

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25年 6月14日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390065

研究課題名（和文） 多民族を対象とした相関解析によるベーチェット病関連遺伝子の同定および病態の解明

研究課題名（英文） Genetic association study of Behcet's disease in multiple ethnic groups

研究代表者

水木 信久（MIZUKI NOBUHISA）

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：90336579

研究成果の概要（和文）：日本人ベーチェット病患者を対象としたゲノムワイド関連解析（GWAS）を実行した。GWASより得られた結果をもとに、海外の人種（トルコ人、韓国人）集団を用いて追認試験（再現性の検討）を実行した結果、人種を超えてベーチェット病の発症リスクと有意に相関を示す新規感受性遺伝子（IL23R-IL12RB2およびIL10）を同定した。さらに、GWASデータの再検証を行った結果、ベーチェット病の発症に関与を示す遺伝子を新たに複数同定した。

研究成果の概要（英文）：To identify the susceptibility genes for Behcet's disease, we conducted a genome-wide association study in a Japanese population and replication studies in Turkish and Korean populations. We identified two new susceptibility loci, IL23R-IL12RB2 and IL10, for Behcet's disease. In addition, we identified further new loci for the disease by re-assessing the GWAS data.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2011年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2012年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：ゲノム医科学

1. 研究開始当初の背景

(1) ベーチェット病は口腔内アフタ性潰瘍、眼症状、皮膚症状、外陰部潰瘍を4主症状とする再発性の難治性炎症性疾患であり、地中海沿岸地域から中近東、東アジアといった北緯30度から北緯45度付近のシルクロード沿いに多発する。本病は本邦のぶどう膜炎の原因疾患として頻度が高く、近年の治療法の進歩により視力の予後は改善してきているが、今なお失明率の高い疾患である。

(2) ベーチェット病の発症機構は未だ不明であるが、特定の内的要因のもとに何らかの外的要因が作用して発症する多因子疾患と考えられている。ベーチェット病は以前より、HLA (human leukocyte antigen) クラスI領域に位置する HLA-B 遺伝子の1つのタイプ（アリル）である HLA-B*51 と顕著に相関することが知られている。ベーチェット病と HLA-B*51 アリルの顕著な相関は、人種を超えて観察され、いずれの人種においてもベーチェット病患者の HLA-B*51 アリル保有頻度は

40～80%であり、一般集団の10～30%と比べて顕著な上昇を示している。このように、HLA-B*51 アリルがベーチェット病発症の極めて重要な疾患感受性遺伝子であることは間違いなく、HLA-B*51 分子を介した初期の免疫応答がベーチェット病の発症に深く関与していることが考えられる。

(3) 一方、ベーチェット病患者の20～60%はHLA-B*51 アリルを保有していないため、本病の発症にはHLA-B*51 アリル以外の他の疾患感受性遺伝子も関与している可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、ゲノム全域を網羅する SNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型) マーカーを用いて GWAS を行うことにより、ベーチェット病の発症に関与する新たな疾患感受性遺伝子の同定を行う。

(2) さらに、GWAS により同定した遺伝情報をもとに、ベーチェット病発症のメカニズムの解明を行う。

3. 研究の方法

(1) 日本人集団 (ベーチェット病患者、健康者) を対象に、Affymetrix GeneChip Human Mapping 500K Array Set (50 万個以上の SNP) を用いて GWAS を実行し、日本人ベーチェット病患者と有意な相関を示す SNP 情報を取得する。

(2) 日本人集団の GWAS の結果を、他グループ (National Institutes of Health: アメリカ国立衛生研究所) が実施したトルコ人集団を対象とした GWAS の結果と比較し、両 GWAS において共通して有意な相関を示す SNP を抽出する。

(3) (2)において、抽出した SNP を対象に、日本人集団、トルコ人集団および韓国人集団を用いたメタ解析を実行し、人種を超えてベーチェット病と相関を示す疾患感受性遺伝子を同定する。

(4) (3)を完了後、GWAS の結果をより詳細に評価し、さらなるベーチェット病感受性遺伝子の同定を行う。

4. 研究成果

(1) 日本人集団を対象とした GWAS の結果とトルコ人集団を対象とした GWAS の結果の比較により、「IL23R (interleukin 23 receptor) -IL12RB2 (interleukin 12 receptor, beta 2)」領域および「IL10 (interleukin 10)」領域の SNP が両人種の患者集団と共通して相

関を示すことが分かった。

(2) IL23R-IL12RB2 領域および IL10 領域の SNP を対象に、日本人集団、トルコ人集団、韓国人集団を用いてメタ解析を行った結果、両領域の SNP がベーチェット病に対してゲノムワイドな有意性を示すことが見出された。以上より、IL23R-IL12RB2 領域および IL10 領域がベーチェット病の有力な疾患感受性遺伝子領域であることが分かった。

(3) 日本人集団を対象とした GWAS の結果を詳細に再評価した結果、新たなベーチェット病感受性遺伝子として、「ERAP1 (endoplasmic reticulum aminopeptidase 1)」、「STAT4 (signal transducer and activator of transcription 4)」、「CCR1 (chemokine (C-C motif) receptor 1)」および「KLRC4 (killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 4)」の4遺伝子を同定した。

(4) 本研究の成果は、ベーチェット病発症のメカニズムの解明、ベーチェット病のより有効な治療法および予防法の確立につながり、非常に意義深いものである。

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 34 件)

(1) Mizuki N, Meguro A (他 22 名、4 番目、21 番目): Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B*51 and ERAP1. *Nat Genet.* (査読有) 2013;45(2):202-7.
DOI: 10.1038/ng.2520

(2) Meguro A, Mizuki N (他 19 名、12 番目、13 番目): Genome-wide association study identifies GIMAP as a novel susceptibility locus for Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.* (査読有) 2013 Feb 25. [Epub ahead of print]
URL: <http://ard.bmj.com/content/early/2013/02/24/annrheumdis-2011-200288.long>

(3) Meguro A, Mizuki N (他 4 名、3 番目、6 番目): Staining internal limiting membrane with a mixture of BBG and sodium hyaluronate. *Br J Ophthalmol.* (査読有) 2013;97(6):690-3.
DOI: 10.1136/bjophthalmol-2012-302289.

(4) Mizuki N (他 5 名、6 番目): A case of

corneal endotheliitis with mumps virus RNA in aqueous humor detected by rt-PCR. *Ocul Immunol Inflamm.* (査読有) 2013;21(2):150-2.
DOI: 10.3109/09273948.2012.747619.

(5) Mizuki N(他 9 名、9 番目): Acute retinal necrosis: factors associated with anatomic and visual outcomes. *Jpn J Ophthalmol.* (査読有) 2013;57(1):98-103.
DOI: 10.1007/s10384-012-0211-y.

(6) Meguro A, Mizuki N (他 2 名、3 番目、4 番目): Modification of Swan-Jacobs lens for iridocorneal angle surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* (査読有) 2012 Dec 22. [Epub ahead of print]
URL :
<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00417-012-2232-0>

(7) Mizuki N (他 2 名、3 番目): Treatment of pterygium by ligation and bevacizumab injection. *Cornea.* (査読有) 2012 ;31(11):1339-41.
DOI: 10.1097/ICO.0b013e3182408bc7.

(8) Mizuki N (他 6 名、5 番目): Modulation of human visual evoked potentials in 3-dimensional perception after stimuli produced with an integral imaging method. *Clin EEG Neurosci.* (査読有) 2012;43(4):303-11.
DOI: 10.1177/1550059412445608.

(9) Ota M, Meguro A, Kawagoe T, Mizuki N (他 20 名、2 番目、3 番目、5 番目、24 番目): Genetic characterization and susceptibility for sarcoidosis in Japanese patients: risk factors of BTNL2 gene polymorphisms and HLA class II alleles. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (査読有) 2012;53(11):7109-15.
DOI: 10.1167/iovs.12-10491

(10) Meguro A, Ota M, Kawagoe T, Mizuki N (他 13 名、1 番目、3 番目、11 番目、17 番目): Common variants in the COL4A4 gene confer susceptibility to lattice degeneration of the retina. *PLoS One.* (査読有) 2012;7(6):e39300.
DOI: 10.1371/journal.pone.0039300

(11) Meguro A, Mizuki N (他 28 名、5 番目、22 番目): Genetic variants on chromosome 1q41 influence ocular axial length and high myopia. *PLoS Genet.* (査読有)

2012;8(6):e1002753.
DOI: 10.1371/journal.pgen.1002753

(12) Kawagoe T, Mizuki N (他 3 名、3 番目、5 番目): Immediate removal of posteriorly dislocated lens fragments through sclerocorneal incision during cataract surgery. *Br J Ophthalmol.* (査読有) 2012;96(8):1058-62.
DOI: 10.1136/bjophthalmol-2011-300864.

(13) Meguro A, Mizuki N (他 15 名、2 番目、17 番目): Lack of association between IL10 polymorphisms and sarcoidosis in Japanese patients. *Mol Vis.* (査読有) 2012;18:512-8.
URL :
<http://www.molvis.org/molvis/v18/a56/>

(14) Kawagoe T, Mizuki N (他 4 名、3 番目、6 番目): Infliximab monotherapy versus infliximab and colchicine combination therapy in patients with Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm.* (査読有) 2012 ;20(3):193-7.
DOI: 10.3109/09273948.2012.665124.

(15) Meguro A, Mizuki N (他 7 名、3 番目、4 番目): Confirmation of TBK1 duplication in normal tension glaucoma. *Exp Eye Res.* (査読有) 2012;96(1):178-80.
DOI: 10.1016/j.exer.2011.12.021

(16) Meguro A, Ota M, Mizuki N (他 12 名、2 番目、10 番目、12 番目): Replication of a microsatellite genome-wide association study of Behçet's disease in a Korean population. *Rheumatology (Oxford).* (査読有) 2012;51(6):983-6.
DOI: 10.1093/rheumatology/ker444

(17) Mizuki N(他 2 名、3 番目): Thermocautery for inferior conjunctivochalasis. *Cornea.* (査読有) 2012;31(5):514-9.
DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181dc81d2.

(18) Mizuki N (他 5 名、6 番目): Cyclooxygenase inhibitor improved an exudative lesion of choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Eur J Ophthalmol.* (査読有) 2012;22(3):495-8.
DOI: 10.5301/ejo.5000032.

(19) Meguro A, Mizuki N (他 3 名、3 番目、5 番目): Anatomical and functional changes of retina following subretinal injection

of high-speed fluid. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (査読有) 2012;250(3):447-50. DOI: 10.1007/s00417-011-1800-z.

(20) Kawagoe T, Meguro A, Mizuki N (他 3 名、3 番目、4 番目、6 番目): Factors associated with enlargement of chorioretinal atrophy after intravitreal bevacizumab for myopic choroidal neovascularization. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (査読有) 2012;250(7):989-97. DOI: 10.1007/s00417-011-1921-4.

(21) Meguro A, Mizuki N (他 3 名、3 番目、5 番目): Anatomical and functional changes of retina following subretinal injection of high-speed fluid. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (査読有) 2012;250(3):447-50. DOI: 10.1007/s00417-011-1800-z

(22) Mizuki N (他 9 名、8 番目): The carboxyl-terminal region of Crtac1B/LOTUS acts as a functional domain in endogenous antagonism to Nogo receptor-1. Biochem Biophys Res Commun. (査読有) 2012;418(2):390-5. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.033.

(23) Kawagoe T, Mizuki N: Sarcoidosis. Curr Opin Ophthalmol. (査読有) 2011;22(6):502-7. DOI: 10.1097/ICU.0b013e32834bbd7e.

(24) Mizuki N (他 8 名、9 番目): Clinical Course before and after Cataract and Glaucoma Surgery under Systemic Infliximab Therapy in Patients with Behçet's Disease. Case Rep Ophthalmol. (査読有) 2011;2(2):189-92. DOI: 10.1159/000329190.

(25) Ota M, Meguro A, Mizuki N (他 10 名、2 番目、3 番目、13 番目): Investigation of association between TLR9 gene polymorphisms and VKH in Japanese patients. Ocul Immunol Inflamm. (査読有) 2011;19(3):202-5. DOI: 10.3109/09273948.2011.553981

(26) Meguro A, Ota M, Mizuki N (他 25 名、2 番目、3 番目、28 番目): Investigation of the association between SLC1A3 gene polymorphisms and normal tension glaucoma. Mol Vis. (査読有) 2011;17:792-6. URL: <http://www.molvis.org/molvis/v17/a89/>

(27) Kawagoe T, Meguro A, Ota M, Mizuki N (他 11 名、2 番目、3 番目、4 番目、15 番目): Toll-like receptor 2 (TLR2) gene polymorphisms are not associated with sarcoidosis in the Japanese population. Mol Vis. (査読有) 2011;17:731-6. URL: <http://www.molvis.org/molvis/v17/a83/>

(28) Mizuki N (他 13 名、12 番目): Association of HLA-A*02:06 and HLA-DRB1*04:05 with clinical subtypes of juvenile idiopathic arthritis. J Hum Genet. (査読有) 2011;56(3):196-9. DOI: 10.1038/jhg.2010.159.

(29) Ota M, Meguro A, Mizuki N (他 8 名、2 番目、4 番目、11 番目): Association analysis of Toll-like receptor 7 gene polymorphisms and Behçet's disease in Japanese patients. Hum Immunol. (査読有) 2011;72(3):269-72. DOI: 10.1016/j.humimm.2010.12.007.

(30) Meguro A, Ota M, Mizuki N (他 26 名、2 番目、3 番目、29 番目): Genotyping HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in Japanese patients with normal tension glaucoma. Mol Vis. (査読有) 2010;16:1874-9. URL: <http://www.molvis.org/molvis/v16/a203/>

(31) Meguro A, Mizuki N (他 8 名、6 番目、7 番目): TRIM39 and RNF39 are associated with Behçet's disease independently of HLA-B*51 and -A*26. Biochem Biophys Res Commun. (査読有) 2010;401(4):533-7. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.09.088.

(32) Mizuki N (他 7 名、7 番目): Eicosapentaenoic acid suppresses ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis. Mol Vis. (査読有) 2010;16:1382-8. URL: <http://www.molvis.org/molvis/v16/a152/>

(33) Mizuki N, Meguro A, Ota M, Kawagoe T (他 17 名、1 番目、2 番目、3 番目、6 番目): Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. Nat Genet. (査読有) 2010;42(8):703-6. DOI: 10.1038/ng.624

(34) Mizuki N (他 7 名、5 番目): Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behçet's disease.

Arthritis Res Ther. (査読有)

2010;12(3):R80.

DOI: 10.1186/ar3005.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水木 信久 (MIZUKI NOBUHISA)
横浜市立大学・医学研究科・教授
研究者番号: 90336579

(2) 研究分担者

太田 正穂 (OTA MASAO)
信州大学・医学部・准教授
研究者番号: 50115333
目黒 明 (MEGURO AKIRA)
横浜市立大学・医学研究科・特任講師
研究者番号: 60508802
河越 龍方 (KAWAGOE TATSUKATA)
横浜市立大学・医学部・助教
研究者番号: 20564800