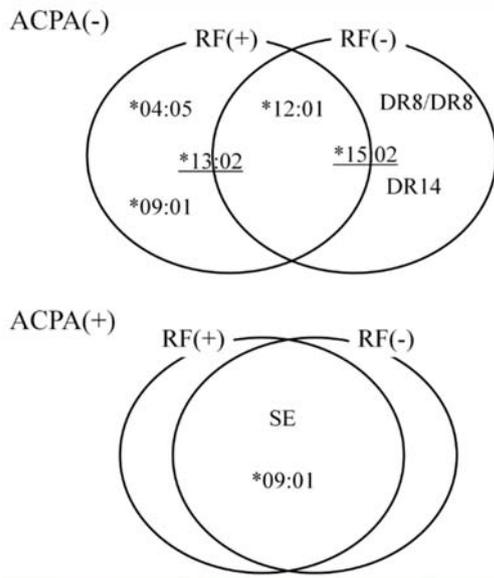
HLA-DRB1	p	OR
*04:05	$8.8 \times 10^{-6}$	1.57
*09:01	0.0011	1.37
*12:01	0.0014	1.73
*13:02	0.00013	0.52
*14:03	0.040	1.71
*15:02	0.010	0.72
DR14	0.55	1.08
DR8/DR8	0.86	1.08

表 5 ACPA(-)RF(-)と関連する DRB1 アレル

HLA-DRB1	p	OR
*04:05	0.52	1.07
*09:01	0.46	0.93
*12:01	0.00071	1.74
*13:02	0.033	0.74
*14:03	0.047	1.65
*15:02	0.0020	0.69
DR14	0.00022	1.52
DR8/DR8	0.00013	3.08

結果に示すように、ACPA(-)RF(+)**RA** または ACPA(-)RF(-)**RA** とそれぞれ特異的に関連する HLA アレルがあることがわかり、ACPA(-)**RA** は少なくとも 2 つの遺伝学的に異なる subset からなることが判明した。それを簡略図で示したものが図 2 である。

図 2 ACPA(-)**RA** の subset と関連する HLA



以上から ACPA(-)**RA** と関連のある HLA アレルが明らかとなり、また ACPA(-)**RA** は RF(+)と RF(-)の二つの遺伝的背景の異なるサブセットからなることがわかった。

今後は ACPA(-)**RA** について研究する場合に RF(+)と RF(-)に分けて検討する必要があると考えられた。

#### 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 9 件)

1. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, et al., Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. **Nat Genet.**

2012 Mar 25. doi: 10.1038/ng.2231. [Epub ahead of print] 査読有 DOI: 10.1038/ng.2231.

2. Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Ohmura K, et al., A Genome-Wide Association Study Identified AFF1 as a Susceptibility Locus for Systemic Lupus Erythematosus in Japanese. **PLoS Genet.** 2012 Jan;8(1):e1002455. Epub 2012 Jan 26. 査読有
3. Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, et al., Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1\*09:01. **Ann Rheum Dis.** 2012 Jan 10. [Epub ahead of print] 査読有 DOI 該当なし
4. Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, et al., A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. **Ann Rheum Dis.** 2011; 70: 2134-2139 査読有 DOI 該当なし
5. Terao C, Ohmura K, Katayama M, Takahashi M, Kokubo M, Diop G, et al., Myelin basic protein as a novel genetic risk factor in rheumatoid arthritis--a genome-wide study combined with immunological analyses. **PLoS ONE.** 2011; 6: e20457 査読有 DOI 該当なし
6. Meziani R, Yamada R, Takahashi M, Ohigashi K, Morinobu A, Ohmura K, et al., A trans-ethnic genetic study of rheumatoid arthritis identified FCGR2A as a candidate common risk factor in Japanese and European populations. **Mod Rheumatol.** 2011 May 24. . [Epub ahead of print] 査読有
7. Terao C, Yamada R, Ohmura K, Takahashi M, Kawaguchi T, Kochi Y, et al., The human AIRE gene at chromosome 21q22 is a genetic determinant for the predisposition to rheumatoid arthritis in Japanese population. **Hum Mol Genet.** 2011; 20:2680-5 査読有 DOI 該当なし
8. K. Ohmura, C. Terao, E. Maruya, M. Katayama, K. Matoba, K. Shimada, et al., Anti-citrullinated peptide antibody-negative RA is a genetically distinct subset: a definitive study using only

- bone-erosive ACPA-negative  
rheumatoid arthritis. **Rheumatology**  
(Oxford) 2010;49:2298-304. 査読有
9. Y. Kochi, Y. Okada, A. Suzuki, K. Ikari,  
C. Terao, A., K. Ohmura, et al., A  
regulatory variant in CCR6 is  
associated with rheumatoid arthritis  
susceptibility. **Nat Genet.** 2010 May;  
42(6): 515-9 査読有

〔学会発表〕 (計 3 件)

1. Kanako Takano, Koichiro Ohmura, et  
al., “Two cases of adult TRAPS (tumor  
necrosis factor receptor-associated  
periodic syndrome) treated with  
etanercept.” The 9th World Congress on  
Inflammation 2009.7.10 in Tokyo
2. K. Ohmura, C. Terao, et al., “HLA-DR8 is  
associated with ACPA-negative RA in  
Japanese” 14<sup>th</sup> International Congress of  
Immunology 2010.8.22 in Kobe
3. C. Terao, K. Ohmura, et al., “A  
HAPLOTYPE OF THE HUMAN AIRE  
GENE IS ASSOCIATED WITH THE  
RISK FOR RHEUMATOID  
ARTHRITIS IN JAPANESE  
POPULATION” European League  
Against Rheumatism 2011.5.26 in  
London

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大村 浩一郎 (OHMURA KOICHIRO)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：40432372