

## 全身性エリテマトーデスの発症に関与する遺伝因子を特定

日本人集団の解析により、ヒト白血球抗原遺伝子領域において、全身性エリテマトーデスの発症に一義的に関与する遺伝因子を特定しました。ヨーロッパ系集団では、遺伝学的背景が異なるため、同様の解析は困難であり、このような場合には複数集団の解析が有用であることが改めて示されました。

代表的な膠原病である全身性エリテマトーデス（SLE）は、複数の遺伝因子と後天的因子の複合によって発症に至る多因子疾患と考えられています。免疫応答の個人差に影響するヒト白血球抗原（HLA）は、SLE 発症に関連する主要な遺伝因子の一つですが、どのように発症に寄与しているかは十分解明されていませんでした。

SLE の疾患感受性に関連する遺伝子配列タイプは、人種によって異なっており、日本人集団では、*HLA-DRB1\*15:01* という遺伝子配列タイプが、SLE に対するかかりやすさ（疾患感受性）に関連します。ヨーロッパ系集団においても、同様のタイプが SLE 感受性に関連していますが、*HLA-DRB1\*15:01* と、染色体上隣接する XL9 領域に位置し、*HLA* 遺伝子群の発現を調節する遺伝子間領域のバリエーション（DNA 配列の個人差）を特定の組み合わせで保有する割合が極めて高いことから、*HLA-DRB1\*15:01* 自体と XL9 領域における遺伝子発現制御のどちらが重要なのかを識別することが困難でした。

本研究では、日本人集団では、*HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域の組み合わせがそれほど強くなく、遺伝疫学的解析により、この2カ所の効果を切り分けることが可能であることが分かりました。さらに、そのうち、日本人において SLE 発症に一義的に関連するのは、*HLA-DRB1\*15:01* であり、XL9 領域の関連は二次的であること、すなわち、SLE 発症には、*HLA* 遺伝子自体の多様性に基づくアミノ酸配列の違いが影響している可能性が高いことが示唆されました。

また、多因子疾患の発症に寄与する遺伝子バリエーションを特定する上で、遺伝学的背景が異なる複数の集団を解析する手法の有用性が再確認されました。

### 研究代表者

筑波大学医学医療系

川崎 綾 助教

土屋 尚之 教授

## 研究の背景

全身性エリテマトーデス (SLE) は代表的な膠原病 (全身性自己免疫疾患) の一つで、複数の遺伝因子と後天的因子が複合的に作用して発症に至る、多因子疾患と考えられています。遺伝因子としては、100カ所以上の染色体領域に、SLE に対するかかりやすさ (疾患感受性) に関連するバリエント (DNA 配列の個人差) が存在することが明らかになっていますが、それぞれの領域における分子機構の詳細は未解明です。

免疫応答の個人差に大きな影響を持つヒト白血球抗原 (HLA) 遺伝子群<sup>注1)</sup> が位置する、第6染色体短腕の主要組織適合性複合体 (MHC) 領域は、SLE 感受性に最も強く関連する染色体領域の一つです。この領域には、HLA 遺伝子の他にも、免疫系で重要な機能を有するいろいろな遺伝子が位置しており、HLA 遺伝子のアリル<sup>注2)</sup> (遺伝子配列の違いで規定される HLA の型) と強く結びついた特定の組み合わせ (連鎖不平衡<sup>注3)</sup>) で存在するものも多数存在します。従って、強い連鎖不平衡にある複数のバリエントのいずれが、SLE の発症や病態形成の分子機構に寄与するのかを決定することが重要です。

SLE の疾患感受性に関連する HLA 遺伝子の主なアリルは人種によって異なっており、ヨーロッパ系集団では *HLA-DRB1\*03:01* と *HLA-DRB1\*15:01*、アフリカ系集団では *HLA-DRB1\*15:03*、日本人を含む東アジア系集団では *HLA-DRB1\*15:01* です。*HLA-DRB1\*03:01* は、ヨーロッパ系集団において、免疫応答に関与する血清タンパク質をコードする *C4* 遺伝子のコピー数減少と強い連鎖不平衡にあるため、*HLA-DRB1\*03:01* と *C4* のコピー数減少のいずれが SLE の病因として重要なかを決定することは困難でしたが、近年、アフリカ系集団を対象とした研究により、*C4* のコピー数減少が病因的であり、*HLA-DRB1\*03:01* は連鎖不平衡による見かけ上の関連であることが示唆されています。

また、ヨーロッパ系集団における *HLA-DRB1\*15:01* とアフリカ系集団における *HLA-DRB1\*15:03* は、*HLA-DRB1* 座位と *HLA-DQA1* 座位の遺伝子間領域 XL9 に位置し、HLA の発現レベルに関連する一塩基バリエント (1 塩基の置換に基づく個人差、SNV) と強い連鎖不平衡にあり、こちらも、いずれが病的なのかを区別することは容易ではありませんでした (図 1、2)。

一方、日本人を含む東アジア系集団では、*HLA-DRB1\*15:01* と SLE の疾患感受性の関連が見られます。しかし日本人集団には、*HLA-DRB1\*15:02* も高頻度に存在し、こちらは SLE の疾患感受性との関連は認められません。本研究では、このような日本人集団の遺伝学的特徴に基づいて、*HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域のいずれが SLE の疾患感受性に関連するかを識別しうるのではないかと考えました。

## 研究内容と成果

442 名の日本人 SLE 患者と 779 名の健常対照群を対象に、*HLA-DRB1* およびヨーロッパ系集団の先行研究において SLE との関連が報告された XL9 領域の 2 カ所の一塩基バリエント (SNV) (rs2105898、rs9271593)、および、日本人集団におけるゲノムワイド関連研究により SLE との関連傾向が検出されている 2 カ所の XL9 領域 SNV (s9271375、rs9271378) の遺伝型<sup>注2)</sup> を決定しました。日本人集団においては、*HLA-DRB1\*15:01*、XL9 領域の rs2105898T、rs9271593C において有意な関連が検出されました。

*HLA-DRB1\*15* のグループでは、ヨーロッパ系集団では *HLA-DRB1\*15:01*、アフリカ系集団では *HLA-DRB1\*15:03* が大部分を占めますが、日本人集団では、*HLA-DRB1\*15:01* と *HLA-DRB1\*15:02* がいずれも高頻度に存在します。公開データベースを用いた解析により、ヨーロッパ系集団、アフリカ系集団ではそれぞれの *HLA-DRB1* アリルが rs2105898T と強い連鎖不平衡にあるのに対し、日本人集団では、*HLA-DRB1\*15:01* と *HLA-DRB1\*15:02* のいずれもが rs2105898T、rs9271593C と中等度の連鎖不平衡にあることが分かり、本研究対象者においても確認できました (図 2)。

次に、ロジスティック回帰分析<sup>注4)</sup>により、*HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域バリエントとの独立性を検定しました。その結果、SLE リスクに関連する rs2105898T アリルの関連は *HLA-DRB1\*15:01* で調整すると有意性が失われたのに対し、*HLA-DRB1\*15:01* の関連は、rs2105898T で調整後も有意性が残存しました (図3)。

以上のことから、日本人集団では *HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域を遺伝学的に切り分けることが可能で、これにより、SLE の発症については、*HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域 の関連は、*HLA-DRB1* 遺伝子が病因的であり、*HLA* 遺伝子の発現を制御する XL9 領域は、連鎖不平衡による二次的関連であることが強く示唆されました。

また、本研究により、疾患に関連する染色体領域において、連鎖不平衡の異なる複数の集団を併せて解析する手法の有用性も改めて確認されました。

### 今後の展開

疾患関連遺伝子解析の成果を創薬につなげるためには、疾患の発症や臨床所見と遺伝子バリエントとの関連の分子機構の理解が重要です。*HLA-DRB1\*15:01* と SLE 感受性の関連に関しては、HLA 本来の分子機構である、抗原ペプチド提示や、各個体における T 細胞の抗原認識多様性の形成が想定されます。このハプロタイプ<sup>注5)</sup>にも XL9 領域バリエントが存在しており、その意義についても今後の解析が必要です。また、XL9 領域は極めて多様性に富み、ゲノム解析が困難な領域であることから、今後、各集団におけるロングリード・シーケンス技術<sup>注6)</sup>等を用いた解析が期待されます。

### 参考図

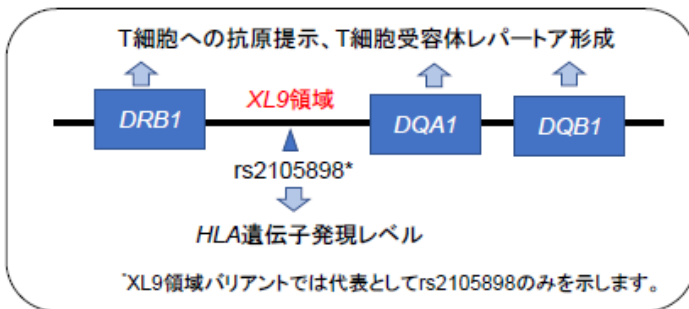


図1 *HLA-DR/DQ* 領域の染色体構造と SLE 感受性との関連において想定される分子機構

ハプロタイプ		SLE 感受性	集団	連鎖不平衡の強さ
<i>HLA-DRB1</i>	rs2105898			
*15:01	T	リスク	ヨーロッパ系	強
*15:03	T	リスク	アフリカ系	強
*15:01	T	リスク	日本人	中
*15:02	T	ノンリスク		

図2 各集団における *HLA-DRB1\*15* ハプロタイプと SLE 感受性

	調整前P	調整後P <i>/DRB1*15:01</i>	調整後P <i>/rs2105898</i>
<i>DRB1*15:01</i>	5.1x10 <sup>-8</sup>	-	7.6x10 <sup>-6</sup>
rs2105898	0.0017	0.83	-

図3 日本人集団における *DRB1\*15:01* と rs2105898 のロジスティック回帰分析の結果

## 用語解説

### 注1) ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen, HLA)

HLA は細胞表面に発現し、抗原ペプチドを T 細胞受容体に提示することによって、抗原特異的免疫応答の誘導や、個人における T 細胞抗原認識多様性の形成に重要な役割を果たし、抗原に対する免疫応答の個人差や、免疫疾患を含め、多数の疾患に対するかかりやすさ (疾患感受性) に関連する。HLA 遺伝子配列は個人差 (遺伝子多型) に富み、多数の種類が存在し、それぞれの配列 (アリル) に対応する番号を附して、*HLA-DRB1\*15:01*、*HLA-DQB1\*06:02* のように表す。発現する細胞や働きの違いによって、HLA-class I と class II に分類される。

### 注2) アリル (allele)、遺伝型 (genotype)

アリルは、人間は両親のそれぞれから同じ染色体を 1 本ずつ受け継いでおり、そのうちの片方の染色体にコードされている遺伝子配列のこと。同じ染色体が 2 本あるため、それぞれの座位ごとに 2 種類のアリルが存在するが、それらの組み合わせを遺伝型 (genotype) と呼ぶ。ある集団において、それぞれのアリルが占める比率をアリル頻度という。

### 注3) 連鎖不平衡 (linkage disequilibrium)

同じ染色体上にある 2 カ所以上のバリエーションの特定の組み合わせが、偶然期待される頻度と異なる頻度で観察されること。一般に、同じ染色体の近くに位置するバリエーションは、減数分裂時に組換えが起こらない限り、同じ組み合わせで子孫に継承されるため、特定の組み合わせで集団中に存在することが多く、連鎖不平衡が強くなる傾向がある。

### 注4) ロジスティック回帰分析 (logistic regression analysis)

複数の要因から、例えば疾患の有無のように、2 つしかない結果を予測する多変量解析の一つ。疾患の発症にそれぞれのバリエーションがどれくらいの効果を有するかを検討することが可能。

### 注5) ハプロタイプ (haplotype)

同じ染色体上にある複数の遺伝子のアリルの組み合わせのこと。例えば、日本人集団では、同じ染色体上にある *HLA-DRB1\*15:01* と *HLA-DQB1\*06:02* は強い連鎖不平衡にあり、*DRB1\*15:01-DQB1\*06:02* というハプロタイプで存在していることが多い。

### 注6) ロングリード・シーケンス技術 (long-read sequencing technology)

DNA の塩基配列を数 kb 以上にわたり解読する技術。特に *HLA* 領域など、複雑で多様性に富むゲノム領域の配列を正確に決定する上で威力を発揮する。

## 研究資金

本研究は、H.U.グループ中央研究所との共同研究費、日本リウマチ学会および日本リウマチ財団からの研究助成金を用いて実施されました。

## 掲載論文

**【題名】** Genetic dissection of *HLA-DRB1\*15:01* and XL9 region variants in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: primary role for *HLA-DRB1\*15:01*

(日本人全身性エリテマトーデス疾患感受性における *HLA-DRB1\*15:01* と XL9 領域の遺伝学的切り分け: *HLA-DRB1\*15:01* が一義的に関与)

**【著者名】** Aya Kawasaki<sup>1,2,3\*</sup>, Premita Ari Kusumawati<sup>1,2</sup>, Yuka Kawamura<sup>1,3</sup>, Yuya Kondo<sup>4</sup>, Makio Kusaoi<sup>5</sup>, Hirofumi Amano<sup>5,6</sup>, Yasuyoshi Kusanagi<sup>7</sup>, Kenji Itoh<sup>7</sup>, Takashi Fujimoto<sup>8</sup>, Naoto Tamura<sup>5</sup>, Hiroshi Hashimoto<sup>9</sup>, Isao Matsumoto<sup>4</sup>, Takayuki Sumida<sup>4</sup> and Naoyuki

Tsuchiya<sup>1,2,3\*</sup>

\*corresponding authors

1 Molecular and Genetic Epidemiology Laboratory, Institute of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

2 Master's Program in Medical Sciences, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

3 College of Medical Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

4 Department of Rheumatology, Institute of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

5 Department of Internal Medicine and Rheumatology, Faculty of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan

6 Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University Nerima Hospital, Tokyo, Japan

7 Division of Hematology and Rheumatology, Department of Internal Medicine, National Defense Medical College, Tokorozawa, Japan

8 Department of General Medicine, Nara Medical University, Kashihara, Japan

9 School of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan

【掲載誌】 RMD Open

【掲載日】 2023年5月31日

【DOI】 10.1136/rmdopen-2023-003214

#### 問合わせ先

【研究に関すること】

土屋 尚之 (つちや なおゆき)

筑波大学医学医療系 分子遺伝疫学研究室 教授

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/community-med/publicmd/GE/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp