

平成30年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19039

研究課題名(和文) 結核症若年性発症に関するヒトゲノム変異と結核菌ゲノム変異の統合的分析

研究課題名(英文) Integrative analysis of human and Mycobacterium tuberculosis genomic variations to identify genetic risk factors for tuberculosis onset

研究代表者

大前 陽輔 (Omae, Yosuke)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任助教

研究者番号：70722552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：所属研究グループから先行報告していた若年性結核発症関連遺伝子MAFBを足掛かりに結核症発症の分子機構の探索を行った。タイ人結核患者1100検体における結核菌の全ゲノム配列情報の取得が完了し、MAFBのリスク多型と結核菌の特定のサブタイプが若年性結核発症と関連することを見出した。また、ゲノムワイド関連解析から新規の結核発症関連遺伝子CD53を同定した。本研究結果はJournal of Human Genetics誌に採択された。本研究課題により、結核症の発症メカニズムを明らかにする上での宿主であるヒトのゲノム情報と病原菌である結核菌のゲノム情報の両方を解析することの重要性を初めて明らかにできた。

研究成果の概要(英文)：Tuberculosis (TB) is known to be affected by host genetic factors. A young age onset specific genetic risk of MAFB-related SNP was reported in the Thai population. In this study, I further focused on the heterogeneity of Mycobacterium tuberculosis (MTB) lineages and assessed its possible interaction with age at onset and host genetic factors. I found non-Beijing lineage dependent risk of MAFB-related SNP. In addition, GWAS stratified by both infected pathogen lineage information and age at onset revealed a genome-wide significant association of one SNP at CD53 locus. The results were reported on Journal of Human Genetics and it is the first report of GWAS considering the pathogen genomic information in TB. This research project proposed that host genetic risk for TB onset is depended upon the pathogen genetic background and demonstrated the importance of analyzing the interaction between host and pathogen genomes in TB.

研究分野：ゲノム

キーワード：結核 ヒトゲノム 病原菌ゲノム 感染症

### 1. 研究開始当初の背景

結核症は、エイズ、マラリアと並び世界三大感染症の1つとされる結核菌による感染症である。2012年のWHO世界結核対策報告書では、年間発症者数約860万人、年間死亡者数約130万人と述べられている。日本においても、現在でも年間2万人以上が新規に発症しており、効果的な結核症対策が求められている。結核症においては、結核菌保菌者は世界の人口の3分の1におよぶと推定されているが、実際に発症するのは10人に1人であり、感染症の中でも特にその発症に対する遺伝率の寄与が高いとされている。一卵性双生児における研究では一方が発症した際に両方が発症する確率は7~8割という報告もある。しかしながら、なぜ結核症の発症において宿主の遺伝的背景が重要であるのかは不明である。これまでに、研究代表者の所属研究室を含む世界中の様々な研究機関によりゲノムワイド関連解析(GWAS)が行われた。しかしながら、異なる集団間での再現性が得られないなど、現在のところ統一的な結核症の遺伝的要因の同定にはつなげていない。

近年、感染結核菌のサブタイプには世界各地で地域差があることが明らかになってきた。申請者の所属する人類遺伝学教室では、これまでにタイ国保健省医科学局およびタイ国立マヒドン大学との共同研究ネットワークを構築し、日本でのサンプル収集機関である結核予防会とあわせ、アジアで最大規模の結核症検体数を保持するに至っている。特に、申請者らのグループの検体収集においては、ヒトのゲノム情報と結核菌のゲノム情報の両方を収集することを目標とし、1330検体に及ぶヒトと結核菌両方のゲノムサンプルを有する検体をこれまでに収集している。これは世界的にも希少な検体バンクである。

この検体バンクを活用し、結核菌の遺伝的背景の違いを考慮することが、統一的な結核症の感受性化機構を明らかにする上で重要であると考えた。

### 2. 研究の目的

特定の遺伝子型の結核菌感染時に結核症発症リスクが上昇する宿主遺伝要因の同定を目的とした。

### 3. 研究の方法

各結核症発症患者由来の感染結核菌のゲノムを解析し、そのゲノム情報に基づいて患者群を層別化したうえで宿主ゲノム解析を行うことで、結核症の発症リスクを上昇させるヒトゲノム多型と結核菌ゲノム多型の組み合わせを探索した。

結核菌の分類は、結核菌の遺伝的マーカーに対するPCRによる遺伝系統分類法(Gagneux S. et al., PNAS, 2006)に従って行った。ヒトゲノム多型情報は、先行GWAS(Mahasirimongkol S. et al., Journal of Human Genetics, 2012)で使用された検体

に加え、感染結核菌ゲノムを併せて収集したHIV陰性結核症患者ヒトゲノム検体423例を新たに解析対象として、再現性確認実験とゲノムワイド関連解析を実施した。

### 4. 研究成果

まず、所属研究室で先行して実施されたGWAS(Mahasirimongkol S. et al., Journal of Human Genetics, 2012)により同定されていた若年における結核症発症関連因子MAFBに対して、結核菌の遺伝的背景の情報を加えた解析を行った。先行論文で使用されていたタイ人若年性結核症患者137検体のうち、69検体について結核菌の遺伝系統を追跡できた。そして、32検体にBeijing株、37検体にNon-Beijing株が感染していることを明らかにした。MAFBの発症リスクについて、結核菌遺伝系統の情報による分類を加えてケースとコントロールの遺伝子型頻度の比較を行った結果、Non-Beijing株感染検体群では、MAFB近傍SNP(rs6071980)の発症との関連が見られるのに対して、Beijing株感染検体群では、この遺伝子の関連が見られなかった(図1)。

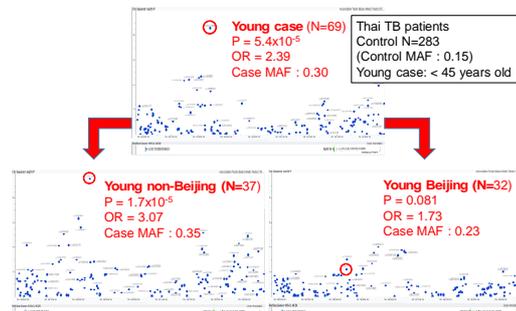


図1 MAFB 遺伝子領域の結核菌遺伝系統特異的な発症との関連

この Non-Beijing 株感染時特異的な MAFB 近傍 SNP と若年性結核症発症感受性との関連は、追加 150 検体の解析においても再現された。これらの結果は、若年性結核症感受性関連遺伝子 MAFB による発症分子機構が、Non-Beijing 株の感染に依存していることを示唆している。したがって、宿主の結核症発症関連遺伝子の探索においては、宿主の情報だけでなく、結核菌の情報も加えて解析することが有用であることを明らかにできた。

さらに、MAFB 以外の宿主の結核症発症リスク遺伝子を同定するため、タイ王国で収集した Beijing 株感染患者 267 例、Non-Beijing 株感染患者 419 例、健常者 771 例によるゲノムワイド関連解析を実施した。その結果、1 番染色体 13p の領域に Non-Beijing 株感染群で老年性の結核症発症とより強い関連を示す SNP を見出し、この SNP は多重検定の補正を考慮しても有意であった (p 値 2.54E-08、オッズ比 1.74 (95%信頼区間 1.43-2.12))。対して、Beijing 株感染患者群では見出された SNP は有意な関連を示さなかった (p 値

0.0743、オッズ比 1.27 (95% 信頼区間 0.98-1.66)。当該 SNP は白血球の細胞表面抗原の一種を発現する CD53 遺伝子の近傍に位置していた (図 2)

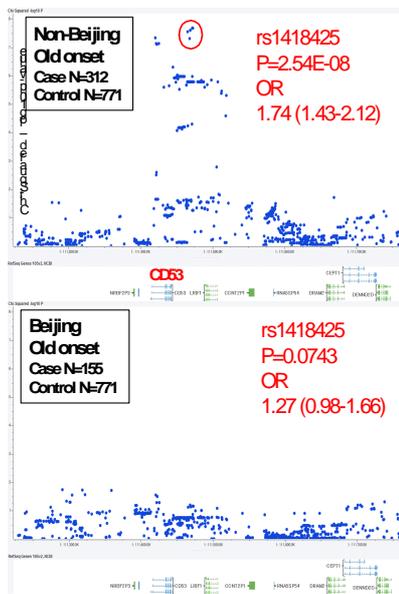


図 2 CD53 遺伝子領域の結核菌遺伝系統特異的な発症との関連

CD53 遺伝子は先行研究で細胞への結核菌感染実験において発現量が変動する遺伝子にリストされていたが、これまでヒトにおける結核症発症との関連は報告されていなかった。CD53 の血中遺伝子発現量を調べたところ、結核症発症者群で健常者群および結核菌潜伏感染群よりも高く、抗結核薬による治療の進行によりその発現量が低下していた。また、CD53 タンパク質の細胞表面発現量も結核症患者群で健常者群よりも高かった。つまり、結核感染者の発症状態と CD53 の発現量に相関がみられることを明らかにした。CD53 はサイトカイン産生の抑制因子として機能するという先行報告と、in vitro の解析において Beijing 株の結核菌は Non-Beijing 株の結核菌に比べてサイトカイン産生誘導能が低いという知見を合わせると、強くサイトカイン産生を誘導する Non-Beijing 株感染者において、宿主側のサイトカイン産生調節機構を介して結核発症リスクの個人差が生じるという新規の結核症発症の分子機構を提案できた。本成果を 2017 年 9 月に Journal of Human Genetics 誌に報告した。

さらに、ヒトゲノム全域の SNP データを SNP 間の連鎖不平衡を考慮したインピュテーションにより補完し解析した結果、ヨーロッパ人集団及び中国人集団で結核症発症との関連が報告されているクラス II ヒト白血球抗原 (HLA) 遺伝子領域において、Beijing 株感染時に特異的な発症リスクとの関連を新たに見出した。サイトカイン産生誘導能が低い Beijing 株の結核菌感染時には、クラス II HLA を介した獲得免疫系による細胞内感染結

核菌の認識機構が発症の個人差をもたらし、結核菌の遺伝系統特異的な結核症発症リスクをもたらす可能性が明らかとなった (図 3)。

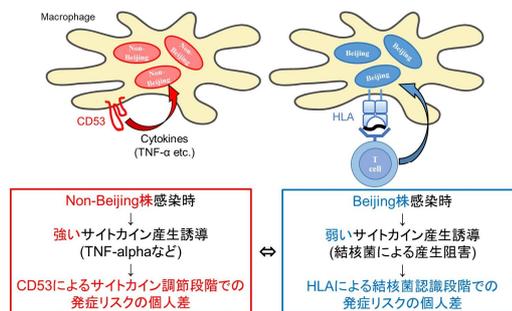


図 3 本研究課題から示唆された感染結核菌により異なる発症リスク

以上の成果は、ヒトゲノムと結核菌ゲノム双方の情報を用いて統合的な解析を行うという我々が世界的で初めて実施したアプローチにより得られた成果であり、宿主であるヒトのゲノム情報と病原菌である結核菌のゲノム情報の両方を解析し結核菌ゲノム変異の情報を組み合わせることが結核症の発症メカニズムを明らかにする上で重要であることを示した。

特に、本研究課題により特定の結核菌遺伝系統とその感染時に結核症発症リスクが上昇する宿主ゲノム多型の組み合わせを複数見出された。具体的には、タイ人集団中のゲノムワイド関連解析において、結核菌の遺伝系統情報を考慮しない全患者群に比べてサンプル数が少ないにも関わらずより統計的に有意な関連 (P 値) が見出される SNP が Beijing 株感染患者群で 14 個同定され、その他の分類においても Non-Beijing 株感染患者群において全患者群よりも有意な関連を示す 12SNPs、EAI 株感染患者群において全患者群よりも有意な関連を示す 8SNPs、Non-EAI 株感染患者群において全患者群よりも有意な関連を示す 5SNPs が同定された。これらの情報は、「結核菌遺伝系統特異的に結核症発症のリスクを判定する方法」として、特許出願中であり、今後の他集団での国際メタ解析や結核症発症リスク予測システムの開発において貴重なシーズとなると期待される。

#### 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 2 件)

Omae Y, Toyo-oka L, Yanai H, Nedsuwan S, Wattanapokayakit S, Satproedprai N, Smittipat N, Palittapongarnpim P, Sawanpanyalert P, Inunchot W, Pasomsu E, Wichukchinda N, Mushiroda T, Kubo M, Tokunaga K, Mahasirimongkol S, Pathogen

lineage-based genome-wide association study identified CD53 as susceptible locus in tuberculosis. J Hum Genet. 査読有, 2017;62(9):831-8.

DOI: 10.1038/jhg.2017.82

**大前陽輔**、徳永勝士、Principles and Practice of Genome-wide Association Study. / ゲノムワイド関連解析の原理と実際、ホルモンと臨床、査読有、2014;62(2):41-47(2015年12月発刊)

〔学会発表〕(計3件)

**Omae Y**, Mahasirimongkol S, Toyooka L, Yanai H, Nedsuwan S, Wattanapokayakit S, Smittipat N, Palittapongarnpim P, Sawanpanyalert P, Wichukchinda N, Pasomsub E, Mushiroda T, Kubo M, Tokunaga K, Pathogen lineage based analysis of host genetic risk factor in young onset tuberculosis. The 13th International Congress of Human Genetics. (ICHG 2016), 2016/04/07, 口頭発表

**大前陽輔**, Mahasirimongkol S, 豊岡理人, 野内英樹, Nedsuwan S, Wattanapokayakit S, Smittipat N, Palittapongarnpim P, Sawanpanyalert P, Wichukchinda N, Pasomsub E, 薙田泰誠, 久保充明, 徳永勝士, Pathogen lineage based genome-wide analysis of host genetic risk factors in tuberculosis 結核発症の遺伝的要因の探索 -病原菌ゲノムとヒトゲノム双方の解析から-, 第16回東京大学生命科学シンポジウム, 2016/04/23, ポスター発表

**大前陽輔**, 豊岡理人, 野内英樹, Nedsuwan S, Wattanapokayakit S, Smittipat N, Palittapongarnpim P, Sawanpanyalert P, Wichukchinda N, Pasomsub E, 薙田泰誠, 久保充明, Mahasirimongkol S, 徳永勝士, 病原菌ゲノム情報に基づいた結核発症の宿主側遺伝的要因の探索, 第25回日本組織適合性学会大会, 2016/10/24, 口頭発表

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 結核菌遺伝系統特異的に結核発症のリスクを判定する方法

発明者: 東京大学、理化学研究所、タイ保健省医科学局

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2017 - 150296

出願年月日: 2017年8月2日

国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

人類遺伝学教室ホームページ 1-5. 結核研究 Research for tuberculosis

<http://www.humgenet.m.u-tokyo.ac.jp/research/1-5.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大前 陽輔 (OMAE, Yosuke)

東京大学・大学院医学系研究科・特任助教

研究者番号: 70722552