

ヒトゲノム解析のアプローチにより難治性免疫疾患である**膠原病**の病因・病態解明、バイオマーカー探索を進めています。

Our lab is working on the genetic factors and molecular pathways involved in autoimmune rheumatic diseases through human genomics approach.

ヒトゲノム解析に基づく疾患研究の特徴

Advantages of genomics in disease studies

- ヒトゲノムDNA配列には、数百万箇所におよぶ個人差 (**ヒトゲノム多様性**) が存在し、その一部が、それぞれの疾患に対するかかりやすさ (**疾患感受性**)、**臨床経過**、**薬剤応答性**などに関連

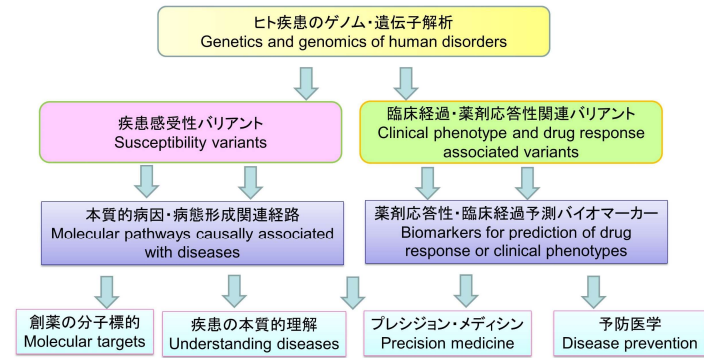
Human genome variations are associated with individual differences in disease susceptibility and drug responses

- 生まれつき持っている (生殖細胞系列) ゲノムDNA配列は原則的に二次的影響によって変化しないので、臨床試料の解析に基づいて本質的病因に迫ることが可能

- 先行研究に基づく仮説に依存しない**網羅的解析**が可能 (**ゲノムワイド関連解析**、**全ゲノムシークエンス解析**など)のため、複雑な疾患の解析に有用

Hypothesis-free, whole genome analyses are powerful tools for complex diseases

ゲノム医学研究の目的 Aims of genome medicine



当研究グループにおいて進行中のプロジェクト Ongoing projects

1) HLA領域遺伝子群と疾患との関連の解析

Genomic diversity and disease associations of HLA genes

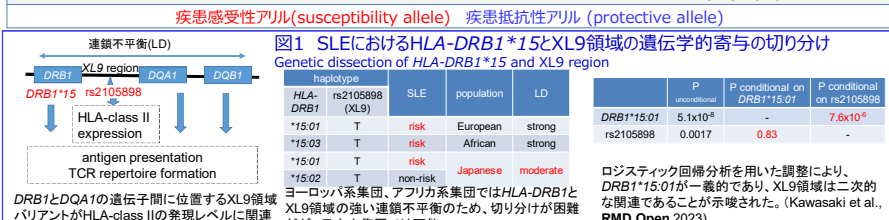
- HLAはヒトの主要組織適合性複合体(MHC)です。HLA遺伝子群には顕著な多様性が存在し、抗原特異的免疫応答の個人差に関連します。当グループでは、HLA遺伝子群を塩基配列レベルで解析し、日本人集団における膠原病・リウマチ性疾患との関連報告してきました (**表1**)。しかし、その分子機構は未解明です。

- 全身性エリテマトーデス(SLE)では、ヨーロッパ系集団において **DRB1\*03:01**と**\*15:01**、アジア系集団では**DRB1\*15:01**の関連が見られます。**DRB1\*03:01**の関連は補体C4遺伝子のコピー数減少が病因的と報告されていますが、**\*15:01**については、HLAアルルと、HLA-class IIの発現レベルに影響する遺伝子間XL9領域バリエーションのいずれが一義的かが未解明でした。われわれはこれらを識別する日本人集団の遺伝学的背景に基づき、HLAアルルが一義的であることを報告しました (Kawasaki et al., **RMD Open** 2023) (**図1**)。

- 現在、ロングリードシークエンス解析等により、これらの疾患感受性の分子機構を説明する病因的バリエーションの同定を試みています。

表1 当グループが報告してきた日本人集団における主な膠原病・リウマチ性疾患とHLAとの関連 Our publications on HLA associations with rheumatic diseases in Japan

疾患 disease	HLA	保有率 carrier frequency (%)		オッズ比 Odds ratio	論文 references
		patients	Healthy subjects		
強直性脊椎炎 AS	<b>B*27</b>	83.3	0.5	1045	Yamaguchi et al., <b>Arthritis Rheum</b> 1995
関節リウマチ RA	<b>DRB1*04:05</b>	49.9	23.1	3.31	Oka et al., <b>PLoS One</b> 2014
	<b>DRB1*13:02</b>	7.2	15.8	0.42	
全身性エリテマトーデス SLE	<b>DRB1*15:01</b>	25.6	13.7	2.17	Furukawa et al. <b>PLoS One</b> 2014
	<b>DRB1*13:02</b>	8.1	16.1	0.46	
MPO-ANCA陽性血管炎 MPO-AAV	<b>DRB1*09:01</b>	39.8	28.0	1.70	Kawasaki et al. <b>PLoS One</b> 2016
	<b>DRB1*13:02</b>	7.4	17.1	0.39	
全身性強皮症 SSc	<b>DRB1*13:02</b>	6.9	13.8	0.46	Furukawa et al. <b>PLoS One</b> 2016



2) 抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎(AAV)のゲノム解析 Genomics of ANCA-associated vasculitis (AAV)

- AAVは膠原病の中でも難治性のアンメット・ニーズです。AAVはいくつかのサブタイプに分かれますが、東アジア集団とヨーロッパ集団では顕著な疫学的な違いが存在し、遺伝的背景が関与すると推測されます。

- われわれはこれまでに、HLA-class IIが疾患感受性 (Kawasaki et al., **PLoS One** 2016) (**表1**) や寛解後の再燃リスク(Kawasaki et al., **Front Immunol** 2023) (**図2**) に関連することを報告しました。

- 間質性肺疾患(ILD)は膠原病にしばしば合併する予後不良因子であり、日本人AAVに高率に合併します。当グループでは、関節リウマチ (Juge et al., **N Engl J Med** 2018)およびAAV(Namba et al., **Ann Rheum Dis** 2019)におけるILD合併に**MUC5B**遺伝子のバリエーションが関連することを報告しました (**図3**)。

- 現在、AAVの疾患感受性およびILD合併に関連する遺伝因子を網羅的に探索するためのゲノムワイド関連研究(GWAS)等を進めています。

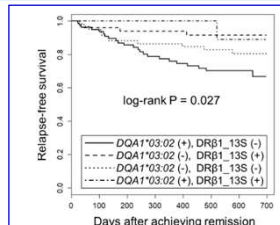


図2 MPO-AAVにおける寛解後の再燃とHLA-class IIの関連 Association of HLA-class II with relapse in MPO-AAV 疾患感受性に関連するHLA-DRB1\*09:01-DQA1\*03:02-DQB1\*03:03ハプロタイプが寛解導入後の再燃リスクにも関連し、DQB1鎖鎖position 13にSerを持つアルルの保有が再燃抵抗性に関連 (Kawasaki et al., **Front Immunol** 2023)

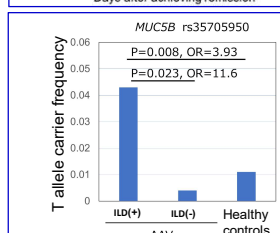


図3 AAVにおけるILD合併とMUC5Bバリエーションの関連 Association of MUC5B variant with AAV-ILD 疾患感受性アルルTは肺におけるMUC5B発現亢進に関連 (Namba et al., **Ann Rheum Dis** 2019) (GTEx Portal <https://www.gtexportal.org/home/>)

3) ゲノム難読領域に注目した膠原病疾患感受性バリエーションの探索

- これまでのGWASでは技術的に検出が困難な「ゲノム難読領域」(“Dark region”)と呼ばれる領域が存在し、未解明の疾患感受性バリエーションが多数このような領域に存在すると推定されます。当グループでは、それぞれの領域の特性に合わせて適切な解析法を用いた解析を施行し、新たな知見を報告しています。

- 日本人集団におけるSLEにおいて、活性酸素産生システムNOX2複合体の構成要素であり、ゲノム難読領域である**NCF1**の機能低下型バリエーションが、疾患感受性に関連することを報告しました(Yokoyama et al., **Sci Rep** 2019)。SLEとの関連は、これまでにわれわれが解析してきたSLE感受性バリエーションの中でも、最も大きなエフェクト・サイズを持っていました (**表2**)。死細胞クリアランスの低下がその分子機構と示唆されています。

- HLA-class Iの受容体であり、顕著な多様性を有する多重遺伝子ファミリーであるNK受容体遺伝子群(KIRファミリー、NKG2ファミリー等)のロングリードシークエンスによる解析も進めています。

Search for the “missing heritability” in the genomic “Dark Region”.

表2 当研究室が報告したSLE関連バリエーションの日本人集団におけるエフェクトサイズ Effect sizes of SLE susceptibility variants reported from our laboratory

座位 locus	リスクアレル risk allele	オッズ比 odds ratio (allele model)	95%CI	日本人集団におけるリスクアレル頻度(%) Population risk allele frequency	ref
<b>NCF1</b>	<b>rs201802880A</b>	<b>3.57</b>	<b>2.99-4.28</b>	<b>19.6</b>	<b>Yokoyama et al. 2019</b>
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
IRF5	rs41298401C	1.54	1.08-2.18	87.0	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
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
SP11	rs1057233T	1.24	1.02-1.51	61.0	Hikami et al., 2011

当グループでは、学生さん自身による実験的解析 (リアルタイムPCRやシークエンスによる遺伝型解析など)、あるいはゲノムワイド関連研究や次世代シークエンス解析のデータに基づいた遺伝統計学的解析、バイオインフォマティクス解析、およびそれらの結果の臨床的意義の考察について学ぶことが可能です。