

球抗体投与ではそれぞれ60%と40%にまで抑制された。本実験データより、AADの発症にはAngIIの作用で血管内膜に浸潤した好中球がMMP9の作用で大動脈の組織内微小環境を破壊することが深く関わりと推定された。

(6) 皮膚血管炎症例の病理組織と臨床所見のレポジトリ作成

データベースのプロトタイプを作成した。汎用性が高く、将来的にも継続利用が行いやすいマイクロソフト・エクセル2007を用いた一覧表を作成し、容易に検索やソーティングを行うことができるようにした。診断名、年齢、性別、皮膚所見、皮膚病理所見、罹患血管レベル、蛍光抗体法、血液検査所見、PR3-, MPO-ANCAなどをパラメーターとした、一覧性および検索性を有するテーブルを作成した。さらに、ハイパーリンクを用いて、臨床写真や組織所見を容易に閲覧することは勿論、バーチャルスライドシステムによって、データベースを有するPC上で、皮膚病理組織の全体像および任意部位の強拡大像などを、自在に観察することも可能とした。難治性血管炎診断の手引きの改訂に向けて、代表的な病理組織所見を選択している。ANCA関連血管炎の研究グループと連携をとり、診療ガイドラインのサマリーを改訂版に掲載する計画を進めている。本研究班の最終年度に改訂版を完成させる予定である。

国際研究協力分科会

(1) DCVAS (ACR/EULAR endorsed study to Development Classification and Diagnostic criteria for primary

systemic Vasculitis)

平成24年10月上旬の時点で1662例の登録に至った。目標は3500例、世界各国75施設からであり、平成25年6月に登録を終了する予定であることが、VCRCではGrayson Pから報告があった。EUVASおよびVCRCから、日本からの再度登録を促す依頼があった。

(2) PEXIVASへの参加

日本からも参画へ向け検討が加えられ、2施設では倫理委員会にて承認、1施設で申請中、その他にも2施設が申請に向け検討中である。日本国内の体制を確立し、国際事務局(英国Oxford大学)と契約を締結した。近々、国際共同臨床試験として症例登録を開始する予定である。

(3) MPA日欧比較研究

臨床試験症例としてEUVASとJMAAVよりそれぞれ254及び48例が登録され、非臨床試験症例として英国と日本よりそれぞれ147及び312例が登録された。発症年齢、ANCAのserotype、腎機能、腎外症状、生命予後、腎予後などが比較検討している。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakazawa D, Tomaru U, Suzuki A, Masuda S, Hasegawa R, Kobayashi T, Nishio S, Kasahara M, Ishizu A. Abnormal conformation and impaired degradation of neutrophil extracellular traps induced by propylthiouracil: Implication of disordered neutrophil extracellular traps in a rat model of myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 64(11): 3779-3787, 2012.
- 2) Machi Suka, Taichi Hayashi, Shigeto Kobayashi, Satoshi Ito and Wako Yumura, et al. Improvement in health-related quality of life in MPO-ANCA-associated vasculitis patients treated with cyclophosphamide plus prednisolone: an analysis of 18 months of follow-up data from the JMAAV study. *Mod Rheumatol. Online First™*, 3 February 2012
- 3) Shoichi Ozaki, Tatsuya Atsumi, Taichi Hayashi, Akihiro Ishizu and Shigeto Kobayashi, et al. Severity-based treatment for Japanese patients with MPO-ANCA-associated vasculitis: the JMAAV study. 2012, Volume 22, Number 3, Pages 394-404
- 4) Yamanishi Y, Ito-Ihara T, Nagao T, Uno K, Kobayashi S, Muso E, Shane PY, Firestein GS, Hashimoto H, Okazaki T, Suzuki K. Clinical features of patients with anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies targeting native myeloperoxidase antigen. *Mod Rheumatol.* 2012 Oct 21
- 5) Wada T, Hara A, Arimura Y, Sada KE, Makino H; Research Group of Intractable Vasculitis, Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan. Risk factors associated with relapse in Japanese patients with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol.* 2012Mar;39(3):545-51.
- 6) Tsuchiya N. Genetics of ANCA-associated vasculitis in Japan - a role for *HLA-DRB1*09:01* haplotype. *Clin Exp Nephrol* 2012; doi 10.1007/s10157-012-0691-6.
- 7) Tsuchiya N. Genetics of Microscopic polyangiitis in the Japanese population. *Ann Vasc Dis* 2012;5:289-295.
- 8) Takamura C, Ohhigashi H, Ebana Y, Isobe M. New human leukocyte antigen risk allele in Japanese patients with Takayasu arteritis. *Circ J.* 76(7):1697-1702, 2012.
- 9) Tamai H, Takeshita K, Banno H, Yamamoto K, Komori K: Possible Involvement of Notch Signaling For the Pathogenesis of Buerger's Disease : *Surgery Today*, in press
- 10) Hirahashi J, Jo A, Ueda K, Tojo A, Fujita T. Successful treatment of antineutrophil cytoplasmic

- antibody-associated vasculitis with eicosapentaenoic Acid. *Annals of Internal Medicine* 156:755-756, 2012
- 11) Tanaka M, Ishibashi Y, Hirahashi J, Fujita T. Peritoneal dialysis with takayasu arteritis: a report of three cases. *Ther Apher Dial* 16:198-199, 2012
- 12) Kawakami T, Ishizu A, Arimura Y, Soma Y. Serum Anti-lysosomal-associated membrane protein-2 antibody levels in cutaneous polyarteritis nodosa. *Acta Derm Venereol* (in press)
- 13) Nakazawa D, Tomaru U, Ishizu A. Possible implication of disordered neutrophil extracellular traps in the pathogenesis of MPO-ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Nephrol* (in press)
- 14) Homma S, Suzuki A, Sato K: Pulmonary involvement in ANCA-associated vasculitis from the view of pulmonologist. *Clin Exp Nephrol*, DOI 10.1007/s10157-012-0710-7, 2012
- 15) Sugiyama K, Sada KE, Kurosawa M, Wada J, Makino H. Current status of the treatment of microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis in Japan. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Jul 5. [Epub]
- 16) 草生真生雄, 山路健, 高崎芳成: 血小板減少を伴う自己免疫性疾患(自己免疫性血小板減少, 抗リン脂質抗体症候群). *日本アフェレシス学会雑誌* (31) 33-40, 2012
- 17) 菊池正雄、藤元昭一: 急速進行性腎炎・血管炎を見逃さないために. 連携して診る腎疾患. 腎疾患の鑑別とマネジメントの要点. *Medicina*. 49: 1952-1956, 2012
- 18) 松下雅和, 松平蘭, 高崎芳成: エリア MPOs-ANCA/・PR3s-ANCA測定試薬による抗好中球細胞質抗体の臨床的有用性. *医学と薬学* (68) 357-363, 2012
- 19) 小林茂人. ANCA関連難治性中耳炎 診断治療におけるピットホールとジレンマ 解消 ANCA関連血管炎の診断の難しさと治療の重要性 内科の立場から *Oology Japan*(0917-2025) 22巻4号 Page321, 2012.
- 20) 土屋 尚之, 川崎 綾, 長谷部 成美, 井上 尚哉, 伊東 郁恵, 安心院 千裕, 住田 孝之, 古川 宏, 當間 重人, 小林茂人, 橋本 博史, 山田 秀裕, 尾崎承一, 佐田 憲映, 槇野 博史, 富田 誠, 宮坂 信之, 針谷 正祥、日本人集団におけるANCA関連血管炎の遺伝的背景、MHC: Major Histocompatibility Complex (2186-9995) 19巻2 号 Page172、2012.
- 21) 土屋尚之: ANCA関連血管炎の遺伝因子. *感染炎症免疫* in press
- 22) 土屋尚之: ANCA関連血管炎疾患感受性遺伝子. *日本臨床* 2013 (増刊) in press.
- 23) 田中みち、針谷正祥: 血管炎症候群と新しい免疫抑制剤薬。(特集: 心血管疾患と炎症)、*Heart View*16:96(184)-103(191), 2012.
2. 学会発表
- 1) Masahiro Yamamura, Ken-ei Sada, Takao Fujii, Masayoshi Harigai, Yoshihiro Arimura, Hirofumi Makino. The 1st interim analysis of a

- prospective cohort study of ANCA associated vasculitides in Japan, the RemIT-JAV study. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan. March 28-31, 2012
- 2) Makino H. Epidemiology and Clinical Feature of Medium to Small Vessel Vasculitis Overview. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan. March 28-31, 2012
 - 3) M. Yamamura, K.E. Sada, T. Fujii, M. Harigai, Y. Arimura, H. Makino on behalf of the MHLW intractable vasculitis research group. Classification of 156 Japanese patients with ANCA-associated vasculitides by using the European Medicines Agency algorithm with the addition of surrogate markers for pulmonary vasculitis. EULAR Congress 2012. Berlin. June 6 - 9, 2012
 - 4) M. Yamamura, K.-E. Sada, T. Fujii, M. Harigai, Y. Arimura, H. Makino on behalf of the MHLW intractable vasculitis research group. The 1st interim analysis of a prospective cohort study of ANCA-associated vasculitides in JAPAN, the RemIT-JAV study. EULAR Congress 2012. Berlin. June 6 - 9, 2012
 - 5) Hayashi T, Kobayashi S, Yumura W, Suka M, Ito S, Ozaki S. The impact of smoldering vasculitis at prognosis and incidence of complications in MPO-ANCA associated vasculitis. P138, PD1-72, The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
 - 6) Kobayashi S. Takayasu's arteritis and Giant cell arteritis, p71, SY2-1, The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
 - 7) Okuzaki D, Miura N, Kobayashi S, Okamoto A, Torigata K, Sakurai M, Naoi K, Saji T, Ohno N, Nojima H. Pivotal role of the complement system in the pathogenesis of vasculitis. P117, PD1-05, The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
 - 8) Tsuchiya N, Kawasaki A, Ito I, Ajimi C, Kobayashi S, Yamada H, Furukawa H, Tohma S, Tomita M, Sumida T, Tokunaga K, Miyasaka N, Hashimoto S, Ozaki S, Makino H, Harigai M. Genetic background of ANCA-associated vasculitis in Japanese population: A candidate gene study. p68, SY1-1, The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan.
 - 9) Fujimoto S, Kobayashi S, Suzuki K, Watts R, Jayne D, Scott D, Hashimoto H, Nuno H. Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody

- (ANCA)-associated vasculitis in Japan. P80, SY5-3, The Asia Pasific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
- 10) Ozaki S, Atsumi T, Hayashi T, Ishizu A, Kobayashi S, Kumagai S, Kurihara Y, Kurokawa M, Makino H, Nagafuchi H, Suka M, Tomino Y, Yamada H, Yamagata K, Yoshida M, Yumura W for the JMAAV Study Group. Severity-based treatment for Japanese patients with MPO-ANCA-associated vasculitis: The JMAAV study. P85, SY7-1, The Asia Pasific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
- 11) Kobayashi S, Fujimoto S, Hirahashi J, Takahashi K, Ito-Ihara T, Amano K, Arimura Y, Dobashi H, Muso E, Nkajima H, Wada T, Yamada H, Yamagata K, Yumura W, Craven A, Robson J, Luqmani R, Suzuki K, Makino H. An update of registration of DCVAS in Japan. P99, IVR-1, he Asia Pasific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28-31, Tokyo, Japan
- 12) Kawasaki A, Inoue N, Ajimi C, Ito I, Sada K, Kobayashi S, Yamada H, Furukawa H, Tomita M, Tohma S, Sumida T, Tokunaga K, Miyasaka N, Hashimoto S, Ozaki S, Makino H, Harigai M, Tsuchiya N. Genetic background of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in Japanese population: Association of *STAT4* with myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis. S657, 1535, The ACR 2012 annual scientific meetng Nov. 9-14, Washington, DC, 2012.
- 13) Yamanishi Y, Ito-Ihara T, Kobayashi S, Shane PY, Firestein GS, Hashimoto H, Suzuki K. Clinical Features of patients with anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies targeting native myeloperoxidase antigen. S657, 1536, The ACR 2012 annual scientific meetng Nov. 9-14, Washington, DC, 2012.
- 14) Ishizu A. Autoreactive NKT cell-mediated small vessel vasculitis in rats. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 15) Ishizu A, Tomaru U, Murai T, Yamamoto T, Yoshiki T, Yumura W, Yamagata K, Yamada H, Kumagai S, Kurokawa MS, Suka M, Makino H, Ozaki S. Prediction of prognosis by gene expression profiling of peripheral blood in Japanese patients with MPO-ANCA associated vasculitis after standard treatment: JMAAV subanalysis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 16) Nakazawa D, Nishio S, Shibasaki S, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A.

- Abnormal formation and impaired degradation of neutrophil extracellular traps induced by propylthiouracil are implicated in the pathogenesis of MPO-ANCA associated vasculitis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 17) Matsumoto T, Hasegawa H, Ishizaki J, Onishi S, Suemori K, Yasukawa M. Protein kinase C inhibitor generates human tolerogenic dendritic cells that induce Tr1 and Foxp3+ regulatory T cells. 76th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology. Nov 12, 2012, Washington DC, USA.
- 18) Hasegawa H, Miyazaki T, Matsumoto T, Onishi S, Suemori K, Nose M, Yasukawa M. Antagonist of CXCL16 ameliorates the progression of vasculitis in arteritis-prone Mch5/lpr mice. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 29, 2012, Tokyo, Japan.
- 19) Hasegawa H, Matsumoto T, Onishi S, Suemori K, Yasukawa M. Analysis of the bioactive molecules that promote the induction of human tolerogenic dendritic cells and application to therapy for vasculitis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 29, 2012, Tokyo, Japan.
- 20) Nakamura H, Kubo M, Fukuta S, Matsuzaki M, Sonoda K, Suga K: Nobel trial using PET-CT scanning for ocular diseases complicated with Takayasu arthritis and other connective diseases. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 21) Nakaoka Y, Arita Y, Higuchi K, Hashimoto T, Yasui T, Yamamoto K, Sakata Y, Fujio Y, Yamauchi-Takahara K, Tanaka T, Kishimoto T, and Komuro I. Efficacy of tocilizumab in the treatment of refractory patients with Takayasu Arteritis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 22) Takeuchi S, Soma Y, Waki M, Yamaguchi M, Nakazawa D, Tomaru U, Ishizu A. The presence of anti-LAMP-2 antibody induces cutaneous vasculitis of rats. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. March 28-31, 2012. Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 23) Homma S: Pulmonary Involvement in AAV. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. Tokyo Japan, 2012.3 (Educational lecture)
- 24) Sato K, Suzuki A, Kusano E, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Homma S: Pulmonary manifestations in microscopic polyangiitis. The Asia

- Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. Tokyo Japan, 2012.3 (AP-VAS 2012 poster Award)
- 25) Gocho K, Sugino K, Sato K, Kikuchi N, Ishida F, Sano G, Isobe K, Sakamoto S, Takai Y, Mitsuda A, Shibuya K, Uekusa T, Kurosaki A, Homma S: A Case of microscopic polyangiitis with preceding interstitial pneumonia diagnosed by surgical lung biopsy. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012. Tokyo Japan, 2012.3
- 26) Katsuyama T, Sada KE, Katsuyama E, Watanabe H, Takano M, Toyota N, Sugiyama K, Wakabayashi H, Kawabata T, Makino H. The Relapse and the Maintenance Immunosuppressive Therapy in Patients with ANCA Associated Vasculitis The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA 2012 Shinagawa, Tokyo, Japan March 28-31, 2012
- 27) Katsuyama E, Sada KE, Katsuyama T, Watanabe H, Takano M, Toyota N, Sugiyama K, Wakabayashi H, Kawabata T, Makino H. Risk Factors for the Adverse Effect in Patients with Rheumatic Diseases Treated with Azathioprine in Japan. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA 2012 Shinagawa, Tokyo, Japan March 28-31, 2012
- 28) Harigai M, Homma S, Dobashi H, Sada KE, Yamagata K, Usui J, Sugiyama H, Okada Y, Arimura Y, Matsuo S, Makino H. Observational Cohort study of Remission Induction Therapy in Japanese Patients with ANCA-Associated Vasculitis and Rapidly Progressive Glomerulonephritis (RemIT-JAV-RPGN). The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA 2012 Shinagawa, Tokyo, Japan March 28-31, 2012
- 29) Yoshitomo Hamano. Genomics and Genetics in ANCA-associated Vasculitis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 28, 2012, Tokyo Conference Center Shinagawa, Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 30) Yoshitomo Hamano, Tomokazu Nagao, Kazuo Suzuki, Hiromichi Yoshizawa, Eiji Kusano and Wako Yumura. Role of IL-17/IL-23 axis and pro-inflammatory cytokines in the pathogenesis of spontaneously occurring glomerulonephritis in a model of SCG/Kj mice. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 29, 2012, Tokyo Conference Center Shinagawa, Shinagawa, Tokyo, Japan.
- 31) Wako Yumura, Yoshitomo Hamano, Yoshiyuki Morishita, Osamu Saito, Chiharu Ito, Fumi Takemoto and Eiji Kusano. Urinalysis is the clue for early detection of ANCA-associated vasculitis. The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012, March 30, 2012, Tokyo Conference

Center Shinagawa, Shinagawa, Tokyo, Japan.

- 32) Daigo Nakazawa, Utano Tomaru, Saori Nishio, Tatsuya Atsumi, Masanori Kasahara, Akihiro Ishizu. Abnormal conformation and impaired degradation of neutrophil extracellular traps (NETs) induced by propylthiouracil (PTU): Implication of disordered NETs in MPO-ANCA-associated vasculitis (MPO-AAV). 第41回日本免疫学会総会・学術集会, 神戸, 2012.
- 33) 佐田憲映 針谷正祥 藤井隆夫 山村昌弘 有村義宏 槇野博史. わが国のANCA関連血管炎の前向きコホート研究 RemIT-JAV の中間解析: 第1報. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会. 高輪プリンスホテル (品川). 2012年4月26日—28日
- 34) 石津明洋, 外丸詩野, 江部広志, 浄土智, 藤咲 淳. Churg-Strauss 症候群による多発小腸穿孔により死亡した症例. 第17回血管病理研究会, 東京, 2012.
- 35) 石津明洋. 血管炎の新分類と新たな発症メカニズムの提唱. 第9回日本病理学会カンファレンス, 山口, 2012.
- 36) 土屋尚之、川崎綾、長谷部成美、井上尚哉、伊東郁恵、安心院千裕、住田孝之、古川宏、當間重人、小林茂人、橋本博史、山田秀裕、尾崎承一、佐田憲映、槇野博史、富田誠、宮坂信之、針谷正祥: 日本人集団における ANCA 関連血管炎の遺伝的背景. 第21回日本組織適合性学会、平成24年9月15日、

東京。

- 37) 高村千智: New human leukocyte antigen risk allele in Japanese patients with Takayasu arteritis. 第76回日本循環器学会学術集会(福岡)、平成24年3月17日

F. 知的所有権の出現登録状況

なし

Ⅲ. 分担研究報告

【基礎・病理分科会】

日本人集団における ANCA 関連血管炎の疾患感受性遺伝子に関する研究

研究分担者 土屋 尚之 筑波大学大医学医療系 教授

研究要旨

日本人集団における ANCA 関連血管炎の疾患感受性遺伝子解析を、候補遺伝子アプローチにより施行した。ほかの自己免疫疾患、膠原病との関連が確立した遺伝子多型は、血管炎を含めた免疫関連疾患の病因・病態に結びつく機能的変化を有する多型であると考えられることから、今年度は、昨年度途中経過を報告した *IRF5*, *STAT4*, *BLK* に関する解析をサンプルサイズを増やして施行するとともに、新たに、ユビキチン化に関連する遺伝子である *TNIP1*, *UBE2L3* を対象とした解析を施行した。ANCA 関連血管炎 223 例（顕微鏡的多発血管炎 [MPA] 151 例、多発血管炎性肉芽腫症 [GPA] 43 例、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 [EGPA] 21 例、分類不能血管炎 8 例、うち MPO-ANCA 陽性群 189 例）の解析により、MPA 群、MPO-ANCA 陽性群における *IRF5* rs10954213A アリル頻度および A アリル保有者頻度の減少、MPO-ANCA 陽性群における *STAT4* rs7574865T/T 遺伝子型頻度の増加、MPA 群、MPO-ANCA 陽性群における *UBE2L3* rs131654 T アリル頻度あるいは T/T 遺伝子型頻度の増加が検出された。これらの結果から、MPA、MPO-ANCA 陽性血管炎の発症リスクに関するいくつかの知見が示唆された。

A. 研究目的

近年、複数のリウマチ性疾患、自己免疫疾患に共通する疾患感受性遺伝子が予想以上に多いことが明らかになってきた。われわれは、欧米および中国において全身性エリテマトーデス (SLE) との関連が報告された *STAT4*, *IRF5*, *BLK*, *TNIP1*, *UBE2L3* の関連を日本人集団において確認するとともに、これらが関節リウマチ (RA) や全身性強皮症 (SSc) とも関連することを報告してきた (Kawasaki et al., Arthritis Rheum 2008, Kawasaki et al., Arthritis Res Ther 2009, Ito et al., Arthritis Rheum 2009a, Ito et al., Arthritis Rheum 2009b, Tsuchiya et al., Ann Rheum Dis 2009, Ito et al., Ann Rheum Dis 2010, Ito et al., Arthritis Rheum 2010, Kawasaki et al., Arthritis Res Ther 2010, Hasebe N, Ann Rheum Dis 2012)。これらは、自己免疫疾患の発症や病態形成に関連する機能的意義を持った多型あるいはそのような多型と連鎖不平衡にある多型と考えられる。

本研究では、これらを候補遺伝子として、日本人 ANCA 関連血管炎との関連を検討した。*IRF5*, *STAT4*, *BLK* に関しては、昨年度、ANCA 関連血管炎 169 例における予備的成果

を報告したが、本年度は、新たに進行性腎障害研究班 (RemIT-JAV-RPGN)、東京医科歯科大学関連病院グループとの連携を拡充し、223 例までサンプルサイズを増やすとともに、ユビキチン化関連分子である *TNIP1*, *UBE2L3* の解析も施行した。

B. 研究方法

「厚生労働省難治性血管炎に関する調査研究班」(平成 11~13 年度、橋本班)、「厚生労働省抗好中球細胞質抗体関連血管炎患者の genomic DNA 収集に関する研究班」(JMAAV [尾崎班]、RemIT-JAV [榎野班] 登録者対象) (平成 21 年度、針谷班)、「厚生労働省進行性腎障害に関する調査研究班 (松尾班)」(RemIT-JAV-RPGN) 各施設、国立病院機構相模原病院および東京医科歯科大学関連病院グループにて試料提供を受けた日本人 ANCA 関連血管炎 223 例 (顕微鏡的多発血管炎 [microscopic polyangiitis, MPA] 151 例、多発血管炎性肉芽腫症 [GPA] 43 例、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 [EGPA] 21 例、分類不能血管炎 8 例) を対象に、TaqMan genotyping assay により、*IRF5* rs10954213, *STAT4* rs7574865, *BLK* rs13277113, *TNIP1* rs7708392, *UBE2L3* rs131654 の遺伝子型を

決定し、既報の日本人健常対照群 511 例の遺伝子型と比較した。

(倫理面への配慮)

平成 11～13 年度「難治性血管炎に関する調査研究班」において多施設共同研究により提供を受け、連結不可能匿名化された形で保管されていた試料については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)に則り、「遺伝子研究の同意を得た既収集匿名検体 (A 群試料)」として使用する研究計画を筑波大学大学院人間総合科学研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会に諮り、承認を受けた。

また、「抗好中球細胞質抗体関連血管炎患者の genomic DNA 収集に関する研究班」「進行性腎障害に関する調査研究班」において提供を受けた試料、国立病院機構相模原病院および東京医科歯科大学関連病院グループにおいて提供を受けた試料については、それぞれ、筑波大学大学院人間総合科学研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会、東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会、各試料収集施設の倫理審査委員会に諮り、承認を受けた研究計画に則り、インフォームドコンセントを得、連結可能匿名化された資料を用いて施行された。

C. 研究結果

IRF5 rs10954213A は poly A signal を形成するのに対し、G アリルは poly A signal を置換する。*IRF5* mRNA レベルは、A アリルにおいて高く (Graham et al., PNAS 2007)、ヨーロッパ系集団における SLE (Graham et al., PNAS 2007)、日本人集団における SSc においてリスクとなる (Kawasaki et al., Arthritis Rheum 2008)。ANCA 関連血管炎との関連解析では、意外なことに、MPA 群および MPO-ANCA 陽性群において、A アリル頻度、A アリル保有者頻度が有意に減少していることが検出された (表 1)。

これは、*IRF5* の低発現、ひいては I 型インターフェロンの低発現が MPA、MPO-ANCA 陽性血管炎のリスクとなることを示唆する。

これは、Uno らが MPO-ANCA 陽性血管炎における I 型インターフェロンの発現低下を報告している (Uno et al., AP-VAS 2012, Tokyo) ことと整合性を持つ知見である。一方、ドイツでは、*IRF5* rs10954213A が GPA において増加しているとの報告がある (Wieczorek et al., J Mol Med 2010)。これらから、*IRF5* が、MPA/MPO-ANCA 陽性血管炎と GPA/PR3-ANCA 陽性血管炎の遺伝素因の違いの一つである可能性が示唆された。

STAT4 rs7574865 はイントロンに位置し、T アリルが RA、SLE、SSc のリスクとなる。ANCA 関連血管炎の解析では、MPO-ANCA 陽性血管炎において、T/T 遺伝子型の有意な増加が観察された (表 2)。一部の研究では、この遺伝子型は、*STAT4* mRNA の増加と関連すると報告されている (Abelson et al., Ann Rheum Dis 2009)。

BLK rs13277113 では、有意な関連は検出されなかった (表 3)。

TNIP1 は、NF- κ B 活性化を抑制するユビキチン修飾酵素 A20 (TNFAIP3) と結合するアダプター分子 ABIN-1 をコードし、発現低下と関連する rs7708392 C/C が日本人集団において SLE のリスク遺伝子型となる (Kawasaki et al., 2010)。本研究では、GPA における C アリル頻度の増加と、MPO-ANCA 陽性群における C/C 遺伝子型の増加傾向が検出された (表 4)。

UBE2L3 は、ユビキチン結合酵素であり、p53、c-Fos、NF- κ B precursor である p105 のユビキチン化に関与する。SLE、SSc において、発現亢進に関連する rs131654T がリスクと関連する (Hasebe et al., Ann Rheum Dis 2012)。ANCA 関連血管炎においても、MPA、MPO-ANCA 陽性群における T アリル頻度の増加が観察された (表 5)。

最後に、*TNIP1* と *UBE2L3* はいずれも NF- κ B 経路に関与する分子をコードするため、これらの遺伝子型の組み合わせを解析した。*UBE2L3* T/T 遺伝子型が、*TNIP1* C/C 遺伝子型の存在下においてのみ、有意なリスクとなることが示唆された (図 1)。

これは、*UBE2L3* の強発現により、NF- κ B p50 の発現が上昇した場合であっても、A20-ABIN-1 による IKK 活性化抑制が十分に

あれば、IκBαのリン酸化による分解が抑制され、NF-κB 活性化に至らないためであると解釈することも可能である。

いずれの関連も、今後、独立な replication study により確認される必要がある。

(共同研究者)

川崎綾、井上尚哉、青木真志、安心院千裕、伊東郁恵（筑波大学医学医療系分子遺伝疫学）、住田孝之（筑波大学医学医療系内科（膠原病・リウマチ・アレルギー））、古川宏、當間重人（国立病院機構相模原病院臨床研究センター）、小林茂人（順天堂大学附属順天堂越谷病院内科）、橋本博史（順天堂大学医学部）、山田秀裕、尾崎承一（聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科）、松尾清一（名古屋大学腎臓内科）、宮坂信之（東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科）針谷正祥（東京医科歯科大学薬害監視学）、佐田憲映、榎野博史（岡山大学腎・免疫・内分泌代謝内科学）

D. 健康危険情報

該当なし

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasebe N, Kawasaki A, Ito I, Kawamoto M, Hasegawa M, Fujimoto M, Furukawa H, Tohma S, Sumida T, Takehara K, Sato S, Kawaguchi Y, Tsuchiya N. Association of *UBE2L3* polymorphisms with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1259-1260.
2. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arinuma Y, Okazaki Y, Futami H, Komiya A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: A protective role for shared epitope. *PLoS One* 2012; 7: e33133. doi:10.1371/journal.pone.0033133
3. Kawasaki A, Furukawa H, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, Kusaoi M, Matsumoto I, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. Association of *PHRF1-IRF7* region polymorphism with clinical phenotypes of systemic lupus erythematosus: an association study in a Japanese population. *Lupus* 2012;21: 890-895.
4. Oka S, Furukawa H, Kashiwase K, Tsuchiya N, Tohma S. Identification of a novel *HLA* allele, *HLA-DQB1*06:51*, in a Japanese rheumatoid arthritis patient. *Tissue Antigens* 2012; 80, 386-387.
5. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Rheumatoid Arthritis associated Interstitial Lung Disease (RA-ILD) Study Consortium, Tsuchiya N, Tohma S. *HLA-A*31:01* and methotrexate-induced interstitial lung disease in Japanese rheumatoid arthritis patients: a multi-drug hypersensitivity marker? *Ann Rheum Dis* doi:10.1136/annrheumdis-2012-201944.
6. Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. *PLD4* as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum* doi: 10.1002/art.37777.
7. Umeda N, Matsumoto I, Ito I, Kawasaki A, Tanaka Y, Inoue A, Tanaka Y, Tsuboi H, Suzuki T, Hayashi T, Ito S, Tsuchiya N, Sumida T. Identification of anti-citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* in press.
8. Naka I, Hikami K, Nakayama K, Koga M, Nishida N, Kimura R, Furusawa T, Natsuhara K, Yamauchi T, Nakazawa M, Ataka Y, Ishida T, Inaoka T, Iwamoto

- S, Matsumura Y, Ohtsuka R, Tsuchiya N, Ohashi J. A functional SNP upstream of the beta-2 adrenergic receptor gene (*ADRB2*) is associated with obesity in Oceanic populations. *Int J Obes* in press.
9. Furukawa H, Oka S, Matsui T, Hashimoto A, Arinuma Y, Komiyama A, Fukui N, Tsuchiya N, Tohma S. Genome, epigenome and transcriptome analyses of a pair of monozygotic twins discordant for systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* in press.
 10. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Hashimoto A, Komiyama A, Fukui N, Miyashita T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of increased frequencies of *HLA-DPB1*05:01* with the presence of anti-Ro/SS-A and anti-La/SS-B antibodies in Japanese rheumatoid arthritis patients. *PLoS One* in press.
 11. Tsuchiya N. Genetics of ANCA-associated vasculitis in Japan - a role for *HLA-DRB1*09:01* haplotype. *Clin Exp Nephrol* 2012; doi 10.1007/s10157-012-0691-6.
 12. Tsuchiya N. Genetics of Microscopic polyangiitis in the Japanese population. *Ann Vasc Dis* 2012;5:289-295.
 13. 土屋尚之 : 総論～膠原病疾患感受性遺伝子解析の視点から～. *BIO Clinica* 2012;27:1020-1022.
 14. 土屋尚之 : ANCA関連血管炎の遺伝因子. *感染炎症免疫* in press
 15. 土屋尚之 : 全身性エリテマトーデスの疾患感受性遺伝子. *腎と透析* in press
 16. 土屋尚之 : ANCA関連血管炎疾患感受性遺伝子. *日本臨床* 2013 (増刊) in press.
2. 学会発表
 1. Tsuchiya N, Kawasaki A, Ito I, Ajimi C, Kobayashi S, Yamada H, Furukawa H, Tohma S, Tomita M, Sumida T, Tokunaga K, Miyasaka N, Hashimoto H, Ozaki S, Makino H, Harigai M. Genetic background of ANCA-associated vasculitis in a Japanese population: a candidate gene study. (シンポジウム指定演者) The Asia and Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop. 平成24年3月28日～31日、東京。
 2. 土屋尚之 : 膠原病の候補遺伝子解析 (シンポジウム指定演者)。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
 3. 松本功、梅田直人、土屋尚之、住田孝之 : 関節リウマチにおける抗シトルリン化 GPI 抗体。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月28日、東京。
 4. 川崎綾、古川宏、近藤裕也、伊藤聡、林太智、松本功、草生真規雄、瀬戸口京吾、永井立夫、須田昭子、長岡章平、廣畑俊成、當間重人、高崎芳成、橋本博史、住田孝之、土屋尚之 : *PRDM1-ATG5* 領域と全身性エリテマトーデス臨床症状との関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
 5. 青木真志、川崎綾、古川宏、近藤裕也、伊藤聡、林太智、草生真規雄、瀬戸口京吾、永井立夫、河野肇、松本功、廣畑俊成、當間重人、高崎芳成、橋本博史、住田孝之、土屋尚之 : *NLRP3* 多型と全身性エリテマトーデスとの関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
 6. 古川宏、島田浩太、杉井章二、松井利浩、池中達央、中山久徳、橋本篤、高岡宏和、有沼良幸、岡崎優子、二見秀一、小宮明子、中村正、右田清志、須田昭子、長岡章平、土屋尚之、當間重人 : RAに伴う間質性肺病変とHLAとの関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月27日、東京。
 7. 長谷部成美、川崎綾、伊東郁恵、川本学、長谷川稔、藤本学、古川宏、當間重人、住田孝之、竹原和彦、佐藤伸一、川口鎮司、土屋尚之 : 全身性強皮症と*UBE2L3* 遺伝子多型の関連。第56回日本リウマチ学会総会・学術集会。平成24年4月28日、東京。
 8. 土屋尚之 : 膠原病のゲノム解析から明らかになったことと今後の課題。第7

- 回長崎皮膚・膠原病フォーラム（特別講演）、平成24年6月14日、長崎
9. 土屋尚之：膠原病のゲノム解析研究。第53回湘南免疫疾患カンファランス（特別講演）、平成24年6月23日、横浜。
 10. 土屋尚之：リウマチ・膠原病のゲノム解析。都立駒込病院総合カンファランス（特別講演）、平成24年8月29日、東京
 11. 土屋尚之、川崎綾、長谷部成美、井上尚哉、伊東郁恵、安心院千裕、住田孝之、古川宏、當間重人、小林茂人、橋本博史、山田秀裕、尾崎承一、佐田憲映、榎野博史、冨田誠、宮坂信之、針谷正祥：日本人集団におけるANCA関連血管炎の遺伝的背景。第21回日本組織適合性学会、平成24年9月15日、東京。
 12. 古川宏、島田浩太、杉井章二、松井利浩、池中達央、橋本篤、高岡宏和、有沼良幸、岡崎優子、二見秀一、小宮明子、中村正、右田清志、須田昭子、長岡章平、土屋尚之、當間重人：RAに伴う間質性肺病変とHLAとの関連。第21回日本組織適合性学会、平成24年9月15日、東京。
 13. 古川宏、島田浩太、杉井章二、松井利浩、池中達央、中山久徳、橋本篤、高岡宏和、有沼良幸、岡崎優子、二見秀一、小宮明子、中村正、右田清志、須田昭子、長岡章平、土屋尚之、當間重人：関節リウマチに関連する間質性肺病変とHLA。第40回日本臨床免疫学会(Workshop 指定演者)、平成24年9月27日、東京。
 14. 古川宏、島田浩太、杉井章二、松井利浩、池中達央、橋本篤、高岡宏和、有沼良幸、岡崎優子、二見秀一、小宮明子、中村正、右田清志、須田昭子、長岡章平、土屋尚之、當間重人：RAに伴う間質性肺病変とHLAとの関連。第57回日本人類遺伝学会、平成24年9月27日、東京。
 15. 中伊津美、土屋尚之、大橋順：・・2ア ドレナリン受容体遺伝子(*ADRB2*)上流領域SNPの進化遺伝学的解析。第66回日本人類学会、平成24年11月2日、横浜
 16. Kawasaki A, Inoue N, Ajimi C, Ito I, Sada K, Kobayashi S, Yamada H, Furukawa H, Tomita M, Sumida T, Tohma S, Miyasaka N, Ozaki S, Hashimoto H, Makino H, Harigai M, Tsuchiya N. Genetic background of antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis in a Japanese Population: association of *STAT4* with myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis. 2012 American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting, Oct 10, 2012, Washington DC, USA.
 17. Genin E, Coustet B, Allanore Y, Teruel M, Constantin AL, Tohma S, Vittecoq O, Furukawa H, Balsa A, Schaefferbeke T, González-Gay MA, Chiochia G, Tsuchiya N, Martin J, Dieude P. Epistatic interaction between *BANK1* and *BLK* in rheumatoid arthritis: Results from a large trans-ethnic meta-analysis. 2012 American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting, Oct 10, 2012, Washington DC, USA.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
なし。
 2. 実用新案登録
なし。
 3. その他
なし

表1 日本人 ANCA 関連血管炎と *IRF5* rs10954213 との関連解析

<i>IRF5</i> rs10954213	A/A	A/G	G/G	A vs G		(A/A+A/G) vs G/G	
				<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=151)	28 (19)	71 (47)	52 (34)	0.033	0.75 (0.58-0.98)	0.034	0.66 (0.45-0.97)
GPA (n=43)	8 (19)	22 (51)	13 (30)	0.39	0.82 (0.53-1.28)	0.51	0.80 (0.40-1.57)
EGPA (n=21)	8 (38)	7 (33)	6 (29)	0.47	1.26 (0.68-2.34)	0.86	1.27 (0.33-2.27)
MPO-ANCA (n=189)	36 (19)	87 (46)	66 (35)	0.021	0.76 (0.60-0.96)	0.016	0.64 (0.45-0.92)
PR3-ANCA (n=29)	7 (24)	14 (48)	8 (28)	0.91	0.97 (0.57-1.65)	0.91	0.82 (0.39-2.10)
controls (n=510)	121 (24)	258 (50)	131 (26)		referent		referent

OR: オッズ比、CI: 信頼区間
P は χ^2 検定による。

表2 日本人 ANCA 関連血管炎と *STAT4* rs7574865 との関連解析

<i>STAT4</i> rs7574865	T/T	T/G	G/G	T vs G		T/T vs (T/G+G/G)	
				<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=151)	23 (15)	64 (42)	64 (42)	0.26	1.17 (0.89-1.53)	0.10	1.55 (0.92-2.62)
GPA (n=43)	7 (16)	19 (44)	17 (40)	0.31	1.27 (0.81-1.99)	0.23	1.68 (0.73-3.92)
EGPA (n=21)	8 (29)	3 (14)	12 (57)	0.71	1.13 (0.59-2.15)	0.0094	3.44 (1.35-8.79)
MPO-ANCA (n=189)	32 (17)	77 (41)	80 (42)	0.12	1.21 (0.95-1.55)	0.019	1.76 (1.10-2.81)
PR3-ANCA (n=29)	6 (21)	13 (45)	10 (34)	0.11	1.54 (0.91-2.63)	0.084	2.24 (0.90-5.65)
controls (n=510)	53 (10)	230 (45)	227 (45)		referent		referent

OR: オッズ比、CI: 信頼区間
P は χ^2 検定による。

表 3 日本人 ANCA 関連血管炎と *BLK* rs13277113 の関連解析

<i>BLK</i> rs13277113	A/A	A/G	G/G	A vs G		A/A vs (A/G+G/G)	
				<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=137)	67 (49)	50 (37)	20 (15)	0.85	1.03 (0.77-1.37)	0.31	1.22 (0.83-1.78)
GPA (n=34)	16 (47)	12 (35)	6 (18)	0.76	0.92 (0.55-1.54)	0.73	1.13 (0.56-2.27)
EGPA (n=15)	8 (53)	5 (33)	2 (13)	0.69	1.17 (0.53-2.59)	0.48	1.45 (0.52-4.05)
MPO-ANCA (n=169)	83 (49)	60 (36)	26 (15)	0.91	1.02 (0.78-1.32)	0.25	1.23 (0.87-1.74)
PR3-ANCA (n=24)	11 (46)	8 (33)	5 (21)	0.56	0.84 (0.46-1.53)	0.86	1.08 (0.47-2.45)
controls (n=511)	225 (44)	230 (45)	56 (11)		referent		referent

OR: オッズ比、CI: 信頼区間
P は χ^2 検定による。

表 4 日本人 ANCA 関連血管炎と *TNIP1* rs7708392 の関連解析

<i>TNIP1</i> rs7708392	C/C	C/G	G/G	C vs G		C/C vs (C/G+G/G)	
				<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=151)	81 (54)	54 (36)	16 (11)	0.57	1.09 (0.82-1.44)	0.30	1.21 (0.84-1.75)
GPA (n=43)	27 (63)	15 (35)	1 (2)	0.041	1.76 (1.02-3.02)	0.079	1.77 (0.94-3.34)
EGPA (n=21)	13 (62)	6 (29)	2 (10)	0.38	1.38 (0.67-2.84)	0.24	1.70 (0.70-4.14)
MPO-ANCA (n=189)	101 (53)	70 (37)	18 (10)	0.43	1.31 (1.03-1.66)	0.054	1.43 (0.99-2.05)
PR3-ANCA (n=29)	18 (62)	10 (35)	1 (3)	0.12	1.66 (0.87-3.16)	0.17	1.72 (0.80-3.68)
controls (n=510)	249 (49)	214 (42)	47 (9)		referent		referent

OR: オッズ比、CI: 信頼区間
P は χ^2 検定による。

表 5 日本人 ANCA 関連血管炎と *UBE2L3* rs131654 の関連解析

<i>UBE2L3</i> rs131654	T/T	T/G	G/G	T vs G		T/T vs (T/G+G/G)	
				<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=151)	53 (35)	69 (46)	29 (19)	0.033	1.33 (1.02-1.72)	0.020	1.58 (1.07-2.33)
GPA (n=43)	9 (21)	21 (49)	13 (30)	0.32	0.80 (0.51-1.24)	0.51	0.77 (0.36-1.65)
EGPA (n=21)	3 (14)	15 (71)	3 (14)	0.90	0.96 (0.52-1.78)	0.31*	0.49 (0.14-1.64)
MPO-ANCA (n=189)	62 (33)	94 (50)	33 (18)	0.026	1.31 (1.03-1.66)	0.054	1.43 (0.99-2.05)
PR3-ANCA (n=29)	6 (21)	15 (52)	8 (28)	0.51	0.84 (0.49-1.42)	0.56	0.76 (0.30-0.91)
controls (n=510)	130 (26)	260 (51)	120 (24)	referent		referent	

OR: オッズ比、CI: 信頼区間

P は χ^2 検定あるいは Fisher's exact test* による。

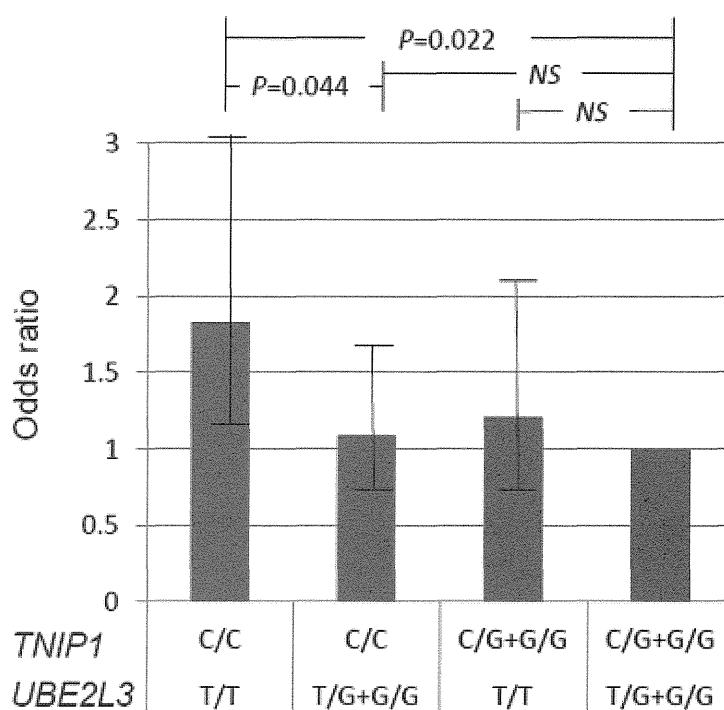


図 1 MPO-ANCA 関連血管炎における *UBE2L3* と *TNIP1* 遺伝子型の組み合わせ

血管炎患者末梢血の mRNA 網羅的発現解析

研究分担者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科教授

(研究要旨) 血管炎の病態形成には様々な要因があるが、その鍵になる関連分子の情報は少なく、有効な分子標的療法の開発は進んでいない。本研究では、血管炎にかかわる病態関連遺伝子の網羅的解析を行い、その結果得られた情報をもとに、新たな分子標的の同定を目指すことを目的とする。本年度は、検体のサンプリングならびに血管炎症候群例において網羅的遺伝子解析を行い標的候補遺伝子の検討を行った。

A 研究目的

血管炎の病態形成には、ANCA を初めとする自己抗体、炎症性細胞とそれらに発現される接着分子や細胞障害顆粒が密接に関与している。しかし、関節リウマチの TNF- α に代表される病態形成の鍵を握る責任分子の同定には至っていない。キメラ型抗 CD20 抗体リツキシマブが IVCY に対して非劣性である事が ANCA 関連腎血管炎で 2010 年に初めて海外で証明されたものの、病態関連分子に関する情報は不明な点が多く、有効な分子標的療法の開発は進んでいない。本研究では、ANCA 関連血管炎、巨細胞性動脈炎、高安大動脈炎、RA 合併血管炎などの血管炎症候群を対象として、患者末梢血を用いた網羅的遺伝子発現解析により病態関連の鍵分子の同定を目指す。

平成 23 年度は、患者末梢血検体のサンプリングならびに RA 合併血管炎における基礎的な検討を行った。また当科の RA 合併血管炎例を解析し臨床的特徴を抽出した。平成 24 年度は、血管炎症候群例において網羅的遺伝子解析を行った。

B 研究方法

1) 対象症例は血管炎 9 例(男性 3、女性 6)、未治療関節リウマチ(RA)10 例(男性 3、女性 6)、健康人コントロール 10 例(男性 7、女性 3)の 3 群合計 29 例とした。末梢血より total RNA を抽出し、Agilent 社製の Whole Human Genome Microarray 4x44k (ver1.0)チップを用いて、網羅的に遺伝子発現データを取得した。データ前処理として 75 percentile shift normalization 法によりアレイ間補正を行った。発現プロファイル全体でのサンプルの分類傾向を確認するために主成分

分析を行った。次に、発現変動遺伝子を抽出するため、ANOVA 検定し、多重検定補正、Post Hoc 検定を加え 3 群間で発現差のみられる遺伝子の抽出を試みた。

C 研究結果

Boxplot 描写によりマイクロアレイデータのシグナル分布を確認し、各群に明確な差は認められなかった。次に主成分分析を行い、図 1 に示すように、分布の約 80%を説明できる X-Y 平面において 3 群が分類される傾向が認められた。

発現変動遺伝子の抽出では、 $P < 0.05$ で 1336 プローブが抽出され、Post hoc 検定を行なったところ、健康人コントロール群と比較し、血管炎群で最も多い 1320 プローブが抽出された。

血管炎群に特徴的な発現遺伝子のうち免疫関連の GO Term を有するものを抽出したところ、IFNB1(Corrected p-value: 1.31E-07)、MIF(macrophage migration inhibitory factor, 2.86E-06)、TNFSF14(Tumor necrosis factor receptor superfamily member 14, 2.57E-04)等が含まれていた。

上記結果より血管炎群に特徴的な末梢血のプロファイルの一端が明らかとなった。IFN β は高安動脈炎を悪化させた例や多発性硬化症治療中に血管炎を発症した例の報告があり、病態に関与している可能性も十分考えられた。

今後、血管炎における IFN β の役割に加え、抽出された他の遺伝子についても検討を進めていく予定である。本年度は計 29 例と少数例の検討に留まっており、現在症例をさらに集積し、別の対象群および新たなプラ

ットホームを用いた網羅的解析を進めている。本年度は、検体のサンプリングならびに血管炎症候群例において網羅的遺伝子解析を行い標的候補遺伝子の抽出を行った。

来年度は、1)原発性血管炎に関連する遺伝子の網羅的解析、2)血管炎の検体および臨床データの更なる収集および統合解析に取り組む計画である。

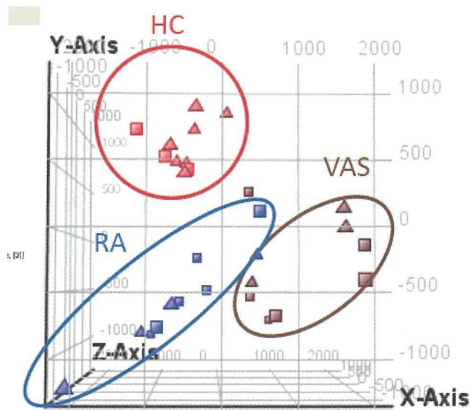


図1 末梢血遺伝子発現プロファイルの主成分分析 3D PCA スコアを 3D 散布図にて表示。VAS(血管炎 n=9)、RA(関節リウマチ n=10)、HC(健常人コントロール n=10)
△男性、□女性

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takeuchi T, Suzuki K, Kondo T, Yoshimoto K, and Tsuzaka K. CD3 z defects in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 71:i78-i81, 2012.
- 2) Takeuchi T and Suzuki K. CD247 variants and single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)* in press.
- 3) 倉沢隆彦、鈴木勝也、竹内勤: 特集 自己免疫疾患の最近の話題と展望 マイクロアレイを用いた自己免疫疾患の解析 *Pharma Medica* vol.31 No.1 メディカルレビュー 2013

2. 学会発表

- 1) 鈴木勝也、瀬戸山由美子、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、天野宏一、竹内勤: 未治療活動性 SLE 末梢血亜分画における遺伝子発現の統合解析、2012 年 4 月 27 日、第 56 回日本リウマチ学会学術集会、東京
- 2) 近藤恒夫、鈴木勝也、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、竹内勤、天野宏一: カルシニューリン阻害薬による全身性エリテマトーデス患者 TCR ζ 鎖発現の回復効果、第 56 回日本リウマチ学会学術集会、2012 年 4 月 27 日、東京
- 3) 鈴木勝也、瀬戸山由美子、近藤恒夫、吉本桂子、亀田秀人、天野宏一、竹内勤: 未治療活動性 SLE 末梢血亜分画における遺伝子発現の統合解析、2012 年 9 月 27 日、第 40 回日本臨床免疫学会総会、東京
- 4) 鈴木勝也、竹下勝、竹内勤: 関節リウマチの新たなバイオマーカー、第 2 回 TNF 療法研究会、2012 年 10 月 18 日、東京
- 5) Suzuki K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Kameda H, Takeuchi T. Integrative gene expression analysis in subpopulation of peripheral blood mononuclear cells from untreated active systemic lupus erythematosus patients 2012 年 12 月 7 日、第 41 回日本免疫学会学術集会、神戸
- 6) Suzuki K and Takeuchi T. Application of transcriptomics for systemic lupus erythematosus pathogenesis analysis 2012 年 12 月 12 日、第 35 回日本分子生物学会年会、福岡

E. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし