

名にのみ変異を認める de novo mutation は3つのみであり、その全てが3番染色体上にあり、アミノ酸変異をもたらすものであった。また、他の variant の分布の評価から、染色体3番の多くの領域が罹患患者4名で共有されている可能性が示された。また、常染色体劣性遺伝を想定し、common variant に着目したイルミナ社のインフィニウムアレイを用い、8名の genotyping を行った。このタイピング結果から、8名の遺伝学的な関係の強さを通して家族関係を確認した。また、Case と Control の比較から、染色体3番の約 1.1Mbp の領域を Case が共有していることを確認した。その領域上に Case が4人とも variant のホモを持ち、Control が全員 hetero の遺伝子型である rare variant は同定されなかった。

D. 考察

平成24年度の解析における Case と Control の Call 成功率の差は、エクソーム濃縮の手法およびシーケンサーの違いと塩基配列決定アルゴリズムの相違によるものと考えられた。Call 成功率の問題や機械間の違いを避けるためには、平成25年度からデータが揃った、CaseControl 共に同手法を用いた解析がより信頼を置けるものと考えた。

非家系例については最も強い p 値は 2.1×10^{-6} に達し、これは解析対象とした遺伝子全体の数で多重検定の影響を補正しても有意な水準であったが、この遺伝子に免疫学的な機能の報告がないこと、200 k b p 以上とかなり長い遺伝子であることから、結果的に濃縮して見えている可能性も含め、慎重な検討が必要であると考えられた。RA に集積する特定の de novo mutation は明らかでなかった。C-alpha テストでは前回の報告と同じ遺伝子が低い p 値を示したが、今回の解析では特定の 1SNV が RA 群に集積していたためであり、慎重な評価が必要であると思われた。SNV の機能解析や遺伝子その

ものの機能解析によって RA の病態解明につながるものと考えられる。

家系例については祖先由来の3番染色体が強い浸透率を持って RA 発症にかかわっている可能性があると考えられた。3番染色体は、これまでの全ゲノム関連解析において RA 発症との関連を示した領域は欧州人、アジア人共にごくわずかであり、それら遺伝子には疾患群のみに認める de novo mutation は認めず、他の遺伝子領域の関与が疑われた。この領域の機能解析により新規の RA 発症機能の解明につながる可能性がある。家系例について疾患群4例のみに認められた de novo mutation は非家系例については第一・第二セットともに一例も認めず、同じ遺伝子領域の de novo mutation の疾患群の集積は明らかでなく、原因領域同定の手掛かりは得られなかった。SNP アレイにて情報を補完したが、領域を一つに決定するには至らなかった。また、罹患同胞の子供の世代は発症していないが、候補領域の機能解析に加えて今後のフォローアップによって、有益な情報が得られる可能性がある。

E. 結論

非家系例では、合計8領域の RA 発症関連領域候補が選定された。最も強い関連を示した染色体21番の領域は有意水準に到達していた。家系例では染色体3番の疾患への関与が強く示唆された。遺伝的多型や遺伝子そのものの機能解析によって領域の絞り込みや多型の決定、引いては RA の疾患発症機序の解明につながるものと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

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

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

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

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.

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

Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K.

A Genome-Wide Association Study Identified AFF1 as a Susceptibility Locus for Systemic Lupus Erythematosus in Japanese.

PLoS Genet. 2012;8(1):e1002455 (査読

有)

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.

Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Nat Genet. 2012;44(5):511-6. (査読有)

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 Feb;65(2):472-80. (査読有)

Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kochi Y, Maruya E, Katayama M, Yurugi K, 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. ACPA-Negative RA Consists of Two Genetically Distinct Subsets Based on RF Positivity in Japanese.

PLoS One. 2012;7(7):e40067 (査読有)

Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, Terao C, Suzuki A, Ikari K, Tsunoda T, Takahashi A, Kubo M, Taniguchi A, Matsuda F, Ohmura K, Momohara S, Mimori T, Yamanaka H, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. Functional Variants in NFKBIE and RTKN2 Involved in Activation of the NF- κ B Pathway Are Associated with Rheumatoid Arthritis in Japanese. PLoS Genet. 2012 Sep;8(9):e1002949. (査読有)

Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham R, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny J, Carroll R, Eyler A, Greenberg J, Kremer J, Pappas D, Jiang L, Yin J, Ye L, Su D, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra H, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl E, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo M, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen M, van Riel P, van de Laar M, Guchelaar H, Huizinga T, Dieude P, Mariette X, Bridges SL, Zhernakova A, Toes R, Tak P, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay M, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapaa-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi H, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M, the RACI Consortium, the GARNET consortium, Steve Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland L, Criswell L, Karlson E, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu J, Bae S, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen P, Raychaudhuri S, Stranger B, De Jager P, Franke L, Visscher P, Brown M, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens T, Siminovitch K, Momohara S, Matsuda

F, Yamamoto K, Plenge RM Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery Nature 2014 (in press) (査読有)

2. 学会発表

2011年5月

2011年ヨーロッパリウマチ学会 ロンドン

‘A HAPLOTYPE OF THE HUMAN AIRE GENE IS ASSOCIATED WITH THE RISK FOR RHEUMATOID ARTHRITIS IN JAPANESE POPULATION’

2011年11月

2011年アメリカリウマチ学会 シカゴ

‘A Large-Scale Association Study Identified Multiple HLA-DRB1 Alleles Associated with Anti-Citrullinated Peptide Antibody Negative Rheumatoid Arthritis in Japanese’

2012年6月

2012年ヨーロッパリウマチ学会 ベルリン

‘ACPA-NEGATIVE RHEUMATOID ARTHRITIS CONSISTS OF TWO GENETICALLY DISTINCT SUBSETS BASED ON RF POSITIVITY’

2012年12月

2012年免疫学会 千葉

‘Three groups of joint synovitis in rheumatoid arthritis -analysis in KRAMA database-’

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

抗 CCP 抗体陰性関節リウマチの原因遺伝子検索に関する研究

研究分担者 三森 経世
京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 教授
研究協力者 大村 浩一郎
京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学 講師
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 特定助教

研究要旨: 抗 CCP 抗体陰性は関節リウマチ (RA) の特異抗体であり、RA の約 20% を占める。RA 全体もしくは抗 CCP 抗体陽性 RA の感受性 (原因) 遺伝子は HLA をはじめ多くの遺伝子が同定されているが、抗 CCP 抗体陰性 (RA) の感受性遺伝子は HLA を含めてほとんど同定されていない。その原因はまず比較的希少疾患であるため十分な検体数が得られないためであるが、本研究では 1572 例の抗 CCP 抗体陰性 RA 検体を収集し、全ゲノム関連解析 (GWAS) および上位遺伝子の追認解析を行った。ゲノムワイドの有意差に至る遺伝子多型は同定されなかったが、suggestive な遺伝子多型 3 つを同定した。また、抗 CCP 抗体陽性 RA の感受性遺伝子の odds ratio を抗 CCP 抗体陰性 RA のそれと比較するとよい相関がみられ、HLA 以外の多くの関連遺伝子は抗 CCP 抗体陽性 RA と陰性 RA で共有されていることが示唆された。

A. 研究目的

抗 CCP 抗体陰性 RA の原因遺伝子を探索し、その診断・治療・病態解明に役立つ分子を同定する。

B. 研究方法

本研究班班員はもとより、全国の関連病院から抗 CCP 抗体陰性 RA の DNA 検体を収集した。

まず、Biobank, 京都コホート、東京女子医科大学 IORRA コホートからの RA GWAS data から抗 CCP 抗体陰性症例のみを抽出。Inverse-variance 法を用いてメタ解析を行った。P 値の上位から 35 領域の Tag-SNP を選択、916 例の抗 CCP 抗体陰性 RA と 3764 例の健常人コントロールを用いて TaqMan 法でタイピング、追認解析を行った。GWAS データと追認解析データを Inverse-variance 法を用いてメタ解析を行った。

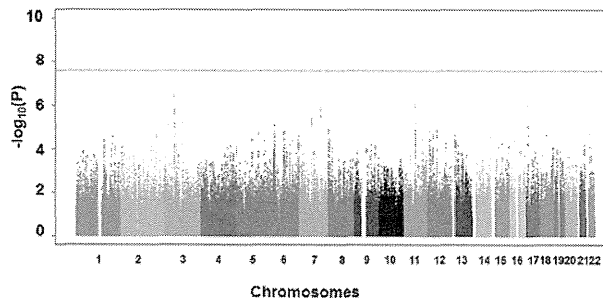
(倫理面への配慮)

本研究は遺伝子情報を扱う臨床研究であることから「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言 (2004 年改訂) を遵守する。本研究は京都大学医学部医の倫理委員会および各研究機関においても倫理委員会で協議、承認されている。

C. 研究結果

RA 670 例 vs control 16891 例の GWAS 結果を図 1 に示す。

図 1. 抗 CCP 抗体 (-) RA の 3 つの GWAS をメタ解析したマンハッタンプロット (患者 670 例 対 対照 16891 例)



$P < 5 \times 10^{-8}$ の GWAS 有意水準の有意差を示す多型は見つからず、上位 35 個の遺伝子領域の Tag-SNP を選択し、916 例の抗 CCP 抗体陰性 RA と 3764 例の健常人コントロールを用いて追認解析を行った。GWAS とのメタ解析を行った上位 3 遺伝子の結果を表 1 に示す。

表 1. 抗 CCP 抗体(-)RA の関連解析上位遺伝子

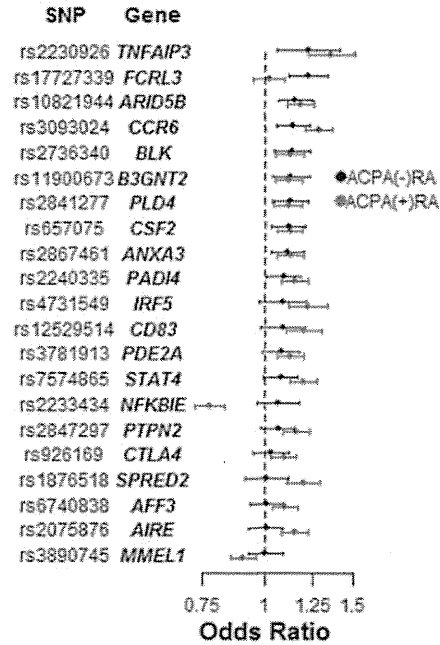
染色体	遺伝子	p	Odds比
6	LEMD2	5.7×10^{-8}	0.77
8	CSMD1	2.4×10^{-6}	0.83
1	FCRL3	1.4×10^{-5}	0.82

抗 CCP 抗体(-)RA の GWAS および上位遺伝子の追認解析をメタ解析し、p 値の上位 3 遺伝子領域を示した。

以上から GWAS 有意水準を満たす遺伝子領域は同定されなかったが、いずれも suggestive な関連を示している。

次に、通常の RA (80%は抗 CCP 抗体陽性) と関連が過去に示された遺伝子が抗 CCP 抗体陰性 RA と関連をしますかどうかを検討した。これまでに日本人で RA との関連が示された 21 遺伝子領域につき、GWAS メタ解析のデータから抗 CCP 抗体 (+)RA と抗 CCP 抗体 (-)RA のデータを抽出し effect size (odds ratio) を比較した (図 2)。

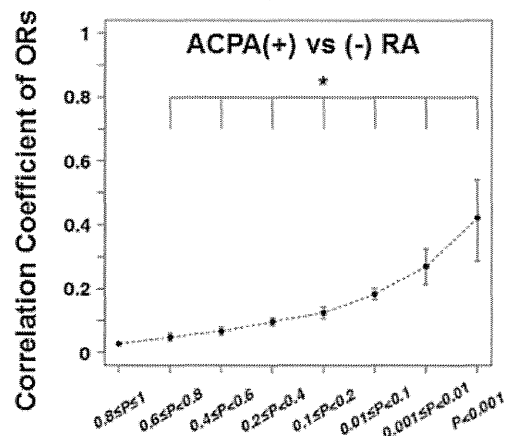
図 2 抗 CCP 抗体 (+)RA 関連遺伝子の odds ratio と抗 CCP 抗体 (-)RA における odds ratio の比較



日本人 RA の関連遺伝子 21 個につき、抗 CCP 抗体 (+)RA での Odds ratio (OR) と抗 CCP 抗体 (-)RA の OR を並べて表示した。

また、GWAS メタ解析データにおいて抗 CCP 抗体 (+)RA での p 値を階層化し、各階層にある SNP の OR を抗 CCP 抗体 (+)RA と抗 CCP 抗体 (-)RA とで比較した場合の相関係数を図 3 に示した。

図 3 関連の弱い遺伝子多型も ACPA (-)RA と ACPA (+)RA で共有されている



抗 CCP 抗体 (+)RA との関連を示した各遺伝子多型の p 値で階層化し、各階層の中で SNP の抗 CCP 抗体 (+)RA と抗 CCP 抗体 (-)RA の OR の相関係数をプロットした。

D. 考察

これまでに抗 CCP 抗体陰性 RA と関連する遺伝子多型の報告は数報あるが、GWAS レベルで確認されたものはまだない。今回我々も計抗 CCP 抗体(-)RA 1586 例 vs コントロール 20655 例を用いた GWAS と追認解析を行ったが、GWAS レベルの有意差を示す遺伝子多型は見つからなかった。しかしながら、既報の RA 関連遺伝子多型の視点で見ると、抗 CCP 抗体(-)RA ともある程度の関連がみられ、ACPA(-)RA と ACPA(+)RA の OR の関連では有意な相関がみられた ($r=0.65$, $p=0.0014$)。このことから、抗 CCP 抗体(-)RA と抗 CCP 抗体(+)RA は多くの関連遺伝子を共有することが示唆された。これまでに、有意な関連の報告がみられない理由はおそらく検体数が少ないことと抗 CCP 抗体(-)RA が heterogeneous な集団であり、関連が出にくいことが原因と考えられる。一方、HLA に関しては抗 CCP 抗体(+)RA は shared epitope (SE) との関連が明らかで、抗 CCP 抗体(-)RA は SE との関連は非常に弱く、他の HLA allele との関連がみられていたことから、抗 CCP 抗体(+)RA と抗 CCP 抗体(-)RA とは自己抗原が異なるが、基本の病態は類似しているのではないかと推定される。いずれにせよ、抗 CCP 抗体(+)RA の関連遺伝子が抗 CCP 抗体(-)RA の関連遺伝子と共有されているということは、今後ゲノム情報から創薬を考える上で、抗 CCP 抗体(+)RA に有効な薬剤は抗 CCP 抗体(-)RA にも有効である可能性が高く、重要な知見であると考えられる。

E. 結論

RA の感受性遺伝子は抗 CCP 抗体(+)RA と抗 CCP 抗体(-)RA でかなりが共有されていることが示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Nat Genet.* 2012, 44(5): 511-6
2. Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kochi Y, Maruya E, Katayama M, Yurugi K, 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. ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese. *PLoS One.* 2012;7(7): e40067
3. Ohmura K, Terao C, Mimori T. Recent advances on the genetics of rheumatoid arthritis: current topics and the future. *Inflamm Regen* 2012, 32 (3): 90- 98.
4. Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, Terao C, Suzuki A, Ikari K, Tsunoda T, Takahashi A, Kubo M, Taniguchi A, Matsuda F, Ohmura K, Momohara S, Mimori T, Yamanaka H, Kamatani N,

- Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K. Functional Variants in NFKBIE and RTKN2 Involved in Activation of the NF- κ B Pathway Are Associated with Rheumatoid Arthritis in Japanese. **PLoS Genet.** 2012 Sep;8(9):e1002949
5. 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.** 2012 Nov 1. doi: 10.1002/art.37777. [Epub ahead of print]
 6. 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
 7. 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
 8. 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
 9. 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
 10. 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
2. **学会発表**
 1. 大村浩一郎: 抗 CCP 抗体陰性関節リウマチに関連する遺伝因子。第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2012 年 東京 (品川) シンポジウム (oral presentation)
 2. Terao C, Ohmura K, Mimori T, et al: ACPA-NEGATIVE RHEUMATOID ARTHRITIS

- CONSISTS OF TWO GENETICALLY DISTINCT SUBSETS BASED ON RF POSITIVITY. European League Against Rheumatism 2012, Berlin, June. 2012. (poster presentation)
3. Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Only rheumatoid factor-positive subset of anti-citrullinated peptide/protein antibody-negative rheumatoid arthritis seroconverts to anti-citrullinated peptide/protein antibody positive. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting 2013, San Diego, Oct 29, 2013 (poster presentation).
 4. Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Clinical characteristics of rheumatoid factor-positive or -negative subsets of anti-citrullinated peptide/protein antibody-negative rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting 2013, San Diego, Oct 29, 2013 (poster presentation).
 5. Hiwa R, Ohmura K, Mimori T, et al: Does anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody-negative rheumatoid arthritis (RA) become anti-CCP positive RA? 第 57 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2013 年 (京都) 国際ワークショップ (oral presentation)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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

研究分担者 山田 亮 京都大学大学院 教授

研究要旨：本研究では、大きく2つの研究を行った。1つ目は、次世代シーケンサーデータを用いた疾患関連遺伝子探索のための統計学的検討であり、もう一つは、疾患関連遺伝子情報の臨床活用に関する統計学的研究である。

1つ目はさらに2つに分けられる。その第1は、次世代シーケンサーを用いたレアバリエーション探索に関する研究である。少サンプルを用いた予備的レアバリエーション探索データに基づき、多サンプル化した場合のレアバリエーション検出遺伝子を尤度モデルによって予測する手法の実行可能性が明らかになった。その第2はレアバリエーションによるケース・コントロール関連解析手法に関する研究である。遺伝子バリエーションをグラフ理論を用いて最小全域木表現し、同木に計量値を定義し疾患関連の強さとの間に関連を見出すことを目指す手法である。同法に特定の疾患関連レアバリエーション分布を想定し、その想定の下での実行可能性が明らかになった。

大区分の2つ目では、疾患関連遺伝子に関する知見を臨床活用するにあたり、医療上の決断という視点に立った情報活用の統計学的・決断理論的位置づけを明確にし、多彩な遺伝的多様性情報の個別性と、情報の活用方法の個別性という2重の個別性を考慮した個別化医療に向けた理論的基礎が明らかにした。

A. 研究目的

関節リウマチをはじめとする複合遺伝性疾患では、疾患感受性遺伝子バリエーションを用いた個別化医療の実用化が求められている。また、疾患遺伝子研究領域では次世代シーケンサー技術の進歩によりレアバリエーション情報が得られるようになってきているが、それを活用するためのデータ解析手法は揺籃期にある。本研究では、特に需要が大きいレアバリエーションデータ解析手法に関する検討を進めることとした。

また、疾患感受性遺伝子や予後・亜型関連遺伝子の情報を臨床展開するにあたり、比較的低い総体危険度を有する座位から臨床的に意味のある情報を作成し、臨床現場に提供するために解決すべき課題を明らかにし、その課題解決のための方法論について考案することを目的とした。

B. 研究方法

1つ目の研究においては、既報の生物学的知見・既発表のレアバリエーションデータ・本研究の本体研究にて得られたレアバリエーションデータを参考にコンピュータシミュレーションにてデータを作成した。また、レアバリエーション探索に関する研究ならびにレアバリエーションに関するケース・コントロール解析手法に関する研究では、それぞれ、モデルを設定し、その下での、手法のパフォーマンスをモンテカルロ法によって評価した。

2つ目の研究においては、次のような理論的考察を中心に実施した。疾患感受性遺伝子のジェノタイプ情報を活用した個別化医療の実践は、遺伝性の高いコモンディジーズ亜型（高遺伝性のある種の癌）と薬剤使い分けにおいて成功をおさめているが、それ以外の場合には困難な課題となっている。個別化医療展開に向けては、より曖昧なままの情報を臨床活

用できるようにするといった、抜本的な方針展開が有用な可能性がある。その点に鑑み、統計学的検定によって支持されない情報を臨床活用するための確率・尤度的な基礎と決定理論的課題について、数理モデルを作成しシミュレーションを実施した。

(倫理面への配慮)

一般的な生殖細胞系列変異研究に活用される解析手法であることから、同研究にて用いられることを前提とした独立したアプリケーションとなるように配慮した。

C. 研究結果

(1) 次世代シーケンサー技術を用いた関連探索のための研究

(1-1) レアバリエーションスクリーニング

少サンプルにて、ディープシーケンシングを行うことを仮定した。そのデータから、コーディング遺伝子ごとに全塩基対について2値的バリエーションの観測染色体本数分布を基礎データとした。マイナーアレルの発生にポアソン過程を想定しその母数の尤度を求め、その尤度分布に従って、多サンプルに展開した場合のレアバリエーション観測数の予測を実施し、その分布をスカラー値スコア化し、多サンプルディープシーケンシングの候補領域の選定を行うことを想定した。データシミュレーションの実装を終了し、尤度分布の式表現を定め、それを簡易計算機演算する部分を実装した。現在は、多サンプル展開予測のためのスコア化について検討を行うとともに、モデル逸脱が及ぼす影響の評価方法の検討、並びに、バリエーション座位への重みづけ項の取り込み方法に関する検討を実施している。

(1-2) レアバリエーションに関するケース・コントロール関連検出方法

遺伝子ごとに(もしくは任意の座位集合ごとに)ディプロタイプまたはハプロ

タイプをそのハミング距離による木グラフ化した。レアバリエーションの頻度と機能強度の平均値との間に単調な関係を想定して確率分布を与えた。バリエーションの機能性が疾患感受性と関連する場合と関連しない場合とで、木グラフのパターンに異同が生じる条件の検討をし、それに基づく木グラフの計量値の最適化を進めた。比較的、一般性のある特定のモデルの下で、木グラフに一定のパターンが生じることが予備的に確認されたが、その正当性を評価することが必要であると考え、検証のための条件設定を続けている。

(2) 遺伝因子情報の臨床応用のための決定理論的研究

統計学的検定によって支持されない情報の典型例であり、また、遺伝情報活用以外にも応用の可能性の大きい例として、2値型情報が少数標本に関して得られた場合をひな形とし、そのような情報を用いた判断戦略として、混合分布モデルとモンテカルロ推定とを基礎とする手法を考案し、そのパフォーマンス評価を実施し、戦略として成立する可能性があることを示した。

D. 考察

(1-1) レアバリエーションスクリーニング

この検討はディープシーケンシング技術とコストとが過渡的であるために必要となる研究デザイン支援のための検討である。方法としての精緻化よりは目安を短期間で提示することを主眼として進めることが適当であると考えられる。

(1-2) レアバリエーションに関するケース・コントロール関連検出方法

レアバリエーションに関するケース・コントロール関連検出方法にはいまだ定見がなく、暗中模索の観が強い。このことがレアバリエーションデータ活用に関して懐疑的にさせる要因ともなっている。本研究で試みたものは、その暗中模索の中の1試行であり、今後もこのテーマの研究の

進展に注目を続け、柔軟に軌道修正を続けることを念頭におくことが適当であると考えられる。

(2) 遺伝因子情報の臨床応用のための決定理論的研究

示した情報活用戦略を遺伝情報に基づいた個別化医療に展開するには、少なくとも2つの課題が残されていることが明らかである。1つは、単純化した決定過程での手法の構築にとどまっており、複雑な遺伝的多様性情報のモデル化に対応する必要がある。もう1つは戦略が臨床コミュニティにて受容されるかという点である。医療現場においては、0/1型の情報による判断分岐が主流であり、確率・尤度の考え方をうまく持ち込めるかどうかは、依然として不透明である。しかしながら、この点は、遺伝情報活用にとどまる課題ではなく、多方面からの要請となっていることに鑑み、本研究において解決すべき主たる課題ではないと考えられる。

E. 結論

本研究が属する本体研究のデータ解析を推進するための支援的手法の検討に一定の成果が得られた。また、疾患遺伝子情報の個別化医療展開のために、従来とは異なる情報利用手法の可能性を模索し、その道筋を明らかにすることができた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hamaguchi Y, Fujimoto M, Yamada R, et al. (2013) Common and Distinct Clinical Features in Adult Patients with Anti-Aminoacyl-tRNA Synthetase Antibodies: Heterogeneity within the Syndrome. PLoS One, 8, 4, e60442
2. Terao C, Hashimoto M, Yamada R, et al. (2013) Three Groups in the 28

Joins for Rheumatoid Arthritis Synovitis - Analysis Using More than 17,000 Assessments in the KURAMA Database. PLoS One, 8, 3, e59341

3. Terao C, Yoshifuji H, Yamada R et al. (2013) 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 93(2) 289-97

4. 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 65(2) 472-480 (2013)

5. Myouzen, K.; Kochi, Y.; Okada, Y.; Terao, C.; Suzuki, A.; Ikari, K.; Tsunoda, T.; Takahashi, A.; Kubo, M.; Taniguchi, A.; Matsuda, F.; Ohmura, K.; Momohara, S.; Mimori, T.; Yamanaka, H.; Kamatani, N.; Yamada, R.; Nakamura, Y.; Yamamoto, K. Functional variants in NFKBIE and RTKN2 involved in activation of the NF-kappaB pathway are associated with rheumatoid arthritis in Japanese. PLoS Genet. 2012;8(9):e1002949. doi: 10.1371/journal.pgen.1002949;

6. Onuki R, Yamada R, Yamaguchi R, Kanehisa M, Shibuya T. Population model-based inter-diplo-type similarity measure for accurate diplo-type clustering. J Comput Biol. 2012;19(1):55-67. doi: 10.1089/cmb.2010.0227.

7. Terao, C.; Ohmura, K.; Ikari, K.; Kochi, Y.; Maruya, E.; Katayama, M.; Yurugi, K.; 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. ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese. PLoS One. 2012;7(7):e40067. doi: 10.1371/journal.pone.0040067.

2. 学会発表

1. Narahara M, Matsuda F, Yamada R, et al. Establishing an eQTL map of the Japanese population. Narahara M, Matsuda F, Yamada R, et al. American Society of Human Genetic Annual Meeting Oct 22-26, 2013 Boston (USA)
2. Narahara M, Matsuda F, Yamada R, et al. (2013) 日本人における eQTL マップの構築. 第 58 回日本人類遺伝学会 11 月 20 日-23 日仙台
3. Invited Session 3 : Statistical Challenges in the Analysis of Rare Genetic Variants in Association Studies, Discussing comment. The 26-th International Biometrics Conference 2012/08/26-31

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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, Zernakova 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 E, Yamamoto K, Plenge RM.	Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.	Nature	506	376-81	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshida S, Ikari K, Furuya T, Toyama Y, Taniguchi A, <u>Yamanaka H</u> , Momohara S.	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	16	R75	2014
Hamaguchi Y, Fujimoto M, Matsushita T, Kaji K, Komura K, Hasegawa M, Kodera M, Muroi E, Fujikawa K, Seshima M, Yamada H, <u>Yamada R</u> , 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	8	e60442	2013
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, <u>Yamanaka H</u> , <u>Momohara S</u> , Taniguchi A, Ohmura K, <u>Matsuda F</u> , <u>Mimori T</u> , 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	9	e1003394	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	8	e59341	2013
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	65	472-80	2013
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	9	e85376	2014
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	93	289-97.	2013
Suzuki T, Ikari K, Yano K, Inoue E, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S.	PADI4 and HLA-DRB1 are genetic risks for radiographic progression in RA patients, independent of ACPA status: results from the IORRA cohort study.	PLoS One	8	e61045	2013
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	8	e62231	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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, <u>Mimori T</u> , <u>Plenge RM</u> , <u>Yamanaka H</u> , <u>Momohara S</u> , <u>Yamada R</u> , <u>Matsuda F</u> , <u>Yamamoto K</u> .	Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population.	Nat Genet	44	511-6	2012
Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, Terao C, Suzuki A, Ikari K, Tsunoda T, Takahashi A, Kubo M, Taniguchi A, <u>Matsuda F</u> , <u>Ohmura K</u> , <u>Momohara S</u> , <u>Mimori T</u> , <u>Yamanaka H</u> , <u>Kamatani N</u> , <u>Yamada R</u> , <u>Nakamura Y</u> , <u>Yamamoto K</u> .	Functional variants in NFKBIE and RTKN2 involved in activation of the NF-kappaB pathway are associated with rheumatoid arthritis in Japanese.	PLoS Genet	8	e1002949	2012
Onuki R, <u>Yamada R</u> , Yamaguchi R, Kanehisa M, Shibuya T.	Population model-based inter-diplotype similarity measure for accurate diplotype clustering.	J Comput Biol	19	55-67	2012
Ohmura K, Terao C, <u>Mimori T</u> .	Recent advances on the genetics of rheumatoid arthritis: current topics and the future.	Inflamm Regen	32	90-98	2012
Terao C, Ohmura K, Ikari K, Kochi Y, Maruya E, Katayama M, Yurugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Takasugi K, Matsuo K, Tajima K, Suzuki A, <u>Yamamoto K</u> , <u>Momohara S</u> , <u>Yamanaka H</u> , <u>Yamada R</u> , <u>Saji H</u> , <u>Matsuda F</u> , <u>Mimori T</u> .	ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese.	PLoS One	7	e40067	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Terao C, Ikari K, Ohmura K, Suzuki T, Iwamoto T, Takasugi K, Saji H, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H, Matsuda F, Mimori T.	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.	Ann Rheum Dis	71	1095-7	2012
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.	A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects.	Ann Rheum Dis	70	2134-9	2011
Suzuki T, Ikari K, Kawaguchi Y, Yano K, Iwamoto T, Kawamoto M, Toyama Y, Taniguchi A, Yamanaka H, Momohara S.	Non-synonymous variant (Gly307Ser) in CD226 is associated with susceptibility in Japanese rheumatoid arthritis patients.	Mod Rheumatol		e-pub	2012
Shidara K, Inoue E, Hoshi D, Tanaka E, Seto Y, Nakajima A, Momohara S, Taniguchi A, Yamanaka H.	The influence of individual joint impairment on functional disability in rheumatoid arthritis using a large observational database of Japanese patients.	J Rheumatol	39	476-80	2012
Nakajima A, Inoue E, Shidara K, Hoshi D, Sato E, Seto Y, Tanaka E, Taniguchi A, Momohara S, Yamanaka H.	Standard treatment in daily clinical practice for early rheumatoid arthritis improved disease activity from 2001 to 2006.	Mod Rheumatol	21	594-7	2011

III. 研究成果の刊行物・別刷

Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery

A list of authors and their affiliations appears at the end of the paper

A major challenge in human genetics is to devise a systematic strategy to integrate disease-associated variants with diverse genomic and biological data sets to provide insight into disease pathogenesis and guide drug discovery for complex traits such as rheumatoid arthritis (RA)¹. Here we performed a genome-wide association study meta-analysis in a total of >100,000 subjects of European and Asian ancestries (29,880 RA cases and 73,758 controls), by evaluating ~10 million single-nucleotide polymorphisms. We discovered 42 novel RA risk loci at a genome-wide level of significance, bringing the total to 101 (refs 2–4). We devised an *in silico* pipeline using established bioinformatics methods based on functional annotation⁵, *cis*-acting expression quantitative trait loci⁶ and pathway analyses^{7–9}—as well as novel methods based on genetic overlap with human primary immunodeficiency, haematological cancer somatic mutations and knockout mouse phenotypes—to identify 98 biological candidate genes at these 101 risk loci. We demonstrate that these genes are the targets of approved therapies for RA, and further suggest that drugs approved for other indications may be repurposed for the treatment of RA. Together, this comprehensive genetic study sheds light on fundamental genes, pathways and cell types that contribute to RA pathogenesis, and provides empirical evidence that the genetics of RA can provide important information for drug discovery.

We conducted a three-stage trans-ethnic meta-analysis (Extended Data Fig. 1). On the basis of the polygenic architecture of RA¹⁰ and shared genetic risk among different ancestry^{3,4}, we proposed that combining a genome-wide association study (GWAS) of European and Asian ancestry would increase power to detect novel risk loci. In stage 1, we combined 22 GWAS for 19,234 cases and 61,565 controls of European and Asian ancestry^{2–4}. We performed trans-ethnic, European-specific and Asian-specific GWAS meta-analysis by evaluating ~10 million single-nucleotide polymorphisms (SNPs)¹¹. Characteristics of the cohorts, genotyping platforms and quality control criteria are described in Extended Data Table 1 (overall genomic control inflation factor $\lambda_{GC} < 1.075$).

Stage 1 meta-analysis identified 57 loci that satisfied a genome-wide significance threshold of $P < 5.0 \times 10^{-8}$, including 17 novel loci (Extended Data Fig. 2). We then conducted a two-step replication study (stage 2 for *in silico* and stage 3 for *de novo*) in 10,646 RA cases and 12,193 controls for the loci with $P < 5.0 \times 10^{-6}$ in stage 1. In a combined analysis of stages 1–3, we identified 42 novel loci with $P < 5.0 \times 10^{-8}$ in any of the trans-ethnic, European or Asian meta-analyses. This increases the total number of RA risk loci to 101 (Table 1 and Supplementary Table 1).

Comparison of 101 RA risk loci revealed significant correlations of risk allele frequencies (RAFs) and odds ratios (ORs) between Europeans and Asians (Extended Data Fig. 3a–c; Spearman's $\rho = 0.67$ for RAF and 0.76 for OR; $P < 1.0 \times 10^{-13}$), although five loci demonstrated population-specific associations ($P < 5.0 \times 10^{-8}$ in one population but $P > 0.05$ in the other population without overlap of the 95% confidence intervals (95% CIs) of the ORs). In the population-specific genetic risk model, the 100 RA risk loci outside of the major histocompatibility complex (MHC) region¹² explained 5.5% and 4.7% of heritability in Europeans and Asians, respectively, with 1.6% of the heritability explained by the novel loci. The trans-ethnic genetic risk model, based on the RAF from

one population but the OR from the other population, could explain the majority (>80%) of the known heritability in each population (4.7% for Europeans and 3.8% for Asians). These observations support our hypothesis that the genetic risk of RA is shared, in general, among Asians and Europeans.

We assessed enrichment of 100 non-MHC RA risk loci in epigenetic chromatin marks¹³ (Extended Data Fig. 3d). Of 34 cell types investigated, we observed significant enrichment of RA risk alleles with trimethylation of histone H3 at lysine 4 (H3K4me3) peaks in primary CD4⁺ regulatory T cells (T_{reg} cells; $P < 1.0 \times 10^{-5}$). For the RA risk loci enriched with T_{reg} H3K4me3 peaks, we incorporated the epigenetic annotations along with trans-ethnic differences in patterns of linkage disequilibrium to fine-map putative causal risk alleles (Extended Data Fig. 3e, f).

We found that approximately two-thirds of RA risk loci demonstrated pleiotropy with other human phenotypes (Extended Data Fig. 4), including immune-related diseases (for example, vitiligo, primary biliary cirrhosis), inflammation-related or haematological biomarkers (for example, fibrinogen, neutrophil counts) and other complex traits (for example, cardiovascular diseases).

Each of 100 non-MHC RA risk loci contains on average ~4 genes in the region of linkage disequilibrium (in total 377 genes). To prioritize systematically the most likely biological candidate gene, we devised an *in silico* bioinformatics pipeline. In addition to the published methods that integrate data across associated loci^{7,8}, we evaluated several biological data sets to test for enrichment of RA risk genes, which helps to pinpoint a specific gene in each loci (Extended Data Figs 5, 6 and Supplementary Tables 2–4).

We first conducted functional annotation of RA risk SNPs. Sixteen per cent of SNPs were in linkage disequilibrium with missense SNPs ($r^2 > 0.80$; Extended Data Fig. 5a, b). The proportion of missense RA risk SNPs was higher compared with a set of genome-wide common SNPs (8.0%), and relatively much higher in the explained heritability (~26.8%). Using *cis*-acting expression quantitative trait loci (*cis*-eQTL) data obtained from peripheral blood mononuclear cells (5,311 individuals)⁶ and from CD4⁺ T cells and CD14⁺CD16[−] monocytes (212 individuals), we found that RA risk SNPs in 44 loci showed *cis*-eQTL effects (false discovery rate (FDR) q or permutation $P < 0.05$; Extended Data Table 2).

Second, we evaluated whether genes from RA risk loci overlapped with human primary immunodeficiency (PID) genes¹⁴, and observed significant overlap (14/194 = 7.2%, $P = 1.2 \times 10^{-4}$; Fig. 1a and Extended Data Fig. 5c). Classification categories of PID genes showed different patterns of overlap: the highest proportion of overlap was in 'immune dysregulation' (4/21 = 19.0%, $P = 0.0033$) but there was no overlap in 'innate immunity'.

Third, we evaluated overlap with cancer somatic mutation genes¹⁵, under the hypothesis that genes with cell growth advantages may contribute to RA development. Among 444 genes with registered cancer somatic mutations¹⁵, we observed significant overlap with genes implicated in haematological cancers (17/251 = 6.8%, $P = 1.2 \times 10^{-4}$; Fig. 1b and Extended Data Fig. 5d), but not with genes implicated in non-haematological cancers (6/221 = 2.7%, $P = 0.56$).