

## 活性酸素産生にかかわる遺伝子の多型が複数の膠原病<sup>※1</sup> 発症リスクを高める

～発症機序の解明や治療法開発につながると期待～

### 研究成果のポイント

1. 活性酸素の産生低下にかかわる *NCF1* 遺伝子の一塩基多型 (SNP)<sup>※2</sup> が、全身性エリテマトーデス (SLE) の疾患感受性に強く関連することを日本人集団において確認しました。
2. この多型が、全身性強皮症の疾患感受性にも関連することを初めて見出しました。
3. 複数の膠原病に共通する発症機序の解明や診断・治療法の開発に結びつくことが期待される成果です。

国立大学法人筑波大学人間総合科学研究科の横山望・フロンティア医科学専攻生、医学医療系の川崎綾助教、土屋尚之教授らの研究グループは、多施設共同研究により、国外において全身性エリテマトーデスの疾患感受性との関連が報告されていた *NCF1* 遺伝子にある、アミノ酸置換を伴う一塩基多型 (SNP) rs201802880 が、日本人においても顕著に全身性エリテマトーデスの疾患感受性に関連することを明らかにしました。また、全身性強皮症の疾患感受性にも関連することを見出しました。

*NCF1* 遺伝子は、p47<sup>PHOX</sup> と呼ばれるたんぱく質をコードしており、p47<sup>PHOX</sup> は好中球や単球において活性酸素産生に関与する酵素、NADPH オキシダーゼ (NOX2) の構成要素となっています。

今回、全身性エリテマトーデスや全身性強皮症との関連が検出されたアリル (対立遺伝子)<sup>※3</sup> は、活性酸素の産生低下にかかわることが知られ、全身性エリテマトーデスや関節リウマチなど複数の膠原病との関連が報告されていました。しかし、全身性強皮症との関連についての報告は、本研究が初めてになります。

また、全身性エリテマトーデスにおいては、これまでに関連が報告されていた多型を大きく上回る強い関連が検出されました。

本研究成果は、全身性エリテマトーデスや全身性強皮症、関節リウマチなどに共通する発症機序の解明や創薬のための分子標的の同定、さらには将来的な予防医学への応用に結びつくことが期待されます。

本研究成果は、2019年11月8日 (日本時間8日19時) 付 Scientific Reports で公開されました。

\* 本研究は、日本リウマチ学会、日本リウマチ財団、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 (AMED) が助成する難治性疾患研究開発事業・「難治性血管炎診療のCQ解決のための多層的研究 [課題番号 19ek0109360h0002] (研究期間: 平成30年度～)」「難治性血管炎診療のエビデンス構築のための戦略的研究 [課題番号 17ek0109121h0003] (研究期間: 平成27～29年度)」「好中球細胞質抗体関連血管炎の新規治療薬開発を目指す戦略的シーズ探索と臨床的エビデンス構築研究 [課題番号 17ek0109104h0003] (研究期間: 平成27～29年度)」からの支援を受けて実施されました。

## 研究の背景

膠原病は、病態に自己免疫が関与すると推定される全身性リウマチ性疾患群で、関節リウマチ(RA)やシェーグレン症候群(SS)、全身性エリテマトーデス(SLE)、全身性強皮症(SSc)、ANCA関連血管炎(AAV)などが含まれます。遺伝要因と環境要因が複数関与して発症すると考えられており、その遺伝要因を特定するために、さまざまな研究が行われています。近年行われた中国・韓国人集団を対象とした研究によって、*GTF2I*という転写因子をコードする遺伝子周辺にある一塩基多型(SNP) rs73366469、rs117026326、rs80346167とSLEとの強い関連が検出されました[1]。これらのSNPIはRA、SScとも関連していました[2、3]。

一方、*GTF2I*の近くに位置する遺伝子*NCF1*は、RAやSLEの動物モデルにおける原因遺伝子の一つとして注目され、ヒトにおいても、アミノ酸置換p.Arg90Hisを伴うSNP rs201802880とSLEとの強い関連が報告されました[4]。これら4カ所のSNPの間には連鎖不平衡<sup>註4</sup>が存在します。

これらのSNPIについて、日本人集団におけるSLEとの関連の報告はまだありませんでした。また、SSc、AAVとの関連研究については国内外を通してまだ報告されておりました。さらに、これらのSNPが全て疾患の発症に関与しているのか、もしくは特定のSNPのみが関与していて他のSNPでの関連は連鎖不平衡による二次的なものなのかについては、まだはっきりと分かっておりませんでした。

以上の背景に基づき、本研究では、日本人集団において*GTF2I-NCF1*遺伝子領域の4カ所のSNPとSLE、SSc、AAVが関連しているかどうかについて解析を行いました。さらに、4カ所のSNPのうちいずれかが一義的に疾患と関連しているかどうかについても解析を行いました。

## 研究内容と成果

国内の多数の共同研究施設を通じて研究にご参加いただいた842名のSLE、446名のSSc、477名のAAV患者さん、および934名の健常対照群の方々について、4カ所のSNPの遺伝型を調べ、関連解析を行いました。

4カ所のSNP全てにおいて、SLEとSScとの関連が検出されました。特に*NCF1*のSNPであるrs201802880の関連が顕著でした。このSNPIにはAを持つ染色体(Aアリル)とGを持つ染色体(Gアリル)がありますが、健常対照群ではAアリル頻度が19.6%だったのに対し、SLE患者群では45.0% ( $P=3.77 \times 10^{-44}$ 、オッズ比 3.57、95%信頼区間 2.99–4.28)、SSc患者群では26.7% ( $P=2.40 \times 10^{-4}$ 、オッズ比 1.50、95%信頼区間 1.21–1.87)であり、統計学的に有意な増加がみられました。一方、AAV患者群におけるAアリル頻度は20.2%であり、健常対照群との差は見られず、関連は検出されませんでした。

これら4カ所のSNPは連鎖不平衡にあるため、発症の分子機構に寄与するいずれかのSNPとの連鎖不平衡により、二次的に見かけ上の関連が検出されている可能性があります。それぞれのSNPとの連鎖不平衡による影響を調整して行った関連解析では、rs201802880においてのみ、他の3カ所のSNPで調整したあとも、統計学的に有意な関連が残りました。

以上の結果から、日本人SLEにおいても*GTF2I-NCF1*遺伝子領域の4カ所のSNPとSLEとの関連が確認されるとともに、SScとの関連も観察されました。SScにおける関連報告は本研究が初めてになります。さらにこれらのSNPのうち、*NCF1*のSNPであるrs201802880が一義的に疾患と関連しており、他3カ所のSNPで見られた関連は連鎖不平衡による二次的なものであることが示唆されました。

特に*NCF1* rs201802880とSLEとの関連は顕著であり、これまでに報告されたSLE関連多型のなかでも、最も強い関連を示すことがわかりました(表1)。

## 今後の展開

NCF1 は NADPH オキシダーゼのサブユニットをコードする遺伝子で、活性酸素種(ROS)の産生に関わっているとされています。今回一義的関連の見られた SNP rs201802880 では、1カ所のアミノ酸置換が起こり、NCF1 分子の機能が低下して、ROS の産生低下が見られるという報告があります[5]。今後、この SNP が NCF1 分子の機能減弱を引き起こす分子機構や、ROS の産生低下が自己免疫疾患の発症に影響するメカニズムなどを明らかにすることで、自己免疫疾患の発症機序の解明や創薬、将来的には予防医学の開発に結びつくことが期待されます。

## 表

表 1. 筑波大学医学医療系分子遺伝疫学研究室から報告してきた日本人集団における SLE感受性アリル

座位	リスクアリル	オッズ比	95%信頼区間	健常日本人集団における リスクアリル頻度(%)	文献
NCF1	rs201802880A	3.57	2.99-4.28	19.6	Yokoyama et al., 2019
HLA-DRB1	*15:01	2.30	1.74-3.06	6.6	Hachiya et al. 2016
BLK	rs13277113A	1.87	1.47-2.40	65.2	Ito et al., 2009
STAT4	rs7574865A	1.71	1.36-2.15	33.5	Kawasaki et al., 2008
IRF2	rs66801661A	1.53	1.19-1.96	6.9	Kawasaki et al., 2014
TNFAIP3	rs2230926G	1.47	1.03-2.09	7.5	Kawasaki et al., 2010
IRF5	rs41298401	1.46	1.02-2.08	82.1	Kawasaki et al., 2008
TNIP1	rs7708392C	1.40	1.13-1.74	76.5	Kawasaki et al., 2010
TLR7	rs3853839G	1.36	1.06-1.75	69.3	Kawasaki et al., 2011
FCGR2B	rs1050501C	1.34	1.00-1.79	22.4	Kyogoku et al., 2002
SPI1	rs1057233T	1.24	1.02-1.51	61.0	Hikami et al., 2011

いずれもアリル頻度の比較

## 用語解説

### 注1) 膠原病

膠原病は全身に症状が現れ、病態に自己免疫が関与すると推定される疾患群です。このうち関節リウマチ(RA)は関節破壊を伴う多発関節炎を主徴とします。涙腺や唾液腺の炎症による乾燥症状を主徴とし、さまざまな全身症状を合併することもあるのがシェーグレン症候群(SS)です。抗核抗体、抗dsDNA抗体など、多彩な自己抗体産生と腎、中枢神経、血液、皮膚など全身に症状を呈する全身性エリテマトーデス(SLE)、皮膚および肺などの線維化、血管障害等を主徴とする全身性強皮症(SSc)、抗好中球細胞質抗体(ANCA)が産生され、急速進行性糸球体腎炎、間質性肺疾患等をきたすANCA関連血管炎(AAV)なども代表的な膠原病です。

### 注2) 一塩基多型(single nucleotide polymorphism, SNP)

遺伝情報は 4 種類の塩基(A, T, G, C)が連なって構成されていますが、ヒトが生まれつき持っている塩基配列には、個人間で配列の違いがあります。これをバリエーション(variant)と呼びます。バリエーションのうち、一般集団中にある程度の頻度で見出されるものは、従来、多型(polymorphism)と呼ばれてきました。最近では、一般集団中の頻度にかかわらず、バリエーションと総称されることが多くなっていますが、ここでは、従来の呼び方に従い、多型と記載します。

多型のうち、1 個の塩基の違いによるものが一塩基多型(SNP)と呼ばれ、SNP ごとに rs 番号という固有の番号がついています。SNPのうち、たんぱく質のアミノ酸配列に影響を与えるものをミスセンス変異といいます。また SNPの中には、ある病気に対するかかりやすさや、薬の効きやすさなど、人間が持つさまざまな特徴の個人差に関連

するものも含まれています。

#### 注3) アリル(allele)

人間は両親のそれぞれから同じ染色体を 1 本ずつ受け継いでいますが、片方の染色体にコードされている遺伝子配列をアリル(またはアレル、allele)と呼びます(従来は対立遺伝子と呼ばれてきました)。また、同じ染色体が 2 本あるため、それぞれの座位ごとに 2 種類のアリルが存在しますが、そのアリルの組み合わせを遺伝型(genotype)と呼びます(従来は遺伝子型と呼ばれてきました)。ある集団において、それぞれのアリルが占める比率のことをアリル頻度といいます。

#### 注4) 連鎖不平衡(linkage disequilibrium, LD)

同じ染色体上にある2カ所以上のバリエーションの特定の組み合わせが、偶然期待される頻度と異なる頻度で観察されることを連鎖不平衡といいます。例えば、ある SNV①のアリルが A であるとき、SNV②のアリルが、偶然期待される頻度以上に C になりやすいという現象があれば、SNV①と②は連鎖不平衡の関係にあるといえます。一般的に、同じ染色体の近くに位置するバリエーションほど連鎖不平衡が強くなる傾向にあります。

#### 参考文献

- 1) Sun C, et al. High-density genotyping of immune-related loci identifies new SLE risk variants in individuals with Asian ancestry. *Nat Genet* 48:323–330 (2016)
- 2) Kim K, et al. Association-heterogeneity mapping identifies an Asian-specific association of the *GTF2I* locus with rheumatoid arthritis. *Sci Rep* 6: 27563 doi: 10.1038/srep27563 (2016)
- 3) Li Y, et al. A genome-wide association study in Han Chinese identifies a susceptibility locus for primary Sjögren's syndrome at 7q11.23. *Nat Genet* 45:1361–1365 (2013)
- 4) Zhao J, et al. A missense variant in *NCF1* is associated with susceptibility to multiple autoimmune diseases. *Nat Genet* 49: 433–437 (2017)
- 5) Olsson LM, et al. A single nucleotide polymorphism in the *NCF1* gene leading to reduced oxidative burst is associated with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 76:1607–1613 (2017)

#### 掲載論文

【題名】 Association of *NCF1* polymorphism with systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis but not with ANCA-associated vasculitis in a Japanese population.

(日本人集団における全身性エリテマトーデスおよび全身性強皮症と *NCF1* 遺伝子多型との関連)

【著者名・所属】 Nozomi Yokoyama<sup>1,2</sup>, Aya Kawasaki<sup>1,2</sup>, Takashi Matsushita<sup>3</sup>, Hiroshi Furukawa<sup>1,2,4,5</sup>, Yuya Kondo<sup>6</sup>, Fumio Hirano<sup>7,8</sup>, Ken-ei Sada<sup>9</sup>, Isao Matsumoto<sup>6</sup>, Makio Kusaoi<sup>10</sup>, Hirofumi Amano<sup>10</sup>, Shouhei Nagaoka<sup>11</sup>, Keigo Setoguchi<sup>12</sup>, Tatsuo Nagai<sup>13</sup>, Kota Shimada<sup>4,14</sup>, Shoji Sugii<sup>14</sup>, Atsushi Hashimoto<sup>4</sup>, Toshihiro Matsui<sup>4</sup>, Akira Okamoto<sup>15</sup>, Noriyuki Chiba<sup>16</sup>, Eiichi Suematsu<sup>17</sup>, Shigeru Ohno<sup>18</sup>, Masao Katayama<sup>19</sup>, Kiyoshi Migita<sup>20</sup>, Hajime Kono<sup>21</sup>, Minoru Hasegawa<sup>22</sup>, Shigeto Kobayashi<sup>23</sup>, Hidehiro Yamada<sup>24,25</sup>, Kenji Nagasaka<sup>26</sup>, Takahiko Sugihara<sup>7,8,27</sup>, Kunihiro Yamagata<sup>28</sup>, Shoichi Ozaki<sup>24</sup>, Naoto Tamura<sup>10</sup>, Yoshinari Takasaki<sup>10,23</sup>, Hiroshi Hashimoto<sup>29</sup>, Hirofumi Makino<sup>30</sup>, Yoshihiro Arimura<sup>31</sup>, Masayoshi Harigai<sup>32</sup>, Shinichi Sato<sup>33</sup>, Takayuki Sumida<sup>6</sup>, Shigeto Tohma<sup>4,5</sup>, Kazuhiko Takehara<sup>3</sup>, Naoyuki Tsuchiya<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>University of Tsukuba, Faculty of Medicine, Molecular and Genetic Epidemiology Laboratory, Tsukuba, Japan.

<sup>2</sup>University of Tsukuba, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, Master's Program in Medical Sciences, Tsukuba, Japan.

<sup>3</sup>Kanazawa University, Graduate School of Medical Sciences, Department of Dermatology, Kanazawa, Japan.

- <sup>4</sup>National Hospital Organization Sagamihara National Hospital, Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, Sagamihara, Japan.
- <sup>5</sup>National Hospital Organization Tokyo National Hospital, Kiyose, Japan.
- <sup>6</sup>University of Tsukuba, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Tsukuba, Japan.
- <sup>7</sup>Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Department of Rheumatology, Tokyo, Japan.
- <sup>8</sup>Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Department of Lifetime Clinical Immunology, Tokyo, Japan.
- <sup>9</sup>Okayama University, Graduate School of Medicine, Density and Pharmaceutical Sciences, Department of Nephrology, Rheumatology, Endocrinology and Metabolism. Okayama, Japan.
- <sup>10</sup>Juntendo University, School of Medicine, Department of Internal Medicine and Rheumatology, Tokyo, Japan.
- <sup>11</sup>Yokohama Minami Kyosai Hospital, Yokohama, Japan.
- <sup>12</sup>Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital, Tokyo, Japan.
- <sup>13</sup>Kitasato University, Department of Rheumatology and Infectious Diseases, Sagamihara, Japan.
- <sup>14</sup>Tokyo Metropolitan Tama Medical Center, Fuchu, Japan.
- <sup>15</sup>Himeji Medical Center, National Hospital Organization, Himeji, Japan.
- <sup>16</sup>Morioka Medical Center, National Hospital Organization, Morioka, Japan.
- <sup>17</sup>Kyushu Medical Center, National Hospital Organization, Fukuoka, Japan.
- <sup>18</sup>Yokohama City University Medical Center, Yokohama, Japan.
- <sup>19</sup>Nagoya Medical Center, National Hospital Organization, Nagoya, Japan.
- <sup>20</sup>Fukushima Medical University, School of Medicine, Fukushima, Japan.
- <sup>21</sup>Teikyo University School of Medicine, Department of Internal Medicine, Tokyo, Japan.
- <sup>22</sup>University of Fukui, Department of Dermatology, Fukui, Japan.
- <sup>23</sup>Juntendo University Koshigaya Hospital, Koshigaya, Japan.
- <sup>24</sup>St. Marianna University, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Kawasaki, Japan.
- <sup>25</sup>Center for Rheumatic Diseases, Seirei Yokohama Hospital, Yokohama, Japan.
- <sup>26</sup>Ome Municipal General Hospital, Ome, Japan.
- <sup>27</sup>Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital, Tokyo, Japan.
- <sup>28</sup>University of Tsukuba, Faculty of Medicine, Department of Nephrology, Tsukuba, Japan.
- <sup>29</sup>Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan.
- <sup>30</sup>Okayama University Hospital, Okayama, Japan.
- <sup>31</sup>Kyorin University School of Medicine, First Department of Internal Medicine, Mitaka, Japan.
- <sup>32</sup>Department of Rheumatology, School of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan.
- <sup>33</sup>The University of Tokyo, Department of Dermatology, Tokyo, Japan.

【掲載誌】 Sci Rep 9, 16366 (2019) doi:10.1038/s41598-019-52920-0

問合わせ先

土屋 尚之(つちや なおゆき)

筑波大学 医学医療系 (分子遺伝疫学研究室) 教授

〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1