

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 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2008～2011

課題番号：20689029

研究課題名（和文） ゲノムワイド関連解析による関節リウマチ重症化遺伝子同定とその臨床
応用への基盤整備研究課題名（英文） Genome-wide association study on disease severity of rheumatoid
arthritis

研究代表者

猪狩 勝則（IKARI KATSUNORI）

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80343557

研究成果の概要（和文）：ゲノムワイド関連解析（GWAS）を用い、まず関節リウマチ（RA）の疾患感受性遺伝子の同定を試みた。単独の GWAS では既知の疾患感受性領域である HLA が同定されたのみだったが、多施設共同研究でのメタ解析により 9 つの新規疾患感受性領域を同定し、他に 14 の既知の疾患感受性遺伝子領域での関連を確認した。ゲノムワイド水準を超える関連を認める疾患重症化領域はなかったが、HLA-DRB1 と PADI4 での関連を確認した。

研究成果の概要（英文）：We tried to investigate independent genetic risk factors for radiographic progression in rheumatoid arthritis (RA) patients. Sharp/ van der Heijde score of hands at 5-year disease duration, which represents joint damage, were measured retrospectively and used as an outcome variable in 865 Japanese RA patients. The number of SE alleles and risk alleles of peptidyl arginine deiminase type IV gene had significant impact on progressive joint destruction, as well as following non-genetic factors: higher mean DAS28, ACPA positive, female sex and younger age of onset.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	9,400,000	2,820,000	12,220,000
2009 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2010 年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	17,900,000	5,370,000	23,270,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：リウマチ病学

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ（RA）は多関節に慢性炎症を生じる全身性自己免疫疾患であり、その本態は滑膜に存在する免疫系細胞とサイトカインによる複雑な応答システムの異常と考えられている。病勢の進行とともに関節構造が破綻することで日常生活動作を著しく障害し、平均余命が短縮するという報告もある。疾患多発家系の存在や双生児研究を含めた疫学

調査から、発症には多くの遺伝要因が関与していると考えられている。当時いくつかの疾患感受性遺伝子などが同定されていたが、予後予測における重要性ははまだ明らかにできていない状況だった。RA は発症後数十年の経過を辿ることも多い慢性疾患だが、多関節で重症変形を呈するムチランス型から小関節の軽度の変形にとどまるものまでその臨床像は多彩である。特にムチランス型や多関

関節破壊型の場合には日常生活が高度に障害され、社会的損失も著しい。幸い近年の治療法・治療薬の進歩、特に生物学的製剤の導入により、以前に比べ疾患活動性の制御が可能になりつつあるが、一方で生物学的製剤は重症感染症などの副作用が一定の割合で発生するため、RA患者に対して一律に用いることは不相当と考えられている。またメソトレキサートをはじめとする従来の抗リウマチ薬に比べ薬剤費が非常に高価であり、今後ますます加速する高齢化社会においては医療経済上の観点からも無用な投薬は避ける必要がある。さらに疾患活動性をどこまで制御すれば関節破壊が抑えられるかは患者個人によって違いがあると考えられている。時に数十年にも及ぶRAの罹病期間全体を見据えた場合、測定時の病勢に左右されない遺伝子多型による予後予測が効果的であると予想される。遺伝子診断による予後予測が可能になれば、関節破壊が高度となる可能性が高い患者には積極的に生物学的製剤を使用して必要な水準まで疾患活動性を抑え、そうでない患者には抗リウマチ薬を使用することで、リスクに応じた効果的経済的な薬剤選択、治療選択が可能となる。近年では薬剤代謝関連遺伝子解析も進んでおり、既に当施設でも薬剤反応性遺伝子型に基づく薬理効果予測、副作用予測を行うオーダーメイド医療を開始しているが、これと遺伝子診断による表現型予測を合わせて行うことでRA患者に対してさらに充実したオーダーメイド医療が実現できると考えた。

2. 研究の目的

関節リウマチの疾患重症化に関連する遺伝子を同定し、同定された重症化関連遺伝子群の遺伝子型と臨床指標の組み合わせに基づく表現型予測アルゴリズムを作成し、オーダーメイド医療に向けた基盤技術の整備を進める。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子解析に必要なDNA試料は、当施設で実施中のIORRAコホートで集積されたものから主に選択した。本研究計画開始時点では1504名のDNAが収集されていたが、その後追加収集を行い最終的に2068名から集められた。

(2) 疾患重症化指標として骨関節破壊を直接評価できるX線スコアを用い、標準的なスコアであるSharp van der Heijde法によるSharp van der Heijde score (SHS)を選択した。開発者の一人に直接読影法の指導を受けた熟練した整形外科医が読影を行った。観察者間一致率、観察者内一致率はそれぞれ0.85、0.95であり、十分に再現性のある読影結果であった。罹病期間が長くなるとともに

関節破壊が進行する点を考慮し、発症5年時のX線評価を使用した。2068名のうち865名からSHSが得られた。

(3) 遺伝要因以外で疾患重症化(X線スコア)と関連する指標の同定をまず試みた。IORRAデータベースより、性、発症年齢、抗CCP抗体(ACPA)、リウマチ因子(RF)、喫煙歴、平均疾患活動性(DAS28)を抽出し、まず単回帰解析によりSHSとの関連を検討した。その結果、喫煙歴以外の因子が関連を認めたため、続いて喫煙歴以外の因子で重回帰解析を行い、RF以外の因子、女性、若年発症、ACPA陽性、平均DAS28高値が疾患重症化と関連することを明らかにした。平均DAS28最も強い関連を示し、ACPA陽性がこれに次いたが、これはこれまでの報告と一致する。これらの因子を調整因子として使用することとした。

(4) SHSが得られた865名をGWAS群($n = 424$)とValidation群($n = 441$)の2群に分けた。GWASには約50万SNPを1枚のアレイに収載したGenome-Wide Human SNP Array 6.0(アフィメトリクス社)を用い、タイピングを行った。Quality control(QC)として以下の基準を適用した: sample call rate > 0.95 、SNP call rate > 0.98 、minor allele frequency > 0.05 、Hardy-Weinberg平衡 $P > 10^{-6}$ 。この結果 sample call rate > 0.95 を下回った1例を解析から除外した。581,419 SNPsが解析対象となり、Total genotyping rateは0.988だった。調整因子(女性、若年発症、ACPA陽性、平均DAS28)を考慮したGWASの結果、ゲノムワイド水準($P = 5 \times 10^{-8}$)を下回るP値を得られたSNPはなかったが、 $P < 5.0 \times 10^{-5}$ を示した8 SNPについてvalidationを行った。その結果、一つのSNPで $P < 0.00625$ (Bonferroni補正)を示したが、GWASとValidationのメタ解析を行ってもゲノムワイド水準を下回るP値は得られなかった($P = 7.9 \times 10^{-7}$)。

(5) サブ解析として疾患感受性遺伝子の探索も行った。controlとして550例の情報を共同研究機関から入手し、QCは同様の基準を適用した。患者対照研究の結果、既知の疾患感受性領域であるHLA-DRB1のみゲノムワイド水準を下回るP値が得られた。より広範に疾患感受性遺伝子を探索するため、多施設共同研究を行い、それぞれの機関で行ったGWASのメタ解析により9つの新規疾患感受性領域を同定し、他に14の既知の疾患感受性遺伝子領域での関連を確認した。計23の疾患感受性領域のうち、15領域が欧米人と共有する疾患感受性領域であることも明らかとした。

(6) 疾患感受性遺伝子を対象とした疾患重症化遺伝子の候補遺伝子解析を行い、HLA-DRB1とPADI4での関連を確認した。

4. 研究成果

新規疾患感受性領域 9 つを含む 23 の疾患感受性遺伝子を同定した。このうち 15 領域は欧米人と共有する領域であった。また女性、若年発症、ACPA 陽性、平均 DAS28 高値が疾患重症化と関連することを明らかにするとともに、HLA-DRB1 と PADI4 が疾患重症化遺伝子であることを同定した。

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 40 件)

1. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01. Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(6):1095-7.
2. Non-synonymous variant (Gly307Ser) in CD226 is associated with susceptibility in Japanese rheumatoid arthritis patients. Suzuki T, Ikari K, Kawaguchi Y, Yano K, Iwamoto T, Kawamoto M, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. *Modern rheumatology*. 2012. (in press)
3. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tani H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. *Nature genetics*. 2012;44(5):511-6.
4. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M,

Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. *PLoS genetics*. 2012;8(1):e1002455.

5. Comparison of characteristics and therapeutic efficacy in rheumatoid arthritis patients treated by rheumatologists and those treated by orthopedic surgeons under a team medicine approach at the same institute. Momohara S, Inoue E, Ikari K, Yano K, Tokita A, Honjo Y, Sakuma Y, Hiroshima R, Iwamoto T, Seto Y, Tanaka E, Taniguchi A, Yamanaka H. *Modern rheumatology*. 2012;22(2):209-15.

6. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(12):2134-9.

7. Interleukin-18 promoter polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis: protective effect of the T allele and T/T genotype at rs360722. Sugiura T, Kawaguchi Y, Ikari K, Ichida H, Kawamoto M, Momohara S, Hara M, Yamanaka H. *Modern rheumatology*. 2011;21(4):359-64.

8. Association of EMCN with susceptibility to rheumatoid arthritis in a Japanese population. Nishimoto K, Ikari K, Kaneko H, Tsukahara S, Kochi Y, Yamamoto K, Nakamura Y, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(2):221-8.

9. Recent trends in orthopedic surgery performed in Japan for rheumatoid arthritis. Momohara S, Tanaka S, Nakamura H, Mibe J, Iwamoto T, Ikari K, Nishino J, Kadono Y, Yasui T, Takahashi K, Takenouchi K, Hashizume K, Nakahara R, Kubota A, Nakamura T, Nishida K, Suguro T. *Modern rheumatology*. 2011;21(4):337-42.

10. Reparative radiological changes of a large joint after adalimumab for rheumatoid arthritis. Momohara S, Tanaka E, Iwamoto T, Ikari K, Yamanaka H. *Clinical rheumatology*. 2011;30(4):591-2.

11. Prosthetic joint infection after total

hip or knee arthroplasty in rheumatoid arthritis patients treated with nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs. Momohara S, Kawakami K, Iwamoto T, Yano K, Sakuma Y, Hiroshima R, Imamura H, Masuda I, Tokita A, Ikari K. *Modern rheumatology*. 2011;21(5):469-75.

12. Efficacy of total joint arthroplasty in patients with established rheumatoid arthritis: improved longitudinal effects on disease activity but not on health-related quality of life. Momohara S, Inoue E, Ikari K, Yano K, Tokita A, Suzuki T, Sakuma Y, Hiroshima R, Kawakami K, Masuda I, Iwamoto T, Taniguchi A, Yamanaka H. *Modern rheumatology*. 2011;21(5):476-81.

13. The increasing disease duration of patients at the time of orthopaedic surgery for rheumatoid arthritis. Momohara S, Ikari K, Kawakami K, Iwamoto T, Inoue E, Yano K, Sakuma Y, Hiroshima R, Tokita A, Taniguchi A, Yamanaka H. *Rheumatology international*. 2011.

14. Clinical images: Solitary extranodal malignant lymphoma of the forearm in rheumatoid arthritis. Iwamoto T, Seto Y, Ikari K, Yamanaka H, Momohara S. *Arthritis and rheumatism*. 2011;63(1):304.

15. Pseudotumor from a metal-on-metal hip. Iwamoto T, Ikari K, Momohara S. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(10):2265.

16. Analysis of C-reactive protein levels and febrile tendency after joint surgery in rheumatoid arthritis patients treated with a perioperative 4-week interruption of tocilizumab. Hiroshima R, Kawakami K, Iwamoto T, Tokita A, Yano K, Sakuma Y, Ikari K, Momohara S. *Modern rheumatology*. 2011;21(1):109-11.

17. Effect of total knee arthroplasty on disease activity in patients with established rheumatoid arthritis: 3-year follow-up results of combined medical therapy and surgical intervention. Yano K, Ikari K, Inoue E, Tokita A, Sakuma Y, Hiroshima R, Iwamoto T, Kawakami K, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. *Modern rheumatology*. 2010;20(5):452-7.

18. The association of a nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K, Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M,

Atsumi T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S, Yamanaka H, Nakamura Y, Yamamoto K. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(2):574-9.

19. Reparative radiological changes of the hip joint in rheumatoid arthritis: do these findings indicate the true repair of the joint? Sakuma Y, Ikari K, Iwamoto T, Tokita A, Momohara S. *Joint, bone, spine: revue du rhumatisme*. 2010;77(3):278-9.

20. Single nucleotide polymorphisms of CD244 gene predispose to renal and neuropsychiatric manifestations with systemic lupus erythematosus. Ota Y, Kawaguchi Y, Takagi K, Tochimoto A, Kawamoto M, Katsumata Y, Gono T, Masuda I, Ikari K, Momohara S, Yamanaka H. *Modern rheumatology*. 2010;20(5):427-31.

21. Association study of TRAF1-C5 polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Japanese. Nishimoto K, Kochi Y, Ikari K, Yamamoto K, Suzuki A, Shimane K, Nakamura Y, Yano K, Iikuni N, Tsukahara S, Kamatani N, Okamoto H, Kaneko H, Kawaguchi Y, Hara M, Toyama Y, Horiuchi T, Tao K, Yasutomo K, Hamada D, Yasui N, Inoue H, Itakura M, Yamanaka H, Momohara S. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(2):368-73.

22. Decrease in orthopaedic operations, including total joint replacements, in patients with rheumatoid arthritis between 2001 and 2007: data from Japanese outpatients in a single institute-based large observational cohort (IORRA). Momohara S, Inoue E, Ikari K, Kawamura K, Tsukahara S, Iwamoto T, Hara M, Taniguchi A, Yamanaka H. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(1):312-3.

23. A regulatory variant in CCR6 is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. Kochi Y, Okada Y, Suzuki A, Ikari K, Terao C, Takahashi A, Yamazaki K, Hosono N, Myouzen K, Tsunoda T, Kamatani N, Furuichi T, Ikegawa S, Ohmura K, Mimori T, Matsuda F, Iwamoto T, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. *Nature genetics*. 2010;42(6):515-9.

24. Complications and features after joint surgery in rheumatoid arthritis patients treated with tumour necrosis factor- α blockers: perioperative interruption of tumour necrosis factor- α blockers decreases complications? Kawakami K, Ikari K, Kawamura K, Tsukahara S, Iwamoto

- T, Yano K, Sakuma Y, Tokita A, Momohara S. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(2):341-7.
25. Multiple extensor tendon ruptures caused by tophaceous gout. Iwamoto T, Toki H, Ikari K, Yamanaka H, Momohara S. *Modern rheumatology*. 2010;20(2):210-2.
26. [A thought on postgraduate psychiatric education from the viewpoint of residents in the latter stage of training based on the system of training of psychiatric specialists--the latter part of the psychiatric training at university hospitals]. Nakano W, Kato T, Tateno M, Ikari K, Tanaka T, Nakamae T, Hojusan T, Nakamura J. *Seishin shinkeigaku zasshi = Psychiatria et neurologia Japonica*. 2009;111(10):1214-9.
27. Declining use of synovectomy surgery for patients with rheumatoid arthritis in Japan. Momohara S, Ikari K, Mochizuki T, Kawamura K, Tsukahara S, Toki H, Hara M, Kamatani N, Yamanaka H, Tomatsu T. *Annals of the rheumatic diseases*. 2009;68(2):291-2.
28. Clinical image: adductor muscle strain in an elderly patient with suspected femoral neck fracture. Kawakami K, Ikari K, Yano K, Momohara S. *Arthritis and rheumatism*. 2009;60(11):3446.
29. A1330V polymorphism of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene and self-reported incident fractures in Japanese female patients with rheumatoid arthritis. Furuya T, Urano T, Ikari K, Kotake S, Inoue S, Hara M, Momohara S, Kamatani N, Yamanaka H. *Modern rheumatology*. 2009;19(2):140-6.
30. Effect of matrix metalloproteinase-3 functional SNP on serum matrix metalloproteinase-3 level and outcome measures in Japanese RA patients. Tsukahara S, Shinozaki M, Ikari K, Mochizuki T, Inoue E, Tomatsu T, Hara M, Yamanaka H, Kamatani N, Momohara S. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(1):41-4.
31. CTLA-4 CT60 polymorphism is not an independent genetic risk marker of rheumatoid arthritis in a Japanese population. Tsukahara S, Iwamoto T, Ikari K, Inoue E, Tomatsu T, Hara M, Yamanaka H, Kamatani N, Momohara S. *Annals of the rheumatic diseases*. 2008;67(3):428-9.
32. A polymorphism in the gene encoding the Fcγ₃ receptor is a possible genetic marker to predict the primary response to infliximab in Japanese patients with rheumatoid arthritis. Tsukahara S, Ikari K, Sato E, Yamanaka H, Hara M, Tomatsu T, Momohara S, Kamatani N. *Annals of the rheumatic diseases*. 2008;67(12):1791-2.
33. Iliopsoas bursitis-associated femoral neuropathy exacerbated after internal fixation of an intertrochanteric hip fracture in rheumatoid arthritis: a case report. Tokita A, Ikari K, Tsukahara S, Toki H, Miyawaki M, Mochizuki T, Kawamura K, Tomatsu T, Momohara S. *Modern rheumatology*. 2008;18(4):394-8.
34. Infusion reaction to infliximab in a patient with rheumatoid arthritis after discontinuation over 1 year and readministration. Toki H, Momohara S, Tsukahara S, Ikari K. *The Journal of rheumatology*. 2008;35(9):1896-7; author reply 7.
35. Return of infliximab efficacy after total knee arthroplasty in a patient with rheumatoid arthritis. Toki H, Momohara S, Ikari K, Kawamura K, Tsukahara S, Mochizuki T, Sato E, Yamanaka H. *Clinical rheumatology*. 2008;27(4):549-50.
36. Retrospective clinical study on the notable efficacy and related factors of infliximab therapy in a rheumatoid arthritis management group in Japan: one-year outcome of joint destruction (RECONFIRM-2J). Takeuchi T, Yamanaka H, Inoue E, Nagasawa H, Nawata M, Ikari K, Saito K, Sekiguchi N, Sato E, Kameda H, Iwata S, Mochizuki T, Amano K, Tanaka Y. *Modern rheumatology*. 2008;18(5):447-54.
37. Lack of association between PADI4 and functional severity in Japanese rheumatoid arthritis patients. Nishimoto K, Ikari K, Mochizuki T, Tomatsu T, Toyama Y, Hara M, Yamanaka H, Kamatani N, Momohara S. *Annals of the rheumatic diseases*. 2008;67(3):431-2.
38. Risk factors for wrist surgery in rheumatoid arthritis. Momohara S, Inoue E, Ikari K, Tsukahara S, Kawamura K, Toki H, Hara M, Kamatani N, Yamanaka H, Tomatsu T. *Clinical rheumatology*. 2008;27(11):1387-91.
39. Association of STAT4 with susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in the Japanese population. Kobayashi S, Ikari K, Kaneko H, Kochi Y, Yamamoto K, Shimane K, Nakamura Y, Toyama Y, Mochizuki T, Tsukahara S, Kawaguchi Y, Terai C, Hara M, Tomatsu T, Yamanaka H, Horiuchi T, Tao K, Yasutomo K, Hamada D, Yasui N, Inoue H,

Itakura M, Okamoto H, Kamatani N, Momohara S. Arthritis and rheumatism. 2008;58(7):1940-6.

40. Association of the MSX2 gene polymorphisms with ankylosing spondylitis in Japanese. Furuichi T, Maeda K, Chou CT, Liu YF, Liu TC, Miyamoto Y, Takahashi A, Mori K, Ikari K, Kamatani N, Kurosawa H, Inoue H, Tsai SF, Ikegawa S. Journal of human genetics. 2008;53(5):419-24.

[その他]

ホームページ等

<http://www.twmu.ac.jp/IOR/JointSurgery/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

猪狩 勝則 (IKARI KATSUNORI)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80343557