

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

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：国際共同研究を通じて欧米人集団およびアジア人集団で構成された 10 万人以上のサンプルに対するゲノムワイド関連解析を実施し、42 の新規領域を含む、101 個の関節リウマチ感受性遺伝子領域を同定した。得られた感受性遺伝子情報を多様な生物学的・創薬データベースと統合するビッグデータ解析を通じて、関節リウマチの新たな病態が明らかになり（制御性 T 細胞におけるストン修飾機構、原発性免疫不全症候群や造血器悪性腫瘍との原因遺伝子の重複）、また新規治療薬候補を同定することができた（CDK4/6 阻害薬）。本研究の成果は、大規模ゲノム解析を通じて疾患病態の解明や新規創薬に貢献できる可能性を切り拓いたものであり、創薬基盤整備に寄与するものと考えられる。

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内科学講座臨床免疫学 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

研究協力者：岡田 随象
理化学研究所ゲノム医科学研究センター
客員研究員

A. 研究目的

大規模なゲノム研究により関節リウマチの罹患リスクに関連した感受性遺伝子領域を同定する。また、同定された疾患感受性領域の情報をを用いたビッグデータ解析を通じて、関節リウマチの疾患病態の解明や common disease の創薬基盤整備を目指す。

B. 研究方法

本研究班を主体として結成された GARNET コンソーシアム（Genetics and Allied research in Rheumatic diseases Networking consortium）や、米国ハーバード大学を中心とした国際共同研究を通じて、欧米人集団およびアジア人集団で構成された 10 万人以上のサンプルを対象としたゲノムワイド関連解析を実施した。各コホートより得られた一塩基多型（SNP）ジェノタイプデータに対して 1000 Genomes Project 参照ゲノム配列に基づく遺伝子型の推定を行い、X 染色体を含む全ゲノム領域を網羅する 1,000 万 SNP における関節リウマチ罹患リスクとの因

果関係を評価した（担当：山本、松田、桃原、山田）。

関節リウマチ感受性遺伝子領域と多様な生物学的データベース（SNP の機能分類、遺伝子発現量解析、ヒストン修飾機構、メンデル型遺伝病、悪性腫瘍体細胞変異、ノックアウトマウス形質、PubMed論文データテキストマイニング、蛋白質間相互作用、パスウェイ解析）との網羅的な照合を実施した。また、創薬データベース上に登録された既存もしくは臨床試験中のヒト疾患治療薬のターゲット遺伝子と疾患感受性遺伝子とのつながりを、蛋白-蛋白相互作用を考慮したネットワーク解析に基づき評価し新規治療薬候補を探し、新しいゲノム創薬手法を開発した。

その他、次世代シーケンサーを用いた rare variant 解析（担当 山本、松田）長期観察コホートをを用いた骨折リスク遺伝子の解析（担当 桃原、山中）RA における重要なサブタイプである抗 CCP 抗体陰性関節リウマチの原因遺伝子検索（担当 三森）疾患関連遺伝子の同定と臨床展開のための数理統計学的手法に関する研究（担当 山田）を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、各研究者の所属する機関内倫理審査委員会における審査を適切に行った上で実施された。DNA 試料の採取や臨床情報の取得は、インフォームドコンセントに基づき行われた。

C. 研究結果

ゲノムワイド関連解析を通じて、42 の新規領域を含む、101 個の関節リウマチ感受性遺伝子領域を同定した（SNP P 値 < 5.0×10^{-8} 。表 1）感受性遺伝子領域内の SNP のリスクは人種間で正の相関関係を示し、欧米人およびアジア人の間で関節リウマチの遺伝的背景が共通していることが示唆された。

TNFRSF14-MMEL1	DNASE1L3-ABHD6-PXK	GRHL2	PLD4-AHNK2
TNFRSF9	IL20RB	PVT1	RASGRP1
PADI4	CLNK	TRAF1-C5	LOC145837
MTF1-INPP5B	C4orf52	IL2RA	TXNDC11
LOC339442	TEC	PRKCO	IRF8
PTPN22	ANXA3	GATA3	C10BP
CD2	IL2-IL21	10p14	MED1
IL6R	ANKRD55	ZNF438	IKZF3-CSF3
FCRL3	C5orf30	WDFY4	PTPN2
LY9-CD244	IL3-CSF2	ARID5B	CD226
FCGR2A	IRF4	RTKN2	TYK2
FCGR2B	CD83	SFTPD	ILF3
LOC100506023	HLA-DRB1	TRAF6-RAG1/2	CD40
PTPRC	ETV7	CD5	IFNGR2
LBH	NFKBIE	FADS1-FADS2-FADS3	RCAN1
REL	ATG5	ARAP1	RUNX1-LOC100506403
B3GNT2	TNFAIP3	CEP57	UBASH3A
SPRED2	PPIL4	ATM	ICOSLG-AIRE
AFF3	TAGAP	CXCR5	UBE2L3-YDJC
ACOXL	CCR6	ETS1	IL2RB
STAT4	JAZF1	CDK2	SYNGR1
CFLAR-CASP8	CDK6	CDK4	P2RY10
CD28	IRF5	SH2B3-PTPN11	IRAK1
CTLA4	BLK	COG6	
PLCL2	CCL19-CCL21	PRKCH	
OMES	TPD52	RAD51B	

表 1：101 個の関節リウマチ感受性遺伝子領域の一覧

（赤字：本研究で新規同定した 42 の感受性遺伝子領域）

生物学的データベースとの網羅的なビッグデータ解析を通じて、これらの感受性領域が遺伝子発現量の調節機能を有していること、制御性 T 細胞における細胞特異的なヒストン修飾調節領域と重複していること、原発性免疫不全症候群および造血器悪性腫瘍の原因遺伝子群やノックアウトマウスで造血系・免疫機構関連の形質を示す遺伝子群と有意に共通していることが明らかとなった。主要適合抗原領域 (major histocompatibility [MHC] region) を除く 100 の関節リウマチ感受性遺伝子領域に含まれる 377 の遺伝子に対して、上記データベース情報に基づく絞込みを行い、関節リウマチの病態に機能的な寄与を与えると考慮される 98 遺伝子をリストアップした。

これらの機能的な遺伝子群に対する創薬データベース解析の結果、蛋白-蛋白相互作用を介したネットワークを通じて、関節リウマチ感受性遺伝子群と既存の関節リウマチ治療薬のターゲット遺伝子群が強固に結びついていることが判明した（リスク比=2.2, P 値=0.0035; トシリズマブに対する IL6R 遺伝子や JAK 阻害剤に対する JAK1/2/3 遺伝子など。図 1 上段）。

さらに、他疾患に対する既存の治療薬標的が関節リウマチ感受性遺伝子と重複している場合、その治療薬を関節リウマチ治療に適応拡大できる可能性が示唆された（乳癌における CDK4/6 阻害薬など。図 1 下段）

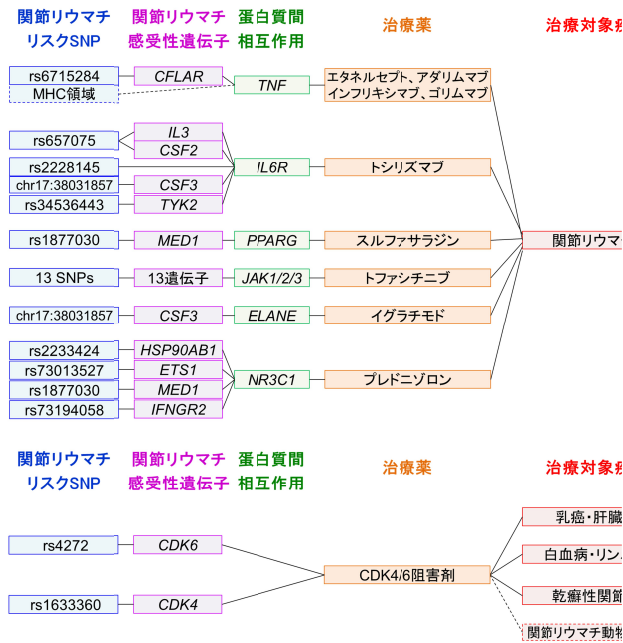


図 1：関節リウマチ感受性遺伝子と治療薬ターゲット遺伝子、治療薬治療対象疾患が形成するネットワーク

次世代シーケンサーを用いた rare variant 解析、長期観察コホートを用いた骨折リスク遺伝子の解析、RA における重要なサブタイプである抗 CCP 抗体陰性関節リウマチの原因遺伝子検索、疾患関連遺伝子の同定と臨床展開のための数理統計学的手法についても一定の結果が得られている。

D. 考察

ゲノムワイド関連解析の結果得られた疾患感受性遺伝子には、疾患病態の解明や創薬に有用な情報が含まれており、多様な生物学的・創薬データベースとの網羅的な解析を行うことによりそれらの情報を引き出すことが可能になると考えられた。本研究においては、これらのアプローチが関節リウマチにおいて有用なこ

とが示され、今後は他の common disease における有効性の検討も有用と考えられた。

E. 結論

大規模ゲノム研究を通じて、関節リウマチを含む common disease の疾患病態の解明や新規創薬への貢献が可能になると考えられた。創薬基盤整備に寄与すると考えている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Louis Bridges Jr S, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M; the RACI consortium; the GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu

- H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 506:376-81:2014.
- 2) Yoshida S, Ikari K, Furuya T, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S. A GC polymorphism associated with serum 25-hydroxyvitamin D level is a risk factor for hip fracture in Japanese patients with rheumatoid arthritis: 10-year follow-up of the Institute of Rheumatology, Rheumatoid Arthritis cohort study. *Arthritis Res Ther*, 2014.16:R75.
- 3) Katayama M, Ohmura K, Yukawa N, Terao C, Hashimoto M, Yoshifuji H, Kawabata D, Fujii T, Iwakura Y, Mimori T. Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis. *PLoS One*. 2013, 8: e62231.
- 4) Cui J, Stahl EA, Saevarsdottir S, Miceli C, Diogo D, Trynka G, Raj T, Mirkov MU, Canhao H, Ikari K, Terao C, Okada Y, Wedrén S, Askling J, Yamanaka H, Momohara S, Taniguchi A, Ohmura K, Matsuda F, Mimori T, Gupta N, Kuchroo M, Morgan AW, Isaacs JD, Wilson AG, Hyrich KL, Herenius M, Doorenspleet ME, Tak PP, Crusius JB, van der Horst-Bruinsma IE, Wolbink GJ, van Riel PL, van de Laar M, Guchelaar HJ, Shadick NA, Allaart CF, Huizinga TW, Toes RE, Kimberly RP, Bridges SL Jr, Criswell LA, Moreland LW, Fonseca JE, de Vries N, Stranger BE, De Jager PL, Raychaudhuri S, Weinblatt ME, Gregersen PK, Mariette X, Barton A, Padyukov L, Coenen MJ, Karlson EW, Plenge RM. Genome-Wide Association Study and Gene Expression Analysis Identifies CD84 as a Predictor of Response to Etanercept Therapy in Rheumatoid Arthritis. *PLoS Genet*. 2013, 9: e1003394.
- 5) Terao C, Hashimoto M, Yamamoto K, Murakami K, Ohmura K, Nakashima R, Yamakawa N, Yoshifuji H, Yukawa N, Kawabata D, Usui T, Yoshitomi H, Furu M, Yamada R, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Three Groups in the 28 Joints for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database. *PLoS One* 2013, 8: e59341.
- 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*. 2013, 65: 472-80.
- 7) Terao C, Hashimoto M, Furu M, Nakabo S, Ohmura K, Nakashima R, Imura Y, Yukawa N, Yoshifuji H, Matsuda F, Ito H, Fujii T, Mimori T. Inverse association between air pressure and rheumatoid arthritis synovitis: an observational study. *PLoS One* 2014, 9: e85376.
- 8) Hamaguchi Y, Fujimoto M, Matsushita T, Kaji K, Komura K, Hasegawa M, Koderu M, Muroi E, Fujikawa K, Seshima M, Yamada H, Yamada R, Sato S, Takehara K, Kuwana M. Common and Distinct Clinical Features in Adult Patients with Anti-Aminoacyl-tRNA Synthetase Antibodies: Heterogeneity within the Syndrome. *PLoS One* 2013, 8:e60442.
- 9) Terao C, Yoshifuji H, Kimura A, Matsumura T, Ohmura K, Takahashi M, Shimizu M, Kawaguchi T, Chen Z, Naruse TK, Sato-Otsubo A, Ebana Y, Maejima Y, Kinoshita H, Murakami K, Kawabata D,

Wada Y, Narita I, Tazaki J, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Ogawa S, Komuro I, Nagai R, Yamada R, Tabara Y, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am J Hum Genet* 2013, 93(2) 289-97.

2. 学会発表

(口頭発表)

1) Okada Y, Wu D, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yamanaka H, Denny JC, Greenberg JD, Graham RR, Brown MA, the RACI consortium, the GARNET consortium, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Visscher PM, Siminovitch KA, Plenge RM. Biological Insights From Genetics of Rheumatoid Arthritis Contribute to Drug Discovery. *American College of Rheumatology Annual Meeting*, Oct, 28, 2013.

2) Okada Y, Wu D, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yamanaka H, Denny JC, Greenberg JD, Graham RR, Brown MA, the RACI consortium, the GARNET consortium, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Visscher PM, Siminovitch KA, Plenge RM. Biological Insights from Genetics and biology of rheumatoid arthritis contribute to drug discovery. *American Society of Human Genetics Annual Meeting*, Oct, 26, 2013.

3) Okada Y, Diogo D, Liao KP, Fulton RS, Graham RR et al. Potential of Integrating Human Genetics and Electronic Medical Records for Drug Discovery: The Example Of TYK2 and Rheumatoid Arthritis. *American College of Rheumatology Annual Meeting* 2013, Oct, 30, 2013.

4) 岡田随象 「ゲノム解析の時代からゲノム創薬の時代へ」 日本人類遺伝学会第58回大会 シンポジウム Nov, 21, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

本研究と関連するものはなし。

2. 実用新案登録

本研究と関連するものはなし。

3. その他

本研究と関連するものはなし。

