

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08802

研究課題名(和文) 遺伝学的に見出した全身性強皮症感受性遺伝子 RXRB の機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of RXRB genetically identified as a susceptibility gene for systemic sclerosis

研究代表者

岡 晃 (Oka, Akira)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：80384866

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)：研究代表者らは全身性強皮症(SSc)の強い遺伝学的リスクを伴う感受性変異をRXRB遺伝子(レチノイン酸レセプター)上に特定している。そこで患者患部から分離された線維芽細胞を用いて変異の機能を解析した。その結果、レチノイン酸存在下において、変異のある細胞でのみ細胞周期に関する遺伝子群の発現が有意に増加していることが明らかとなった。この遺伝子群はcyclin-dependent kinase 1 (CDK1)を中心とした分子群であり、このCDK1を標的とした分子はすでに強皮症の治療薬としてすでに期待されていることから、この変異が生物学的に強皮症発症に関与している可能性が強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身性強皮症の遺伝学的なリスクと生物学的な機能を示した世界初の研究成果となる。すなわち、リスクの遺伝子型がすでに明らかになっている遺伝子とSScとの生物学的機能の関連を明らかにすることは、遺伝子型情報をベースとする、全く新しい診断、予防ならびに治療技術開発の可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：We have already identified a susceptibility mutation on the RXRB gene (retinoic acid receptor) that carries a strong genetic risk for systemic sclerosis (SSc). Therefore, they investigated the function of the mutation using fibroblasts isolated from patient-affected areas. Our studies showed that in the presence of retinoic acid, the expression of a gene group involved in the cell cycle was significantly increased only in cells with the mutation. This group contains cyclin-dependent kinase 1 (CDK1), and molecules targeting CDK1 have already shown promise as a treatment for SSc, it is strongly suggested that this mutation may be biologically involved in the pathogenesis of SSc.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：全身性強皮症 遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全身性強皮症 (SSc) は、自己免疫ならびに結合組織の疾患であり、免疫異常、線維化ならびに血管障害、これらの異常と関連することは分かっているが、その病態は十分に解明されていない。一方、遺伝学的な側面も疑われることから、主に欧米の白人集団を用いたゲノムワイド関連解析が行われているが、疾患リスクの強い遺伝子座は major histocompatibility complex (MHC) 領域以外では見つかっていない。この MHC 領域においても、極めて強く SSc と関連するにもかかわらず、遺伝子座の特定には至っていない。そこで、我々は、この MHC 領域に着目し、SSc 患者の中でもさらに強い関連を示す、抗-DNA topoisomerase I 抗体陽性患者を対象に、疾患遺伝子マッピングを実施した。その結果、極めて強い疾患リスク (OR = 9.4) を有するアミノ酸置換を伴う変異 (c.T284C:p.V95A) を retinoid X receptor beta (*RXRβ*) 遺伝子上に見出すことに成功した (*J Invest Dermatol.* 2017 137:1878-86.)。核内受容体の *RXRβ* は、リガンド依存的に遺伝子発現を制御する転写因子であり、レチノイド X 受容体の内の一つである。そしてレチノイン酸の中でも、9-シスレチノイン酸が、*RXR*s と極めて強いアフィニティーを有し、さらに皮膚由来繊維芽細胞において抗線維化活性を示している。さらに *RXRβ* とヘテロダイマーを形成する peroxisome proliferator-activated receptors (*PPAR*s) はまた抗線維化活性を示すが、SSc 患者皮膚ではその発現が著しく低下している。すなわち、*RXRβ* が遺伝学的側面のみならず、機能的にも SSc の発症機序に関与すると強く示唆される。一方、*RXR*s はすでにその機能や構造がよく理解され、数多くのアゴニストやアンタゴニスト化合物も研究されており、SSc の治療薬開発へと期待される。すなわち、極めて高い遺伝学的疾患リスクを有するこの分子が、SSc の病態理解を飛躍的に推進する可能性を秘めており、その詳細な機能の解析が必要である。

2. 研究の目的

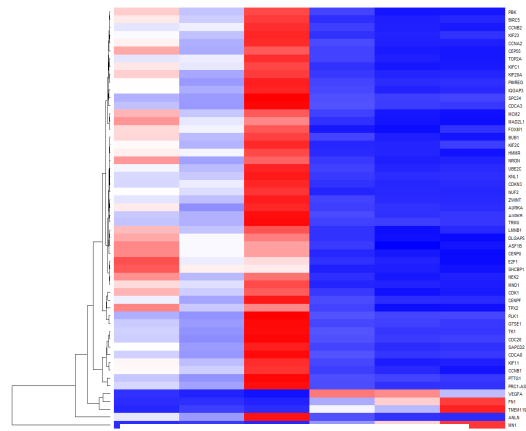
本研究の目的は、SSc の感受性遺伝子として見出した *RXRβ* の遺伝子をターゲットとして、リスク変異そのものの機能を中心に、網羅的に解析することである。これまでは、SSc と生物学的機能と関連が示唆される分子の研究がほとんどであるため、SSc と強い遺伝的関連を示す分子の機能解析は画期的といえる。また遺伝学的なリスクが極めて強いため、遺伝子型に基づく診断法のみならず、新たな病型分類の可能性を秘めており、発症へ至る新たな分子機構の解明と創薬へのシーズを提供できる可能性がある。

3. 研究の方法

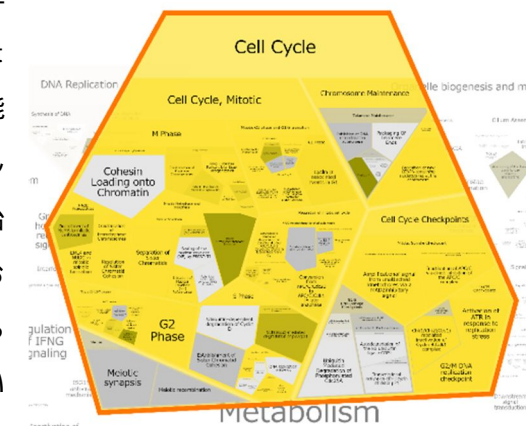
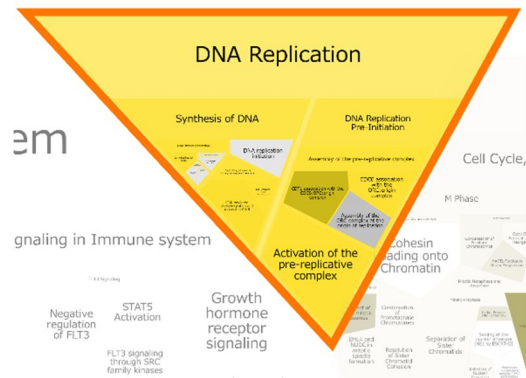
SSc 患者皮膚由来繊維芽細胞株を *RXRβ* リスク変異の有無で 2 群に分け、さらにレチノイン酸での処理の有無を含め、4 群間での遺伝子発現パターンを RNA sequencing により網羅的に調査した。

4. 研究成果

原因変異を有する強皮症患者由来繊維芽細胞の RNA シークエンシングによる網羅的発現解析に向け、変異を有する患者細胞 3 個体と変異がない患者細胞 3 個体の繊維芽細胞の分離培養に成功した。引き続き、変異の有無の差ならびにレチノイン酸の影響を患者由来繊維芽細胞の RNA シークエンシングを実施することで評価した。その結果、すべての試料群の組み合わせで遺伝子発現の差異を検討した結果、レチノイド添加の培養条件における変異の有無の間でのみ、極めて有意にエンリッチされたパスウェイが見出された。変異を有する個体で有意に発現上昇が認められた 122 個の遺伝子の内、細胞周期に關与する遺伝子が 102 個認められた。さらに、ここから細胞周期の有糸分裂のステージで機能する遺伝子が 75 個、さらに spindle-assembly checkpoint (SAC) 紡錘体チェックポイントに關与する遺伝子が 26 個認められ、この解析で最もエンリッチされた特異的遺伝子群と考えられた。したがって、cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) を中心とした分子群と RXRB は機能的に關与していると示唆された。興味深いこととして、近年この CDK1 を標的とした薬剤が強皮症の治療薬として期待されている。さらに一部の患者において治療薬としてレチノイドは非常に効果があるとのデータもあり、今後の研究の展開に期待している。本研究により、遺伝学的に SSc 感受性変異そのものが、遺伝子の生物学的機能に影響を及ぼすことを明らかにした。したがって、新たな遺伝子診断や創薬への足掛かりになる極めて重要な発見につながったと考えている。



Clustering analysis



Pathway analysis by Reactome

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Oka A, Takagi A, Komiyama E, Yoshihara N, Mano S, Hosomichi K, Suzuki S, Haida Y, Motosugi N, Hatanaka T, Kimura M, Ueda MT, Nakagawa S, Miura H, Ohtsuka M, Tanaka M, Komiyama T, Otomo A, Hadano S, Mabuchi T, Beck S, Inoko H, Ikeda S.	4. 巻 57
2. 論文標題 Alopecia areata susceptibility variant in MHC region impacts expressions of genes contributing to hair keratinization and is involved in hair loss	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 102810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2020.102810.	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 該当する
1. 著者名 Nakakura S, Hosomichi K, Uchino S, Murakami A, Oka A, Inoue I, Nakaoka H	4. 巻 21
2. 論文標題 HLA-B*39:01:01 is a novel risk factor for antithyroid drug-induced agranulocytosis in Japanese population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmacogenomics J.	6. 最初と最後の頁 94-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41397-020-00187-4.	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 Kajii TS, Oka A, Saito F, Mitsui J, Iida J	4. 巻 122
2. 論文標題 Whole-exome sequencing in a Japanese pedigree implicates a rare non-synonymous single-nucleotide variant in BEST3 as a candidate for mandibular prognathism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 193-198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.03.004.	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 Nakamura K, Sato S, Asano Y.	4. 巻 30
2. 論文標題 Overlapping systemic sclerosis and sarcoidosis with mutually exclusive disease activities: a case report and analysis of previous studies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 50-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2019.3683.	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 Fukui Y, Miyagawa T, Toyama S, Omatsu J, Hirabayashi M, Nakamura K, Yoshizaki A, Sato S, Asano Y.	4. 巻 47
2. 論文標題 Serum delta-like 4 levels: A possible association with interstitial lung disease in systemic sclerosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 e136-e137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15245.	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 Ebata S, Yoshizaki A, Fukasawa T, Miura S, Takahashi T, Sumida H, Asano Y, Sato S.	4. 巻 46
2. 論文標題 14. Rituximab therapy is more effective than cyclophosphamide therapy for Japanese patients with anti-topoisomerase I-positive systemic sclerosis-associated interstitial lung disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1006-1013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15079.	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 Asano Y, Masui Y, Toyama T, Sato S.	4. 巻 46
2. 論文標題 Unique correlation profile of adiponectin and retinol-binding protein 4 in patients with systemic sclerosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 819-820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14994.	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0件

〔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
研究分担者	浅野 善英 (Asano Yoshihide) (60313029)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	

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