高安病関連新規遺伝子の発見と病態メカニズムを解明

―治療法の改善に貢献―

概要

高安病（高安動脈炎/大動脈炎症候群）は、主に若年の女性に発症し、大動脈及びその主要分枝における動脈の炎症を主体とする全身性血管炎です。高安病の原因としては遺伝的要因や感染症などの環境的要因が推定されていますが、原因は明らかではありませんでした。

京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学分野 寺尾知可史 非常勤講師（理化学研究所生命医科学研究センター 副チームリーダー）と吉藤元 同助教らの研究グループは、本邦患者（約 6000 人）の 10%以上の検体を集めて高安病の全ゲノム関連解析を行い、新規関連遺伝子を 6 つ発見しました。次に、この 6 つの遺伝子と先行研究で高安病に関連していることが判明している遺伝子について遺伝学的に解析したところ、これらの遺伝子が natural killer 細胞（NK 細胞）という自然免疫にかかわる細胞の遺伝子発現調節領域に最も強く集積することが分かりました。これにより、NK 細胞が高安病の病態に重要であることが推定されました。さらに、本研究では、今回発見した遺伝子のひとつ *LILRA3* と、先行研究で高安病との関連が判明した HLA-B52 遺伝子とが相互作用して免疫系の制御の異常を引き起こし、高安病の病態に関与することも明らかにしました。本研究によって、高安病の治療法の改善につながる研究が進展することが期待されます。

本研究成果は、2018 年 11 月 29 日に国際学術誌「PNAS（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America：米国科学アカデミー紀要）」にオンライン掲載されました。

＜本研究結果の概略図＞

1．背景

高安病（高安動脈炎/大動脈炎症候群）は 20 世紀初めに高安右人により我が国から世界で初めて報告された疾患であり、主に若年女性に発症し、大動脈及びその主要分枝における動脈の炎症を主体とする全身性血管炎です。動脈の狭窄や拡張を呈し、脈なし病とも呼ばれています。合併症として心臓弁膜症の一種である大動脈弁閉鎖不全症や肺梗塞、失明などを来たします。患者は世界中に存在しており、本邦での患者数は約 6000 人と推定され、厚生労働省により特定疾患治療研究事業対象疾患に指定されています。副腎皮質ステロイドや免

疫抑制剤で治療され、病態が落ち着く患者さんもいますが、治療に難渋することも少なくありません。

高安病の原因として遺伝的要因や感染症などの環境要因が推定されていますが、原因は明らかではありません。遺伝的要因として、自己と非自己を認識し、免疫に深くかかわるヒト白血球組織適合抗原（HLA）の一種である HLA-B 遺伝子の関与が示されてきました。本研究グループは 2013 年に世界で初めて高安病を対象とした全ゲノム関連解析（GWAS）を行い、*IL12B* 遺伝子を含む 2 遺伝子が高安病と関わることを示しました（文献 1)。*IL12B* は同時期にトルコ・アメリカのグループからも高安病との関連が報告され、人種共通の感受性遺伝子あることが示されました（文献 2)。本研究グループは、その後高安病が炎症性腸疾患の 1 つである潰瘍性大腸炎と合併しやすいこと、両疾患が遺伝的・分子的共通性を持つことを示しました（文献 3)。さらに、*IL12B* から作られる IL12p40 を標的とした薬剤であるウステキヌマブが炎症性腸疾患に用いられている薬剤であることから、ウステキヌマブの高安病への有効性を考え、既存治療の患者さんに対する臨床試験を行い、良好な結果を得ました（文献 4)。このように、高安病の病態は HLA-B52 と *IL12B* を中心に解明されてきましたが、高安病における他の関連遺伝子や、遺伝学的知見から示される病態に重要な細胞の検討は不十分でした。

２．研究手法・成果

本研究グループは、各施設の患者さんに加えて、高安病の患者団体である「あけぼの会」から協力を得て患者さんの DNA を集めました。411 人の患者さんと 2158 人の健常人対照検体を用いて一塩基多型（SNP：多型とは人口の 1%以上の頻度で存在する遺伝子の変異をいう）と呼ばれる遺伝子変異に注目したアレイを使用し、全ゲノム関連解析（GWAS）を行いました。そして、疾患感受性多型の候補と判明した多型をさらに 219 人の患者さんと 3770 人の健常人対照検体を用いて高安病との関連を再評価しました。その結果、合計 6 領域が新規の疾患感受性領域として同定されました（図 1：*PTK2B, LILRA3/LILRB2, DUSP22, KLHL33, HSPA6/FCGR3A*, chr21q.22 領域）。その中で、*HSPA6/FCGR3A* 遺伝子と chr21q.22 領域は、以前にトルコ・アメリカのグループが報告した領域と同じでした（文献 2,5)。さらに、*PTK2B* はトルコ・アメリカの研究で有意水準には届かなかったものの、関連が上位にあった領域でした。このことは、高安病の疾患感受性が人種を越えて共通であることを示唆するものです。

疾患感受性多型およびその多型と強く連鎖する多型は、遺伝子発現に重要なことが多く、特に疾患に重要な細胞の特異的遺伝子発現に関わる領域に集中することが知られています。そこで我々は、これまでの研究で高安病に関連していると分かっている多型と今回判明した多型とが、どの細胞の遺伝発現調節領域に集中しているかを解析しました。その結果、natural killer 細胞（NK 細胞）という自然免疫にかかわる細胞のマーカーに最も強く集積することが分かりました（図 2)。NK 細胞は、病原体が感染した細胞やがん細胞を攻撃する役割を持つ免疫系の細胞です。NK 細胞は高安病の病理組織に浸潤が認められる細胞の 1 つであり、これまでの病理学的な検討と一致した結果であると言えます。

さらに、我々は *LILRA3* と HLA-B52 が相互作用を示すことを発見しました。*LILRA3* の SNP は *LILRA3* 遺伝子の発現低下と関連しており、この多型は HLA-B52 存在下でないと高安病に対する関連がほとんどないことが分かりました。HLA-B 遺伝子は、MHC クラス I というほとんどの細胞が表面に発現して自己と非自己の認識に決定的に関わるタンパクの一種を作り出します。LILRA3 が属する LILR ファミリーは、MHC クラス I と結合し、NK 細胞などの白血球の機能を制御する働きがあると考えられています。*LILRA3* の SNP と HLA-B52 の相互作用は、HLA-B52 と LILRA3 の結合/非結合がおそらく免疫系の制御の異常を引き起こして高安病の病態に関与することを示しています（図 3)。今後のさらなる解析が必要ですが、我々は NK 細胞の過剰な活性化と NK 細胞の抑制機構の低下が高安病に関わっている可能性を想定しています。

３．波及効果、今後の予定

本研究は、国内施設と患者会と協力して多数の検体を集め、本邦患者数の 10%以上の検体を遺伝学的に解析し、新規関連遺伝子と病態に重要な細胞の候補を同定できました。高安病は患者数が少なく、疾患原因が単一ではなく数多くあると推定されている希少複合性疾患です。本研究の成功は、他の希少複合性疾患の研究アプローチに高安病の手法が適用できる可能性を示しています。すなわち、検体数を増やし遺伝学的アプローチを行うことによって、病態に重要な因子を同定できる可能性があります。また、本成果によって高安病の病態が明らかになり、治療法改良につながる研究がより進展することが期待されます。我々は今後、NK 細胞と高安病の関連の詳細な研究を進めるほか、さらなる関連遺伝子の発見を目指して研究を進める予定です。

４．研究プロジェクトについて

本研究は、東京医科歯科大学、東北大学、東京大学、横浜市立大学、愛知がんセンター、大阪大学、北海道大学、日本医科大学、川崎医科大学、産業医科大学、東京女子医科大学、長崎大学、新潟大学、愛媛大学、札幌医科大学、シンガポール国立大学との多施設共同研究です。本研究は、科研費（25860809、JP16H06251、JP16K15513)、かなえ医薬振興財団、上原記念生命科学財団、京都大学ジョン万プログラム、日本リウマチ財団、持田記念医学薬学振興財団、難病医学研究財団、東京医科歯科大学難治疾患共同研究拠点共同研究などの支援を受けています。

＜研究者のコメント＞

本研究は、高安動脈炎の患者団体「あけぼの会」の皆さんや全国の専門施設との協力で行いました。2013 年に全国患者の 6.2%のサンプルを集め成果を発表しましたが、今回はそれを 10%以上にまで高め、新たに 6 つの遺伝子を発見し、ナチュラルキラー細胞が活性化しやすい性質が発症に関わる可能性を報告しました。研究を続けて治療法の改良につなげたいと考えています。

寺尾非常勤講師

吉藤助教

＜参考文献＞

1. Terao C, et al. （2013） Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. Am. J. Hum. Genet. 93（2）:289-297.

2. Saruhan-Direskeneli G, et al. （2013） Identification of Multiple Genetic Susceptibility Loci in Takayasu Arteritis. Am. J. Hum. Genet. 93（2）:298–305

3. Terao C, et al. （2015） Takayasu arteritis and ulcerative colitis -high concurrence ratio and genetic overlap. Arthritis Rheumatol. 67（8）:2226-2232.

4. Terao C, et al. （2016） Ustekinumab as a therapeutic option for Takayasu arteritis: from genetic findings to clinical application. Scand. J. Rheumatol. 45（1）:80-82.

5. Renauer PA, et al. （2015） Identification of Susceptibility Loci in IL6, RPS9/LILRB3, and an Intergenic Locus on Chromosome 21q22 in Takayasu Arteritis in a Genome-Wide Association Study. Arthritis Rheumatol 67（5）:1361-1368.

＜論文タイトルと著者＞

タイトル：Genetic determinants and an epistasis of LILRA3 and HLA-B*52 in Takayasu arteritis（高安病の遺伝因子の同定および LILRA3 と HLA-B*52 の遺伝子相互作用）

著　　者：Terao C, Yoshifuji H, Matsumura T, Naruse T, Ishii T, Nakaoka Y, Kirino Y, Matsuo K, Origuchi T, Shimizu M, Maejima Y, Amiya E, Tamura N, Kawaguchi T, Takahashi M, Setoh K, Ohmura K, Watanabe R, Horita T, Atsumi T, Matsukura M, Miyata T, Kochi Y, Suda T, Tanemoto K, Meguro A, Okada Y, Ogimoto A, Yamamoto M, Takahashi H, Nakayamada S, Saito K, Kuwana M, Mizuki N, Tabara Y, Ueda A, Komuro I, Kimura A, Isobe M, Mimori T, Matsuda F.

掲 載 誌：PNAS（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）

D　O　I：10.1073/pnas.1808850115

＜参考図表＞

図 1 .GWAS 結果　各染色体上の SNP（X 軸）と関連の強さ（Y 軸）　（Terao C, Yoshifuji H, et al, PNAS. 2018 より）

図 2 .遺伝的解析から高安病の病態に重要な細胞として NK 細胞が示唆された （各横棒が各細胞の種類を示す　X 軸：有意な多型と細胞のエンハンサーとの重複の強さの p 値）　（Terao C, Yoshifuji H, et al, PNAS. 2018 より）

図 3. LILRA3 の SNP は HLA-B52 の存在下でのみ高安病と関連を示す。リスク遺伝子型のホモ接合体 TT は 非リスク型のホモ接合体あるいはヘテロ接合体 CC/CT と比較して、HLA-B52 非存在下では高安病の発症オッズ比（Y 軸）に差を示さない。（Terao C, Yoshifuji H, et al, PNAS. 2018 より）