

極めて多様な機能を可能にする NR4A2 複合体の成り立ちを明らかにし、個々の機能に関わる会合分子の解析をすすめていく必要があるだろう。NR4A2 分子は病態時に末梢血中の発現レベルが亢進することから、疾患活動性をモニターするバイオマーカーとしての応用可能性も残されている。今後、MS の病態研究から見出した NR4A2 を、新規 MS 治療ターゲットに格上げしていくためのトランスレーショナルリサーチを引き続き展開していきたいと考えている。NR4A2 が、広く他の自己免疫疾患へも適用可能なターゲットとして臨床応用される日を願っている。

### 文 献

- 1) Aranami T, Yamamura T. : Th17 Cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergol Int.* **57**(2) : 115-120, 2008.
- 2) McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis : a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol.* **8**(9) : 913-919, 2007.
- 3) Satoh J, Nakanishi M, Koike F, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, et al. : Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis.* **18**(3) : 537-550, 2005.
- 4) Doi Y, Oki S, Ozawa T, Hohjoh H, Miyake S, Yamamura T. : Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **105**(24) : 8381-8386, 2008, Epub 2008 Jun 11.
- 5) A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. *Cell.* **97**(2) : 161-163, 1999.
- 6) Robinson-Rechavi M, Escriva Garcia H, Laudet V. : The nuclear receptor superfamily. *J Cell Sci.* **116**(Pt 4) : 585-586, 2003.
- 7) Ivanov, II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. : The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell.* **126**(6) : 1121-1133, 2006.
- 8) Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science.* **317**(5835) : 256-260, 2007, Epub 2007 Jun 14.
- 9) Hermann-Kleiter N, Gruber T, Lutz-Nicoladoni C, Thuille N, Fresser F, Labi V, et al. : The nuclear orphan receptor NR2F6 suppresses lymphocyte activation and T helper 17-dependent autoimmunity. *Immunity.* **29**(2) : 205-216, 2008.
- 10) Maxwell MA, Muscat GE. : The NR4A subgroup : immediate early response genes with pleiotropic physiological roles. *Nucl Recept Signal.* **4** : e002., 2006, Epub 2006 Feb 8.
- 11) Wang Z, Benoit G, Liu J, Prasad S, Aarnisalo P, Liu X, et al. : Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature.* **423**(6939) : 555-560, 2003.
- 12) Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T. : Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science.* **276**(5310) : 248-250, 1997.
- 13) Le WD, Xu P, Jankovic J, Jiang H, Appel SH, Smith RG, et al. : Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet.* **33**(1) : 85-89, 2003, Epub 2002 Dec 23.
- 14) Calnan BJ, Szychowski S, Chan FK, Cado D, Winoto A. : A role for the orphan steroid receptor Nur77 in apoptosis accompanying antigen-induced negative selection. *Immunity.* **3**(3) : 273-282, 1995.
- 15) Cheng LE, Chan FK, Cado D, Winoto A. : Functional redundancy of the Nur77 and Nor-1 orphan steroid receptors in T-cell apoptosis. *Embo J.* **16**(8) : 1865-1875, 1997.
- 16) Liu ZG, Smith SW, McLaughlin KA, Schwartz LM, Osborne BA. : Apoptotic signals delivered through the T-cell receptor of a T-cell hybrid require the immediate-early gene nur77. *Nature.* **367**(6460) : 281-284, 1994.
- 17) Woronicz JD, Calnan B, Ngo V, Winoto A. : Requirement for the orphan steroid receptor Nur77 in apoptosis of T-cell hybridomas. *Nature.* **367**(6460) : 277-281, 1994.
- 18) Youn HD, Liu JO. : Cabin1 represses MEF2-dependent Nur77 expression and T cell apoptosis by controlling association of histone deacetylases and acetylases with MEF2. *Immunity.* **13**(1) : 85-94, 2000.
- 19) Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. : IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol.* **8** : 8, 2009.
- 20) Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. : Regulatory T cells and immune tolerance.

- Cell*. 133(5) : 775–787, 2008.
- 21) Klemann C, Raveney BJE, Klemann AK, Ozawa T, von Hörsten S, Shudo K, et al. : Synthetic retinoid AM80 inhibits Th17 cells and ameliorates EAE. *AmJPathol*. 2009 ; in press.
  - 22) Ordentlich P, Yan Y, Zhou S, Heyman RA. : Identification of the antineoplastic agent 6-mercaptopurine as an activator of the orphan nuclear hormone receptor Nurr1. *J Biol Chem*. 278(27) : 24791–24799, 2003, Epub 2003 Apr 22.
  - 23) Ralph JA, McEvoy AN, Kane D, Bresnihan B, FitzGerald O, Murphy EP. : Modulation of orphan nuclear receptor NURR1 expression by methotrexate in human inflammatory joint disease involves adenosine A2A receptor-mediated responses. *J Immunol*. 175(1) : 555–565, 2005.
  - 24) Chakravarti A, Little P. : Nature, nurture and human disease. *Nature*. 421(6921) : 412–414, 2003.
  - 25) Croxford JL, Miyake S, Huang YY, Shimamura M, Yamamura T. : Invariant V (alpha) 19i T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat Immunol*. 7(9) : 987–994, 2006, Epub 2006 Jul 30.
  - 26) Yokote H, Miyake S, Croxford JL, Oki S, Mizusawa H, Yamamura T. : NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. *Am J Pathol*. 173(6) : 1714–1723, 2008, Epub 2008 Oct 30.
  - 27) Saijo K, Winner B, Carson CT, Collier JG, Boyer L, Rosenfeld MG, et al. : A Nurr1/CoREST pathway in microglia and astrocytes protects dopaminergic neurons from inflammation-induced death. *Cell*. 137(1) : 47–59, 2009.



## 解説

# 多発性硬化症の病態形成と オーファン核内受容体NR4A2\*

大木 伸司\*\* 山村 隆\*\*

**Key Words** : multiple sclerosis, NR4A2, nuclear receptor, IL-17, Th17 cell, transcription factor, autoimmune disease

### はじめに

多発性硬化症(multiple sclerosis ; MS)は, Th1細胞やTh17細胞をはじめとする炎症性エフェクター T細胞の機能亢進が病態形成に深くかかわる典型的な自己免疫疾患の一種である<sup>1)2)</sup>. われわれは, MSの新規治療法の可能性を探るため, DNAマイクロアレイによるMS患者末梢血 T細胞の網羅的遺伝子発現解析を行い, 健常者に比較してMS患者 T細胞で発現が変動する遺伝子群の同定を試みた<sup>3)</sup>. その後, MS患者でもっとも有意な発現亢進を認めた遺伝子の一つとして同定したオーファン核内受容体NR4A2に着目した. T細胞におけるNR4A2の高発現は, MSの動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE)マウスの中脳神経浸潤 T細胞でも認められ, 炎症性サイトカイン産生と相関したことから, 病態形成との関連についてさらに解析をすすめた. 遺伝子導入による T細胞のNR4A2発現の増加や, NR4A2特異的siRNA処理によるNR4A2発現の抑制が, IL-17やIFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインの産生と連動したことから, NR4A2がこれらの炎症性サイトカイン産生制御に関与することが明らかとなった. さらに, このNR4A2特異的siRNAは, 脳炎惹起性 T細胞を移入することによりレシピエントに発症を誘導するpassive EAEモデルにおいて, 移入 T細胞を前処理することでEAE

の発症を有意に抑制したことから, NR4A2が, 病原性 T細胞の炎症性サイトカイン産生制御を作用点として, MSなどの自己免疫疾患の新規治療ターゲットになりうる可能性が示された<sup>4)</sup>. 本稿では, MS/EAEの病態形成におけるNR4A2の挙動と, 炎症性サイトカイン産生制御を介したMSの新規治療法の可能性について紹介する.

### オーファン核内受容体NR4A2とは?

NR4A2は, エストロゲン受容体やレチノイン酸受容体などを含む核内受容体ファミリーの一員であり, ヒトの場合48種類の異なる分子が同定されている. NR4A亜群の分子はNR4A1, NR4A2, NR4A3の3種からなるが, 他の核内受容体と同様, NGFB-I/Nur77(=NR4A1)やNurr1(=NR4A2)などの別名もいまだに汎用されている<sup>5)</sup>. NR4Aファミリー分子は図1に示すようなさまざまな生体応答にかかわることが知られており, その一部には分子間の機能的オーバーラップが認められる. NR4A2の主な発現部位は比較的中脳神経系(CNS)に集中しており, なかでも中脳腹側, 脳幹や脊髄に強い発現を認めるが, 実は免疫系でも T細胞受容体の架橋や炎症性サイトカインなどの刺激により, T細胞で一過性に発現誘導されるimmediate early geneとして知られている. NR4Aファミリー分子を含む核内受容体分子は, 複数の機能ドメインからなる構造が比較的保存されている(図1). 2つのZnフィ

\* Possible involvement of orphan nuclear receptor NR4A2 in pathogenesis of multiple sclerosis.

\*\* Shinji OKI, Ph.D. & Takashi YAMAMURA, M.D., Ph.D.: 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部(〒187-8502 小平市小川東町4-1-1); Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira 187-8502, JAPAN

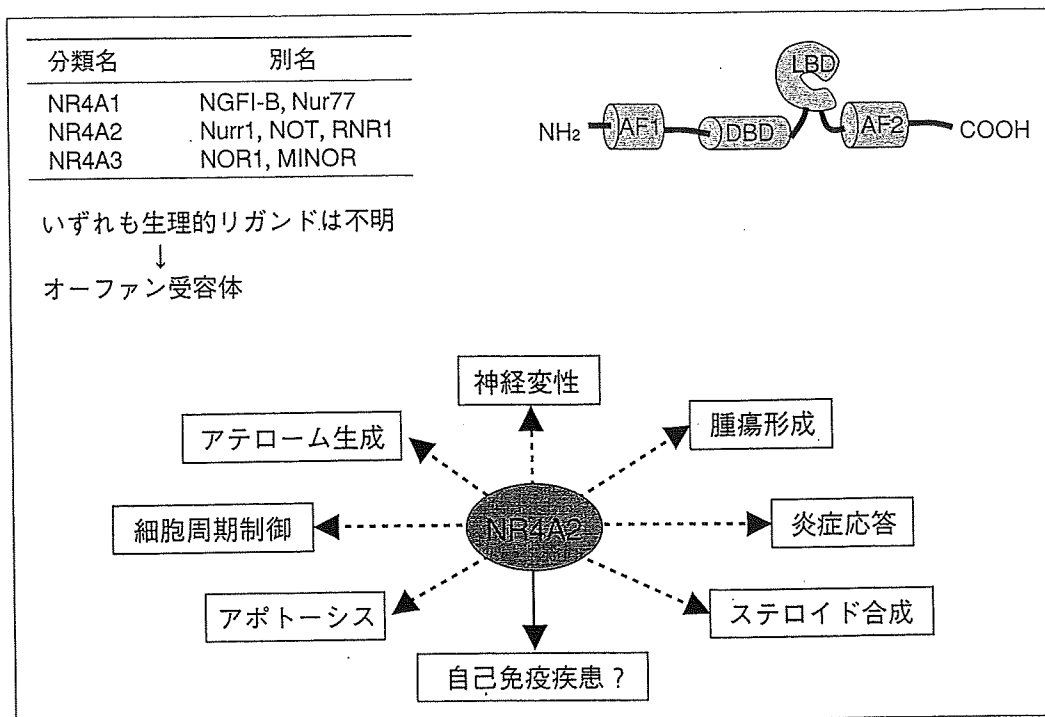


図1 NR4A核内受容体ファミリー分子

哺乳動物のNR4A核内受容体ファミリー分子は、NR4A1(NFGL-B/Nur77), NR4A2(Nurr1), NR4A3(NOR1)の3種の分子からなり、ファミリー分子に共通の構造(AF1/2, DBD, LBD)を有する核内受容体分子である。いずれも生理的リガンドは不明であるが、図に示すようなさまざまな生体応答にかかわることが知られている。免疫系との関連では、遺伝子欠損マウスを用いた解析から、NR4A1とNR4A3が胸腺細胞のアポトーシスにかかわることが示されており、いわゆる「負の選択」の過程で重要な役割を果たしているものと考えられる。一方、NR4A2欠損マウスではDA産生ニューロンの分化が著しく阻害されるが、胸腺細胞分化は比較的正常に保たれることが示されており、NR4A1/NR4A3とNR4A2の機能的な相違をうかがわせる知見である。AF1, 2: activation function 1, 2, DBD: DNA結合領域, LBD: リガンド結合領域

ンガーからなるN末側のDNA結合ドメイン(DBD)は、受容体間で非常によく保存されており、標的分子プロモーター内の応答配列に対する特異的結合にかかわる。C末側に位置するリガンド結合ドメイン(LBD)は、各核内受容体分子間での多様性が高く、それぞれ異なるリガンドを認識する。一般に核内受容体は、リガンドの結合により受容体のコンフォメーションが変化し、コリプレッサーを遊離してコアクチベーターと会合することで転写活性化能を獲得する。一方、リガンドが未知の核内受容体はオーファン受容体と呼ばれ、NR4Aファミリー分子もこの中に含まれる。LBDの構造解析の結果、NR4A2のLBDはかさ高い芳香環や疎水性の側鎖をもつアミノ酸に覆われており、典型的なリガンド結合ポケットがないことが示された<sup>6)</sup>。そしてNR4A2は、リガンドの存在とは無関係に活性型受容体類似の

コンフォメーションをとることが示され、リガンド非依存的に転写活性化能を有するものと考えられている。

### NR4A2の誘導因子とターゲット分子<sup>5)</sup>

NR4A2は、脂肪酸、プロスタグランジン、カルシウム、増殖因子、ペプチドホルモン、神経伝達分子などの因子に反応するのみならず、ストレスや物理刺激などにも反応してすみやかに発現が誘導される。これらの刺激はいずれもNF-κBあるいはCREBの活性化を誘導し、NR4A2遺伝子プロモーターの転写活性化領域に結合することで、遺伝子発現をひき起こすと考えられている。一方、発現したNR4A2分子は、特定のDNA配列を認識して下流の遺伝子発現を誘導する(図2)。これまでにNR4Aファミリー分子が認識するDNA配列として、①(A/T)AAAGGTCA配列からなる

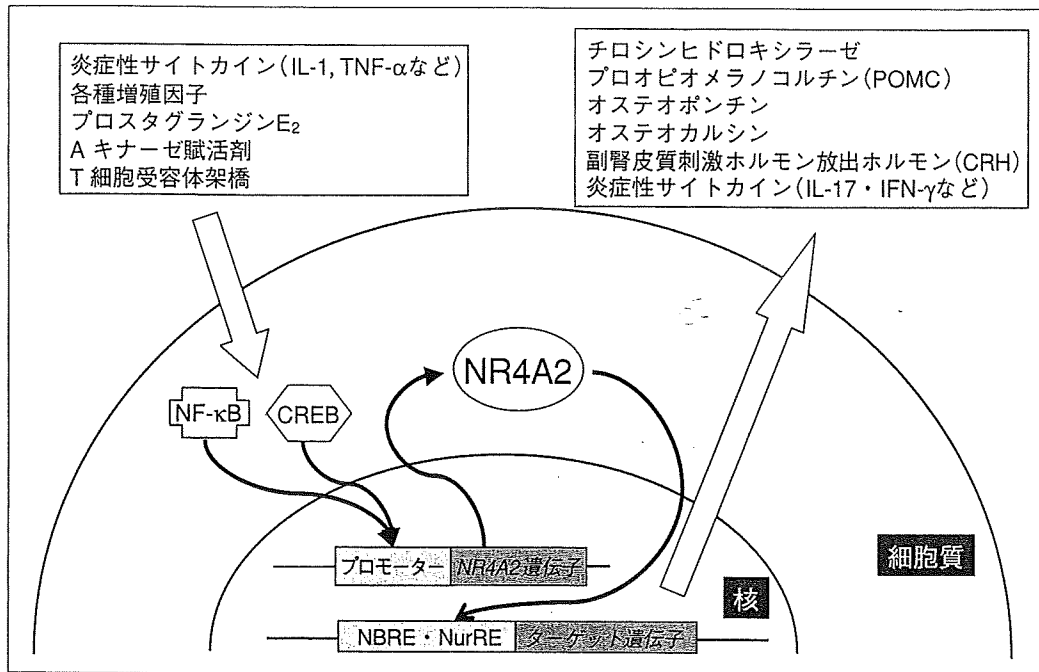


図2 NR4A2の誘導因子とターゲット分子

NR4A2は、脂肪酸、プロスタグランジン、カルシウム、増殖因子、ペプチドホルモン、神経伝達分子など、あるいはストレスや物理刺激に応答して発現が誘導され、いずれもNF-κBあるいはCREBの活性化を介すると考えられている。一方、このようにして発現したNR4A2分子は、NGFI-B response element(NBRE), Nur-responsive element(NurRE), DR5などの特定の配列を認識してターゲット遺伝子の発現を誘導する。これまでにチロシンヒドロキシラーゼを筆頭に、複数のターゲット遺伝子が報告されている。

NGFI-B response element(NBRE; 単量体あるいは2量体のNR4A分子が結合), ②NBRE類似のAAAT(G/A)(C/T)CAの逆向き繰り返し配列からなるNur-responsive element[NurRE; プロオピオメラノコルチン(POMC)プロモーターに存在], ③DR5配列[レチノイドX受容体(RXR)とのヘテロダイマー形成による]の3種の配列が知られている。NR4A2の標的分子としてもっともよく解析されているのが、ドパミン(DA)生成に必須の酵素であるチロシンヒドロキシラーゼ(TH)である。TH遺伝子プロモーターのNBREを介して、NR4A2依存的なDAの産生が誘導される一方、NR4A2欠損マウスでは中脳黒質のDA産生ニューロンの形成が障害される<sup>7)</sup>。さらに、家族性パーキンソン病の一部にNR4A2の遺伝子異常が認められる<sup>8)</sup>ことから、NR4A2はTH発現に必須の因子であると考えられている。ほかにも個別の解析から、NR4A2のターゲットとしてneuropilin-1, vasoactive intestinal peptide(VIP), aldosterone合成酵素, アロマターゼ, オステオポンチン, オステオカルシンなどが報告されており、NR4A2は中枢神

経機能のみならず、骨代謝の機能制御にもかかわる可能性がある。さらに、in silicoの解析の結果からは、多くの遺伝子にNBRE配列が存在することが示されている<sup>9)</sup>が、機能的な解析は今後の課題といえる。

### 免疫系における NR4Aファミリー分子の機能

免疫系におけるNR4Aファミリー分子の機能に関しては、T細胞アポトーシス誘導、および胸腺における「負の選択」におけるNR4A1分子の機能が、とくに詳細に解析されている<sup>10)~13)</sup>。すなわち、TCR刺激によりカルシウム依存性に活性化したMEF2がNR4A1の発現をひき起こし、T細胞アポトーシスを誘導する。おそらくこの経路は、NR4A1分子とBcl2分子との分子間相互作用を介した制御を受けていると考えられている。そして、Cabin1がMEF2にHDACをリクルートすることにより、この経路を遮断してアポトーシスを抑制する。一方、NR4A1単独欠損マウスの表現型は、胸腺あるいは末梢のT細胞アポトー

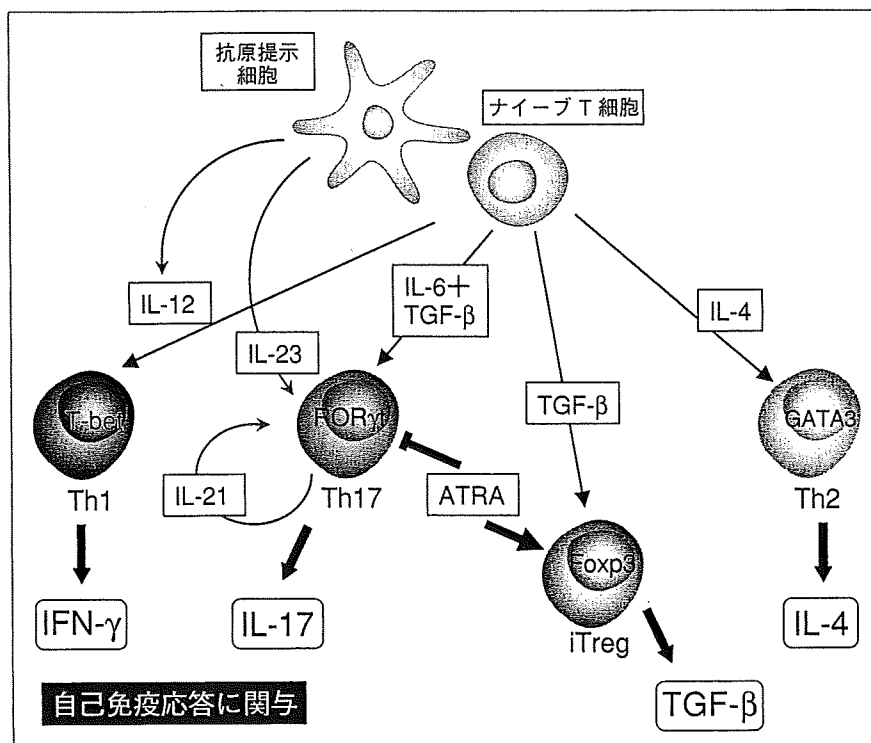


図3 ヘルパー T 細胞の分化と機能

ナイーブ T 細胞が抗原提示細胞上の抗原を認識すると、種々のサイトカイン依存性にそれぞれ機能的に異なるエフェクター T 細胞へと分化することが知られている。以前は感染免疫などにかかわる Th1 細胞と、アレルギー反応などにかかわる Th2 細胞の二極対立の構図により説明されていたが、近年の Th17 細胞と制御性 T 細胞 (Treg 細胞) の発見に伴い、各エフェクター T 細胞の複雑な分化制御機構が次々と明らかになりつつある。自己免疫の観点からは、IFN- $\gamma$  産生性の Th1 細胞と、IL-17 産生性の Th17 細胞はいずれも自己免疫病態をひき起こす病原性 T 細胞集団であると考えられており、双方の細胞機能を制御することが重要な課題となっている。

シスに関して、野生型マウスとの間に大きな違いはなく、胸腺での発現パターンなどから推測するに NR4A3 などの他の NR4A ファミリー分子が、NR4A1 欠損を補完することにより、強い表現型の発現を抑制していると考えられる。一方、NR4A2 欠損マウスでは、中脳の DA 産生ニューロンの欠損が著しく、胎児は生後すぐに死亡するため、免疫系を含む成体の機能異常に関する解析は乏しい。興味深いことに NR4A2 欠損マウスの表現型は、NR4A2 の機能が他の NR4A1 や NR4A3 では補完できないことを意味しており、NR4A2 が他の NR4A ファミリー分子とは異なる独自の機能を有する可能性を予想させる。

### NR4A2 と自己免疫疾患

MS では、Th1 細胞や Th17 細胞などの炎症性 T 細胞が脳炎惹起に重要な役割を果たす。ヘルパー

T 細胞の分化機構は Th17 細胞<sup>14)</sup> と制御性 T 細胞<sup>15)</sup> の発見を契機に、以前にも増して複雑になりつつある (図 3)。MS の病態形成には自己反応性 T 細胞が決定的な役割を果たすと考えられており、このような病原性 T 細胞の包括的な機能解析は、新規治療ターゲットの絞り込みに有効な手段である。このような観点からわれわれは、DNA マイクロアレイによる MS 患者末梢血 T 細胞の遺伝子発現解析を通じて、MS で健常者に比較して発現亢進する遺伝子群の同定を試み、その結果、もっとも有意な発現差異を認めた分子として NR4A2 を同定した<sup>3)</sup>。NR4A2 分子は核内受容体型の転写因子であるが、T 細胞における機能は不明な点が多かったため、MS のマウスモデルである EAE を併用してさらなる病態との関連を解析した<sup>4)</sup>。

C57BL/6 マウスに MOG<sub>35-55</sub> ペプチドを免疫する

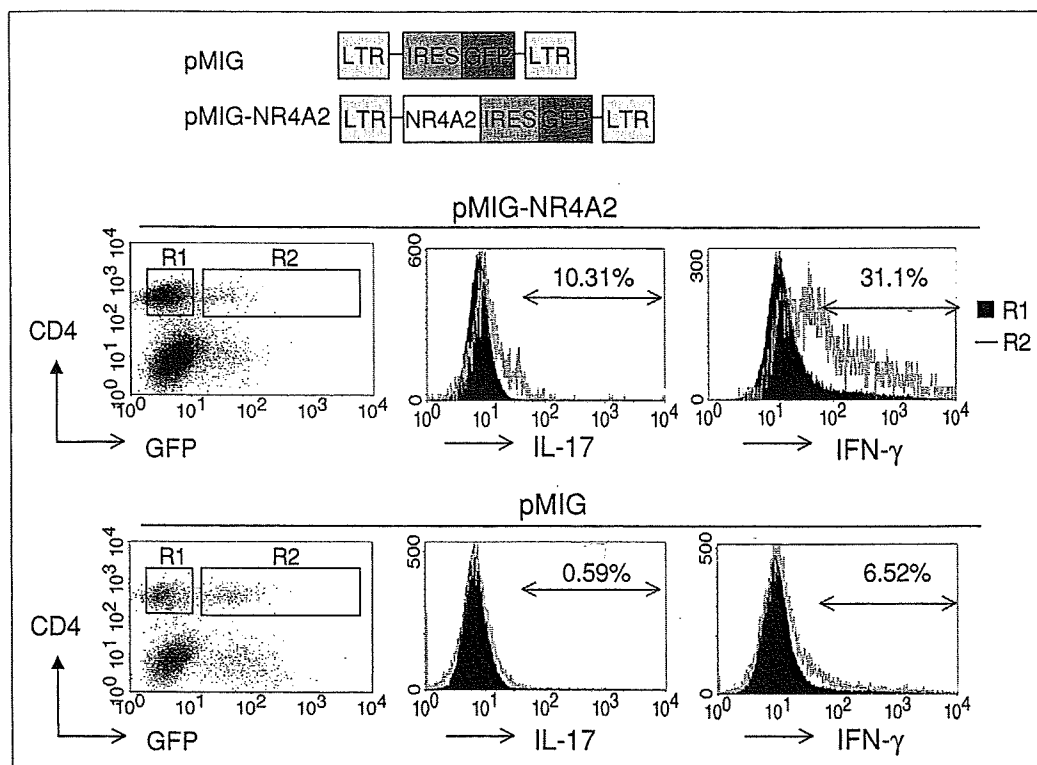


図4 NR4A2を介した炎症性サイトカイン産生増強

T細胞の炎症性サイトカイン産生に対するNR4A2分子の機能を解析するため、NR4A2遺伝子を組み込んだレトロウイルス、あるいはコントロールウイルスを用意し、マウス脾臓CD4陽性T細胞に感染させた。GFPの発現を指標に感染細胞を同定し、再試激後の炎症性サイトカイン産生を、細胞内サイトカイン染色法を用いて比較した。GFP陰性細胞群(R1)では図の上下でサイトカイン産生レベルに大きな差はないが、GFP陽性細胞群(R2)では、コントロール群(下段)に比べてNR4A2発現群(上段)における炎症性サイトカインの産生がいずれも増強している(IL-17; 0.59% vs. 10.31%, IFN- $\gamma$ ; 6.52% vs. 31.1%)。

ことによりEAEを誘導し、脳脊髄(CNS)浸潤細胞、末梢血、所属リンパ節細胞、脾臓細胞から分離したT細胞のNR4A2の発現レベルを、定量PCR法により比較すると、CNS浸潤T細胞および末梢血T細胞で、選択的なNR4A2の発現亢進が認められた。さらに、CNS浸潤T細胞を再刺激した後のサイトカイン産生を細胞内サイトカイン染色により検討したところ、約30%がIL-17産生細胞であることが判明し、CNSへの顕著なTh17細胞の集積が確認できた。IL-17はMS/EAEの発症に重要な炎症性サイトカインの一種であることから、NR4A2とT細胞のIL-17産生との間になんらかの相関がある可能性を考えて、さらに検討を加えた。次に、NR4A2の発現亢進が炎症性サイトカイン産生に与える影響を調べるため、IL-17遺伝子、あるいはIFN- $\gamma$ 遺伝子のプロモーター領域を含むレポーター遺伝子をそれぞれ構築し、EL4細胞にトランスフェクションすること

によりルシフェラーゼアッセイを試みた。その結果、NR4A発現プラスミドの同時導入により、それぞれルシフェラーゼ活性が有意に増強した。さらにNR4A2のcDNAをコードするレトロウイルスを用いて、脾臓T細胞にNR4A2分子を過剰発現させると、TCR刺激後のIL-17およびIFN- $\gamma$ 産生が選択的に亢進した(図4)。以上の結果から、T細胞においてNR4A2の発現が亢進することで、炎症性サイトカインの産生が増強することが示された。次に、NR4A2のMS治療ターゲットとしての可能性を探るため、NR4A2の発現を抑制することで、炎症性サイトカインの産生が低下するかどうかを、あらたにNR4A2特異的siRNAを新規に設計して検討した。ヒトおよびマウスのNR4A2遺伝子のDNA配列は非常によく保存されており、設計したsiRNAはヒトおよびマウスのいずれにも適用可能であったことから、まず健康人の末梢血CD4陽性T細胞をsiRNA処理し、

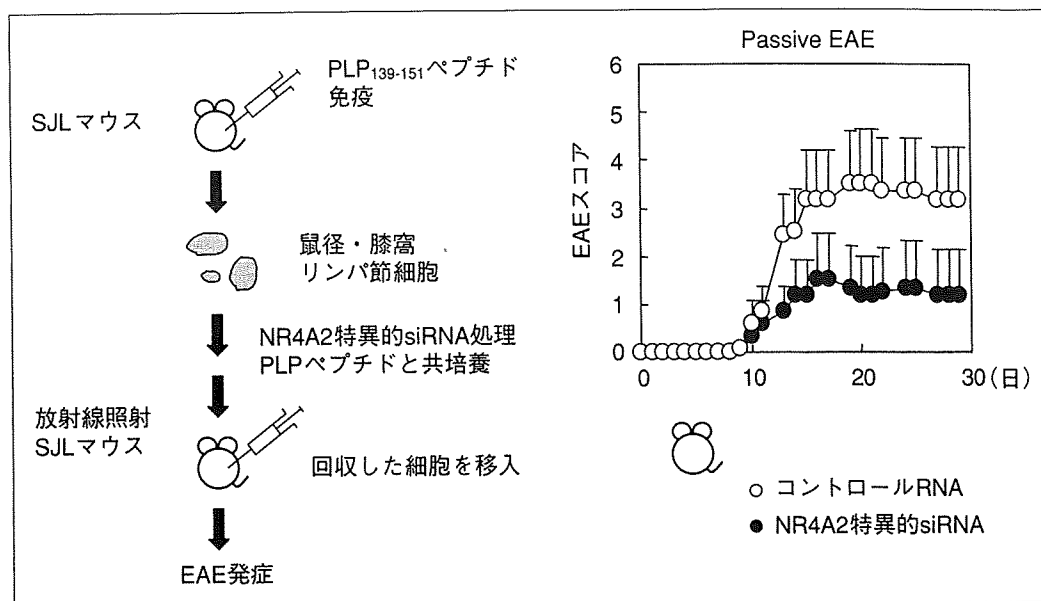


図5 Passive EAEにおけるNR4A2特異的siRNAの効果

PLP<sub>139-151</sub>ペプチドを免疫後10日目のSJLマウスより、鼠径リンパ節細胞および膝窩リンパ節細胞を分離し、NR4A2特異的siRNAあるいはコントロールRNAを遺伝子導入した。さらに、PLP<sub>139-151</sub>ペプチド存在下*in vitro*で3日間培養した細胞を回収し、放射線照射した未処理SJLマウスに移入した。レシピエントに誘導されるEAEスコアを比較した結果、コントロールRNA処理群ではEAEが誘導されたのに対し、NR4A2特異的siRNA処理群のEAEスコアは軽度の病態で移行したことから、本siRNA処理により病態抑制効果を誘導できることが示された。

NR4A2の発現を選択的に抑制したときの炎症性サイトカイン産生を調べた。その結果、NR4A2特異的siRNA処理したT細胞では、刺激後のIL-17産生およびIFN- $\gamma$ 産生が、いずれも有意に抑制されていた。次に、MS患者の末梢血CD4陽性T細胞を用いて同様の検討を行ったところ、患者T細胞の炎症性サイトカイン産生も、NR4A2特異的siRNA処理により有意に減少することが明らかとなった。さらに、siRNAによるNR4A2の発現抑制がCNSの病態形成に及ぼす効果を、ミエリン抗原を免疫することで誘導される病原性T細胞を未処理マウスに移入する誘導EAEモデルを用いて検討した。分離したT細胞を*in vitro*で抗原刺激する際に、特異的siRNAを作用させてNR4A2発現を抑制すると、対照RNA処理したT細胞の移入群に比べて、移入後のEAEは有意に軽症化することが明らかとなった(図5)。これらの結果は、NR4A2の発現あるいは機能制御を介して自己免疫病態が制御できることを示しており、NR4A2がMSをはじめとする自己免疫疾患の治療ターゲットとなりうる可能性が示唆される。

### 疾患治療ターゲットとしてのNR4Aファミリー分子

まず、核酸医薬の臨床応用を考えた場合、siRNAを用いた製剤の臨床応用はいままで限定的であり、RNA自身の*in vivo*での安定性に加えて効果的なドラッグデリバリーシステム(DDS)の構築など多くの課題を抱えている現状のため、今回のsiRNAそのものを用いたアプローチが臨床応用に耐えられるか否かについては今後の検討課題である。一方、たとえばNR4A2特異的に作用する低分子化合物のスクリーニングを通じて、効果的なNR4A2阻害剤を探索していくことにより、新規自己免疫疾患治療薬のシードが見出される可能性は十分にあると考えられる。核内受容体の約半数はいまだリガンドが未知のオーファン受容体であり、最近ではPPAR- $\alpha$ の合成リガンドであるフィブラート系化合物の高脂血症改善作用や、PPAR- $\gamma$ の合成リガンドであるチアゾリジン系化合物の糖尿病治療作用などが次々と示されており、核内受容体の新規リガンドの探索は創薬の観点からも非常に重要な研究領域である。



NR4A2ファミリー分子が関与する可能性が示されている疾患としては、パーキンソン病、統合失調症、双極性うつ病、動脈硬化症、アルツハイマー病、関節リウマチ、癌などのさまざまな難治性疾患が含まれているため、NR4A2ファミリー分子に対する作動性小分子化合物の開発も、新規治療薬開発の観点からもきわめて魅力的であるといえる。とくにNR4A2は、THの発現と中脳DA作動性ニューロンの発生に深く関与すること、および一部の家族性パーキンソン病家系にNR4A2変異が見出されたことから、主にパーキンソン病の治療ターゲットとしての期待が高まっているが、今後MSの新規治療ターゲットとしても有望であろうと思われる。さらに病原性T細胞と、これらが産生するIL-17やIFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインは、MSに限らず種々の自己免疫疾患への関与が示されているため、NR4A2をターゲットとした治療アプローチがさらなる広がりをみせる可能性が示唆される。

### おわりに

多発性硬化症(multiple sclerosis ; MS)の病態解明を目的とした研究の過程でわれわれが新たに見出したオーファン核内受容体NR4A2の免疫系、とくに活性化T細胞の炎症性サイトカイン産生における機能と、引き続き中枢神経系(CNS)の炎症病態形成における役割について概説した。これまでの研究から、種々の核内受容体が免疫系の制御に深くかかわることが明らかとなり、たとえばレチノイン酸および合成RARアゴニストが、Th17細胞分化の抑制と制御性T細胞の誘導を介して効果的な自己免疫疾患の抑制作用を示すことなどはその一例である<sup>16)17)</sup>。カルシニューリン/NF-ATの機能解明という基礎免疫の発展に伴って、シクロスポリンやタクロリムスなどの免疫抑制剤が臨床応用されていったことが記憶に新しいが、核内受容体をターゲットとした自己免疫疾患治療法の探索研究についても、同様の発展を期待したいところである。

### 文 献

- 1) Aranami T, Yamamura T. Th17 cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergol Int* 2008 ; 57 : 115.
- 2) McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis : a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol* 2007 ; 8 : 913.
- 3) Satoh J, Nakanishi M, Koike F, et al. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2005 ; 18 : 537.
- 4) Doi Y, Oki S, Ozawa T, et al. Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 8381.
- 5) Maxwell MA, Muscat GE. The NR4A subgroup : immediate early response genes with pleiotropic physiological roles. *Nucl Recept Signal* 2006 ; 4 : e002.
- 6) Wang Z, Benoit G, Liu J, et al. Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature* 2003 ; 423 : 555.
- 7) Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, et al. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 1997 ; 276 : 248.
- 8) Le WD, Xu P, Jankovic J, et al. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 2003 ; 33 : 85.
- 9) Zhao Y, Liu Y, Zheng D, et al. Alpha 1-antichymotrypsin/SerpinA3 is a novel target of orphan nuclear receptor Nur77 drug abuse in China. *FEBS J* 2008 ; 275 : 1025.
- 10) Calnan BJ, Szychowski S, Chan FK, et al. A role for the orphan steroid receptor Nur77 in apoptosis accompanying antigen-induced negative selection. *Immunity* 1995 ; 3 : 273.
- 11) Cheng LE, Chan FK, Cado D, et al. Functional redundancy of the Nur77 and Nor-1 orphan steroid receptors in T-cell apoptosis. *EMBO J* 1997 ; 16 : 1865.
- 12) Liu ZG, Smith SW, McLaughlin KA, et al. Apoptotic signals delivered through the T-cell receptor of a T-cell hybrid require the immediate-early gene nur77. *Nature* 1994 ; 367 : 281.
- 13) Woronicz JD, Calnan B, Ngo V, et al. Requirement for the orphan steroid receptor Nur77 in apoptosis

- of T-cell hybridomas. *Nature* 1994 ; 367 : 277.
- 14) Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol* 2009 ; 8 : 8.
- 15) Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008 ; 133 : 775.
- 16) Klemann C, Raveney BJ, Klemann AK, et al. Synthetic retinoid AM80 inhibits Th17 cells and ameliorates EAE. *Am J Pathol*. In press 2009.
- 17) Mucida D, Park Y, Kim G, et al. Reciprocal Th17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science* 2007 ; 317 : 256.

\* \* \*

のHTLV-1キャリアの拡散が予測され、今年の全国調査でも、全国のキャリアの中で首都圏、大阪圏在住者の比率の増大が認められている。妊婦検診などの対策を全国レベルで検討する時期が来ていると考えられる。

## 【講演 II】

### 自己免疫疾患の診断と治療における核内受容体の可能性

国立精神・神経センター神経研究所・免疫研究部 室長 大木 伸 司

自己免疫疾患は、何らかの理由により自己に向けられた免疫応答により、様々な臓器が障害される疾患の総称である。自己免疫疾患の多くは、明確な治療方針が確立していない難治性疾患に分類されており、多発性硬化症 (multiple sclerosis; 以下 MS) もその一つである。MSは、主に中枢神経系が障害される自己免疫疾患で、患者の脳や脊髄には散在する炎症性病変と脱髄が多数認められる。一般に罹病期間は長期にわたり、増悪と寛解を繰り返しながら徐々に進行する 경우가多いが、発症時には持続的な麻痺や視力低下が生じ、患者のQOLの低下は極めて深刻である。元来日本人には少ない疾患とされてきたが、過去30年間で登録患者数が約20倍と急激に増加している (現在国内で約1万人強)。治療法としては、IFN- $\beta$ 、抗炎症ステロイド、免疫抑制剤、血漿交換などの選択肢があるが、いずれも対症療法的な色合いが濃く、発症メカニズムに基づいた治療法の確立が切望されている。



大木伸司 先生

MSの病態形成は、自己反応性エフェクターT細胞による髄鞘の破壊と、これに続く炎症の遷延化による神経伝導障害による。エフェクターT細胞にはIFN- $\gamma$ 産生性のTh1細胞とIL-4産生性のTh2細胞があり、従来MS発症に関わる病原性T細胞の本体はTh1細胞と考えられてきたが、最近になりこれらの細胞群とは機能的に異なるエフェクターT細胞として見いだされたTh17細胞と、これが産生する炎症性サイトカインIL-17が、MS発症に深く関ることが明らかとなってきた。Th17細胞のマーカー遺伝子としてオーファン核内受容体ROR $\gamma$ tが同定され、all-trans レチノイン酸 (ATRA) によるTh17細胞の機能制御が示されるなど、Th17細胞と核内受容体との生理的な関わりが、近年一段とクローズアップされてきている。

演者らもレチノイドによるTh17細胞の機能制御の研究をすすめていたが、動物実験レベルで機能制御に必要なATRAが比較的多量であることに難点を見出していた。臨床応用を考えて、より非活性の高い合成レチノイドに活路を見いだすべく模索を重ねた結果、首藤博士と東医歯大・影近博士らが合成したAm80 (タミバロテン) にたどり着いた。予想どおりAm80は、MSのマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対し、ATRAよりはるかに少ない量を経口投与することで発症を有意に抑制した。さらにこの時、Am80投与マウスではTh17細胞機能が選択的に抑制されており、EAE抑制とよく関連した。本邦においてAm80は、急性前骨髄球性白血病の治療薬として認可されており、適応拡大を図ることにより比較的速やかにMS治療薬として応用可能と考えられる。特に急性期のMSに対する効果が期待できるため、当センターにおいて臨床試験のための準備がすすめられている。

一方、演者らの研究室では、MS患者の末梢血T細胞を用いたDNAマイクロアレイ解析を施行し、新たなMS治療標的候補分子としてのNR4A2の同定に成功した。EAEマウスのT細胞でもNR4A2がヒトの場合と同様の挙動を示すことから、演者らはNR4A2がMSの発症に直接関わる可能性を予想した。はたしてEAEマウスの中枢神経系に浸潤した病原性T細胞は、IL-17をはじめとする炎症性サイトカインとNR4A2を共発現することを明らかとし、その後の一連の解析からNR4A2がMS/EAE発症に関わる炎症性サイトカインの制御因子であることを示した。リガンド結合能を欠くNR4A2は構成的に活性化型であり、リガンド応答性の核内受容体と異なりその機能制御は主に遺伝子発現レベルでなされている。よってNR4A2の機能制御には、NR4A2遺伝子の発現抑制あるいはNR4A2タンパク質の機能抑制が有効であると考えられる。実際に演者らは、small interfering RNA (siRNA) 処理により病原性T細胞のNR4A2発現を抑制すると、EAEが軽快することを明らかにした。NR4A2には、通常のリガンドとは質的に異なる制御性小分子が複数報告されているため、これらの化合物の構造から今後新たなMS治療薬の探索が可能であると思われる。演者らの研究室では、NR4A2を標的としたMS治療薬の創薬研究が進行中である。

核内受容体の約半数はリガンドが未知のオーファン受容体であるが、最近では合成PPARリガンドが高脂血症改善薬や糖尿病治療薬として臨床応用されるなど、核内受容体をターゲットとした創薬

は、今にもまして魅力的な研究領域になっていくものと予想される。また Th17 細胞は、MS にとどまらず関節リウマチ、1 型糖尿病、乾癬など多様な自己免疫疾患との関連が示されているため、本稿で紹介した 2 つの核内受容体分子を標的とした治療戦略が、将来他の自己免疫疾患にも波及していく可能性に大きな期待を抱いている。

#### 【感想】

#### 紹介

日本国際医学協会理事 首藤 紘一

本日はアナリストの山本義彦先生にお話を伺います。先生は 1963 年に東京大学薬学部を卒業後、帝人株式会社に入社されました。1984 年にハーバードビジネススクールで上級経営学を修められ、その 2 年後 1986 年に 23 年間いらした同社を退職いたしました。その後証券業界に転じられ、ブルデンシャル・ベーク証券会社、ソロモンブラザーズ・アジア証券会社、現在は日興コーディアル証券首席アナリストとして活躍されています。ご存知の方もいらっしゃると思いますが、日本経済新聞人気アナリスト調査において、1996 年～2002 年まで医薬品部門 1 位、1996 年企業総合 1 位であり、証券業界で最も頼りにされているアナリストの一人でございます。

#### 資本市場から見たヘルスケア産業

日興コーディアル証券(株) 首席アナリスト 山本 義彦

最大のヘルスケア産業は医療機関であります。株式会社による事業運営が認められていませんので、資本市場との係わり合いは限定されています。資本市場から見て最大のヘルスケア産業は売上規模 8 兆円の医薬品製造業です。本日は製薬産業の姿を御紹介しつつ、国民のために先生方のお力を拝借すべく僅かばかりの提言をさせていただきます。



日本の医薬品産業は主として公的保険制度の枠内で事業を行っているため国の政策から大きな影響を受けます。成長の切掛けとなったのは 1961 年の国民皆保険制度施行でした。60 年に 1 千億円に過ぎなかった国内医療用医薬品生産額は 80 年には 3 兆円に達します。年率 18.5% で成長したことになります。83 年の吉村厚生事務次官による医療費増大論が成長の転換点となりました。2000 年の生産金額は 5.1 兆円、年率 2.7% の成長率へ鈍化しました。しかし、75 年の資本自由化、76 年の物質特許制度施行により製薬産業の研究開発力は著しい改善を見ました。08 年の売上世界上位 50 位までに占める日本発の医薬品は 10 製品に及んでいることが証明していますし、規模の格差はあるにしても、少なくとも収益構造においては日本大手と欧米大手との格差はほとんどなくなりました。

医学の進歩に伴う相次ぐ画期的医薬品の登場によって世界の製薬産業は発展を続けましたが、世界の医薬品市場にも大きな変化が現れました。85 年の世界市場規模 790 億ドルに占める日米欧のシェ

# 5

## ゲノムワイド解析により同定された多発性硬化症のリスクアレル

Risk Alleles for Multiple Sclerosis Identified by a Genomewide Study

多発性硬化症(MS)では臨床的に明らかな遺伝的要因の関与を認める。本研究ではDNAマイクロアレイによるゲノムワイド関連(GWA)解析で、MSリスクアレルを同定した。931家系トリオのSNPをスクリーニングし、別の609家系トリオ、2,322孤発例MS、789コントロールと2種類の外部データベースコントロールで再現性を検証した。全12,360データを統合し、MSリスクの統計学的有意性を算出した。その結果、931家系トリオの334,923 SNPsにお

けるTDTで、49 SNPsとMSの関連が示唆され、38 SNPsで検証した。931家系トリオ患者と2,431健常者間で差異を呈する32 SNPsを同定、110 SNPsで検証した。最終的に、IL-2受容体 $\alpha$ 鎖遺伝子(IL2RA) ( $p=2.96 \times 10^{-8}$ )、IL-7受容体 $\alpha$ 鎖遺伝子(IL7RA) ( $p=2.94 \times 10^{-7}$ )、HLA-DRA遺伝子座 ( $p=8.94 \times 10^{-81}$ ) のSNPのアレルがMSと強く関連し、MSリスク遺伝因子と考えられた。

### GWA 解析の対象

MSは若年成人では最も多い中枢神経系炎症性自己免疫疾患である。MS双生児・兄弟例の解析から、何らかの遺伝因子がMS疾患感受性に影響していることが分かった。候補遺伝子解析で、主要適合性複合体(MHC)遺伝子座の多型とMSの関連が示唆された。730家系2,692サンプル4,506 SNPsの連鎖解析で、MHC遺伝子座との強い連鎖(LODスコア11.66)が証明された。しかし過去の研究では、統計学的検出力が不十分で、MSと連鎖するnon-MHC遺伝子を同定できなかった。

本研究では、バイアスや仮説の影響を受けないゲノムワイド関連(genome-wide association; GWA)解析により、MSリスクnon-MHC SNPアレルの同定を試みた。International MS Genetics Consortium (IMSGC)を立ち上げ、MS家系トリオと孤発例MSの血液サンプルはUK(全土)とUS(UCSF MS Center,

San FranciscoとBWH MS Center, Bostonを中心)の研究グループが収集、ジェノタイピングにはAffymetrix社GeneChip Human Mapping 500K arrays(500,000 SNPs)を用いた。MSはMcDonald基準で診断したが、clinically isolated syndrome(CIS)(臨床的 attack 1回)が4%(86症例)含まれている。コントロールサンプルは、BWH、UCSFで慢性炎症性疾患既往歴のない非ヒスパニック系白人より収集した。また外部データベースWellcome Trust Case Control Consortium(WTCCC), National Institute of Mental Health(NIMH)の双極性障害GWA研究のAffymetrix 400K SNPデータをコントロールとして取り込んだ。GWA解析は、I型・II型糖尿病、炎症性腸疾患、関節リウマチ、全身性エリテマトーデスのリスクnon-MHC SNPsの同定に成功している。

### GWA 解析のステージ化

本研究ではジェノタイピング効率化のため、解析をステージ化した。品質管理(QC)ステージでは、1,003家系トリオをタイピングし、ジェノタイピング率、Hardy-Weinberg平衡、Mendelianエラーの基準を満たすヨーロッパ系家系のサンプルを選択、対象を931家系トリオの334,923 SNPsに絞り込んだ。スクリーニングステージでは、931家系トリオの患者と両親を伝達不平衡テスト(TDT)で比較し、MSに関連する78 SNPs( $p < 1 \times 10^{-4}$ )を同定した。931家系トリオの患者と2,431コントロール(WTCCC 1,475, NIMH 956)をCochran-Mantel-Haenszelテストで解析し、MSに関連する63 SNPs

( $p < 0.001$ )を同定した。自己免疫疾患感受性遺伝子座近傍の24 SNPs( $p < 0.01$ )を追加解析した。再現性検証ステージでは、QC基準を満たす110 SNPsに関して、スクリーニングとは別の609家系トリオ、2,322孤発例MS(UK 928, US 1,394), 2,987コントロール(IMSGC 789, WTCCC 1,475, NIMH 723)を追加、Sequenom社iPLEX Gold MassArrayを用いて解析した。最後に全ステージ12,360サンプル(1,540家系トリオ、2,322孤発例MS、5,418コントロール)のデータを統合、UNPHASEDソフトで解析した。

### MS リスクに関連する non-MHC SNPs の意義

MHC遺伝子座HLA-DRB1\*1501のSNP rs3135388 Aアレル( $p=8.94 \times 10^{-81}$ )が最も有意にMSリスクに関連していたが、他に比較的に有意と判断された16 non-MHC SNPs: IL2RA

(CD25)第1イントロンrs12722489 Cアレル( $p=2.96 \times 10^{-8}$ )とrs2104286 Tアレル( $p=2.16 \times 10^{-7}$ )、IL7RA(CD127)第6エクソンのアミノ酸置換(T244I)を伴うrs6897932 Cアレル

( $p=2.94 \times 10^{-7}$ ), KIAA0350 (CLEC16A) rs6498169 Gアレル( $p=3.83 \times 10^{-6}$ ), CD58 rs12044852 Gアレル( $p=1.90 \times 10^{-5}$ )などを検出した(表)。IL2RAはI型糖尿病やバセドウ病との連関が報告されている。種々の自己免疫疾患でCD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>制御性T細胞の機能不全を認める。抗IL2RA抗体(ituximab)はMSで臨床試験中である。3つの候補遺伝子解析研究でも、IL7RAとMSの連関が報告されている。IL-7はメ

モリーT細胞プールの維持や $\gamma\delta$ T細胞の分化に重要なサイトカインである。IL7RA T244Iバリエーションは可溶型と膜型受容体の構成比に関与し、I型糖尿病発症との連関が報告されている。本研究では、初めてnon-MHC-SNPsとMSリスクとの連関を証明できた点に意義がある。

佐藤 準一(明治薬科大学薬学部バイオインフォマティクス教授)

表 GWA解析で同定したMSリスクSNPとアレル

No.	染色体	遺伝子	一塩基多型(SNP)	リスクアレル	LD(r)	スクリーニング試験		検証試験		統合データ		アレル周別解析			
						931家系間の患者と対照の比較	931家系間の患者と2,441コントロールの比較	2,441患者と607対照との比較	2,987コントロールの比較	メタ分析	メタ分析	DRB1*1501 (N=51)	DRB1*1501 (N=100)		
						p値	オッズ比(95%信頼区間)	p値	オッズ比(95%信頼区間)	p値	オッズ比(95%信頼区間)	p値	p値		
6p21	HLA-DRA	rs3135385	A	0.23						$8.9 \times 10^{-11}$	1.59 (1.04-2.15)				
2	10q15	IL2RA	rs12722459	C	0.85	$1.28 \times 10^{-3}$	1.35 (1.13-1.62)	$9.61 \times 10^{-5}$	1.20 (1.11-1.32)	$4.5 \times 10^{-5}$	1.19 (1.09-1.31)	$2.96 \times 10^{-8}$	1.25 (1.16-1.36)	$8.50 \times 10^{-9}$	$6.19 \times 10^{-9}$
3	10q15	IL2RA	rs2104286	T	0.75	$3.25 \times 10^{-3}$	1.26 (1.09-1.47)	$2.85 \times 10^{-4}$	1.26 (1.11-1.43)	$1.89 \times 10^{-5}$	1.16 (1.09-1.25)	$2.19 \times 10^{-7}$	1.19 (1.11-1.26)	$3.19 \times 10^{-8}$	$4.44 \times 10^{-8}$
4	5q13	IL7RA	rs6897932	C	0.75	$5.78 \times 10^{-3}$	1.24 (1.07-1.44)	$1.55 \times 10^{-4}$	1.17 (1.02-1.32)	$2.75 \times 10^{-5}$	1.18 (1.09-1.27)	$2.91 \times 10^{-7}$	1.18 (1.11-1.25)	$1.17 \times 10^{-7}$	$1.53 \times 10^{-7}$
6	15q13	CLEC16A	rs6498169	G	0.37	$2.90 \times 10^{-2}$	1.16 (1.02-1.33)	$6.51 \times 10^{-4}$	1.17 (1.04-1.31)	$1.89 \times 10^{-5}$	1.16 (1.09-1.24)	$3.83 \times 10^{-7}$	1.14 (1.08-1.21)	$9.50 \times 10^{-8}$	$1.60 \times 10^{-7}$
6	1p22	RPL5	rs6604029	C	0.22	$4.45 \times 10^{-4}$	1.29 (1.11-1.50)	$2.31 \times 10^{-5}$	1.25 (1.11-1.40)	$9.58 \times 10^{-6}$	1.13 (1.05-1.22)	$7.94 \times 10^{-8}$	1.15 (1.06-1.22)	$2.06 \times 10^{-8}$	$7.42 \times 10^{-8}$
7	9q33	DGC1	rs10980447	A	0.77	$1.17 \times 10^{-3}$	1.36 (1.16-1.59)	$2.13 \times 10^{-5}$	1.09 (0.95-1.24)	$1.27 \times 10^{-5}$	1.14 (1.05-1.24)	$8.46 \times 10^{-8}$	1.17 (1.09-1.25)	$2.07 \times 10^{-7}$	$1.29 \times 10^{-7}$
8	1q13	CD58	rs12044852	C	0.92	$9.71 \times 10^{-4}$	1.30 (1.17-1.67)	$3.01 \times 10^{-5}$	1.54 (1.26-1.89)	$2.04 \times 10^{-6}$	1.20 (1.07-1.35)	$1.50 \times 10^{-7}$	1.24 (1.12-1.37)	$4.52 \times 10^{-8}$	$3.57 \times 10^{-8}$
9	2q23	ALK	rs7577303	A	0.93	$1.11 \times 10^{-3}$	2.14 (1.43-3.20)	$1.21 \times 10^{-5}$	1.44 (1.09-1.92)	$3.15 \times 10^{-6}$	1.54 (1.1-1.62)	$7.37 \times 10^{-8}$	1.37 (1.17-1.61)	$9.22 \times 10^{-8}$	$1.38 \times 10^{-7}$
10	1p22	FAM69A	rs7530563	A	0.38	$2.55 \times 10^{-3}$	1.34 (1.18-1.53)	$2.48 \times 10^{-5}$	1.14 (1.02-1.27)	$2.17 \times 10^{-6}$	1.08 (1.01-1.16)	$9.12 \times 10^{-8}$	1.12 (1.06-1.18)	$5.09 \times 10^{-8}$	$1.39 \times 10^{-7}$
11	1p22	FAM69A	rs11194830	C	0.57	$6.04 \times 10^{-4}$	1.32 (1.15-1.52)	$3.20 \times 10^{-5}$	1.18 (1.05-1.32)	$1.30 \times 10^{-6}$	1.09 (1.02-1.16)	$1.91 \times 10^{-7}$	1.11 (1.05-1.13)	$3.55 \times 10^{-8}$	$4.23 \times 10^{-8}$
12	6q24	ANKRD15	rs10975200	G	0.18	$8.05 \times 10^{-4}$	1.25 (1.05-1.50)	$9.85 \times 10^{-6}$	1.07 (1.19-1.58)	$2.12 \times 10^{-6}$	1.11 (1.02-1.21)	$3.23 \times 10^{-7}$	1.14 (1.06-1.23)	$1.62 \times 10^{-7}$	$1.62 \times 10^{-7}$
13	1p22	EV15	rs10735781	G	0.38	$2.21 \times 10^{-3}$	1.29 (1.12-1.50)	$6.05 \times 10^{-5}$	1.17 (1.05-1.30)	$2.01 \times 10^{-6}$	1.08 (1.01-1.16)	$3.35 \times 10^{-7}$	1.11 (1.05-1.18)	$1.93 \times 10^{-7}$	$3.33 \times 10^{-7}$
14	1p22	EV15	rs6890578	T	0.38	$3.95 \times 10^{-4}$	1.29 (1.11-1.49)	$1.88 \times 10^{-5}$	1.17 (1.05-1.31)	$1.26 \times 10^{-6}$	1.09 (1.01-1.16)	$5.00 \times 10^{-7}$	1.11 (1.04-1.17)	$2.19 \times 10^{-7}$	$4.21 \times 10^{-7}$
15	12p13	KLRF1	rs4763655	A	0.36	$4.56 \times 10^{-4}$	1.15 (1.00-1.32)	$2.16 \times 10^{-5}$	1.19 (1.07-1.33)	$1.83 \times 10^{-6}$	1.09 (1.01-1.16)	$6.65 \times 10^{-7}$	1.10 (1.04-1.17)	$2.61 \times 10^{-7}$	$7.65 \times 10^{-7}$
16	3q13	GDLB	rs12407066	T	0.73	$7.65 \times 10^{-4}$	1.22 (1.09-1.41)	$6.09 \times 10^{-5}$	1.29 (1.14-1.46)	$3.53 \times 10^{-6}$	1.08 (1.00-1.15)	$5.43 \times 10^{-7}$	1.09 (1.03-1.16)	$1.14 \times 10^{-7}$	$2.36 \times 10^{-7}$
17	16p11	PDE4B	rs1321172	C	0.49	$8.77 \times 10^{-4}$	1.12 (0.98-1.27)	$9.57 \times 10^{-5}$	1.15 (1.04-1.26)	$3.95 \times 10^{-6}$	1.07 (1.01-1.14)	$6.06 \times 10^{-7}$	1.08 (1.02-1.14)	$2.96 \times 10^{-7}$	$2.16 \times 10^{-7}$

# Remark

## 日本人MSには適応が難しい

佐藤 準一

多因子疾患は、複数の遺伝子変異と環境因子の相互作用により発症が規定される。個々の疾患関連遺伝子多型(SNP)は単独では浸透率が低く、発症を誘導しない。しかしこのようなSNPsと環境因子が複数共存すると、疾患としての表現型(phenotype)が誘導される。従来の研究では、罹患者を2人以上有する家系(罹患者同胞対など)を多数収集し、マイクロサテライトマーカー(全ゲノムで数万個)を指標に候補遺伝子座(ロッドスコア>3.0)を同定する連鎖解析(linkage analysis)が主流であったが、多数の家系が必要で検出感度が低かった。SNP(対立遺伝子の頻度の低いアレルの頻度が1%以上)はゲノム上に高密度に存在(全ゲノムで数百万個)し、マイクロアレイが普及してハイスループットスクリーニングが可能となり、ゲノムワイド

の関連解析が容易となった。本研究ではヨーロッパ系非ヒスパニック白人MSと健常者の膨大なサンプルで統計学的検出力を高めてGWA解析を行い、IL2RA、IL7RAのSNPとMSの連関を見いだした。しかし同定された個々のnon-MHC-SNPsはp値が高く、関与は軽微と判断された。

MSは再発を反復し、多巣性病巣を認める中枢神経系炎症性脱髄疾患と定義されるが、不均一な病因に起因する疾患群と考えられる。本研究ではRRMS、SPMS、PPMS、GIS(MRIで視神経・脊髄・脳幹・小脳に2病巣以上)を一括してMSとしたが、これらが同一のgenetic backgroundを有するというエビデンスはない。また抗AQP4抗体を測定していないため、neuromyelitis optica(NMO)混入の可能性を否定できない。したがってサブグループ別のGWA解析が必要となる。またSNPアレル頻度の人種差(ethnic differences)を考慮すると、本研究の結果は日本人MSには適応困難と思われる。

