

令和 5 年 6 月 1 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16282

研究課題名（和文）機能ゲノム学的アプローチによる膠原病性差の原因解明

研究課題名（英文）Approaching sex differences in immune-mediated diseases via functional genomics analysis

研究代表者

太田 峰人（Ota, Mineto）

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：10879943

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：膠原病が強い性差を有し、ほとんどの自己免疫疾患が女性に多い事は臨床的に良く知られている。本課題では、性差が免疫細胞の遺伝子発現に及ぼす影響を理解する事を目的とした。申請者らが作成した免疫細胞遺伝子発現データベースの解析から、多くの遺伝子の発現量は性別により異なり、特に免疫パスウェイが女性において男性より亢進している事が明らかになった。さらに遺伝子多型と遺伝子発現量の関連解析を通じて、性別に伴う遺伝子発現制御機構の差異が明らかとなり、その一部が免疫パスウェイの男女差につながる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膠原病に性差が強い事は明らかであるものの、未だ原因が不明であり、その機序を明らかにする事は病態解明の手がかりになる。本課題において示唆された遺伝子発現制御機構の性差及び免疫パスウェイとの関わりは、膠原病の性差を説明し得る知見と考える。また、これまで多くの疾患発症と関連する遺伝子多型が同定され、その機能を解明する事が現在の大きな課題である。今回同定した性別特異的な遺伝子多型機能はその一助になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：It is clinically well known that immune-mediated diseases have strong sex differences and that most autoimmune diseases are more common in women. The purpose of this project was to understand the effect of sex differences on immune cell gene expression. Analysis of the gene expression database of immune cells created by the applicants revealed that the expression levels of many genes differ by sex, and that the immune pathway is particularly enhanced in women compared to men. Furthermore, the analysis of the relationship between genetic polymorphisms and gene expression levels revealed differences in the gene regulatory mechanisms according to gender, suggesting that some of the differences may be linked to differences in immune pathways between men and women.

研究分野：膠原病

キーワード：性差 膠原病 機能ゲノム学 エピゲノム eQTL解析 遺伝子発現

## 1. 研究開始当初の背景

膠原病は原因が不明であり、難病に分類される。膠原病の多くは非常に強い性差を有し、男女比は関節リウマチでは 1:3、全身性エリテマトーデスでは 1:10、シェーグレン症候群 1:20 程度とされ、いずれも女性に多い(Whitacre CC, et al. Nat Immunol. 2001)。

これまで膠原病の性差を説明する複数のモデルが提唱されてきた。一つは性ホルモンによる免疫関連遺伝子発現修飾仮説である。全身性エリテマトーデスなどの一部の膠原病は妊娠可能年齢に好発し、妊娠中や産褥期の増悪が多い事が知られており、性ホルモンとの関連を示唆する根拠になると考えられている。これまで代表的な性ホルモンであるエストロゲンが B 細胞の体細胞超変異を司る AID 遺伝子の発現を促進し、自己反応性 B 細胞の増加を促進する事などがマウスモデルにおいて報告されてきた(Park SR, et al. Nat Immunol. 2009)。しかし、ヒトにおいて性ホルモンと膠原病発症の直接的な因果関係を直接証明した報告はなく、未だ関連は不明な点が多い。また、別の仮説として X 染色体不活化回避遺伝子が膠原病発症に関わるとする仮説がある。女性において X 染色体上遺伝子は母由来アレルあるいは父由来アレルのいずれかがランダムに不活化されるが、一部の遺伝子は不活化を回避し、結果として女性で男性より発現が多くなる事が知られている。XXY の核型を有する Klinefelter 症候群では全身性エリテマトーデスの発症率が男性の 14 倍程度高いとされる事から(Scofield RH, et al. Arthritis Rheum. 2008)、X 染色体不活化回避遺伝子は少なくとも一部の膠原病の発症には関連する可能性が高いと考えられる。近年、X 染色体不活化を回避する TLR7 (Souyris M, et al. Sci Immunol. 2018)や CXorf21 (Heinz LX, et al. Nature. 2020)といった遺伝子が全身性エリテマトーデスの病態に関わるとする報告がみられる。しかし、これらは特定の遺伝子・特定の細胞種に限定した検討であり、X 染色体上の全遺伝子の網羅的検討や、免疫細胞間での不活化回避の程度の比較検討はなされていない。以上の様に、性差は膠原病の大きな特徴であるが、その原因についてこれまで明確にはされていない。膠原病の性差について理解する事は、膠原病の病態解明につながると考えられた。

## 2. 研究の目的

そこで今回我々は、これまで当研究室で独自に作成した 10 免疫疾患(全身性エリテマトーデス・全身性強皮症・炎症性筋疾患・関節リウマチ・混合性結合組織病・シェーグレン症候群・成人発症 Still 病・ベーチェット病・ANCA 関連血管炎・高安静脈炎)及び健常人計 416 例、28 免疫細胞種 9852 サンプルからなる遺伝子発現・全ゲノム配列データベース (ImmuNexUT [Immune cell gene expression atlas from the University of Tokyo]) を用いて、性差に関連した各免疫細胞における免疫パスウェイ制御機構の差異を同定する事を目的とした。総体的な免疫パスウェイの差異については網羅的な遺伝子発現量を比較検討する事でアプローチする事とした。さらに、その制御機構の差異については遺伝子多型と遺伝子発現量の関連解析によりアプローチする事とした。

## 3. 研究の方法

本課題では、性差が及ぼす免疫細胞のエピゲノム修飾やトランスクリプトームへの影響につき、ImmuNexUT データベースや公共エピゲノムデータベースを用いて検討した。具体的に、28 種の免疫細胞毎に男女の遺伝子発現変動解析を行う事で、X 染色体においては X 染色体不活化回避遺伝子を同定する事が可能であり、常染色体においては性ホルモンなどの要因による女性特有の遺伝子発現の特徴を網羅的に同定する事が可能である。今回、まず各疾患・免疫細胞種毎に、男女間での遺伝子発現変動解析を行った。さらに、全疾患の結果を統合解析する事で、細胞種特異的な性別関連遺伝子を同定する事とした。

遺伝的多型と遺伝子発現量の関連解析は expression quantitative trait loci (eQTL) 解析と呼ばれる。eQTL 解析を行う事で、遺伝子発現量の個人差を司る遺伝的多型を同定する事が可能となる。eQTL 効果は細胞種によって大きく異なり、炎症などの環境によっても変化する事をこれまで我々は同定してきた。しかし、性別の影響については特に免疫細胞においてはこれまで明らかでなかった。今回 eQTL 解析を 28 細胞種毎に行い男女の差を比較する事で、遺伝子多型の機能の男女での違いについて検討する事とした。特に X 染色体については男女でアレル数が異なる事から、通常の eQTL 解析から除外される事が多く、男女を統合した eQTL 解析手法は確立されていなかった。今回男女のアレル数を加味した上で eQTL 解析を統合的に行う手法を確立した。さらに、eQTL 効果量とゲノムワイドな遺伝子発現量の関連解析をする事で、その遺伝子機能の変化に影響する環境要因についても推定した。最終的に、これらの解析を通じて、女性における免疫細胞遺伝子発現制御機構の特徴を同定する事とした。

## 4. 研究成果

まず、X 染色体発現遺伝子の男女比較解析を行った。その結果、X 染色体不活化回避遺伝子が多数同定された。X 染色体不活化を回避する遺伝子は、女性において男性より発現量が増えることから、直接的に男女間での発現量の差異に寄与する。今回同定された X 染色体不活化回避遺伝子の一部は免疫細胞種特異的に観察された。さらに興味深い事に、免疫機能において重要な遺伝子が多数含まれていた。このことから、X 染色体不活化回避が男女の免疫機能の差異に影響する事、さらに免疫細胞間の活性化のバランスが男女で異なる事が示唆された。このような機構はベースラインにおける男女の免疫活性の差異につながり得る。

さらに、常染色体においても多くの遺伝子の発現量が性別により異なる事が明らかとなった。パスウェイ解析を行う事で、総体としてインターフェロンパスウェイをはじめとした免疫シグナルが女性でより活性化している事が明らかになった。

このような免疫パスウェイの違いが何に起因するかを解明するため、遺伝的多型と遺伝子発現量の関連解析である eQTL 解析を行なった。その結果、一部の遺伝子発現に与える遺伝子多型の効果量が性別によって異なる事が明らかとなった。さらにそのような性別による遺伝的多型の機能の差は、性ホルモン下流シグナルによって一部説明し得る事がエピゲノムデータベースとの関連解析によって示唆された。また、そのような性別特異的 eQTL 効果を受ける遺伝子は、多くの免疫関連遺伝子を含む事が明らかとなった。この結果は、エピゲノムの性差や性別特異的な転写制御機構が免疫パスウェイの性差を生むことを示唆する。そのような遺伝子多型の一部はこれまでにゲノムワイド関連解析で同定された免疫関連疾患の疾患感受性多型と一致した。この結果は、疾患発症に関わる遺伝子多型の一部について、それらが遺伝子発現に与える影響が性別によって異なる事を示唆する。このような遺伝的多型の機能の差異は、膠原病罹患率の性差の一部に寄与する可能性がある。またこれらの eQTL 効果量の男女差は免疫細胞種により大きく異なると共に、環境要因にも影響を受ける事が遺伝子発現量と eQTL 効果量の関連解析によって明らかとなった。つまり、一部の遺伝的多型（ゲノムレベルの個性）は男女においてその機能（遺伝子発現に与える影響）が異なるだけでなく、特異的な免疫細胞や、特異的な環境（炎症など）下においてのみその差が顕著となる場合がある事が明らかとなった。

総合すると、1. 女性において免疫パスウェイの亢進が見られる事。2. その活性には免疫細胞による違いがある事、すなわち免疫細胞間のバランスが男女で異なる事。3. 男女における遺伝子発現制御活性(エピゲノムや転写因子活性)の違いが免疫パスウェイの違いに寄与している事 4. 環境要因が男女の遺伝子発現制御活性の違いを増強する可能性がある事 5. これらの要因が膠原病発症の遺伝的リスクを増強する事に加え、ベースラインの免疫活性が女性で高い事が膠原病発症の性差につながり得る事が示唆された。

以上、本研究を通じて、様々な免疫細胞種における性別に伴う遺伝子発現制御機構の差異と、その結果としてのパスウェイレベルの免疫活性の差異が明らかとなった。今回同定された多数の性別特異的 eQTL は、ゲノム機能を解釈するための有用なリソースとなると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 太田峰人
2 . 発表標題 膠原病の性差の謎-機能ゲノム学的観点から-
3 . 学会等名 第65回日本リウマチ学会（招待講演）
4 . 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------