

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：87301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591006

研究課題名(和文)日本人原発性胆汁性肝硬変の病態形成に関わる遺伝因子同定のための網羅的遺伝子解析

研究課題名(英文) Genome-wide association study to detect disease-associated genes in Japanese patients with primary biliary cirrhosis

研究代表者

中村 稔(Nakamura, Minoru)

独立行政法人国立病院機構(長崎医療センター臨床研究センター)・その他部局等・研究員

研究者番号：40217906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：近年、欧米人を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)により、PBCの疾患感受性遺伝子としてHLA領域の他に計21の遺伝子多型が同定された。本研究では日本人PBC-GWAS共同研究を実施し、日本人PBCの新規疾患感受性遺伝子を2カ所(TNFSF15, POU2AF1)同定した。欧米人の疾患感受性遺伝子のうち約半数が日本人でも疾患感受性遺伝子であることが確認された。欧米人と日本人の間にはPBCの疾患感受性遺伝子に集団差を認めるものの、Tリンパ球のTh1/Th17への分化や、Bリンパ球の形質細胞への分化経路が、共通した疾患発症経路であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To identify susceptibility loci for primary biliary cirrhosis(PBC) in Japanese population, a genome-wide association study(GWAS) and subsequent replication study were performed in a total of 1327 PBC cases and 1120 healthy controls. Two significant non-HLA susceptibility loci(TNFSF15 and POU2AF1) for PBC were identified. In addition, 10 loci(CD80, IKZF3, IL7R, NFKB1, STAT4, CXCR5, TNFAIP2, MAP3K7IP1, rs6974491, DENND1B) out of 21 non-HLA susceptibility loci for PBC in European descent showed significant associations in Japanese population. These results indicated the importance of two disease-pathways in both European descent and Japanese population, Th1/Th17 differentiation of T cells(CD80, IL12A, IL12RB2, STAT4, TNFSF15) and B cells(IL7R, CXCR5, POU2AF1, SPIB, IKZF3). In addition, the study for systemic and local expression of TNF-like ligand 1A(TL1A), which is encoded by TNFSF15, indicated that TL1A may be involved in the pathogenesis of PBC.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：原発性胆汁性肝硬変 疾患感受性遺伝子 GWAS 肝臓学

1. 研究開始当初の背景

近年 ursodeoxycholic acid(UDCA) 治療により、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の予後は改善しつつあるが、PBC の約 5-10%の症例は肝不全に至り肝移植以外に救命方法がない難病である。また、PBC の発症や進展に関するメカニズムも依然、不明のままである。

2. 研究の目的

我々は、PBC を 無症候性に経過し予後良好な症例、肝硬変、門脈圧亢進症に進行するが肝移植に到らない症例、肝不全、黄疸に進行して肝移植に到る症例に分類し、その病理・血清・遺伝学的特徴を解析してきたが、本研究ではその分類の妥当性と、PBC の発症、進行、自己抗体産生に関する遺伝因子を明らかにするために、日本人 PBC 症例の網羅的遺伝子解析(GWAS)を行う。

3. 研究の方法

今まで当研究センターに集積している約 700 症例の PBC 患者検体 (血清、末梢血 DNA、凍結肝生検組織) と新たに収集する PBC 500 症例の検体を用いて、血清自己抗体の測定、HLA-typing、SNP の解析、網羅的遺伝子解析(GWAS)、肝局所における遺伝子発現の解析を行い、PBC の病型分類や長期予後診断に有用なバイオマーカーを同定するとともに、PBC の発症機構を明らかにする。

4. 研究成果

国立病院機構 (NHO) 肝疾患ネットワーク研究班 (参加32 施設) と厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業 “難治性の肝・胆道疾患に関する調査研班” gp210 working (参加28 施設) に登録されたPBC 症例を用いてGWASを実施し、日本人集団の疾患感受性遺伝子、TNFSF15とPOU2AF1を同定した。また、欧米で報告されていた疾患感受性遺伝子の約半数が、日本人集団においても疾患感受性遺伝子であることが判明した。日本人と欧米人集団においてはPBC 疾患感受性遺伝子に集団差 (日本人 :

TNFSF15、POU2AF1、欧米人 : IL12A, IL12RB, SPIB etc) を認めるものの、これらの遺伝子はリンパ球の分化・成熟に関する同じ経路上に位置しており、両集団において共通の疾患発症経路 (T リンパ球のTh1/Th17 への分化経路 : TNFSF15, POU2AF1, IL12A, IL12RB, CD80, STAT4、B リンパ球の形質細胞への分化経路 : POU2AF1, SPIB, IKZF3, IL7R, CXCR5) が存在することが明らかとなった。また、TNFSF15の遺伝子産物TL1Aは、PBC 肝局所や血中で有意に増加しUDCA治療により低下することからPBCの分子標的になる可能性が示唆されるとともに、疾患活動性のマーカーとしても有用であることが示唆された。

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 16 件)

Joshita S, Umemura T, Nakamura M, Katsuyama Y, Shibata S, Kimura T, Morita S, Komatsu M, Matsumoto A, Yoshizawa K, Ishibashi H, Tanaka E, Ota M. STAT4 gene polymorphisms are associated with susceptibility and ANA status in primary biliary cirrhosis. *Dis Markers*. 2014; 2014: 727393. [Epub 2014 Feb 4.]

Tanaka T, Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Nakamura M, Kaneko J, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N.

Chronologic changes of explanted liver volume and the use of ursodeoxycholic acid in patients with end-stage primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res*. 2013 Dec 2. [Epub ahead of print] Migita K, Nakamura M, Abiru S, Jiuchi Y, Nagaoka S, Komori A, Hashimoto S, Bekki S, Yamasaki K, Komatsu T, Shimada M, Kouno H, Hijioka T, Kohjima M, Nakamuta M, Kato M, Yoshizawa K, Ohta H, Nakamura Y, Takezaki E, Nishimura H, Sato T, Ario K, Hirashima N, Oohara Y, Naganuma A, Muro T, Sakai H, Mita E, Sugi K, Yamashita H, Makita F, Yatsushashi H, Ishibashi H, Yasunami M. Association of STAT4 polymorphisms with susceptibility to type-1 autoimmune hepatitis in the

Japanese population. PLoS One. 2013 Aug 22; 8(8):e71382.

Aiba Y, Harada K, Komori A, Ito M, Shimoda S, Nakamura H, Nagaoka S, Abiru S, Migita K, Ishibashi H, Nakanuma Y, Nishida N, Kawashima M, Tokunaga K, Yatsushashi H, Nakamura M. Systemic and local expression of TNF-like ligand 1A and its decoy receptor 3 are increased in primary biliary cirrhosis. Liver Int. 2013 Aug 2. doi : 10.1111/liv.12296. [Epub ahead of print]

Harada K, Kakuda Y, Nakamura M, Shimoda S, Nakanuma Y. Clinicopathological significance of serum fractalkine in primary biliary cirrhosis. Dig Dis Sci. 2013 Jun 14 [Epub ahead of print]

Ohishi Y, Nakamura M, Ishikawa N, Saitoh O, Nakamura H, Aiba Y, Komori K, Migita K, Yatsushashi H, Fukushima N, Kohjima M, Yoshimoto T, Fukuzumi K, Ishibashi M, Nishino T, Shirabe K, Taketomi A, Maehara Y, Ishibashi H, PBC Study Group of NHOSLJ, Nakamura M. Genetic polymorphisms of *OCT-1* confer susceptibility to severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. J Gastroenterol 2013 April 24. [Epub ahead of print]

Inamine T, Higa S, Noguchi F, Kondo S, Omagari K, Yatsushashi H, Tsukamoto K, Nakamura M. Association of genes involved in bile acid synthesis with the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. J Gastroenterol. 2013 Jan 11. [Epub ahead of print]

中村 稔 PBC 治療反応性と予後予測厚生労働省研究班による多施設の PBC 研究成果 たんじゅうさん 2013;Vol.12 No2:16-17

中村 稔 PBC の疾患感受性遺伝子による病態の解明 日本消化器病学会雑誌 2013;110:1602-1610

Aiba Y and Nakamura M. The Role of TL1A and DR3 in autoimmune and inflammatory diseases. Mediators of Inflammation. 2013;258164.

Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, Aiba Y, Tanaka A, Yasunami M, Nakamura H, Komori A, Nakamura M, Zeniya M, Hashimoto E, Ohira H, Yamamoto K, Onji M, Kaneko S, Honda M, Yamagiwa S, Nakao K, Ichida T, Takikawa H, Seike M, Umemura T, Ueno Y, Sakisaka S, Kikuchi K, Ebinuma H, Yamashiki N,

Tamura S, Sugawara Y, Mori A, Yagi S, Shirabe K, Taketomi A, Arai K, Monoe K, Ichikawa T, Tani M, Miyake Y, Kumagi T, Abe M, Yoshizawa K, Joshita S, Shimoda S, Honda K, Takahashi H, Hirano K, Takeyama Y, Harada K, Migita K, Ito M, Yatsushashi H, Fukushima N, Ota H, Komatsu T, Saoshiro T, Ishida J, Kouno H, Kouno H, Yagura M, Kobayashi M, Muro T, Masaki N, Hirata K, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Hirashima N, Komeda T, Sugi K, Koga M, Ario K, Takesaki E, Maehara Y, Uemoto S, Kokudo N, Tsubouchi H, Mizokami M, Nakanuma Y, Tokunaga K, Ishibashi H. Genome-wide Association Study Identifies TNFSF15 and POU2AF1 as Susceptibility Loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese Population. Am J Hum Genet. 2012 Oct 5; 91(4):721-728

Haruta I, Kikuchi K, Nakamura M, Hirota K, Kato H, Miyakawa H, Shibata N, Miyake Y, Hashimoto E, Shiratori K, Yagi J. Involvement of Commensal Bacteria may lead to Dysregulated Inflammatory and Autoimmune Responses in a Mouse Model for Chronic Nonsuppurative Destructive Cholangitis. J Clin Immunol. 2012 Oct; 32(5):1026-37.

Shimoda S, Tsuneyama K, Kikuchi K, Harada K, Nakanuma Y, Nakamura M, Ishibashi H, Hisamoto S, Niino H, Leung PS, Ansari AA, Gershwin ME, Akashi K. The role of natural killer (NK) and NK T cells in the loss of tolerance in murine primary biliary cirrhosis. Clin Exp Immunol, 2012; 168:279-284

Satomura K, Torigoshi T, Koga T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Kawakami A, Aiba Y, Nakamura M, Komori A, Sato J, Ishibashi H, Motokawa S, Migita K. Serum amyloid A (SAA) induces pentraxin 3 (PTX3) production in rheumatoid synoviocytes. Mod Rheumatol 2012 Mar 24 (Epub ahead of print)

Migita K, Watanabe Y, Jiuchi Y, Nakamura Y, Saito A, Yagura M, Ohta H, Shimada M, Mita E, Hijioka T, Yamashita H, Takezaki E, Muro T, Sakai H, Nakamura M, Abiru S, Komori A, Ito M, Yatsushashi H, Nakamura M, Ishibashi H; the Japanese NHO-Liver network study group. Hepatocellular carcinoma and

survival in patients with autoimmune hepatitis (Japanese National Hospital Organization-autoimmune hepatitis prospective study). *Liver Int* 2012; 32:837-844

中村 稔 PBC の疾患感受性遺伝子による病態の解明 *日本臨床免疫学会誌* 2012;35(6):503-510

[学会発表](計 11 件)

A. Komori, M. Nakamura, Y. Aiba, Y. Kugiyama-Yasunaga, S. Bekki, R. Sasaki, S. Hashimoto, M. Ootani, S.-K. Bae, A. Saeki, S. Nagaoka, S. Abiru, K. Yamasaki, H. Ishibashi, H. Yatsushashi. WHO MAY HAVE TREATMENT BENEFITS WITH FIBRATES IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS: A SINGLE CENTER RETROSPECTIVE OBSERVATIONAL COHORT ANALYSIS. 48th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. 2013.04.26. Amsterdam, The Netherlands

相葉佳洋, 原田憲一, 小森敦正, 伊東正博, 阿比留正剛, 長岡進矢, 石橋大海, 中沼安二, 八橋 弘, 中村 稔. 日本人原発性胆汁性肝硬変患者における TLIA の役割. 第 49 回日本肝臓学会総会 2013.06.06. 東京

小森敦正, 中村 稔, 伊東正博, 釘山有希, 戸次鎮宗, 福島真典, 橋元 悟, 大谷正史, 斐成寛, 佐伯 哲, 長岡進矢, 阿比留正剛, 八橋弘, 石橋大海. 原発性胆汁性肝硬変の治療におけるフィブレート製剤の効果と限界. 第 48 回日本肝臓学会総会. 2012.06.07. 金沢

中牟田 誠, 国府島庸之, 大石裕樹, 中村 稔, 吉本剛志, 山崎晃裕, 中村 史, 福嶋伸良, 福泉公仁隆, 石橋大海, 本多彰, 野崎雄一, 松崎靖司, 中島 淳, 遠城寺宗近. 原発性胆汁性肝硬変症の病態形成における organic cation transporter 1 の重要性. 第 48 回日本肝臓学会総会. 2012.06.07. 金沢

中村 稔, 西田奈央, 川嶋実苗, 田中篤, 中牟田 誠, 太田 肇, 竿代丈夫, 高野弘嗣, 吉澤 要, 小森敦正, 梅村武司, 銭谷幹男, 恩地森一, 橋本悦子, 大平弘正, 山本和秀, 金子周一, 山際 訓, 中尾一彦, 市田隆文, 滝川 一, 前原喜彦, 上本伸一, 國土典宏, 坪内博仁, 溝上雅史, 徳永勝土, 中沼安二, 石橋大海. 日本人原発性胆汁性肝硬変のゲノムワイド関連解析. 第 48 回日本肝臓学会総会. 2012.06.07. 金沢

相葉佳洋, 安波道郎, 小森敦正, 右田清志, 八橋 弘, 中牟田 誠, 福嶋伸良, 太田 肇, 石田仁也, 平田啓一, 渡部幸夫, 小松達司, 矢倉道泰, 高野弘嗣, 室 豊

吉, 島田昌明, 米田俊貴, 山下晴弘, 竹崎英一, 古賀満明, 小林正和, 杉 和洋, 正木尚彦, 古澤 要, 蒔田富士雄, 高木均, 西村英夫, 石橋大海, 中村 稔. 日本人原発性胆汁性肝硬変の病態形成に關与する HLA-A,-B,-DP,-DR 遺伝子多型と CTLA-4, SLC4A2, IL12A, IRF5 遺伝子多型の検討. 第 48 回日本肝臓学会総会. 2012.06.07. 金沢

M. Nakamura, M. Ito, K. Yamamoto, M. Zeniya, H. Ohira, E. Hashimoto, M. Honda, S. Kaneko, Y. Ueno, K. Kikuchi, S. Onji, S. Shimoda, H. Takikawa, A. Tanaka, A. Komori, H. Yatsushashi, H. Kondo, K. Harada, S. Onishi, H. Tsubouchi, Y. Nakanuma, H. Ishibashi. Positive Anti-GP210 Antibodies is a Risk Factor for Poor Biochemical Response to Ursodeoxycholic Acid Treatment in Japanese Patients with Primary Biliary Cirrhosis. 46th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. The International Liver Congress 2011. 2011.03.30-04.03. Berlin, Germany

相葉佳洋, 稲嶺達夫, 城下 智, 小森敦正, 右田清志, 八橋 弘, 中牟田誠, 福嶋伸良, 竿代丈夫, 林 茂樹, 渡部幸夫, 矢倉道泰, 高野弘嗣, 室 豊吉, 太田 肇, 島田昌明, 米田俊貴, 山下晴弘, 竹崎英一, 古賀満明, 小松達司, 小林正和, 杉和洋, 高橋正彦, 正木尚彦, 吉澤 要, 塚元和弘, 石橋大海, 中村 稔. 日本人原発性胆汁性肝硬変における免疫関連分子の遺伝子多型の解析. 第 47 回日本肝臓学会総会. 2011.06.02-03. 東京

中村 稔, 伊東正博, 山本和秀, 太平弘正, 銭谷幹男, 田中 篤, 橋本悦子, 本多政夫, 金子周一, 上野義之, 菊池健太郎, 下田慎治, 小森敦正, 原田憲一, 向坂彰太郎, 滝川 一, 恩地森一, 西原利治, 大西三朗, 坪内博仁, 中沼安二, 石橋大海. 原発性胆汁性肝硬変の自己抗体, 病理学的スコア, 治療反応性と予後の相關解析. 第 47 回日本肝臓学会総会. 2011.06.02-03. 東京

小森敦正, 中村 稔, 阿比留正剛, 八橋弘, 藤岡ひかる, 石橋大海. 国立病院機構肝疾患共同研究グループにおける原発性胆汁性肝硬変合併肝細胞癌. 第 47 回日本肝癌研究会. 2011.07.28-29. 静岡

小森敦正, 中村 稔, 釘山有希, 戸次鎮宗, 福島真典, 橋元 悟, 大谷正史, 斐成寛, 佐伯 哲, 長岡進矢, 阿比留正剛, 八橋 弘, 伊東正博, 石橋大海. 原発性胆汁性肝硬変の病態に準拠した治療方針; 当科における後ろ向き解析. 第 98 回日本消化器病学会九州支部例会, 第 92 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会. 2011.11.18-19. 長崎

〔図書〕(計5件)

中村 稔 ゲノムワイド関連解析による日本人原発性胆汁性肝硬変の疾患感受性遺伝子、*TNFSF15*、*POU2AF1* の同定 分子消化器病 2013;10(1)85-89, 先端医学社 発行

中村 稔 PBC の疾患感受性遺伝子による病態の解明. 特集: ゲノムワイド関連解析からみえてきた消化器疾患. *G.I.Research* 20(3): 27-32, 2012.

中村 稔 PBC の疾患感受性遺伝子による病態の解明 *C.I.Research* vol20, no3, 213-218, 2012

中村 稔、相葉佳洋 核膜複合体タンパク質 Gp210 生体の科学 細胞核 - 構造と機能 2011;62(5):366-369, (財)金原一郎記念医学医療振興財団発行 (2011.10.15 発行)

中村 稔、石橋大海 遺伝子多型は自己免疫性肝胆道疾患の病態にせまれるか 分子消化器病 2011;8(3)7-13, 発行者 鯨岡 哲、先端医学社(2011.9.1 発行)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 稔 (NAKAMURA Minoru)
独立行政法人国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター・客員研究員
研究者番号: 40217906

(2)研究分担者

(3)連携研究者

石橋 大海 (ISHIBASHI Hiromi)
独立行政法人国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター・客員研究員
研究者番号: 80127969

右田 清志 (MIGITA Kiyoshi)
独立行政法人国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター・部長
研究者番号: 60264214

小森 敦正 (KOMORI Atsumasa)
独立行政法人国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター・部長
研究者番号: 50234901

相葉 佳洋 (AIBA Yoshihiro)
独立行政法人国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター・流動研究員
研究者番号: 70450955