

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

網羅的統合オミックス解析を用いた難病の原因究明と新規診断・治療法の確立

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

研究分担者：京都大学医学研究科・研究員 川口 喬久

研究要旨

統合的オミックス解析の情報基盤として、SNP チップや次世代シーケンサーによる遺伝子多型情報、発現アレイによるトランスクリプトーム、質量分析計によるメタボロームやフローサイトメトリー(FACS)などを格納するデータベースを構築した。また、複数の病院からの臨床情報や健康診断での健診情報を適切に収集するための Web インタフェースや、検体の二次匿名化を行うための情報基盤を構築した。本データベースを活用して、IgG4 関連疾患、肺高血圧症 (PH)、HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) /成人性白血病 (ATL) のゲノムワイド関連解析およびオミックス解析を実施した。

A. 研究目的

網羅的オミックス解析を大規模に実施するための情報基盤の整備を目的とし、匿名化などの倫理規約の遵守・円滑な解析が可能なデータ格納方法や交換フォーマットの策定、統計手法の開発および解析を行う。

B. 研究方法

実験手法に応じ、クオリティコントロールの最適化、解析手法の開発を行うとともに、同一オミックスデータの統合手法を検討する。以下、オミックス別に要点を示す。

・ゲノム (SNP チップ、次世代シーケンサー) : 多種類の商用 SNP チップによるゲノムスキャンや次世代シーケンサーによる多型同定の結果を統合的に解析するため、各多型をリファレンス配列に対する変異として ID 化する。

・トランスクリプトーム (発現アレイ) : プロブ配列セットによりデータを一意化する。異なるプラットフォームを統合のための標準化手法についても検討する。

・プロテオーム、メタボローム (GCMS) : 公共のスペクトルデータベースを用いて化合物を同定し、ノイズ除去の後、内部標準に対する相対値で (半) 定量化する (ターゲット法)。また、特定の化合物を同定せずに、すべてのピークデータを用いた解析手法の開発も進める。具体的には、ピークアライメントによるデータ統合と主成分分析や Lasso 等による次元縮約、それらを用いた関連解析である (ノンターゲット法)。

・イミュノーム (FACS) : 血中の免疫関連

細胞を FACS により定量する。いわゆるゲート法によるマニュアルクラスタリングによって細胞種を同定する一方、ゲート化を行わずに、各抗体の蛍光量を軸とする多次元空間から統計的手法を用いたクラスタリングを行う。

・フェノーム (臨床情報など) : データの型づけ (文字列型、数値型、カテゴリ型など)、複合的な制約 (性別に応じた上下限値の設定など) により、精度の高い情報を収集する。また、データ登録用 Web インタフェースの自動生成、匿名化の自動化等による作業量の軽減や不整合率の低減、アクセスコントロール等によるセキュリティ向上や進捗管理機能の充実を図る。

(倫理面への配慮)

本研究はすべて国の倫理指針に基づいた倫理委員会での審議、許可を得ている。また、検体はすべて匿名化する。

C. 研究結果

SNP に関しては、新たに 900 の対象疾患サンプルを登録した。実験データはプラットフォームごとに整形し、またクオリティコントロール (QC) を実施して、plink 形式にて適宜研究者に頒布している。マイクロアレイによるトランスクリプトームでは、212 の対象疾患サンプルを登録した。実験データは QC および正規化を実施した後、csv 形式で適宜研究者に頒布している。GCMS によるメタボローム解析では、新たに 213 を登録した。ターゲット法に基づ

くピーク検出方法により 136 の化合物を同定・定量し、csv 形式で適宜研究者に頒布している。また、ノンターゲット法による解析手法の開発も並行して進めている。臨床情報は、IgG4 で 4 時点のべ 124 項目、PH で 6 時点のべ 145 項目を設定した。今期、改めて、IgG4 で 708 検体、PH で 210 検体を収集した。データ登録時の論理矛盾チェックにより、データ間の不整合を排除したほか、同一項目を異なるプロジェクト間で統合することに努めた。また、データベースを、ゲノム疫学統合基盤のパッケージシステムとして開発した。

D. 考察

取り扱うデータの種類とともに、データ数も積み増している。特に、臨床情報は、制約の導入により、入力時に論理矛盾を排除することができた。また、それにつながる解析パイプラインの構築により、解析の労力が大幅に低減できた。一方、ゲノムに関しては、SNP や CNV のような単純な多型以外についても格納する枠組みを確立する必要がある。また、その他のオミックスについては、実験単位のデータセットごとの標準化は進めることができたが、実験手法横断的な統合は不十分であり、データの標準化方法を含め、今後も検討を進める必要がある。Web インタフェースや匿名化に関しては、より利便性・安全性が高いものを提供できるよう、今後も改善をすすめる必要があると感じている。

E. 結論

データのデータベースの構造、その入出力パイプラインにおけるクオリティコントロールは適切であり、疾患解析に活用することができた。

F. 健康危険情報

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, R. R., Manoharan, A., Ortmann, W., Bhangale, T., Denny, J. C., Carroll, R. J.,

Eyler, A. E., Greenberg, J. D., Kremer, J. M., Pappas, D. A., Jiang, L., Yin, J., Ye, L., Su, D. F., Yang, J., Xie, G., Keystone, E., Westra, H. J., Esko, T., Metspalu, A., Zhou, X., Gupta, N., Mirel, D., Stahl, E. A., Diogo, D., Cui, J., Liao, K., Guo, M. H., Myouzen, K., Kawaguchi, T., Coenen, M. J. H., van Riel, P. L. C. M., van de Laar, M. A. F. J., Guchelaar, H. J., Huizinga, T. W. J., Dieude, P., Mariette, X., Bridges Jr, S. L., Zhernakova, A., Toes, R. E. M., Tak, P. P., Miceli-Richard, C., Bang, S. Y., Lee, H. S., Martin, J., Gonzalez-Gay, M. A., Rodriguez-Rodriguez L., Rantapaa-Dahlqvist, S., Arlestig, L., Choi, H. K., Kamatani, Y., Galan, P., Lathrop, M., the RACI consortium, the GARNET consortium, Eyre, S., Bowes, J., Barton, A., de Vries, N., Moreland, L. W., Criswell, L. A., Karlson, E. W., Taniguchi, A., Yamada, R., Kubo, M., Liu, J. S., Bae, S. C., Worthington, J., Padyukov, L., Klareskog, L., Gregersen, P. K., Raychaudhuri, S., Stranger, B. E., De Jager, P. L., Franke, L., Visscher, P. M., Brown, M. A., Yamanaka, H., Mimori, T., Takahashi, A., Xu, H., Behrens, T. W., Siminovitch, K. A., Momohara, S., Matsuda, F., Yamamoto, K. and Plenge, R. M. (2014) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 506, 376-381.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

網羅的統合オミックス解析を用いた難病の原因究明と新規診断・治療法の確立
“自己免疫性疾患のオミックス解析に関する研究”

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

研究分担者：京都大学医学研究科・特定助教 寺尾 知可史

研究要旨

難病である高安動脈炎のゲノム解析を行い、疾患感受性遺伝子を2つ同定した。また、混合性結合組織病の特に重篤な合併症である肺高血圧症、また、IgG4関連疾患におけるDNA、転写物、代謝物を用いた統合的オミックス解析を用いた解析を行い、IgG4関連疾患において関連領域を2つ同定した。

A. 研究目的

肺高血圧症、また、IgG4関連疾患におけるDNA、転写物、代謝物を用いた統合的オミックス解析を用い、原因究明と新たな治療対象の同定を行う。また、高安動脈炎のDNA解析を行う。

B. 研究方法

肺高血圧症・IgG4関連疾患患者のDNA、転写物、代謝物検体を集積し、健康人データと比較する他、詳細な臨床情報を基に、病態の解析を行う。高安動脈炎のDNAを集積し、全ゲノム関連解析を行い、病態を明らかにする。

(倫理面への配慮)

患者検体は二回匿名化され、患者の個人情報とオミックスデータが連結されないように注意する。検体の採取は一回当たり20cc程度にとどめ、健康上の影響がないようにする。

C. 研究結果

IgG4関連疾患研究班(千葉班)との協体制の元、検体収集を昨年に続き継続し、IgG4関連疾患のDNA合計758検体を集積した。ゲノム網羅的なSNPタイピングの数を増やし、955,113 SNPについて、698検体の疾患群と健康者検体1,849例との関連解析を行った。また、時系列に沿った検体の収集が順調に推移し、26例のRNA検体、血清、血漿検体を収集した。構造化を補正した関連解析において、ゲノムワイド有意水準($P < 5.2 \times 10^{-8}$)を満たすSNPが、全例あるいはミクリッツ病を対象

とした解析では染色体1番と6番に、AIP type1を対象とした解析では染色体6番に、腎炎を対象とした解析では染色体20番に同定された(補正後の λ は1.03-1.05であった)。

全IgG4関連疾患において最も強く関連したHLA領域のSNPは、HLA Class IIに分類されるHLA-DRB1にあり、既報のHLA-DRB1*04:05と強い連鎖不平衡の関係にあった($r^2:0.73$)。次に、HLA領域の関連がHLA-DRB1*04:05のSNP以外にあることを考え、ロジスティック回帰分析にて解析を行った。すると、最も強い関連を示したSNPの影響を除外した後もHLA Class Iに分類されるHLA-A領域のSNPに有意な関連を認めた($p=6.2 \times 10^{-11}$)。これら二つのSNPの影響を考慮すると、厳密なゲノムワイド関連解析の有意水準に到達するSNPはなくなったが、最も低いp値を示すものがHLA Class I領域のSNP(1.0×10^{-6})にあり、さらなる関連領域の存在が示唆された。これらのことから、IgG4関連疾患の疾患感受性においてHLA Class II領域のみならずClass I領域も関連することが示された。

肺高血圧症の症例の集まる、岡山医療センターや混合性結合組織病の病態解明・早期診断と治療法の確立に関する研究班と共同し、引き続き検体の増加に努めた。合わせてDNA 685検体を収集、461検体につきゲノムスキャンを施行した。混合性結合組織病について、有意水準に到達した領域の他、候補領域も含め、関連領域を3つ同定した。肺高血圧症の中で特に慢性血栓性肺高血圧症に標的を絞った時系列に沿

った検体の収集は順調に推移し、合計 176 検体までに増加した。

PH 170 例、あるいは CTEPH 112 例をケース群としてゲノムワイド関連解析を行った。いずれにおいても、有意水準 ($P < 2.0 \times 10^{-7}$) を満たす SNP は検出されなかった。CTEPH を対象とした解析において、弱いながらも関連が認められる候補 SNP ($P < 1.0 \times 10^{-5}$) が染色体 6 番および 8 番に 1 つずつ同定された。時系列に沿った RNA を遺伝子発現アレイにかけ、現在 16 検体を終了した。

混合性結合組織病 (MCTD)

HLA 領域 ($p = 6.0 \times 10^{-10}$)、および染色体 8 番の BLK 領域 ($p = 3.4 \times 10^{-7}$) が統計学的な有意水準に到達した。これら 2 領域に次いで強い関連を示した ZNF835 と STAT4 領域について検証パネルを用いて追認解析を行った。その結果、STAT4 領域と MCTD との関連が再現され ($p = 0.003$)、全てのサンプルを合わせた解析において、当該 SNP のオッズ比は 1.81 ($p = 1.7 \times 10^{-8}$) であった。ZNF835 領域と MCTD との関連は再現されなかった。

高安動脈炎

東京医科歯科大学や新潟大学、東京女子医科大学、患者会と連携し、高安動脈炎患者 DNA を 379 例集積した。167 例のゲノムスキャンを行い、663 例の健常人と比較を 24,487 SNP に関して行い、212 人の患者群と 1,322 人の健常者で追認解析を施行、染色体 5 番の IL12B 領域と染色体 17 番の MLX 領域を関連領域として同定した。IL12B 領域は既知の HLA-B52:01 と疾患感受性について相互作用を示し、重篤な合併症である大動脈弁閉鎖症の合併頻度およびその重症度と関連を示した。

D. 考察

IgG4 関連疾患

HLA 領域の関連は既報のものとは一致するが、複数のピークが見つかるのは初めてである。また、非 HLA 領域との関連の同定も初めてである。さらなる検体数を増やした追認解析が重要である。

慢性血栓塞栓性肺高血圧症

170 例の遺伝子解析では有意水準に到達する SNP は検出されなかった。HLA 領域

にも関連は認められず、HLA の関連は弱い可能性がある。

混合性結合組織病 (MCTD)

本研究で同定された HLA、BLK、STAT4 領域は、いずれも SLE および SSc の疾患感受性遺伝子として同定されている。しかし、これらの領域と MCTD との関連は、SLE や SSc との関連に比して高い傾向にあり、疾患寄与率は MCTD 病態においてより大きい可能性がある。これらの結果は、SLE や SSc、筋炎に共通する感受性遺伝子の解析が、MCTD の遺伝的背景を解明するうえで有効であることを示唆している。

高安動脈炎

高安動脈炎で最も強い関連を示した IL12B 領域は、IL12p40 タンパクをコードしている。同領域は炎症性腸疾患や乾癬でその関連が示されており、これらの疾患では IL12p40 をターゲットとした分子生物学的製剤であるウステキヌマブが治療に用いられている。IL12B が高安動脈炎の病態において中心的な役割を果たしている可能性が高いことから、ウステキヌマブは高安動脈炎の新規治療法として有望である可能性がある。

E. 結論

IgG4 関連疾患については HLA 領域の複数の関連を同定した他、非 HLA 領域の関連領域候補を同定した。

慢性血栓塞栓性肺高血圧症の時系列に沿った検体の収集を完了し、遺伝子発現データ解析を開始した。

混合性結合組織病について、HLA 領域の他に BLK 領域を疾患感受性領域として同定した。

高安動脈炎の新規疾患感受性領域として IL12B と MLX の二領域を同定した。ウステキヌマブは高安動脈炎の新規治療法となる可能性がある。

F. 健康危険情報

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, R.

- R., Manoharan, A., Ortmann, W., Bhangale, T., Denny, J. C., Carroll, R. J., Eyler, A. E., Greenberg, J. D., Kremer, J. M., Pappas, D. A., Jiang, L., Yin, J., Ye, L., Su, D. F., Yang, J., Xie, G., Keystone, E., Westra, H. J., Esko, T., Metspalu, A., Zhou, X., Gupta, N., Mirel, D., Stahl, E. A., Diogo, D., Cui, J., Liao, K., Guo, M. H., Myouzen, K., Kawaguchi, T., Coenen, M. J. H., van Riel, P. L. C. M., van de Laar, M. A. F. J., Guchelaar, H. J., Huizinga, T. W. J., Dieude, P., Mariette, X., Bridges Jr, S. L., Zhernakova, A., Toes, R. E. M., Tak, P. P., Miceli-Richard, C., Bang, S. Y., Lee, H. S., Martin, J., Gonzalez-Gay, M. A., Rodriguez-Rodriguez L., Rantapaa-Dahlqvist, S., Arlestig, L., Choi, H. K., Kamatani, Y., Galan, P., Lathrop, M., the RACI consortium, the GARNET consortium, Eyre, S., Bowes, J., Barton, A., de Vries, N., Moreland, L. W., Criswell, L. A., Karlson, E. W., Taniguchi, A., Yamada, R., Kubo, M., Liu, J. S., Bae, S. C., Worthington, J., Padyukov, L., Klareskog, L., Gregersen, P. K., Raychaudhuri, S., Stranger, B. E., De Jager, P. L., Franke, L., Visscher, P. M., Brown, M. A., Yamanaka, H., Mimori, T., Takahashi, A., Xu, H., Behrens, T. W., Siminovitch, K. A., Momohara, S., Matsuda, F., Yamamoto, K. and Plenge, R. M. (2014) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 506, 376-381.
2. Terao, C., Yoshifuji, H., Kimura, A., Matsumura, T., Ohmura, K., Takahashi, M., Shimizu, M., Kawaguchi, T., Chen, Z., Naruse, T. K., 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, K., Nagai, R., Yamada, R., Tabara, Y., Isobe, M., Mimori, T. and Matsuda, F. (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, 289-297.
3. Terao, C., Yoshifuji, H., Ohmura, K., Murakami, K., Kawabata, D., Yurugi, K., Tazaki, J., Kinoshita, H., Kimura, A., Akizuki, M., Kawaguchi, Y., Yamanaka, H., Miura, Y., Maekawa, T., Saji, H., Mimori, T. and Matsuda, F. (2013) Association of Takayasu arteritis with HLA-B*67:01 and two amino acids in HLA-B protein. *Rheumatol.* 52, 1769-1774.
2. 学会発表
1. Yoshifuji, H., Terao, C., Murakami, K., Kawabata, D., Ohmura, K., Fujii, T., Kawaguchi, Y., Yamanaka, H. and Mimori, T. Association between HLA-B's amino acid variation and disease-susceptibility to Takayasu arteritis. American College of Rheumatology 2013, (San Diego, USA), October 27, 2013.
2. 寺尾 知可史, 吉藤 元, 木村 彰方, 松村 貴由, 大村 浩一郎, 成瀬 妙子, 佐藤 愛子, 前島 康浩, 和田 庸子, 成田 一衛, 川口 鎮司, 山中 寿, 前川 平, 小川 誠司, 小室 一成, 永井 良三, 田原 康玄, 磯部 光章, 三森 経世, 松田 文彦 IL12Bは高安動脈炎の新規疾患感受性遺伝子であり HLA-B*52:01と相互作用を示す 第41回日本臨床免疫学会、海峡メッセ下関(下関) 2013年11月28日
3. 寺尾 知可史, 吉藤 元, 村上 孝作, 川端 大介, 大村 浩一郎, 秋月 正史, 川口 鎮司, 山中 寿, 三森 経世 高安動脈炎感受性と相関する3つの新規HLA-Bアミノ酸多型 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会 国立京都国際会館(京都) 2013年4月20日
- G. 知的財産権の出願・登録状況
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
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

網羅的統合オミックス解析を用いた難病の原因究明と新規診断・治療法の確立
“質量分析装置を用いた代謝物解析”

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

研究分担者：島津製作所ライフサイエンス研究所・所長 佐藤孝明

研究要旨

難病の網羅的統合オミックス解析プロジェクトにおいて、本分担研究では質量分析技術を利用した網羅的代謝物解析を担当する。最終年に当たる本年は、主に IgG4 関連疾患および肺高血圧症の患者検体の GC-MS 測定、並びに定量解析を行った。また、同一患者の治療開始前、治療開始 3 日後など複数点で採血した検体についてデータ取得を行い、治療経過による代謝物の変動について解析を行った。

A. 研究目的

難病克服に向けて、統合オミックス解析を行い、新たなバイオマーカーの同定や、疾患発症の分子機序の解明、患者内でのサブグループ解析による重症度・予後予測因子の同定等を目指す。上記目的のため、本分担研究では、質量分析技術を利用した網羅的代謝物解析の標準手法を確立し、血中メタボローム解析を行うことを目的とする。

B. 研究方法

IgG4 関連疾患(IgG4RD)および肺高血圧症(PH)の 2 疾患について、難病患者群データと健常者対照群データとの比較を行う。患者の病態を表現している中間形質として代謝物を解析対象とし、さらに、それらの経時的変化と病状の変化や予後との関連を解析する。今年度は、主に難病患者検体の測定・解析を行う。血漿サンプルから低分子代謝成分を抽出し、トリメチルシリル(TMS)化による誘導體化を行った後、ガスクロマトグラフィー-質量分析計(GC-MS)によるスキャン測定を行う。

(倫理面への配慮)

血液検体は、国の倫理指針他にに基づき書面による同意が得られた場合にのみ研究に用いている。また、検体は二度の匿名化を行った後に研究に使用しており、プライバシー保護には十分に留意している。

C. 研究結果

血漿中の低分子代謝成分の GC-MS による網羅的解析について、対照群となるなが

はマコホート健常者血漿の GC-MS スキャンデータ取得を継続して行うとともに、IgG4RD (37 検体)、PH (176 検体) の患者検体についても同様にスキャンデータを取得した。これらのデータについて、135 成分の代謝物の定量解析を実施した。得られた定量データについて、健常者対照群および難病患者群の 2 群間の比較検定を実施し、いずれの疾患においても複数の代謝物成分について統計学的有意差がみとめられた。また、治療経過による代謝物の変動について解析を行った。

D. 考察

IgG4RD および PH の両疾患において、健常者対照群と患者群の血中代謝物の比較により、量的変動がみとめられた複数の代謝物を同定した。これらは、炎症などの病態の結果もたらされる変動なのか、疾患プロセスに基づくものなのか見極める必要があるものの、今後診断マーカーや治療ターゲットとしての応用が期待される。また、治療経過に伴って変動する代謝物については、症例数に限りはあるものの、治療効果の判定などの臨床応用へとつながるものであると考えられる。

E. 結論

IgG4RD および PH の 2 種類の難病について、GC-MS による網羅的代謝物の測定を完了した。健常者対照群との比較により、複数のバイオマーカー候補を同定した。また、治療経過に沿った時系列解析では、変動する代謝物を同定し、治療効果の判定な

どへの利用可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

網羅的統合オミックス解析を用いた難病の原因究明と新規診断・治療法の確立
研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦
研究分担者：DNAチップ研究所・取締役名誉所長 松原 謙一

研究要旨

難病克服に向けた総合的戦略として、本課題ではゲノム、代謝物、転写物の網羅的解析を組み合わせた極めて独創性の高い統合オミックス解析を実行する。これにより疾患の予知、診断、予後予測、治療法の開発や創薬に不可欠な新たな疾患関連バイオマーカーを同定する。特に、今回は時系列を考慮した白血球の転写物の網羅的解析を実施する。これにより疾患関連遺伝子や新たなバイオマーカーの発見が可能となるので疾患発症の分子機序の解明や、患者群内での亜集団解析による重症度・予後予測因子の同定を進める方策が確定できる。

A. 研究目的

難病の克服にゲノム解析を利用した戦略は強力だが限界があり、予知、診断、予後予測に加え、治療法の開発や創薬を更に進めるためには、更に新たな疾患関連バイオマーカーの同定が重要である。例えば、血中の代謝物の解析は、患者の病状把握に不可欠な情報を提供し、また末梢血中の白血球の遺伝子発現パターンは患者の患部に起きている病態を直接反映する。この際、いかに多くの良質の対照群検体を持つかが成功の鍵となる。本研究では、末梢血を用い、時系列を考慮した網羅的転写物解析をおこない、健常者対照群のデータとの比較により、遺伝子発現から迫る疾患部位の同定とそこに働いている遺伝子や未知バイオマーカーの同定を目指す。また、患者群内での亜集団解析により、重症度や予後を予測する因子の探索をおこなう。

B. 研究方法

本年度は、IgG4 関連疾患並びに肺高血圧症の症例を対象に基礎データを取得した。具体的には、PAXgene 採血管を用いて、IgG4 関連疾患 37 名、肺高血圧症 176 名、計 213 名の被検者から血液を採取し、そこから RNA を抽出し、バイオアナライザーによるクオリティチェックを行った。クオリティチェックの結果、肺高血圧症 1 例の RNA についてアレイ実験の基準を満たさなかった。基準を満たした 212 検体について、ラベル化反応を行ない、ターゲット RNA を作製した。ターゲット RNA の色素取り込みについて分光光度計を用いて評価したところ、ラベル化

全 212 検体について、基準を満たしていた。ラベル化を完了した 212 検体について、アジレント社製網羅的マイクロアレイ (42,545 プローブ搭載) を用いて発現データを取得した。続いて、2013 年度に取得した IgG4 関連疾患 37 例アレイデータ、2013 年度取得肺高血圧症 175 例データに加え、健常対象として 2011 年度取得健常者 302 例データを含めた計 514 マイクロアレイデータについて、正規化処理を行なった。実験時期が数回に及んだため、正規化手法の中でも実験誤差に対してより Robust な手法である Quantile 法を実施した。この正規化データを用いて、健常群と IgG4 関連疾患群、肺高血圧症群で発現差の認められる遺伝子群を統計検定により抽出した。また抽出遺伝子群に高頻度に濃縮する生物学的機能について、Gene ontology 解析により評価した。

(倫理面への配慮)

京大学生命研究倫理委員会の承認済

C. 研究結果

①健常群 vs IgG4 関連疾患症例群

IgG4 関連疾患病態に関与する遺伝子群を同定するため、健常者 302 データと IgG4 関連疾患 37 データの 2 群間において、統計検定 (Mann-Whitney U test) を行なった。多重検定補正 (FDR: False discovery rate) P 値 0.05 未満、かつ 2 群平均値間変動倍率が 2 以上となる遺伝子プローブを抽出した。結果、830 プローブ (498 遺伝子) を IgG4 関連疾患の病態関連候補因子として同定し

た。このうち、健常群に比べて IgG4 関連疾患群で発現が亢進するものは 584 プローブ (334 遺伝子)、発現が低下するものは 246 プローブ (164 遺伝子) であった。Gene ontology による機能解析の結果、発現亢進遺伝子群には、ウイルス、細菌感染、細胞周期に関連する GO term が有意となった。

②健常群 vs 肺高血圧症例群

肺高血圧症の病態に関与する遺伝子群を同定するため、健常者 302 データと肺高血圧症 175 データの 2 群間において、統計検定 (Mann-Whitney U test) を行なった。多重検定補正 (FDR: False discovery rate) P 値 0.05 未満、かつ 2 群平均値間変動倍率が 2 以上となる遺伝子プローブを抽出した。結果、551 プローブ (294 遺伝子) を肺高血圧症の病態関連候補因子として同定した。このうち、健常群に比べて肺高血圧症群で発現が亢進するものは 431 プローブ (229 遺伝子)、発現が低下するものは 120 プローブ (65 遺伝子) であった。Gene ontology による機能解析の結果、発現亢進遺伝子群には、ウイルス感染やミトコンドリア機能に関連する GO term が有意となった。

D. 考察

血液採取された難病サンプル計 213 検体のうち、ほぼ全例にあたる 212 検体について良好な網羅的遺伝子発現データを得ることができた。また、2011 前年度に取得した大規模健常者データと比較することにより、難病である IgG4 関連疾患、肺高血圧症で特徴的に発現変動する遺伝子群の同定に成功した。いずれの疾患も、末梢血において健常群に比べて発現亢進する遺伝子が多い傾向が認められ、これら病態において免疫細胞が活性化がされている様子がうかがえた。また変動遺伝子群の機能的解析により、IgG4 関連疾患においては、ウイルス・細菌感染、細胞周期に関連する関連する遺伝子群が発現亢進すること、肺高血圧症では、同じくウイルス感染やミトコンドリア機能に関連する遺伝子群が発現亢進することを明らかにした。両疾患病態に微生物感染が関与する可能性が示唆された。

E. 結論

今年度は、IgG4 関連疾患並びに肺高血圧症の症例を対象に基礎データを取得した。また、過去取得大規模健常者検体群と比較することにより、各疾患の病態関連因子候補の同定に成功した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

網羅的統合オミックス解析を用いた難病の原因究明と新規診断・治療法の確立

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

研究分担者：国立病院機構岡山医療センター・

臨床研究部長 松原 広己

研究要旨

慢性血栓塞栓性肺高血圧症に対するバルーン肺動脈形成術の合併症である肺障害は、血管内超音波による病変の詳細な評価に基づいて拡張方法を決定することにより、出現頻度を著明に減少させることが可能であった。

A. 研究目的

慢性血栓塞栓性肺高血圧症 (chronic thromboembolic pulmonary hypertension: CTEPH) は、無治療の場合 3 年生存率 10% と予後不良で、特定疾患に指定されている。肺動脈血栓内膜摘除術以外に確立された治療法はないとされてきたが、われわれは、既報のバルーン肺動脈形成術 (balloon pulmonary angioplasty: BPA) を改良し、血行動態の改善と死亡率の低下を実現した。最新の日本循環器学会のガイドラインでは、BPA は治療の選択肢のひとつに挙げられている。しかし、術後に肺障害が出現し、一部で重症化することが課題として残存する。そこで、肺障害の発生率の減少を目的として検討を行った。

B. 研究方法

BPA 施行時に血管内超音波 (intravascular ultrasound: IVUS) を用いて病変の評価を行い、肺障害の出現頻度や重症度との関係を検討した。

(倫理面への配慮)

BPA の実施については当院倫理委員会の承認を得ており、全例で治療前に書面で同意を得た。

C. 研究結果

CTEPH の病変は、手術時摘出標本の観察に基づいて形態的に分類されているが、IVUS を用いた観察により、病変タイプにより病変部の血栓量が異なることが明らかとなった。また、この病変タイプの違いにより、BPA の成功率や合併症発生率も異なっており、血栓量の多い病変ではより合併

症発生率が高かった (ring-like stenosis ; 成功率 100%・合併症率 2%、complete obstruction; 成功率 80%・合併症率 19%)。さらに、術前の肺動脈圧が高いほど肺障害の出現率が高いことも明らかとなった。そこで、病変タイプに応じてバルーンサイズを変更し、血栓量の多い病変では小さなバルーン径のものを選択する方針とし、肺動脈圧が高い症例ではさらにバルーン径を 20% 低下させることとした。

このような戦略でバルーンサイズを決定する方針をとった後、重症肺障害の発生率は 14.2% から 0.8% へと有意に低下した。

D. 考察

BPA 施行症例を重ねるにつれて、肺障害の多くは血管障害によって引き起こされていることがわかってきた。病変タイプと血行動態を勘案して拡張方法を選択することで肺障害の出現を著減させることができた。しかしながら、これらについて注意をしてもなお、肺障害の根絶には至っていない。肺障害の出現する症例は限られており、複数回の治療に伴って肺障害が繰り返し出現する症例もあることから、未知の因子が影響していると予測される。肺障害の出現した症例について、さらに詳細な解析を加え、肺障害の根絶を目指していく必要がある。

E. 結論

IVUS の評価に基づいて拡張方法を検討することにより、BPA の合併症である肺障害の出現頻度を減少させることが可能となった。BPA 治療の標準化と拡大につながることを期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 芹澤直紀、松原広己 (2013) III・5・忘れてはならない肺高血圧症、変貌する心不全診療 8, 30-35.
2. 下川原祐人、松原広己 (2013) 慢性血栓塞栓性肺高血圧症のカテーテル治療 *CARDIAC PRACTICE* 24, 73-76.
3. Fukumoto, Y., Yamada, N., Matsubara, H., Mizoguchi, M., Uchino, K., Yao, A., Kihara, Y., Kawano, M., Watanabe, H., Takeda, Y., Adachi, T., Osanai, S., Tanabe, N., Inoue, T., Kubo, A., Ota, Y., Fukuda, K., Nakano, T. and Shimokawa, H. (2013) Double-blind, placebo-controlled clinical trial with a rho-kinase inhibitor in pulmonary arterial hypertension. *Circ J.* 77, 2619-2625.
4. Ogawa, A., Yamadori, I., Matsubara, O. and Matsubara, H. (2013) Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy with circulatory failure treated with imatinib. *Intern. Med.* 52, 1927-1930.

2. 学会発表

1. 松原広己 「慢性血栓塞栓性肺高血圧症と肺動脈バルーン拡張術」第17回日本心不

全学会学術集会 教育講演 大宮ソニックシティ (埼玉) 2013年11月29日

2. 松原広己 「肺高血圧症治療の進歩」日本呼吸器学会第34回生涯教育講演会 東京国際フォーラム (東京) 2013年4月18日
3. Matsubara, H. Innovative approaches: balloon pulmonary angioplasty. 6th Annual Central European PH Meeting (Wien, Austria) November 23, 2013.
4. Ogawa, A., Miyaji, K. and Matsubara, H. Clinical prediction rule for identifying patients with pulmonary veno-occlusive disease/pulmonary capillary hemangiomatosis. European Society of Cardiology Congress 2013 (Amsterdam, Netherlands) August 31, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

V. 解析プロトコル

IgG4 関連疾患統合オミックス解析 プロトコル

本研究は、我が国から提唱された新規疾患概念である IgG4 関連疾患の遺伝的背景を解明するとともに、IgG4 関連疾患の診断、予後予測が可能なバイオマーカーの探索を目的とする。

<1> 背景

IgG4 関連疾患 (IgG4RD) は我が国から提唱された概念であり、血中 IgG4 の上昇、IgG4 陽性形質細胞が様々な組織へ浸潤する疾患を言う。副腎皮質ステロイドに良好な反応性を示すことが特徴の一つである。本疾患は、歴史的には自己免疫性膵炎 (AIP) における IgG4 上昇の報告から始まり、その後、シェーグレン症候群の一型であるミクリッツ病や、腹部の腫瘍と鑑別が必要な後腹膜線維症といった疾患群においても IgG4 の上昇、IgG4 陽性形質細胞の浸潤が報告されるようになり、疾患の包括的概念として IgG4RD が提唱されるに至った。一方で、IgG4RD は新規の疾患概念であるためその病態の解明はほとんど進んでいないのが現状である。このような新規疾患の黎明期において、その遺伝的背景や病因学的背景を明らかにするのは、今後の診断・治療の標準化において極めて重要である。

<2> 目的

以下の解明を目的とする。

1. IgG4RD 共通のあるいは群別の遺伝因子の同定
2. AIP 患者における末梢血白血球の転写物 (トランスクリプトーム) および末梢血中代謝物 (メタボローム) の網羅的測定によるそれらのプロファイルの解析と、健常者対照群との比較による、疾患特異的転写物、代謝物の同定
3. 統合オミックス解析による AIP のステロイド投与前後で変化する転写物、代謝物の同定
4. 統合オミックス解析による AIP の再燃における予後予測因子としての中間形質バイオマーカーの同定
5. IgG4 値に影響を及ぼす遺伝因子あるいは中間形質バイオマーカーの同定

<3> プロトコル

本解析はゲノム解析とそれに中間形質であるトランスクリプトーム、メタボロームを合わせた網羅的統合オミックス解析から構成される。

1. ゲノム解析

A) 対象：2011年に提唱された診断基準に基づき診断された IgG4RD 患者。AIP、ミクリッツなど IgG4RD に包含される疾患と診断された患者を含む。

B) 目標検体数：総数 300 例を目標にする。

根拠：希少難治性疾患の発症と予後には、有病率の高い複合遺伝性疾患とは異なり、頻度は低い相対的貢献度の高い遺伝子多型が深く関わっている可能性が指摘されている。したがって頻度の低い遺伝的変異を取りこぼさず解析することで、比較的少数の検体を用いて疾患関連遺伝子／遺伝子変異の同定が可能であると思われる。

実現可能性：現在すでに 118 例の IgG4RD の患者 DNA 検体を採取済みであり、また、検体収集施設は我が国における IgG4RD の治療をリードする医療機関で多数の患者を診療・治療しており、また関連病院からの検体提供を期待できるため、目標数に十分到達可能であると期待される。

C) 検体収集施設：京都大学医学部附属病院、関西医科大学病院およびそれらの関連施設、厚生労働省難治性疾患克服研究事業「IgG4 関連疾患に関する調査研究班」の班員が所属する医療機関

D) 集積臨床情報：IgG4RD に関する臨床情報データベースを構築し、将来の研究にも利用することを目的に、セキュリティに最大の注意をはらった上で、ウェブベースの入力システムを利用して以下の項目を収集する。

性別、発症時年齢、生活歴、既往歴、家族歴、合併症

IgG4RD 診断基準各項目、IgG4RD に包含される各疾患の診断基準各項目、ステロイド反応性、1 年以内再燃の有無

E) 検体・臨床情報収集方法：

- 1) 各検体収集施設では倫理委員会の承認を受け、説明文書・同意書を準備する。
- 2) 各施設の医師が患者来院時に説明文書にもとづいて説明したのち患者の同意を取り、同意書の原本は患者に渡し、その複写は各施設で厳重に保管する。
- 3) 生体試料、臨床情報、検体に付随する患者の匿名化 ID は、すべて京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター研究事務局(研究事務局)で一元管理する。(図 1 参照)。

- 4) 研究事務局は、各検体収集施設と症例の組み合わせに対応する施設症例番号（一次匿名化 ID）を発行し、各施設に施設症例番号と対応するバーコードが印刷または貼付された DNA 抽出用採血管と DNA 抽出依頼伝票（4 枚綴りで、上の 2 枚は患者の氏名、カルテ ID を記入可能、下の 2 枚はそれらが複写されない）を送付する。
 - 5) 医師は、患者に施設症例番号の付いた採血管（株式会社 SRL の EDTA 入り 7ml 採血管）を渡す。DNA 抽出依頼伝票の上 2 枚は個人識別情報と一時匿名化 ID の対応表として各施設で厳重なセキュリティのもとで管理し、下の 2 枚は株式会社 SRL による採血管の回収まで保管する。
 - 6) 患者は採血管を診察後あるいは次回受診時の採血の際に検査技師あるいは看護師、医師に渡し、DNA 採血を行う。
 - 7) 株式会社 SRL は、採血済みの採血管と DNA 抽出依頼伝票の下 2 枚を回収の上、SRL にて DNA 抽出と血漿の回収を行い、施設症例番号の付いたチューブをゲノム医学センターの研究事務局に納入する。
 - 8) 研究事務局の匿名化管理者は、施設症例番号／二次匿名化 ID の対応表を作成し、DNA、血漿の入ったチューブに新たに二次匿名化 ID を付与し、検体管理室に保管する。
 - 9) 各施設からの臨床情報は、セキュリティの担保された電子媒体あるいは WEB ページを通して、施設症例番号を ID として研究事務局に送付され、二次匿名化 ID 付与の後に、ゲノム医学センターのデータサーバーに格納する。各施設への臨床情報などの問い合わせは、上の手順で匿名化管理者を通して各施設へ問い合わせる。
- F) ゲノム解析：網羅的ゲノム解析の手法をとる。具体的には、Illumina 社が販売する SNP アレイ（Infinium 5M+Exome あるいは類似のマイクロアレイ）を用いたゲノムスキャンおよび高速塩基配列決定装置を用いたゲノム中の遺伝子エクソン部分のみ（Exome）の網羅的塩基配列決定をおこなう。得られた結果の再検証は、Taqman アッセイ、限定領域の塩基配列決定などにより実施する。
- G) 統計遺伝学的解析：以下のすべての解析において、検体の集積状況に応じ、検体を疾患背景が過度に偏らないよう二群に分け、スクリーニング群と追認解析群とする。具体的手法として、アレイ上のマーカーおよび Exome 解析で同定された変異に対して、網羅的な関連解析および追認解析を実施する。対照群検体には、ゲノム医学センターですでにゲノムスキャンを終えた約 4,000 例と Exome 解析済みの 300 例を用いる。
- 1) IgG4RD 群全体と健常人対照群の比較を実施する。
 - 2) サブグループ解析として、IgG4RD の亜群（AIP やミクリッツ病）と健常人対照群との比較を実施する。

- 3) IgG4RD の亜群、性別、年齢で補正したうえで、1) と同様の解析および IgG4 値を従属変数とした回帰分析を実施する。
- 4) その他特徴的な臨床情報による分類による比較をおこなう。例えば癌合併 AIP が一定数集まる、再燃 AIP 例が一定数集まる等の場合、合併疾患や再燃の有無を指標とした二群間の比較を行う。

2. 統合オミックス解析

A) 対象：AIP でステロイド投与開始予定の患者

B) 目標検体数：総数 50 例を目標にする。

根拠：中間形質は effect size が大きい変化が期待できること、ステロイド投与は大きな介入であり、さらなる変化の増幅が期待できることから、時系列に沿った情報が 50 例あれば解析に耐えうると考える。

実現可能性：厚生労働省難治性疾患克服研究事業「IgG4 関連疾患に関する調査研究班」の一部の班員は 2011 年度まで「IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究班」AIP を中心とした研究活動を行ってきた。現在においても毎年一定数の新規患者を診察・治療している。今後得られる新規の患者数は限定されるが、目標数は妥当な数と考える。

C) 検体収集施設：京都大学医学部附属病院、関西医科大学病院、札幌医科大学病院およびそれらの関連施設

D) 集積臨床情報：ゲノム解析のために収集する臨床情報と同じであるが、下記の方針に従う。

- 1) ステロイド投与は、中等量（プレドニン換算で 0.5mg/kg/day 前後）で 2 週間は継続し、その後は一週につき 5~10%程度の減量を行うが、5mg/day は維持する。
- 2) 画像評価は 1mm スライスの造影 CT 撮像で行い、腫瘍形成性病変は腫瘍の長径と短径を、びまん性腫大病変は脾臓の長径と短径を計測して評価する。
- 3) 再燃は、ステロイド投与にて画像上の改善が見られたが、その後画像にてステロイド投与前と投与後の中間より大きくなったものと定義する。

表 1 測定の時系列ポイント

	ステロイド投与開始前	ステロイド投与開始後		
		Day 30*	Day 90**	Day 365**
オミックス採血	○	○	○	○
体重	○	-	-	-
ステロイド投与量 (プレドニン換算)	○	○	○	○
IgG4 レベル	○	○	○	○
CT 画像	○	○	○	○
再燃の有無	-	○	○	○

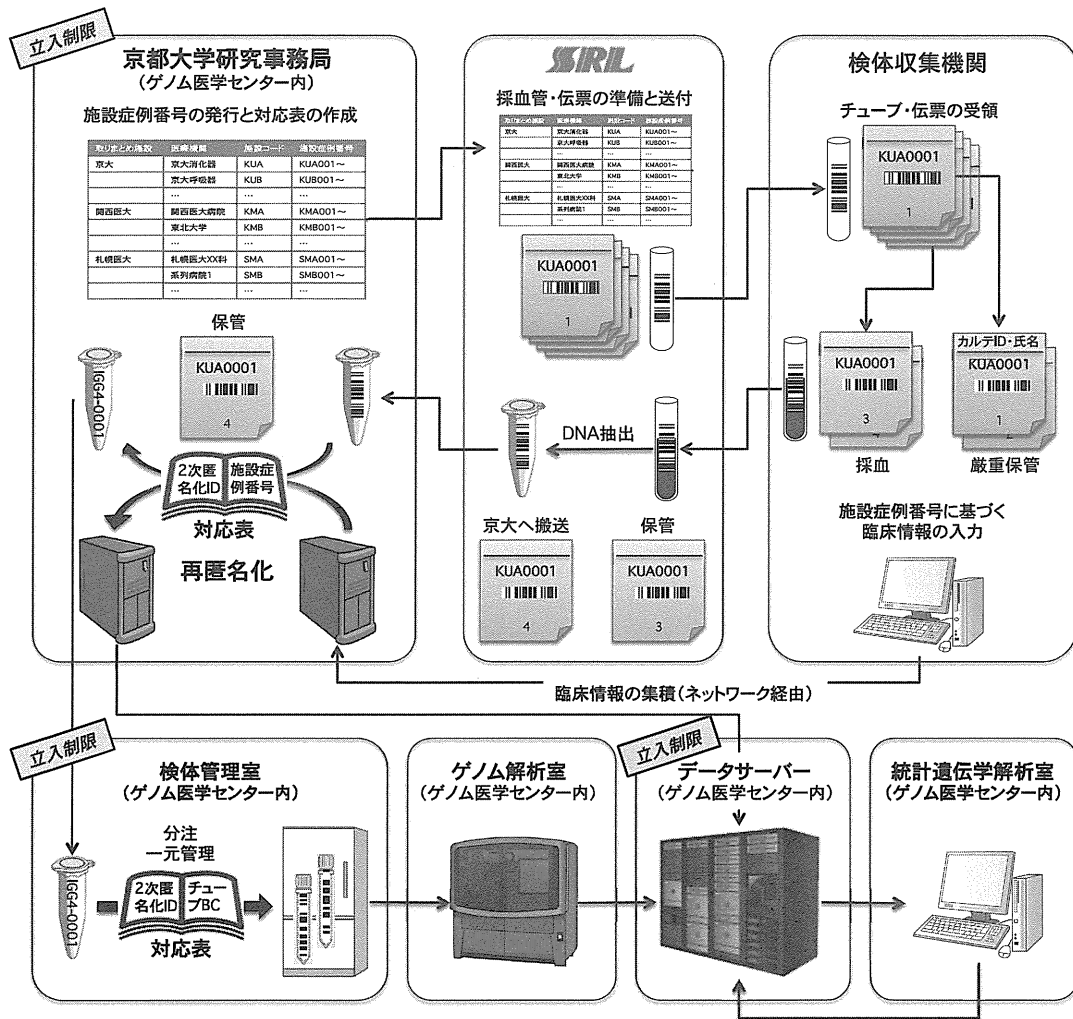
*前後 2 週間のずれは許容する。 **前後 30 日のずれは許容する。また、Day 365 までに再燃が見られれば、その時点をエンドポイントとし、Day 365 と同様の評価を行う。

E) 検体・臨床情報収集方法：

- 1) 各検体収集施設で倫理委員会の承認を受け、説明文書・同意書を準備する。
- 2) 各施設の医師が患者来院時に説明文書にもとづいて説明したのち患者の同意を取り、同意書の原本は患者に渡し、その複写は各施設で厳重に保管する。
- 3) 生体試料、臨床情報、検体に付随する患者 ID は、すべて京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター（ゲノム医学センター）で一元管理する。（図 1 参照）。
- 4) ゲノム医学センターの研究事務局は、各検体収集施設と症例の組み合わせに対応する施設症例番号（一次匿名化 ID）を発行し、各施設に施設症例番号と対応するバーコードが印刷または貼付された RNA 抽出用、血漿採取用採血管と RNA 抽出・血漿採取用依頼伝票（4 枚綴で、上の 2 枚は患者の氏名、カルテ ID を記入可能、下の 2 枚はそれらが複写されない）を送付する。
- 5) 医師は、患者に施設症例番号の付いた採血管（RNA は、BD 社製の PAXgene 2.5ml 採血管、血漿は株式会社 SRL の EDTA 入り 7ml 採血管）を渡す。RNA 抽出、血漿採取依頼伝票の上 2 枚は個人識別情報と一時匿名化 ID の対応表として各施設で厳重なセキュリティのもとで管理する。
- 6) PAXgene 採血には専用ホルダーと翼状針が必要であるため、翼状針による垂直採血を行う。血漿採取も同じホルダーを利用できるため、複数回の穿刺は不要である。
- 7) 表 1 で示された時系列に沿って複数回の採血を行う。血漿を採取した採血管は-20℃（可能であれば-80℃）に保存、PAXgene 採血管はマニュアルに従い内容物をよく混和した後室温で最低 2 時間放置し、その後-20℃で一時的保存し、-20℃を保持して京都大学ゲノム医学センター研究事務局へ搬送する。

- 8) 研究事務局の匿名化管理者は、施設症例番号（一時匿名化 ID）／二次匿名化 ID の対応表に則り、採血管に新たに二次匿名化 ID を付与し、検体管理室に保管する。
- 9) 各施設からの臨床情報は、セキュリティの担保された電子媒体あるいは WEB ページを通して、施設症例番号を ID として研究事務局に送付され、二次匿名化 ID 付与の後に、ゲノム医学センターのデータサーバーに格納する。各施設への臨床情報などの問い合わせは、上の手順で匿名化管理者を通して各施設へ問い合わせる。ゲノムセンターで匿名化担当者が二次匿名化 ID を付与し、検体を保管・管理する。一次匿名化 ID と二次匿名化 ID の対照表はゲノムセンター匿名化担当者が管理し、ゲノムセンターのシステムに入力する。
- F) 測定：末梢血白血球の遺伝子発現解析は、Agilent 社が販売する遺伝子発現アレイを用い、代謝物の網羅的解析には、株式会社島津製作所製のガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー（GC-MS）を用いて測定する。また解析に必要な対照群検体のデータは、すでに上述のアレイ及び分析機器を用いて測定済みの健常者 300 例を利用する。転写物解析は、将来的には高速シーケンサーを利用した転写物の塩基配列決定法による網羅的解析を試みる。
- G) 統計遺伝学的解析：発現解析アレイで測定された（将来的には、高速塩基配列決定装置を用いた転写物の網羅的塩基配列解析）転写物に対しての網羅的な解析を実施する。転写物の発現プロファイルとゲノム上の遺伝的変異の量的関連解析（QTL 解析）を実施し、特定の遺伝子の発現に影響する遺伝子変異の同定を試みる。
GC-MS で測定された代謝物に関しても、同様の QTL 解析を実施し、末梢血中の代謝物の量に影響を及ぼす遺伝的変異の同定を試みる。
- 1) AIP と健常者対照群との比較
 - 2) AIP 診断後の患者の時系列臨床情報とオミックスプロファイル情報を用いた病態の比較解析
 - Day 0 と Day 30 の比較で、ステロイド投与前後のオミックスプロファイルの比較で、ステロイドの影響を解析する。
 - Day 0、Day 30、Day 90、Day 365 の比較で、再燃患者について、再燃時のオミックスプロファイルが介入前と異なるかどうか、ステロイドの影響がどれほど残っているのかを検討し、また再燃に関連のある因子を探索する。
 - 3) 性別、年齢で補正したうえで、IgG4 値を従属変数とした回帰分析
 - 4) AIP の予後予測因子の探索
採血項目、ゲノム変異、転写物、代謝物の網羅的解析情報を合わせた統合オミックス解析により、AIP の予後・再燃予測モデルの構築を試みる。

図1 研究における生体試料と臨床情報の流れ



肺高血圧症統合オミックス解析 プロトコル

本研究は難治性病態である肺高血圧症の遺伝的背景を解明するとともに、慢性血栓塞栓性肺高血圧症の診断、予後予測が可能なマーカーの探索を目的とする。

<1> 背景

肺高血圧症（PH）は心臓と肺を結ぶ肺動脈の圧力が上昇した状態で、平均肺動脈圧 25mmHg 以上の状態を言う。PH の治療は近年に至るまで有効な方法がほとんどなく、致命的な難治性病態の代表的存在であった。近年、PH の分類（後述）、病態解明に基づいた治療法の進歩により、徐々に生存率は高まっているが、未だに難治性病態であることに変わりはない。一方、PH は種々の疾患を包含した総称であり、その疾患概念の分類は、2003 年のベニス分類、2008 年のダナポイント分類へと変遷した。現在、ダナポイント分類に基づいた細分化が広く受け入れられている（表 1）。

PH の疾患感受性遺伝子として、*BMPR2* や *KCNA5* が知られているが、それらは疾患に関わる遺伝因子全体のごく一部しか説明できていない。PH の遺伝因子の解明が十分に進んでいない原因として、PH がありふれた疾患ではなく症例数を集めるのが容易でないこと、また種々の疾患を含んだ総称であり、その概念が近年になって整理されたため、これまでの解析では遺伝因子が均一でない集団を一括で解析してしまっている可能性があることが挙げられる。

PH の内科的治療は、エンドセリン受容体拮抗薬、フォスフォジエステラーゼ阻害薬、プロスタグランジン製剤等が用いられる一方で、慢性血栓塞栓性肺高血圧症（CTEPH）の場合はバルーン肺動脈形成術（BPA）が著効し、治療法の選択肢が大きく異なる。よって、PH の治療にあたっては、BPA の適応がある CTEPH かどうかの判断が重要であるが、その診断は容易でなく、CTEPH に精通した熟練した循環器医の下で、心臓カテーテル検査や肺血流シンチグラムを受ける必要がある。BPA 後の再発も多く、BPA 後のフォローの際も同様の問題がある。CTEPH の早期診断、BPA の効果判定、予後予測が可能であれば、PH の診療や治療に劇的なパラダイムシフトをもたらし、患者にとっての福音となることが期待される。