

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 9 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670399

研究課題名(和文) 高安動脈炎の疾患感受性遺伝子同定と発症機序の探求：診断・治療への応用

研究課題名(英文) Exploration of the genes which are responsible for the pathogenesis of Takayasu arteritis

研究代表者

磯部 光章 (ISOBE, MITSUAKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：80176263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは以前に施行した高安動脈炎患者を対象とした全ゲノム関連解析(GWAS)にて、新規の高安動脈炎の疾患感受性遺伝子としてMLXを同定したが、本研究ではそのMLXにおける一塩基多型(SNP)によって起こるMLX遺伝子のQ139R変異がTXNIPの発現上昇をもたらし、結果として高安動脈炎の発症や病状進展に深く関与している可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：Takayasu arteritis (TA) is an autoimmune systemic arteritis of unknown etiology. We have identified that single nucleotide polymorphisms (SNPs) of MLX gene, which encodes MLX transcription factor, was significantly associated with clinical manifestations of TA by genome-wide association study. The SNPs of MLX (rs665268) is a missense mutation of MLX that alters the Gln139 to Arg(Q139R). As Gln139 is located on the DNA binding site of MLX, we hypothesized that the mutation of Q139R on MLX, which alters the electric charge of the amino acid may enhance the formation of the MLX-DNA complex. Then, based on our experimental results, we concluded that MLX-Q139R mutation plays a crucial role in the pathogenesis of TA through facilitating inflammasome formation, which in turn promoting proliferation and adhesion ability of aorta-resident cells, a pathological manifestation seen in the aortas of TA.

研究分野：循環器内科学

キーワード：高安動脈炎 一塩基多型 インフラマソーム

## 1. 研究開始当初の背景

高安病は大動脈をはじめとする大型動脈が炎症に侵されて狭窄や拡張を生じ、多彩かつ重篤な症状を示す難治性疾患である(Isobe et al. *Int J Cardiol* 2013)。約100年前に本邦で発見されて以来、患者数が多いこともあり、我が国が本疾患研究の先頭に立ってきた(Ishihara, Isobe et al. *JACC* 2011)。高安病は自己免疫異常により病状が進展するが、その発症機序については不明である。そのため治療は非特異的な免疫抑制療法に限られており、治療難渋例が多い。高安病患者の約98%は孤発例であるが、一卵性双生児の症例が存在することから、本症の発症に遺伝要因が関与している可能性は以前から指摘されてきた。以前に、本邦ではヒト白血球組織適合抗原(HLA)クラスI分子-B\*52の陽性例では、陰性例と比較して重症例が多いことが報告されている。申請者らは最近、高安病患者を対象とした全ゲノム関連解析(GWAS)を施行して高安病の疾患関連感受性遺伝子を発見した(Terao, Isobe et al. *Am J Hum Genet* 2013)。その結果、既知の6番染色体上にあるHLA-B領域のほか、5番染色体上にあるIL12B領域と17番染色体上にあるMLX領域の一塩基多型(SNP)が高安病と関連していることを見いだした。しかしながら、これらのうちのどの遺伝子が高安病の発症により重要な役割を担っているのかは不明のままである。

## 2. 研究の目的

私たちは以前に施行した高安動脈炎患者を対象とした全ゲノム関連解析(GWAS)にて、新規の高安動脈炎の疾患感受性遺伝子としてMLXを同定した。本研究は、MLXにおける一塩基多型(SNP)が高安動脈炎の発症や病状進展におよぼす影響を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

方法:まず高安動脈炎患者96名を対象としたMLX遺伝子の変異が臨床像に及ぼす影響について検討した。続いて、MLX遺伝子のSNPがその転写産物である転写因子MLXにおいて引き起こすアミノ酸変異(Gln139Arg; Q139R)が高安動脈炎の発症に関与しているかどうか、*in vitro*実験系を用いて検討した。また、MLXリスクアレルを有する高安動脈炎患者の大動脈瘤切除術後の病理切片を用いて免疫組織学的検討を行った。さらに、高安動脈炎患者の血液検体より末梢血単核細胞(PBMCs)を単離し、細胞内で炎症が誘導されているか検討した。

## 4. 研究成果

MLX遺伝子リスクアレル高安動脈炎患者群の方が、対照群と比較して血管病変数もしくは大動脈閉鎖不全の合併を示す症例が有意に多数であった。*In vitro*実験の結果、MLX-Q139RタンパクはMLX-WTタンパクに比して転写因子MondoAとのヘテロ二量体を容易に形成すること、MLX-Q139RとMondoAの複合体はMLX-WTとMondoAの複合体よりも転写活性が有意に上昇することを見いだした。MLX-Q139Rを導入したヒト大動脈由来平滑筋細胞(hASMCs)では、MLX-WTを導入したhASMCsよりも内在性の抗酸化物質阻害因子であると同時にインフラマソーム形成を促進する作用があるTXNIPならびにインフラマソームの主要構成成分NLRP3のタンパク量が有意に増加していた。MLX遺伝子リスクアレルを有する高安動脈炎患者の大動脈瘤切除標本では健常者の大動脈よりもTXNIPとNLRP3発現が有意に増加していることを免疫染色にて見いだした。MLX遺伝子リスクアレルを有する高安動脈炎患者由来のPBMCsをIL-12で刺激すると、インフラマソーム構成タンパクの発現量が有

意に増加した。MLX-Q139R を導入した RAW264.7 細胞では、MLX-WT を導入した RAW264.7 細胞よりも細胞増殖能、血管内皮細胞への接着能いずれも有意に上昇していた。

考 察：臨床データの解析により、*MLX* 遺伝子リスクアレルを有する高安動脈炎患者の方が重症例が多いことが明らかとなった。また、SNP による *MLX* の Q139R 変異は *MLX* の転写因子活性を亢進する機能獲得性変異であることが示された。hASMCs や高安動脈炎患者由来の PBMCs において Q139R 変異によりインフラマソーム構成因子の発現が上昇していたこと、高安動脈炎の病変部位において TXNIP と NLRP3 の発現が増加していたことより、*MLX* 遺伝子の SNP による変異は TXNIP 発現上昇を介してインフラマソーム形成を促進していることが示唆された。さらに、*MLX* の Q139R 変異によりマクロファージ様細胞の増殖や血管内皮細胞への接着能が亢進していたことより、血管壁における炎症の惹起に関与してい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 7 件 )

Akiyama S, Fujii T, Matsuoka K, Yusuke E, Negi M, Takenaka K, Nagahori M, Ohtsuka K, Isobe M, Watanabe M.

Endoscopic features and genetic background of inflammatory bowel disease complicated

with Takayasu arteritis. J Gastroenterol Hepatol. 2017, 32, 1011-1017. ( 査読有り )

Ohigashi H, Tamura N, Ebana Y, Harigai M, Maejima Y, Ashikaga T, Isobe M.

Effects of immunosuppressive and biological agents on refractory Takayasu

arteritis patients unresponsive to glucocorticoid treatment. J Cardiol. 2017, 69, 774-778. ( 査読有り )

Tamura N, Maejima Y, Tezuka D, Takamura C, Yoshikawa S, Ashikaga T, Hirao K, Isobe M. Profiles of serum cytokine levels in Takayasu arteritis patients: Potential utility as biomarkers for monitoring disease activity. J Cardiol. 2016 [In press] ( 査読有り )

Matsumura T, Amiya E, Tamura N, Maejima Y, Komuro I, Isobe M. A novel susceptibility locus for Takayasu arteritis in the IL12B region can be a genetic marker of disease severity. Heart Vessels. 2016, 31, 1016-1009. ( 査読有り )

Miyasaka N, Egawa M, Isobe M, Inoue Y, Kubota T. Obstetrical management of patients with extra-anatomic vascular bypass grafts due to Takayasu arteritis. J Obstet Gynaecol Res. 2016, 42, 1864-1869. ( 査読有り )

Terao C, Matsumura T, Yoshifuji H, Kirino Y, Maejima Y, Nakaoka Y, Takahashi M, Amiya E, Tamura N, Nakajima T, Origuchi T, Horita T, Matsukura M, Kochi Y, Ogimoto A, Yamamoto M, Takahashi H, Nakayamada S, Saito K, Wada Y, Narita I, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Ohmura K, Atsumi T, Tanemoto K, Miyata T, Kuwana M, Komuro I, Tabara Y, Ueda A, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Takayasu arteritis and ulcerative colitis: high rate of co-occurrence and genetic overlap. Arthritis Rheumatol. 2015, 67, 2226-32. ( 査読有り )

Kato Y, Terashima M, Ohigashi H, Tezuka D, Ashikaga T, Hirao K, Isobe M. Vessel Wall Inflammation

of Takayasu Arteritis Detected by Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging: Association with Disease Distribution and Activity. PLoS One. 2015, 10, e0145855. ( 査読有り )

〔学会発表〕(計6件)

Tamura N, Maejima Y, Isobe M: The Single nucleotide polymorphism of *MLX* gene plays a critical role in the pathogenesis of Takayasu Arteritis by enhancing NLRP3-inflammasome formation. 第81回日本循環器学会学術集会, 2017/3/18. 石川県立音楽堂(石川県金沢市)

Tamura N, Maejima Y, Isobe M: The Gln139Arg single nucleotide polymorphism of Takayasu arteritis by promoting NLRP3-inflammasome formation. 33th Int Soc Heart Res[YIA 審査講演], 2016/12/16. 東京コンベンションホール(東京都中央区)

前嶋康浩、磯部光章: 高安動脈炎の感受性遺伝子 *MLX* の一塩基多型による発症・病態進展機転への関与についての検討, 第56回日本脈管学会総会[シンポジウム], 2015/10/29. 虎ノ門ヒルズ(東京都港区)

Tamura N, Maejima Y, Isobe M: Single nucleotide polymorphism of *MLX* gene is associated with the pathogenesis of Takayasu Arteritis by enhancing inflammasome formation. 第80回日本循環器学会学術集会, 2016/3/19. 仙台国際ホール(宮城県仙台市)

田村夏子、前嶋康浩、磯部光章: 高安動脈炎の病勢診断に有用な血中サイトカインについて, 第56回日本脈管学会総会, 2015/10/29. 虎ノ門ヒルズ(東京都港区)

Tamura N, Maejima Y, Isobe M: Single nucleotide polymorphism of *MLX* gene causes TXNIP accumulation and inflammasome formation, thereby promoting the development of Takayasu arteritis. American Heart Association Scientific Sessions 2015, 2015/11/9. Chicago, USA.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況(計0件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕  
ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

磯部 光章 ( ISOBE MITSUAKI )

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合

研究科・教授

研究者番号： 80176263

### (2)研究分担者

前嶋 康浩 ( MAEJIMA YASUHIRO )

東京医科歯科大学・医学部附属病院・

講師

研究者番号： 40401393

江花 有亮 ( EBANA YUSUKE )

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・

助教

研究者番号： 60517043