

201107011A

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

ゲノム網羅的関連解析の大規模メタ解析を基盤としたcommon
diseaseのテーラーメイド医療実用化に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 桃原 茂樹

平成24（2012）年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
ゲノム網羅的関連解析の大規模メタ解析を基盤としたcommon diseaseのテーラーメイド医療実用化に関するに関する研究-----	3
桃原 茂樹 東京女子医科大学	
II. 分担研究報告	
1. 日本人における関節リウマチのゲノムワイド関連解析メタ解析に関する研究----	11
山本 一彦 理化学研究所ゲノム医科学研究センター	
2. 全ゲノム関連解析を用いた抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ疾患感受性遺伝子同定に関する研究-----	13
松田 文彦 京都大学	
3. ゲノム網羅的関連解析による関節リウマチ重症化関連因子の同定に関する研究---	15
桃原 茂樹、山中 寿 東京女子医科大学	
4. 抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者とHLAの関連にに関する研究--	17
三森 経世 京都大学	
5. GWASメタ解析、診断・予後予測モデルの作成、最適化に関する研究-----	19
山田 亮 京都大学	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	23
IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	27

I . 総括研究報告

総括研究報告書

ゲノム網羅的関連解析の大規模メタ解析を基盤とした
common diseaseのテーラーメイド医療実用化に関する研究

研究代表者 桃原 茂樹 東京女子医科大学医学部 教授

研究要旨：日本人の関節リウマチにおけるこれまでにない大規模なGWASメタ解析を行い、既報告の関連を追認するとともに、複数の新規感受性遺伝子領域を同定した。当初の研究計画通りに研究が進行しており、計画初年度の研究成果としては目覚ましい成果であったと考えている。

研究代表者：桃原 茂樹
東京女子医科大学 医学部 教授

研究分担者：山本 一彦
理化学研究所ゲノム医科学研究センター
チームリーダー

研究分担者：松田 文彦
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

研究分担者：山中 寿
東京女子医科大学医学部 教授

研究分担者：三森 経世
京都大学大学院医学研究科臨床免疫学
教授

研究分担者：山田 亮
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) は国内患者数が最多 (約 80 万人) の自己免疫疾患であり、社会的逸失利益の大きい疾患である。病因として喫煙などの環境因子に加え、ゲノム網羅的相関解析 (GWAS) により多くの遺伝因子が明らかになったが、少な

からず人種差が存在している。また病状や薬物反応性には大きな個人差が認められるが、遺伝因子の違いが背景にあると考えられている。本研究課題の目的は RA をモデルケースとして common disease のテーラーメイド医療を実現化させることである。現在、実現化にあたり以下の問題点が挙げられている。1.現時点で確定している遺伝子多型では十分に疾患感受性を説明出来ない、2.疾患発症や重症度などの予測モデルが必要であるが、多因子を変数とする適切な統計モデルが確立されていない、3.構築したモデルを validation するコホートに乏しい。これらの問題解決のため国内の主要な RA 関連遺伝子研究機関を結集し特色ある研究組織を構成した。まず、国際的にも大規模な GWAS のメタ解析 (患者 4074 名、対照 16891 名) と追認解析 (患者 5000 名超、対照 20000 名超) を関連遺伝子解析の基盤とし、高い検出力により日本人における RA 感受性遺伝子多型の多くの同定が可能である。統計遺伝学専門家が参加することで高次元数学処理を必要とする解析も可能であり、長寿予測モデル (Science 2010) で有用性が示唆されたベイズ統計学による多変数モデルの利用など、多数の遺伝子多型と環境因子の相互作用も考慮した新しいモデル

も構築できる。さらに RA 患者 5 千名の 10 年を超える臨床データが蓄積された大規模コホート (IORRA) を有しており、構築したモデルを用いて詳細な検証が可能である。すでに抗リウマチ薬の副作用に対するテーラーメイド医療を実現しておりノウハウの蓄積がある。以上によりテーラーメイド医療実現化の可能性は高いと考えている。同時に主要な自己抗体の陰性・陽性患者別の遺伝背景の解明のほか、全身の骨破壊が著明な RA 患者 (ムチランス型) のエクソーム塩基配列解析をすることによって、その重要性が示唆されている rare variant の評価も行う。これらの解析を介して、特定の病態に標的を絞った創薬シーズが得られることも期待できる。

B. 方法

本研究目的を達成するため、これまで独立して RA 関連遺伝子に関する GWAS を行ってきた国内の主要研究機関を結集して学術コンソーシアムを組織した (GARNET コンソーシアム)。まず各機関で行った GWAS データ (discovery set: 患者計 4074 名、対照計 16891 名) を HapMap Phase II を reference として imputation を行って統合可能な状態に整え、ロジスティック回帰/線形回帰分析を行った後、Inverse-variance 法によるメタ解析を実施する (担当: 山田、山本)。ゲノムワイド水準をクリアした SNP も含め、上位の SNP について TaqMan 法を用いて追認解析 (replication set: 患者計 5,277 名、対照計 21,684 名) を行い、日本人における疾患感受性遺伝子多型 (common allele) を包括的に同定する (担当: 桃原、山本、松田、三森)。RA では HLA-DRB1 と疾患感受性との強い関連が同定されているが、TaqMan 法では詳細な遺伝子型の同定が困難なため、WAKFlow HLA タイピング試薬を用いて別途タイピングを行う。

C. 結果

まず、これまで独立して RA 関連遺伝子に関する GWAS を行ってきた国内の主要研究機関 (理化学研究所、京都大学、東京女子医科大学) で行った GWAS データ (discovery set: 患者計 4,074 名、対照計 16,891 名) を集積した (Quality control は各機関の基準による)。GWAS のプラットフォームは Illumina Human610/370/300、Affymetrix Human SNP Array6.0 であり、HapMap Phase II East Asian panel を reference として imputation を行って統合可能な状態に整え、ロジスティック回帰/線形回帰分析を行った後 Inverse-variance 法によるメタ解析を実施した。その結果、7 領域でゲノムワイド水準をクリアした (HLA-DRB1、CCR6、NFKBIE、TNFAIP3、ARID5B、PTPN2、PADI4)。

次いで、 $P < 5.0 \times 10^{-4}$ を示した領域のうち既知の疾患感受性領域を除く 47 遺伝子領域について、TaqMan 法を用いて追認解析 (replication set: 患者計 5,277 名、対照計 21,684 名) を行い、最終的に 9 つの RA の新規疾患感受性遺伝子 (B3GNT2、ANXA3、CSF2、CD83、NFKBIE、ARID5B、PDE2A-ARAP1、PLD4、PTPN2) を含む 23 遺伝子領域で疾患感受性との関連を確認し、日本人における比較的頻度の高い疾患感受性遺伝子多型 (common allele) を包括的に同定した。公開されている欧米人による GWAS メタ解析データを参照したところ、このうち少なくとも 15 領域で欧米人と疾患感受性領域を共有することを確認した。また RA で関連を認めた 23 遺伝子領域について全身性エリテマトーデス患者 891 例、バセドウ病患者 1,783 例を用い疾患感受性との関連を検討したところ、ANXA3 遺伝子が全身性エリテマトーデスと、B3GNT2 と ARID5B がバセドウ病と関連していることも確認した。

D. 考察

本研究の最終目標は RA をモデルとした common disease のオーダーメイド医療

を実現させることである。具体的には、遺伝子型をベースに個人の病態や薬剤の効果を予測する診断モデルの樹立、さらには特定の遺伝子を狙って抑えることによる日本人にふさわしい、副作用の少ない、より効果的な治療法の開発目標としている。

遺伝子多型は遺伝子の機能を質的量的に変化させて、表現型（自己免疫疾患においては個人が示す免疫反応の強さなど）に影響するが、今回の大規模な GWAS メタ解析により比較的頻度の高い遺伝子型 (common allele) のうち主要なもの (オッズ比 1.1~1.2 程度以上) についてはほぼ同定したと考えている。ただし疾患と関連する遺伝子多型には頻度が低いもの (rare allele) もあり、中にはアミノ酸置換等で疾患に与える影響の大きいものも存在することが知られている。今年度の目標は頻度の低い rare allele を包括的なアプローチにより網羅的に同定することであり、それによりオーダーメイド医療の実現に近づくと考えている。

E. 結論

日本人の関節リウマチにおけるこれまでにない大規模な GWAS メタ解析を行い、既報告の関連を追認するとともに、複数の新規感受性遺伝子領域を同定した。当初の研究計画通りに研究が進行しており、計画初年度の研究成果としては目覚ましい成果であったと考えている。

F. 健康危険情報

研究の結果、得られた成果の中に特に健康危険情報はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl

EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tani H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K.

Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

2. Non-synonymous variant (Gly307Ser) in CD226 is associated with susceptibility in Japanese rheumatoid arthritis patients.

Suzuki T, Ikari K, Kawaguchi Y, Yano K, Iwamoto T, Kawamoto M, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Mod Rheumatol. 2012 Feb 21. [Epub ahead of print]

3. The influence of individual joint impairment on functional disability in rheumatoid arthritis using a large observational database of Japanese patients.

Shidara K, Inoue E, Hoshi D, Tanaka E, Seto Y, Nakajima A, Momohara S, Taniguchi A, Yamanaka H.

J Rheumatol. 2012 Mar;39(3):476-80. Epub 2012 Jan 15.

4. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01.

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T.

Ann Rheum Dis. 2012 Jun;71(6):1095-7.

Epub 2012 Jan 10.

5. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T.

Ann Rheum Dis. 2011 Dec;70(12):2134-9.

Epub 2011 Aug 27.

6. Standard treatment in daily clinical practice for early rheumatoid arthritis improved disease activity from 2001 to 2006.

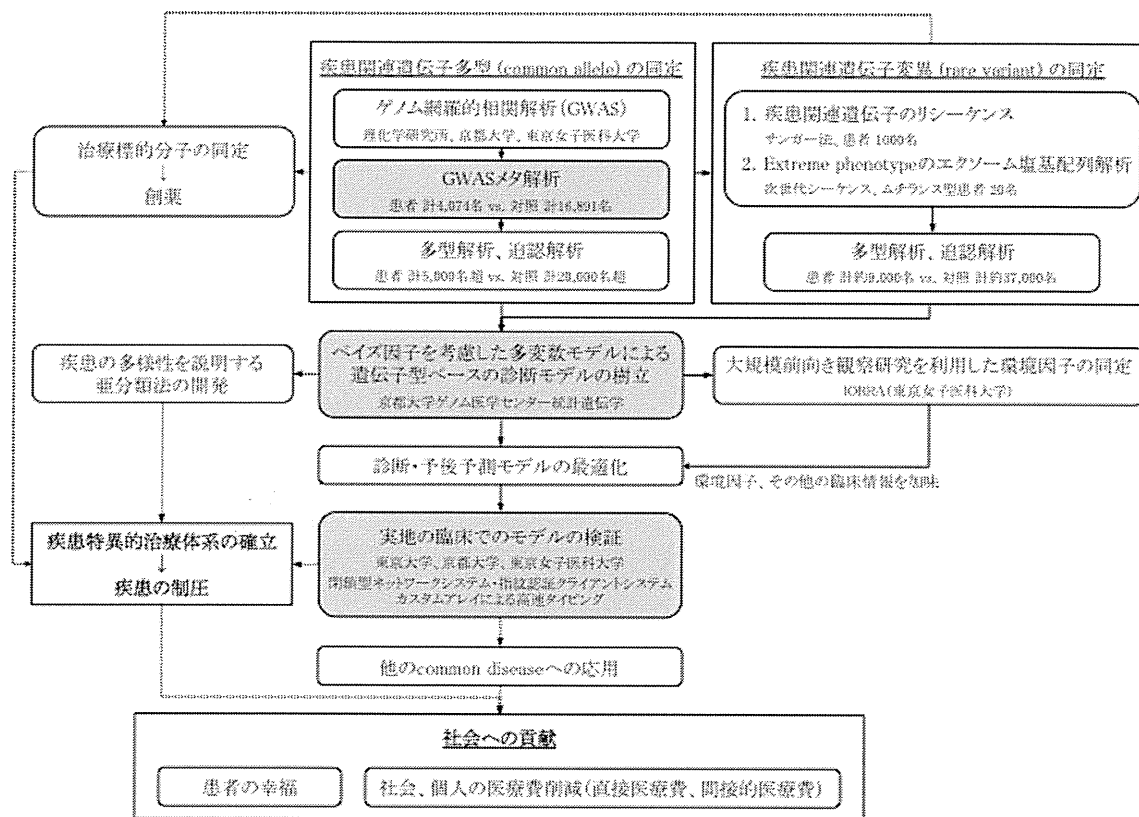
Nakajima A, Inoue E, Shidara K, Hoshi D, Sato E, Seto Y, Tanaka E, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H.

Mod Rheumatol. 2011 Dec;21(6):594-7.

Epub 2011 Apr 23.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

流れ図



II. 分担研究報告

分担研究報告書

日本人における関節リウマチのゲノムワイド関連解析メタ解析に関する研究

研究分担者 山本 一彦 理化学研究所ゲノム医科学研究センター チームリーダー

研究要旨：日本人で行われた3つのGWASの結果を用いてメタ解析を行うとともに、候補領域の追認関連解析を行うことによって、20を超える関節リウマチの疾患感受性遺伝子領域の存在を明らかにするとともに、複数の新規感受性遺伝子領域を同定した。

研究分担者：山本 一彦
理化学研究所ゲノム医科学研究センター
チームリーダー

研究協力者：岡田 随象、高地 雄太
理化学研究所ゲノム医科学研究センター

A. 研究目的

これまで、関節リウマチの感受性遺伝子の網羅的探索を目的として、複数のゲノムワイド関連解析（GWAS）が行われてきたが、検出力の問題から感受性遺伝子の同定は十分なものではなかった。本研究では、日本人で行われた3つのGWASの結果を用いてメタ解析を行うとともに、候補領域の追認関連解析を行うことによって、より包括的な感受性遺伝子の同定を行う。

B. 方法

これまで行われた3つのGWAS（GWASセット1、患者2,414人、対照14,245人；セット2、患者1,237人、対照2,087人；セット3、患者423人、対照559人；計、患者4,074人、対照16,891人）の結果を用いた。解析対象SNPをGWAS間で共通のものとするため、HapMapデータベースに登録されている約195万SNPについて、MACHソフトウェアを用いて遺伝子型の推定（imputation）を行ったうえで、関連解析のメタ解析を行

った。メタ解析で中等度の関連（ $P < 5.0 \times 10^{-4}$ ）を示した領域については、追認関連解析を行った（追認解析セット、患者5,277人、対照21,684人）。

C. 結果

GWASのメタ解析の結果、*HLA*、*CCR6*、*NFKBIE*、*TNFAIP3*、*ARID5B-RTKN2*、*PTPN2*、*PADI4*の各遺伝子領域のSNPに、ゲノムワイド水準を満たす関連が同定された（ $P < 5.0 \times 10^{-8}$ ）。また、これらの領域以外の中等度の関連を示した領域についても追認解析を行なったところ、*B3GNT2*、*ANXA3*、*CSF2*、*CD83*、*PDE2A-ARAP1*、*PLD4*の領域に、新規の関連が明らかになった。欧米人におけるGWASメタ解析の結果との比較では、感受性遺伝子の一部は人種特異的なものであることが明らかになった。またメタ解析で弱い関連を示した領域には、寄与の小さい、人種間で共通の遺伝因子が存在することが示唆された。

D. 考察

メタ解析の結果から、日本人においても20を超える疾患感受性遺伝子領域が存在することが明らかになった。これらの候補領域における詳細な解析による原因多型の同定を行うとともに、疾患感受性多型を複数組み合わせることによって、疾患の予後予測や、病因に基づいた薬剤

反応性の予測モデルを樹立する必要があると考えられる。また、より寄与の小さい遺伝因子の同定のために、世界レベルでのメタ解析を行う必要がある。

E. 結論

日本人の関節リウマチにおけるこれまでにない大規模なGWASメタ解析を行い、既報告の関連を追認するとともに、複数の新規感受性遺伝子領域を同定した。また、遺伝因子には少なからず人種差があることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

分担研究報告書

ゲノム関連解析を用いた抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ疾患感受性遺伝子同定に関する研究

研究分担者 松田 文彦 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

研究要旨: 関節リウマチ患者の20-30%を占める抗シトルリン化ペプチド抗体 (ACPA) 陰性患者における疾患感受性遺伝因子の同定を目的に、日本人で行われた3つの GWASの結果を用いてメタ解析を行うとともに、候補領域の追認関連解析を行い、3つの染色体領域がACPA陰性RAに対する感受性に関わっている可能性が示唆された。

研究分担者: 松田 文彦
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

研究協力者: 寺尾 知可史
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 助教

A. 研究目的

抗シトルリン化ペプチド抗体 (ACPA) は、関節リウマチ (RA) において特異度の高い抗体である一方、RA 患者の20-30%は ACPA 陰性である。これまで RA の疾患感受性遺伝子は全ゲノム関連解析 (GWAS) により数多く報告されてきたが、それらの多くは ACPA 陽性 RA を用いた解析であった。また、ACPA 陰性 RA は陽性 RA と遺伝的に異なる病型であることが示されているが、これまで ACPA 陰性 RA に特異的な感受性遺伝子の報告はない。本研究は、GWAS 水準で有意な ACPA 陰性 RA 疾患感受性遺伝因子の同定を目的とする。

B. 方法

理化学研究所、東京女子医大、京都大学で集積された ACPA 陰性 RA 検体 644 例と対照群 16,891 例を用い、一塩基多型 (SNP) を用いた GWAS を行った。結果を基に HapMap データを鋳型にして

imputation を行い、施設ごとにアレル数に基づく関連解析を施行し、結果を inverse-variance 法を用いたメタ解析を行った。関連を示したもの ($p < 0.0001$) 上位の中から、追認試験が可能なマーカーでありかつ各領域で最も強い関連を示すものを選別し、ACPA 陰性 RA 検体 641 例と対照群 19,828 例からなる独立検体群を用いて追認試験を行った。そしてその結果候補となったマーカーに関し、遺伝子の発現における影響を GEO データベースの遺伝子発現データを用いて評価した。

C. 結果

メタ解析の genomic control での inflation factor は 0.998 であった。メタ解析の結果 $p < 0.0001$ の関連を示した 68 マーカーの内、追認試験に 35 個を選別した。その結果、 $p < 0.05$ を示したマーカーは染色体 1q21-22、21q22.2、6p21.31 の3領域であった。また、これらのマーカーで遺伝子発現と強い関連を示したものはなかった。

D. 考察

genomic control の結果、用いたデータに構造化はなく、解析結果の補正は不要と考えられた。ACPA 陰性 RA 感受性候補領域3つの中の1つは、ACPA 陽性での関連が報告されているものであった。

E. 結論

3つの染色体領域が ACPA 陰性 RA に対する感受性に関わっている可能性が示唆され、そのうち1つは ACPA 陽性 RA の感受性領域と同一であった。これら3つの領域に真の関連があるか否かを検証するため、ACPA 陰性 RA 患者検体を増やしてタイピングを実施する予定である。また、欧米人の ACPA 陰性 RA 検体を用いた関連解析のデータを用い、二人種に共通した感受性領域の検索や、リウマチ因子の陽性/陰性による層別化解析を検討している。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

2. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01.

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2012 Jun;71(6):1095-7. Epub 2012 Jan 10.

3. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2011 Dec;70(12):2134-9. Epub 2011 Aug 27.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

分担研究報告書

ゲノム網羅的関連解析による関節リウマチ重症化関連因子の同定に関する研究

研究代表者 桃原 茂樹 東京女子医科大学 教授
研究分担者 山中 寿 東京女子医科大学 教授

研究要旨：関節リウマチ患者の病態は患者により大きく異なるが、その背景には遺伝要因の違いがあると考えられる。GWASによりRAにおける骨関節破壊関連因子の同定を試み、追認解析とのメタ解析も行ったが、ゲノムワイド水準を超える有意な骨関節破壊関連遺伝子の同定は出来なかった。サンプルサイズの拡大を検討する必要がある。

研究代表者：桃原 茂樹
東京女子医科大学 医学部 教授

研究分担者：山中 寿
東京女子医科大学 医学部 教授

研究協力者：猪狩 勝則
東京女子医科大学 医学部 准教授

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）は病勢の悪化に伴い多関節破壊を生じ、日常生活動作に大きな支障をきたす。その発症および進展には多くの遺伝要因が関与していることと考えられており、特にゲノム網羅的関連解析（GWAS）が可能となって以来、精力的に遺伝背景の解明が進められている。疾患重症化には疾患の発症とは異なる遺伝要因が関与していることも予想されるが、これまでに行われたGWASは主に疾患感受性をターゲットとしていた。本研究の目的は、GWASによりRAにおける骨関節破壊関連因子を同定することである。

B. 方法

発症5年時の両手X線を用いたSharp van der Heijde score (SHS, hands)により関節破壊を評価した。罹病期間を揃えることで関節破壊に強い影響を与える罹病期間

の影響を排除することを試みた。IORRA DNA collectionのうち865例でSHSが得られており、これを用いてまず遺伝要因以外の関節破壊関連因子の同定を行った。これは遺伝解析時に必要な調整を加えるためである。次いでGWAS群（n = 411）と追認解析群（n = 454）の2群に分け、まず回帰分析によるGWASを行った。GWASには一定の関連を示したもの（ $P < 5 \times 10^{-5}$ ）の中から、各領域で最も強い関連を示す一塩基多形（SNP）を選別し、追認解析群によりvalidationを行った。さらにGWASの結果とメタ解析を加えた。

C. 結果

遺伝要因以外の関節破壊関連因子として最も強い関連を示したのは平均DAS28（疾患活動性指標）であり（高値、 $P < 2 \times 10^{-16}$ ）、次いで抗シトルリン化ペプチド抗体（ACPA、陽性、 $P = 0.001$ ）、発症年齢（若年、 $P = 0.002$ ）であった。この3因子による調整を加えたGWASにより20 SNPsが $P < 5 \times 10^{-5}$ を満たし、このうち13 SNPsについて追認解析を行った。追認解析でも同様に平均DAS28、ACPA、発症年齢による調整を加えた。これまでに8 SNPsについて追認解析を終え、うち7pに位置する1 SNPで有意な関連が得られた（ $P = 0.0039$ ）。しかしメタ解析の結果はゲノムワイド水準を満たすものでは

なかった ($P = 7.8 \times 10^{-7}$)。

D. 考察

ゲノムワイド水準を満たす関連を同定できなかった原因は低い検出力である可能性が高いが、現時点で大規模なサンプル数の増加は期待できず、国際共同研究の道を探る必要もある。

E. 結論

現時点で RA の骨関節破壊との関連が示唆される 1 つの染色体領域を同定した。今後、引き続き追認解析を行うとともに、関連が示唆された領域のさらなる解析を検討している。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

2. Non-synonymous variant (Gly307Ser) in CD226 is associated with susceptibility in Japanese rheumatoid arthritis patients.

Suzuki T, Ikari K, Kawaguchi Y, Yano K, Iwamoto T, Kawamoto M, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. Mod Rheumatol. 2012 Feb

3. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01.

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2012 Jun;71(6):1095-7. Epub 2012 Jan 10.

4. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2011 Dec;70(12):2134-9. Epub 2011 Aug 27.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

分担研究報告書

抗シトルリン化ペプチド抗体陰性関節リウマチ患者とHLAの関連に関する研究

研究分担者 三森 経世 京都大学大学院医学研究科臨床免疫学 教授

研究要旨：HLA-DRB1領域は関節リウマチ（RA）患者において最も強い遺伝的要因であるとされている。本研究ではRA患者の20-30%を占める抗シトルリン化ペプチド抗体陰性患者におけるHLA-DRB1関連アレルを検討し、感受性アレルとしてHLA-DRB1*12:01, *04:05, *14:03、抵抗性アレルとしてHLA-DRB1*15:02, *13:02が見出された。

研究分担者：三森 経世
京都大学大学院医学研究科臨床免疫学
教授

研究協力者：大村 浩一郎 京都大学
大学院医学研究科臨床免疫学 講師

A. 研究目的

関節リウマチ（RA）の疾患感受性遺伝子としてはHLAが最も強く、全遺伝的因子の約4分の1を占める。しかしながら、抗シトルリン化ペプチド抗体(ACPA)陰性RA（RA全体の約20%）では、HLAとの関連が弱いことが示されている。これまでにACPA(-)RAと関連するHLAアレルの報告は欧米、日本からごく少数認められるが、サンプル数が少なく一貫した報告が見られなかった。我々は理化学研究所、東京女子医科大学のRAサンプルを加えてサンプル数を大幅に増やし、ACPA(-)RAと関連するHLAアレルの探索を試みた。

B. 方法

368例のACPA(-)RAと1508例の健常者を第1セットとしHLA-DRB1のタイピングを行い、関連解析を行った。得られた結果をもとに、501例のACPA(-)RAと500例の健常者を第2セットとして用いreplication studyを行った。統計解析はFisherの正確検定を用いた。

C. 結果

HLA-DRB1*12:01がACPA(-)RAと関連する新規感受性アレルとして示された(p=0.000088, OR 1.72, 95%CI: 1.20-2.73)。また、HLA-DRB1*04:05, *14:03も中等度の関連を示した(それぞれp=0.0063, OR 1.26, 95%CI: 1.07-1.49, p=0.0043, OR 1.81, 95%CI: 1.20-2.73)。ハプロタイプで見るとHLA-DRB1*12:01/*09:01(p=0.00013, OR 3.62, 95%CI: 1.79-7.30)およびHLA-DR8/DR8のhomozygosityが感受性に関連した(p=0.0070, OR 2.16, 95%CI: 1.22 - 3.82)。一方、HLA-DRB1*15:02および*13:02は抵抗性に関連した(それぞれp=0.00010, OR 0.68, 95%CI: 0.56-0.83, p=0.00059, OR 0.66, 95%CI: 0.52-0.84)。

D. 考察

RA罹患双生児の研究からACPA(-)RAもACPA(+)-RAと同程度の遺伝的因子が関係していることが示されているが、検体数の少なさのためか、これまでACPA(-)RAに関連するHLAアレル報告はわずかで、一貫性もなかった。本研究では理化学研究所と東京女子医大の協力により計869例ものACPA(-)RAサンプルを用いることができ、有意水準を満たすACPA(-)RA感受性および抵抗性アレルを複数見出すことができた。欧米においてはACPA(-)RAと関連するHLAはDR3とDR13の報告があるが、いずれも

我々の結果とは異なり、アジア人と欧米人の人種差を示していると考えられる。

E. 結論

ACPA(-)RA と関連する HLA アレルを複数発見した。感受性アレルとして HLA-DRB1*12:01, *04:05, *14:03、抵抗性アレルとして HLA-DRB1*15:02, *13:02 が見出された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K.

Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

2. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01.

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2012 Jun;71(6):1095-7. Epub 2012 Jan 10.

3. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2011 Dec;70(12):2134-9. Epub 2011 Aug 27.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

分担研究報告書

GWASメタ解析、診断・予後予測モデルの作成、最適化に関する研究

研究分担者 山田 亮 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

研究要旨：日本人で行われた3つのGWASの結果を用いてメタ解析を行うとともに、候補領域の追認関連解析を行うことによって、20を超える関節リウマチの疾患感受性遺伝子領域の存在を明らかにするとともに、複数の新規感受性遺伝子領域を同定した。

研究分担者：山田 亮
京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授

A. 研究目的

ゲノム網羅的関連解析は、疾患メカニズムの精緻な解明に向けて、遺伝学的・形質的に異質な標本を統合した解析を進める必要がある。次世代シーケンシング技術の活用により、対象とする遺伝的多様性が個別化するとともに、臨床病態も個別化して遺伝的影響を把握することで、テーラーメイド医療への応用することが目指されている。これを実現するために、異質な標本を統合する解析手法・個別化した情報の活用手法の開発が必要である。本研究では、そのような手法を開発することを目指す。

B. 方法

プロジェクト初年度の今年度は、病態の多様性を解析標的とするために、多彩な病像を特徴とする自己免疫疾患を解析の視点から複数のサブフェノタイプに分解することを試みた。分類・診断基準というサブフェノタイプを解析上の特性から評価し、その組み合わせ方を検討するとともに、基準に含まれないサブフェノタイプも含めて、サブフェノタイプへの遺伝子影響を確率論的にモデル化した。

C. 結果

比較的単純なモデル化により、サブフェノタイプの出現・消失、量的変化をモデル化すること成功した。また、そのモデルをシミュレーションするプログラムの実装を進めた。モデル化を通じて、変数化する要因をリストアップできた。個々の遺伝子多型とそのジェノタイプは、モデルの変数化した要因に影響を与えるものとして、その遺伝的影響を評価することができるので、遺伝子多型がモデル化変数に及ぼす影響を定量的にとらえ、シミュレーションする基本的枠組みを構成することができた。

D. 考察

理論的なサブフェノタイプとそれへの遺伝子多型影響をシミュレーションする基本的枠組みができたので、モデルを用いた遺伝子影響検出のための統計的手法の検討が可能となった。また、臨床的・実験的に観察可能なサブフェノタイプにモデルを適用するための課題について臨床研究者・実験系研究者と討議を進める準備ができた。

E. 結論

ゲノム網羅的関連解析に用いられる、新規実験技術に即し、また、テーラーメイド医療への応用を目指した、統計解析手法を開発するための基礎的検討を進展させた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Nat Genet. 2012 Mar 25;44(5):511-6. doi: 10.1038/ng.2231.

2. Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1*09:01.

Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2012 Jun;71(6):1095-7. Epub 2012 Jan 10.

3. A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.

Terao C, Ohmura K, Kochi Y, Ikari K, Maruya E, Katayama M, Shimada K,

Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, Yamamoto K, Momohara S, Yamanaka H, Yamada R, Saji H, Matsuda F, Mimori T. Ann Rheum Dis. 2011 Dec;70(12):2134-9. Epub 2011 Aug 27.

H. 知的財産権の出願・登録状況
予定なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表