

図3 FCRL3分子と自己免疫

A: FCRL3の分子構造。(文献¹²⁾より引用改変)
 B: 関節リウマチの病態におけるFCRL3の役割。

Rel)が結合することが示され、これらの核蛋白は、-169Cアレルにて強く結合することが明らかになった(図2C)。これらのことから、RA感受性と強い関連を認めたSNPは転写因子NF-κBの結合を介して、FCRL3遺伝子の発現量を制御していることが考えられた。健康人のBリンパ球の発現解析では、-169C/C,-169C/T,-169T/Tというジェノタイプの順で、FCRL3の発現量が高く、-169Cアレルの数によって発現量は有意に回帰された(図2D)。

2. FCRL3遺伝子多型と自己抗体産生との関連

このように、FCRL3遺伝子は、疾患感受性ジェノタイプの細胞においてその発現量が高く、RAの病態になんらかの影響を与える遺伝子であることが考えられた。疾患活動性とのかかわりを評価するため、自己抗体の産生と、FCRL3多型(-169C→T)との関連を調べた。RAにおける代表的な自己抗体であるリウマトイド因子(RF)および抗CCP抗体を測定し、ジェノタイプ別に評価した。その結果、リウマトイド因子の疾患経過中の最大値は、感受性アレル(-169C)の数で有意に回帰された(-169C/C, 479.9 IU/ml; -169C/T, 323.7 IU/ml; -169T/T, 216.4 IU/ml; N=148, $R^2=0.049$, $p<0.01$)。すなわち、感受性アレルを多くもつほど、活動期の抗体価が高くなることが示唆された。また、抗CCP抗体の陽性率もジェノタイプによって差があり、感受性アレル数が多いほど陽性率が高かった(-169C/C, 100.

%; -169C/T, 94.3%; -169T/T, 73.7%; N=71, $p<0.05$)。したがって、FCRL3遺伝子の発現量の増加が、自己抗体産生になんらかの影響を与えるものと考えられた。

3. FCRL3遺伝子多型と他の自己免疫疾患との関連

1q21-23領域は、複数の自己免疫疾患の候補領域となっているため、FCRL3遺伝子多型が複数の疾患で共通の遺伝素因となっている可能性が考えられた。そこで、FCRL3多型と他の自己免疫性疾患の感受性との関連を検討するために、自己免疫性疾患2疾患(AITD, SLE)における関連解析を行った。解析には、SLE患者564人、AITD患者509人(バセドウ病患者351人、橋本病患者158人)および対照群2,046人を用いた。アレル頻度比較では、AITD患者、SLE患者ともに、疾患群においてRA感受性FCRL3多型(-169C)の頻度が高く、有意な関連を認めた(AITD, オッズ比1.38, $p=0.0000042$; SLE, オッズ比1.17, $p=0.025$)。さらに、SLE患者の代表的な自己抗体である抗DNA抗体価を、ジェノタイプ別に評価したところ、その最大値(活動期のもの)は、-169C/Cジェノタイプ群において、それ以外のジェノタイプ(-169C/T,-169T/T)と比較して、有意に高かった(294.1 IU/ml vs. 145.5 IU/ml; $n=120$; $p<0.05$)。このことは、SLEにおいても、FCRL3遺伝子多型が自己抗体産生に関与している可能性を示唆した。

FCRL3分子と自己免疫応答

FCRL3遺伝子は、Fc receptor-like遺伝子ファミリーに属するが、その機能については未知である。われわれの行った、ヒト組織のRNAを用いた解析では、脾臓・リンパ節・扁桃といった2次リンパ組織での発現が強く、末梢血の分画ではCD19陽性のB細胞での発現が優位であった。RA滑膜の解析では、RA滑膜に集簇するB細胞においても、FCRL3遺伝子の強い発現を認めた。扁桃におけるFCRL3の発現を調べたMillarらの報告では、FCRL3は胚中心のとくに明領域(light zone)で高発現していることが確認された¹³⁾。これらのことから、FCRL3遺伝子はB細胞を中心とした免疫応答および自己免疫応答で機能していることが考えられる。

FCRL3分子は、膜型受容体としてのシグナル伝達機能が予測されている(図3A)。細胞外ドメインは、6つの免疫グロブリン様ドメインからなっているが、第1~3ドメインはFCGR1の細胞外ドメインとの高い相同性をもつ。これまでに、FCRL遺伝子群と実際に結合する分子についての報告はなく、免疫グロブリン以外のリガンドと結合する可能性もある。一方、細胞内ドメインは、免疫細胞のレセプターに特徴的なチロシンを含んだモチーフ、ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) およびITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) をもつため、このレセプターはリガンドとの結合により、細胞内に正もしくは負のシグナルを伝達する可能性が考えられる。チロシンリン酸化酵素であるSyk, ZAP70がITAMに、チロシン脱リン酸化酵素であるSHP-1, SHP-2がITIMに、それぞれ結合することが報告されており¹⁴⁾、FCRL3のシグナル伝達機能の可能性を示唆する。FCRL3遺伝子の発現する胚中心明領域は、抗原特異的なT細胞から刺激を受け、クローン増殖したB細胞である中心細胞(centrocyte)がクローン選択を受ける場として知られる。この選択には、抗原レセプター以外にも、多くの正および負のシグナルが関与している。FCRL3の高発現が、自己抗体産生と関連していることから、FCRL3は、明領域におけるB細胞の選択において、なんら

かの影響を与え、自己応答性クローンの出現およびその活性化に寄与している可能性が考えられる。

おわりに

RAは、多因子疾患であることから推測されるように、heterogenicな病態をもつ。患者個人をとりまく環境因子、および個人が保有するRA関連遺伝子多型の組み合わせがその病態形成において重要な役割を果たしているものと考えられる。したがって、RA発症に関与する遺伝子多型の同定は、RAの病態解明のためには必須であると考えられる。最近、国際HapMapプロジェクトが終了し、全ヒトゲノムのハプロタイプ構造が公開されたが¹⁵⁾、これは、ヒトゲノム解析に必要な基盤情報をもたらすものである。これらの情報を利用して、より大規模な検体を用いた、効率的なゲノム解析が可能となり、RAの病態に関与する遺伝子群の全貌が明らかになるものと思われる。そして、個人の病態に即した、治療法の開発、いわゆるテーラーメイド医療が、いずれは現実になるものと思われる。

文 献

- 1) Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 2003 ; 423 : 356.
- 2) Seldin MF, Amos CI, Ward R, et al. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999 ; 42 : 1071.
- 3) Irigoyen P, Lee AT, Wener MH, et al. Regulation of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis : contrasting effects of HLA-DR3 and the shared epitope alleles. *Arthritis Rheum* 2005 ; 52 : 3813.
- 4) Ueda H, Howson JM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003 ; 423 : 506.
- 5) Bottini N, Musumeci L, Alonso A, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 337.
- 6) Gregersen PK. Pathways to gene identification in rheumatoid arthritis : PTPN22 and beyond.

- Immunol Rev 2005 ; 204 : 74.
- 7) Suzuki A, Yamada R, Chang X, et al. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 395.
 - 8) Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, et al. A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 478.
 - 9) Marrack P, Kappler J, Kotzin BL. Autoimmune disease : why and where it occurs. *Nat Med* 2001 ; 7 : 899.
 - 10) Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, et al. Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus : contribution of FCGR2B to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum* 2002 ; 46 : 1242.
 - 11) Nieto A, Caliz R, Pascual M, et al. Involvement of Fcγ receptor IIIA genotypes in susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000 ; 43 : 735.
 - 12) Davis RS, Wang YH, Kubagawa H, et al. Identification of a family of Fc receptor homologs with preferential B cell expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001 ; 98 : 9772.
 - 13) Miller I, Hatzivassiliou G, Cattoretti G, et al. IRTAs : a new family of immunoglobulinlike receptors differentially expressed in B cells. *Blood* 2002 ; 99 : 2662.
 - 14) Xu MJ, Zhao R, Cao H, et al. SPAP2, an Ig family receptor containing both ITIMs and ITAMs. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 ; 293 : 1037.
 - 15) Altshuler D, Brooks LD, Chakravarti A, et al. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005 ; 437 : 1299.

* * *

3 自己免疫疾患の 疾患感受性遺伝子

こうち ゆうた
高地 雄太

理化学研究所遺伝子多型研究センター関節リウマチ関連遺伝子研究チーム



高地雄太
1999年 東京大学医学部医学科卒業。2005年 東京大学大学院医学系研究科博士課程終了。2005年より理化学研究所遺伝子多型研究センター研究員。研究テーマは関節リウマチ感受性遺伝子の探索。趣味は古代遺跡めぐり。

Key words : 自己免疫疾患, ホールゲノム関連解析, 一塩基多型 (SNP)

Abstract

自己免疫疾患の多くは、遺伝因子と環境因子が複雑に関与することによって発症に至る多因子疾患である。最大の遺伝因子であるHLA遺伝子に加えて、複数の非HLA遺伝子の関与も示唆されている。近年明らかにされた非HLA遺伝子は、いくつかの自己免疫疾患に共通するもの(*PTPN22*, *CTLA4*, *FCRL3*, *SLC22A*), 疾患特異的なもの (*PADI4*, *TG*, *INS*, *MBL*)に分けられる。今後、自己免疫疾患の遺伝的背景の全容を明らかにすることが、病態の解明につながるものと考えられる。

HapMapプロジェクト (2005年)¹⁾によって、全ゲノムを対象とした疾患解析のための基盤情報の整備が完了したことが大きく寄与している。我々も、2000年より、ヒトミレニアムプロジェクトの一環として、一塩基多型 (SNPs)を用いたホールゲノム関連解析によるRA感受性遺伝子の探索を行ってきた。以下に、我々の研究成果もふまえて、自己免疫疾患の遺伝的背景について概説する。

1. HLA 遺伝子と自己免疫疾患

多くの自己免疫疾患において、最大の遺伝因子は、6番染色体短腕21領域(6p21)に存在するHLA遺伝子多型である。古くより、自己免疫疾患患者のHLA血清型や、近年ではそのDNA型の解析がなされてきた。疾患に関連するHLA遺伝子およびその亜型は、疾患・人種によって異なるものの、ある特定のサブタイプが、疾患発症に関与することが示唆されている(表)。例えば、RAでは、HLAクラスII遺伝子であるHLA-DR遺伝子の多型のうち、日本人ではHLA-DRB1*0405, 欧米人ではHLA-DRB1*0401, *0404, *0101が、疾患と関連している²⁾。

はじめに

関節リウマチ(RA) や全身性エリテマトーデス(SLE)といった自己免疫疾患の多くは、遺伝因子と環境因子が複雑に関与することによって発症に至る多因子疾患である。これまでも、その遺伝的背景を明らかにするために、家系連鎖解析や患者対照関連解析による疾患感受性遺伝子の探索がなされてきた。ここ数年、疾患発症に関わる遺伝子が、急速に明らかにされつつあるが、その背景には、遺伝子多型タイピング技術の進歩と、ヒトゲノム解析プロジェクト (2000年) および

Genetic basis of autoimmune diseases: Youta Kouchi, Laboratories for Rheumatic Diseases, SNP Research Center, RIKEN.

表 HLA 遺伝子と自己免疫疾患の関連

	血清型	DNA型
関節リウマチ	DR4,DR1	DRB1*0401,0404,0405,0101
全身性エリテマトーデス	DR3,DR2	DRB1*0301,1501
自己免疫性甲状腺炎	DR3	DRB1*0301
1型糖尿病	DR3-DQ2,DR4-DQ8	DRB1*0301,0401,0405
多発性硬化症	DR2	DRB1*1501
強直性脊椎炎	B27	
ベーチェット病	B51	
尋常性乾癬	Cw6	

HLA 抗原は、T細胞に対して抗原ペプチドを提示する際に必須の分子であることから、自己免疫疾患においても自己抗原の提示の際に重要な役割を果たしているものと考えられる。HLA 抗原の構造解析から、病態へのかかわりを明らかにする研究もなされてきている。例えば、近年、RA 特異的な自己抗原として注目されている、シトルリン化修飾をうけたペプチドは、疾患と関連する DR 抗原 (DRB1*0401) と強い結合をすることが報告されている。このことから、自己免疫疾患発症に関連する HLA 抗原は、自己抗原を積極的に提示することによって、自己応答 T 細胞クローンの出現、活性化に寄与している可能性が考えられる。

いっぽうで、HLA 遺伝子が存在する領域 (6p21) は、HLA 遺伝子以外にも、*TNFA*、*C4*、*HSP* といった、免疫系の遺伝子が集族することが知られている。これらの遺伝子は、HLA 遺伝子と連鎖不平衡にあるため (強い連鎖関係にあるため)、その多型と疾患との関連を認めたとしても、HLA 遺伝子多型との強い関連によって、2次的にもたらされている関連

である可能性が高い。このため、この領域の解析には、HLA 遺伝子多型とのハプロタイプ解析 (多型の組み合わせ解析) が必須である。RA などの一部の疾患では、HLA 遺伝子以外の遺伝子多型が、独立して疾患の感受性に関連しているとの報告がなされている。

2. 複数の自己免疫疾患に関連する遺伝子

HLA 遺伝子以外にも、複数の遺伝因子が、自己免疫疾患発症に関与していると考えられているが、個々の遺伝因子の寄与度が相対的に低いため、その同定は困難が予想されてきた。近年、より大規模なサンプルを用いた検出力の高い解析が可能になったことにより、いくつかの非 HLA 感受性遺伝子の同定がなされている。これらの遺伝子の一部は、複数の自己免疫疾患の感受性に関連していることが示され、遺伝因子が異なった自己免疫疾患で共有されていることが示唆された。ここでは、これら複数の自己免疫疾患に共通する感受性遺伝子のうち、*PTPN22*、*CTLA4*、*FCRL3*、

SLC22A4/5遺伝子について解説する。

1) PTPN22遺伝子

1p13領域に存在するPTPN22遺伝子(Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22)は、最初にコーカシアン(欧米白人)における1型糖尿病(T1D)との関連が同定された³⁾。PTPN22遺伝子は、リンパ球に発現するチロシン脱リン酸化酵素であるLypをコードする。チロシンリン酸化酵素であるCskと会合することにより、T細胞レセプターのシグナルを抑制することが知られている。疾患との関連を認めたSNPは、プロリンリッチドメインに存在し、アミノ酸置換を伴う。このアミノ酸変化によって疾患感受性アレルにおいては、Cskとの結合が弱まる。結果として、PTPN22分子の機能が增強され、T細胞レセプターのシグナルが抑制される。T1Dとの関連の報告がなされたあとにも、RA、SLE、自己免疫性甲状腺炎(AITD)との関連が報告されており、PTPN22遺伝子多型は、多くの自己免疫性疾患において共通の遺伝的因子であると考えられている。なお、中国人や日本人においては、この多型は同定されておらず、疾患の遺伝的背景には、人種間の差異があることが考えられる。

2) CTLA4遺伝子

CTLA4(Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4)は、AITDおよびT1Dの連鎖解析の共通候補領域である2q33領域を詳細に解析することにより、これらの疾患の感受性遺伝子として同定された⁴⁾。CTLA4遺伝子多型は、コーカシアン、アジア人共通に認められ、AITD、T1D以外にも、RA、SLEの感受性との関連が報告されている。CTLA4分子は、抗原提示細胞上のB7分子をリガンドとする膜貫

通型受容体分子であり、T細胞に抑制性のシグナルを伝達することによって、T細胞の活動性を制御している。CTLA4には、スプライシングバリエーションとして、分泌型分子も存在する。疾患感受性と強い関連を認めた3'非翻訳領域のSNPは、スプライシングに影響を与え、感受性アレルでは、分泌型CTLA4の発現が減少する。したがって、分泌型CTLA4分子は、自己免疫応答を抑える働きがあると考えられる。

3) FCRL3遺伝子

FCRL3(Fc receptor-like 3)遺伝子は、ヒト・マウス共通の自己免疫性疾患感受性候補領域である1q21-23領域に存在する。我々の行った、ホールゲノム関連解析により、FCRL3遺伝子のSNPと、RA、SLE、AITDの感受性との関連が同定された⁵⁾。FCRL遺伝子群(FCRL1~5)は、Fcγレセプターとの高い相同性を認めるが、そのリガンド・機能とも未知である。2次リンパ組織のB細胞において、分化段階特異的に発現していることから、B細胞の分化・増殖に重要な遺伝子であることが考えられている。疾患との関連を認めたSNPは、プロモーター領域に存在するSNPであり、疾患感受性アレルにおいて、転写因子NFκBとの強い結合を認め、FCRL3遺伝子の高い発現をもたらすことが示された(図)。自己抗体産生と、FCRL3遺伝子多型との関連も見出されており、FCRL3遺伝子は、B細胞になんらかの影響を与え、自己免疫現象に関与する遺伝子であると考えられている。

4) SLC22A4/5遺伝子

5q31領域は、IL-3,IL-4,IL-13を含む複数の免疫関連遺伝子がクラスターしており、クローン病、気管支喘息における連鎖解析の候補

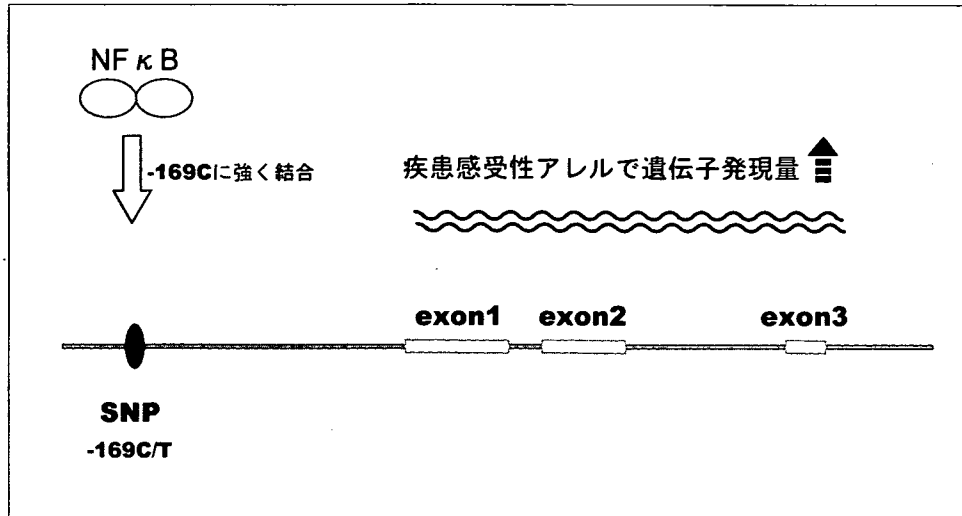


図 FCRL3 遺伝子多型と遺伝子発現量

領域として知られている。我々の行ったホールゲノム解析においても、この領域に存在する *SLC22A4* (Solute Carrier Family 22 Member 4) 遺伝子の SNP と RA との関連を認めた⁶⁾。*SLC22A4* は、Organic Cation Transporter 1 (OCTN1) と呼ばれ、有機カチオンを輸送する分子として知られている。12回膜貫通型タンパク質であり、RAにおいて病因的役割を果たすと考えられる血球系臓器組織に比較的発現特異性があることが晶名になった。最近、特異的な基質として、エルゴチオネイン分子が報告された。一方、クローン病を研究しているグループが、もともと関連が認められていたこの領域を検討して、*SLC22A4* のアミノ酸変化を伴うミスセンス変異およびこれを強い連鎖不平衡にある *SLC22A5* の 5'UTR の SNP がクローン病と関連していることを報告した。これらのことからこの有機カチオントランスポーターと炎症疾患との関係がクローズアップされている。

3. 疾患特異的に関連する遺伝子

1) *PADI4* 遺伝子と RA

我々のホールゲノム関連解析によって、最初の RA 関連遺伝子として同定されたものが 1p36 領域に存在する *PADI4* (Peptidylarginine deiminase type 4) 遺伝子である。*PADI4* 遺伝子は、蛋白質中のアルギニン残基をシトルリンに変換する作用をもつ酵素群である、*PADI* 遺伝子ファミリーに属する。*PADI4* 遺伝子のエクソン領域の複数の SNPs に、RA 感受性との関連が見出された。これらの SNPs は、2つのハプロタイプを構成しており、疾患感受性ハプロタイプにおいて、*PADI4* 遺伝子の mRNA の安定性が高く、疾患感受性のハプロタイプを保有する個人での遺伝子発現量が高い。RA の病態において、シトルリン化という翻訳後修飾がたんぱく質の抗原性を変化させ、免疫寛容の破綻に関与している可能性がある。

2) *TG* 遺伝子と AITD

TG (thyroglobulin) 遺伝子は甲状腺ホルモンの

前駆タンパクをコードするが、AITD（橋本病・バセドウ病）の連鎖解析の候補領域として知られる8q24領域に存在する。コーカシアン検体を用いた患者・対照関連解析により、TG遺伝子のアミノ酸変化を伴う、複数のSNPsと疾患の関連が報告された⁷⁾。このことは、TGのアミノ酸配列の違いが抗原性の変化をもたらし、疾患発症に関与している可能性を示唆する。

3) INS遺伝子とT1D

T1Dは、インスリンに対する自己応答リンパ球の出現が一義的な病態であることが、最近のヒト検体・疾患モデルを用いた研究からも示唆されている。遺伝学的にも、INS (insulin) 遺伝子の存在する11p15領域は、T1Dの連鎖解析の有力な候補領域であり、INS遺伝子のプロモーター領域のVNTR (variable number of tandem repeats) 多型が、疾患発症に関連していることが報告されている⁸⁾。患者で頻度の高いINS-VNTR I型では、INS遺伝子の発現量が相対的に高く、免疫寛容の破綻になんらかの影響をあたえていることが考えられている。

4) MBL遺伝子とSLE

10q11.2-q21に存在するMBL(mannose-binding lectin)遺伝子は、補体レクチン経路で最初に働く分子であり、細菌表面のマノースに結合し、細菌のオプソニン化および補体の活性化をひきおこす。これまでに、MBL遺伝子多型と、SLE疾患感受性との関連が、コーカシアン、アジア人、アフリカ人において報告されている⁹⁾。疾患と関連する、Exon1に存在するアミノ酸変化を伴う3 SNPは、MBLの立体構造を変化させる。また、プロモーター領域の2つのSNPと疾患の関連も報告

されている。いずれの多型も、疾患感受性アレルを持つ個人において、血清中のMBLタンパク量が低いことが知られている。MBLタンパクの減少によって、自己抗原のクリアランスが低下し、SLEの発症に寄与していることが示唆されている。

おわりに

以上、最近同定された自己免疫疾患関連遺伝子を中心に、疾患の遺伝的背景について概説した。これらの研究から、①HLA遺伝子多型が最大の遺伝因子であること②複数の自己免疫疾患共通の遺伝因子が存在し、自己免疫応答および炎症を助長している可能性があること、③いっぽうで疾患特異的な遺伝因子が存在し、臓器特異性を規定している可能性があること、④遺伝的背景には、人種差が少なからず存在すること、が明らかになった。今後、より包括的なホールゲノムを対象とした解析が、さまざまな人種で行われることにより、自己免疫疾患の発症にかかわる遺伝因子の全容の解明が進むと思われる。

参考文献

- 1) Altschuler D, Brooks LD, Chakravarti A, et al.: Nature. 437: 1299-320, 2005
- 2) Newton JL, Harney SM, Wordsworth BP, et al.: Genes Immun. 5: 151-157, 2004
- 3) Bottini N, Musumeci L, Alonso A, et al.: Nat Genet. 36: 337-338, 2004
- 4) Ueda H, Howson JM, Esposito L, et al.: Nature. 423: 506-511, 2003
- 5) Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, et al.: Nat Genet. 37: 478-485, 2005
- 6) Tokuhira S, Yamada R, Chang X, et al.: Nat Genet. 35: 341-348, 2003
- 7) Ban Y, Greenberg DA, Concepcion E, et al.: Proc Natl Acad Sci U S A. 100: 15119-15124, 2003
- 8) Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA, et al.: Nat Genet. 15: 289-292, 1997
- 9) Lee YH, Witte T, Momot T, et al.: Arthritis Rheum. 52: 3966-3974, 2005