

令和 3 年 4 月 21 日現在

機関番号：82690

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08402

研究課題名(和文) 膠原病の発症を抑制する共通HLAアレル「DRB1*13:02」の作用機序の解明

研究課題名(英文) The important roles of a common protective allele HLA-DRB1*13:02 in collagen diseases.

研究代表者

古川 宏 (Hiroshi, Furukawa)

独立行政法人国立病院機構東京病院(臨床研究部)・臨床研究部・臨床研究部長

研究者番号：00372293

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：HLAのアレルDRB1*13:02が膠原病の発症に共通して抑制的に関連することを明らかにした。混合性結合組織病およびリウマチ性多発筋痛症での関連を検証した。混合性結合組織病の発症にはDRB1*13:02が、リウマチ性多発筋痛症の発症にはDR6が負の関連を示した。DRB1*13:02トランスジェニック(Tg)マウスを作成し、DR13分子が膠原病発症を抑制する可能性を検証した。MRL/lprでDRB1*13:02Tgマウスを作成しようとしたが、蛋白を発現しなかった。C57BL/6系統でTgマウスの作成を行い、Pristane誘導モデルを作成したが、症状出現前に全マウスが死んでしまった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HLAのアレルHLA-DRB1*13:02が膠原病やその類縁疾患の発症に共通して抑制的に関連することを、日本人集団での関連解析で明らかにしてきた。この研究では、MCTDの発症にDRB1*13:02は負の関連を示し、PMRの発症にDR6(DRB1*13, DRB1*14)は負の関連を示し、この関連は確かなものと考えられた。DRB1*13:02トランスジェニックマウスを作成し、DR13分子が膠原病発症を抑制する可能性を検証しようとしたが、叶わなかった。DR13分子が膠原病の発症を抑制する機序を明らかにすることはできなかった。

研究成果の概要(英文)：DRB1*13:02 allele is protective against systemic autoimmune diseases including systemic sclerosis (SSc), systemic lupus erythematosus (SLE), and rheumatoid arthritis (RA). The protective effect of DRB1*13:02 was investigated in mixed connective tissue disease and polymyalgia rheumatica. DRB1*13:02 was protective against mixed connective tissue disease and DR6 (DRB1*13, DRB1*14) serological group was protective against polymyalgia rheumatica. Transgenic mouse of DRB1*13:02 was generated in MRL/Mp.FasIpr and C57BL/6. The protein of DRB1*13:02 was confirmed in C57BL/6, but not in MRL/Mp.FasIpr. Pristane-induced lupus model was developed in transgenic mouse of DRB1*13:02 in C57BL/6. However, all the mice were dead before the evaluation.

研究分野：膠原病・アレルギー内科学

キーワード：病因・病態 HLA 遺伝子解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膠原病の生命予後が改善されてきていることは事実であるが、その発症機序の解明や治療法の確立に関しては未だ不十分である。近年の関節リウマチ(RA)治療は種々の抗リウマチ薬や生物学的製剤により格段の進歩をみせている。しかしながら、その他の膠原病の治療の発展はこれからである。これまでに申請者らは、ヒト白血球抗原(HLA)のアレル HLA-DRB1*13:02 が RA、全身性エリテマトーデス(SLE)、強皮症(SSc)、抗好中球細胞質抗体関連血管炎(AAV)の発症に共通して抑制的に関連することを、日本人集団での関連解析で明らかにした。DRB1 遺伝子は DQB1 遺伝子と近接しており、非常に強い連鎖不平衡にあるため、DRB1*13:02 と連鎖不平衡にある DQB1*06:04、DQB1*06:09 が疾患抑制アレルである可能性も否定できない。RA、SLE、SSc でハプロタイプ解析、二座位解析、ロジスティック回帰分析を行ったところ、DRB1*13:02 が一義的に抑制的に働いていることが示された。DRB1*13:02 はバセドウ病と橋本病に抑制的に関連すると言われていたが、我々の研究では自己免疫性肝炎の発症に抑制的に関連し、成人発症スティル病の発症に抑制的に関連する傾向があった。これらの疾患で、DRB1*13:02 は疾患感受性アレルに対して優性に働いていた。

DRB1*13:02 と 1 アミノ酸残基(DR 鎖 G86V)異なる DRB1*13:01 は、RA、SSc の発症に抑制的に関連することが、ヨーロッパ系集団での関連解析で報告されている。DRB1*13:01 や DRB1*13:02 が膠原病の発症を抑制するメカニズムはまだ不明確であり、これまでにいくつかの仮説が提唱されているにすぎない。DR13 分子が RA を起こす自己反応性 T 細胞に中枢性寛容を起こしたり、DR13 分子が制御性 T 細胞を介して末梢性寛容を起こしたりしているという機序が考えられているが、今後の検証が待たれている。このように DR13 分子が多くの膠原病の発症を抑制する機序はまだ明らかになっていない。

2. 研究の目的

上記のような報告・知見は示されているが、膠原病における発症抑制遺伝子に関する研究報告は少ない。このような研究現状を踏まえると、膠原病に関連する HLA の疾患発症抑制メカニズムの解明は極めて重要であると同時に、まさに今求められている研究である。そこでこの研究では、膠原病類縁疾患である混合性結合組織病(MCTD)およびリウマチ性多発筋痛症(PMR)でも、DRB1*13:02 が抑制的に関連しているかどうかを明らかにする。さらに、SLE モデルマウス MRL/Mp.FasIpr (MRL/lpr)で DRB1*13:02 トランスジェニック(Tg)マウスを作成して、HLA-DR13 分子が膠原病の発症を抑制することを証明する。加えて、細胞群・分子・遺伝子の側面から膠原病の発症抑制の機序を解明する。

3. 研究の方法

連携研究者当間によって構築された国立病院機構免疫異常ネットワーク支援システムリウマチ部門(iR-net)には全国 45 施設が加盟しており、本研究は 15 施設の倫理委員会によって承認されている。MCTD および PMR の約 200 例のゲノム DNA 検体収集を目標として、MCTD および PMR のゲノム DNA が採集された。解析に必要な臨床情報は、基本患者情報(年齢・性別・診断・発症年齢等)や、皮膚病変・筋病変・肺病変・関節病変の有無や、自己抗体等や、診療過程・アンケート・問診等で得られる症状・検査所見・薬歴等である。臨床情報に基づいてこれ以後の関連解析を行う。HLA のタイピングを WAKFlow と Luminex で行い、遺伝子型の決定には WAKFlow Manager v1.1 ソフトウェアを用いた。MCTD および PMR は SLE、RA、SSc、AAV と共通した病因・病態を持つ可能性があるため、DRB1、DQB1、DPB1 を対象にした候補遺伝子アプローチを行い、MCTD や PMR

の疾患抑制 HLA アレル探索を行った。

SLE モデルマウス MRL/lpr で、RA、SLE、SSc、AAV に共通して抑制的に関連する DRB1*13:02 アレルの Tg マウス作成を計画した。マウス CD4 分子による認識を確実にするため、DRA*01:01 と DRB1*13:02 の cDNA のそれぞれ 2 および 2 ドメインをマウス MHC クラス の H2-Ed の 2 および 2 ドメインと交換したキメラ遺伝子をマウス H2-E プロモーターの下流にサブクローニングして construct を準備した (pD01-5 ベクター)。これらの 2 つの construct を 1:1 で混ぜて、MRL/lpr マウス由来の受精卵の前核中に注入することにより、DR13 と H2-Ed のキメラ分子を抗原提示細胞表面に発現する Tg マウスの作製を試みた。スクリーニングはベクタープライマーを用いた PCR、DNase 処理を行った RT-PCR、抗 HLA-DR 抗体(L243)とフローサイトメーターで行った。また、Tg マウスの作成を C57BL/6 系統でも行った。Tg マウスで、Pristane 誘導全身性エリテマトーデスモデルを作成した。

4 . 研究成果

東京病院、相模原病院、横浜医療センター、福岡病院、旭川医療センター、姫路医療センター、名古屋医療センター、多摩総合医療センター、横浜南共済病院、帝京大学、下志津病院、長崎医療センター、横浜市大市民総合医療センター、九州医療センター、福島県立医科大学に通院中の MCTD 患者 118 例と PMR 患者 56 例のゲノム DNA 検体の収集をした。MCTD 患者 83 例の HLA タイピングを行ったところ、MCTD の発症に DRB1*04:01 が正の関連を示した。一方、MCTD の発症に DRB1*13:02 は負の関連を示した。PMR 患者 43 例の HLA タイピングを行った。PMR の発症に DRB1*04:01 と DRB1*04:05 が正の関連を示した。一方、PMR の発症に DR6(DRB1*13, DRB1*14)は負の関連を示した。臨床情報収集が遅れており、継続しているところであるため、今後は、得られた臨床情報に基づいた層別解析を行う予定である。

SLE モデルマウス MRL/lpr で、RA、SLE、SSc、AAV に共通して抑制的に関連する DRB1*13:02 アレルの Tg マウス作成を試みた。cDNA の導入されたマウスは多数得られたが、蛋白を発現しているマウスは得られなかった。そこで、Tg マウスの作成を C57BL/6 系統で行ったところ、Tg マウスの作成に成功し、蛋白発現も確認された。この Tg マウスで、Pristane 誘導全身性エリテマトーデスモデルを作成した。ところが、SLE 様症状が出現する以前にすべてのマウスが死んでしまい、解析をすることができなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Higuchi T, Oka S, Furukawa H, Tohma S, Yatsushashi H, Migita K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Genetic risk factors for autoimmune hepatitis: implications for phenotypic heterogeneity and biomarkers for drug response.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hum Genomics	6. 最初と最後の頁 6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40246-020-00301-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka N, Tsuno H, Ohashi S, Iwasawa M, Furukawa H, Kato T, Fukui N.	4. 巻 22
2. 論文標題 The attenuation of insulin-like growth factor signaling may be responsible for relative reduction in matrix synthesis in degenerated areas of osteoarthritic cartilage.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskelet Disord.	6. 最初と最後の頁 231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12891-021-04096-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Furukawa H, Oka S, Shimada K, Okamoto A, Hashimoto A, Komiya A, Saisho K, Yoshikawa N, Katayama M, Matsui T, Fukui N, Migita K, Tohma S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Serum metabolomic profiling in rheumatoid arthritis patients with interstitial lung disease: a case-control study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Med (Lausanne).	6. 最初と最後の頁 599794
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmed.2020.599794	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamashita K, Kawasaki A, Matsushita T, Furukawa H, Kondo Y, Okiyama N, Nagaoka S, Shimada K, Sugii S, Katayama M, Hirohata H, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Setoguchi K, Migita K, Sumida T, Tohma S, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Sato S, Kawaguchi Y, Takehara K, *Tsuchiya N.	4. 巻 59
2. 論文標題 Association of functional (GA)n microsatellite polymorphism in the FL11 gene with susceptibility to human systemic sclerosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford).	6. 最初と最後の頁 3553-3562.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keaa306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oka S, Furukawa H, Shimada K, Hashimoto A, Komiya A, Tsunoda S, Saisho K, Tsuchiya N, Katayama M, Shinohara S, Matsui T, Fukui N, Sano H, Migita K, Tohma S.	4. 巻 98(48)
2. 論文標題 Association of HLA-DRB1 genotype with younger age onset and elder age onset rheumatoid arthritis in Japanese populations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore).	6. 最初と最後の頁 e18218.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000018218.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furukawa H, Oka S, Kawasaki A, Hidaka M, Shimada K, Kondo Y, Ihata A, Matsushita T, Matsumoto T, Hashimoto A, Matsumoto I, Komiya A, Kobayashi K, Osada A, Katayama M, Okamoto A, Setoguchi K, Kono H, Hamaguchi Y, Matsui T, Fukui N, Tamura H, Takehara K, Nagaoka S, Sugii S, Sumida T, Tsuchiya N, Tohma S.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Human Leukocyte Antigen in Japanese patients with idiopathic inflammatory myopathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1637593.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furukawa H, Oka S, Shimada K, Hashimoto A, Komiya A, Tsunoda S, Suda A, Ito S, Saisho K, Katayama M, Shinohara S, Sato T, Nagatani K, Minota S, Matsui T, Fukui N, Sugii S, Sano H, Migita K, Nagaoka S, Tohma S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Independent association of HLA-DPB1*02:01 with rheumatoid arthritis in Japanese populations.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0204459.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0204459.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita Y, Furukawa H, Asano T, Sato S, Yashiro M, Kobayashi H, Watanabe H, Suzuki E, Koga T, Shimizu T, Ueki Y, Eguchi K, Tsuchiya N, Kawakami A, Migita K.	4. 巻 in press
2. 論文標題 HLA-DQB1 DPB1 alleles in Japanese patients with Adult-onset Still's disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2018.1514999.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太, 岡本享, 橋本篤, 小宮明子, 税所幸一郎, 吉川教恵, 片山雅夫, 松井利浩, 福井尚志, 右田清志, 當間重人:
2. 発表標題 関節リウマチ関連間質性肺病変に関連する自己抗体
3. 学会等名 第74回国立病院総合医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福井尚志, 田中伸帆, 津野宏隆, 大橋暁, 岩澤三康, 古川宏:
2. 発表標題 変形性関節症における滑膜病変
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 星田義彦, 大島至郎, 佐伯行彦, 宮村知也, 片山雅夫, 大島久二, 比嘉慎二, 吉川教恵, 満尾晶子, 岡本享, 千葉実行, 八木田正人, 角田慎一郎, 杉山隆夫, 井畑淳, 長岡章平, 吉原良祐, 瀬戸口京吾, 松井聖, 市川健司, 古川宏, 當間重人:
2. 発表標題 リウマチ関連リンパ増殖性疾患の多施設共同研究による病理学的解析
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太, 岡本享, 橋本篤, 小宮明子, 税所幸一郎, 吉川教恵, 片山雅夫, 松井利浩, 福井尚志, 右田清志, 當間重人
2. 発表標題 関節リウマチ関連間質性肺病変に関連する自己抗体
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡笑美,古川宏,島田浩太,橋本篤,小宮明子,角田慎一郎,税所幸一郎,土屋尚之,片山雅夫,篠原聡,松井利浩,福井尚志,佐野統,右田清志,當間重人
2. 発表標題 HLAクラスIIと日本人若年発症および高齢発症関節リウマチとの関連
3. 学会等名 第73回国立病院総合医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡笑美,古川宏,島田浩太,橋本篤,小宮明子,角田慎一郎,税所幸一郎,土屋尚之,片山雅夫,篠原聡,松井利浩,福井尚志,佐野統,右田清志,當間重人
2. 発表標題 若年発症および高齢発症関節リウマチとDRB1遺伝型との関連
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川宏
2. 発表標題 Ninjaネットワークを利用した関節リウマチ関連間質性肺病変のバイオマーカー探索
3. 学会等名 第72回国立病院総合医学会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川崎綾,平野史生,佐田憲映,小林茂人,山田秀裕,古川宏,長坂憲治,杉原毅彦,山縣邦弘,住田孝之,當間重人,尾崎承一,橋本博史,榎野博史,有村義宏,針谷正祥,土屋尚之
2. 発表標題 ANCA関連血管炎における間質性肺疾患とHLA ClassIIアレルの関連
3. 学会等名 第63回日本人類遺伝学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 川崎綾, 當間重人, 土屋尚之, 右田清志
2. 発表標題 自己免疫性肝炎とHLA
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浅野智之, 古川宏, 古谷牧子, 佐藤秀三, 小林浩子, 渡辺浩志, 古賀智裕, 川上純, 右田清志
2. 発表標題 成人発症スティル病患者におけるHLA-DRB1アリルの感受性と臨床症状への影響
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川崎綾, 平野史生, 佐田憲映, 小林茂人, 山田秀裕, 古川宏, 長坂憲治, 杉原毅彦, 山縣邦弘, 住田孝之, 當間重人, 尾崎承一, 橋本博史, 横野博史, 有村義宏, 針谷正祥, 土屋尚之
2. 発表標題 日本人ANCA関連血管炎のHLA-classII: ヨーロッパ系集団との比較
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浅野智之, 古川宏, 屋代牧子, 佐藤秀三, 小林浩子, 渡辺浩志, 古賀智裕, 江口勝美, 川上純, 右田清志
2. 発表標題 成人発症スティル病の遺伝的要因の検討
3. 学会等名 第115回日本内科学会講演会
4. 発表年 2018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
---------	---------