

自己免疫性肝疾患のオーダーメード医療を目指した post-GWAS 解析

人見祐基

東京大学大学院医学系研究科 国際保健学専攻・人類遺伝学教室

【研究の背景】

原発性胆汁性胆管炎(PBC)は、慢性進行性の胆汁鬱滯性肝疾患であり、胆管上皮細胞に対する自己免疫反応の関与が示唆されている一方で、その発症・進展機序は未だ不明なままである。一卵性双生児一致率は 60%に達し、他の自己免疫疾患と比較しても極めて高率であることに加え、家族集積性も見られることから、PBC の発症には遺伝要因の強い関与が示唆されている。

【目的】

本研究では、疾患の罹りやすさに関連する遺伝子(疾患感受性遺伝子)の網羅的探索法であるゲノムワイド関連解析(GWAS)を用いて、日本人 PBC 感受性遺伝子領域を同定すると共に、PBC 発症における causal variant の同定、さらには causal variant に起因する PBC 発症機序の解明を目的とする。

【方 法】

まず、PBC 感受性遺伝子を GWAS にて同定した。同定された PBC 感受性遺伝子領域内に存在するすべての一塩基多型(SNP)の中から、①東北大学東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)が保有する健常者全ゲノム DNA 配列データ(n=2,049)を参照配列とする全ゲノムインピュテーション解析と High-density association mapping、②各種データベースを用いた *in silico* 解析、③*in vitro* 機能解析にて、causal variant を同定した。

さらに、機能解析および e-QTL(発現量的形質遺伝子座)解析にて、causal variant に起因する PBC 発症機序を解明した。

【結 果】

日本人を対象とした GWAS にて、*HLA*, *TNFSF15*などの PBC 感受性遺伝子 8ヶ所を同定した。そのうち、以下の 2ヶ所の疾患感受性遺伝子について、causal variant の同定、PBC 発症機序の解明を行った。

まず、16番染色体に位置する *PRKCB* の SNP を対象にした全ゲノムインピュテーション解析・High-density association mapping ・*in silico* 解析にて、rs7404928 および rs35015313 が causal variant の候補として残った。さらに、Luciferase assay および EMSA を実施したところ、rs35015313において、転写因子結合および発現制御効率に差が見られた。末梢血の e-QTL 解析(n=298)においても、機能解析の結果を指示する知見が得られた(Kawashima M, Hitomi Y, et al. *Hum Mol Genet* 2016)。

さらに、17番染色体の 17q12-21 の SNP を対象にした全ゲノムインピュテーション解析・High-density association mapping ・*in silico* 解析にて、rs9303277, rs113897057, rs2313430, rs12946510 が causal variant の候補として残った。さらに、Luciferase assay および EMSA を実施したところ、rs12946510において、転写因子結合および発現制御効率に差が見られた。Super-shift assay にて、この転写因子が FOXO1 であることが判明した。さらに、末梢血の e-QTL 解

析(n=298)を実施したところ、rs12946510 は近傍にある *IKZF3* ではなく、200kb 離れた *ORMDL3*などの遺伝子発現量を有意に制御していた($P = 3.80 \times 10^{-21}$) (Hitomi Y, et al. 論文投稿中)。

【考 察】

多因子疾患における全ゲノム解析法である GWAS を用いて、網羅的に PBC 感受性遺伝子を同定することができた。さらに、全ゲノムシークエンスを応用する全ゲノムインピュテーションや、大規模なデータベースを駆使することにより、GWAS だけでは実現不可能であった causal variant の同定および発症機序の解明へと至った。

本研究による知見に加え、今後の同様の研究により、PBC 発症機序の更なる解明が期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究では、GWAS・全ゲノムシークエンス・機能解析を駆使する、いわば「Post-GWAS 解析」のフローを立ち上げた。さらに、PBC を対象として、実際の causal variant の同定および発症機序の解明へ至っている。本研究の知見を礎に、将来的には、モデルマウスなどを用いた個体レベルでの病因・病態研究に加え、causal variant を標的とする薬剤や「発症予測キット」を対象とする臨床研究への進展が予想される。そのため、臨床応用に向けてさらなる貴重な知見が創出される可能性が高く、PBC における個別化医療実現へのスピードがますます加速するであろう。そればかりか、ヒトゲノム解析から個別化医療への橋渡し研究としてのモデルケースを提唱し、PBC 以外の疾患に対しても、遺伝要因探索研究における新たな突破口を切り開くきっかけになるであろう。

【参考・引用文献】

1. Kawashima M (#), Hitomi Y (#), Aiba Y (#), Nishida N (#), Kojima K (#), et al. Genome-wide association studies identify PRKCB as a genetic susceptibility locus for primary biliary cirrhosis in the Japanese population. (#Equally contributed) *Hum Mol Genet* (in press)