

エクソン解析とゲノム編集による SLE 治療標的の創出

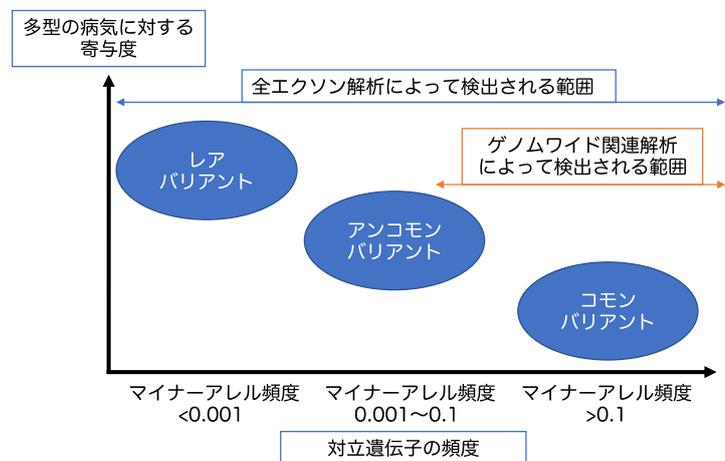
産業医科大学医学部 分子標的治療内科学
久保 智史

研究目的

自己免疫疾患は遺伝要因と環境要因の双方が組み合わさって発症する。本研究では特に全身性エリテマトーデス (SLE) について、同疾患の病因解明と疾患特異的治療の開発を目指す。

免疫アレルギー疾患のプロトタイプである全身性エリテマトーデス (SLE) は比較的若年の女性に多く発症する。そのため、同疾患が個人の人生に与える影響は大きく、仕事のみならず結婚や出産などの重要なライフイベントに悪影響をもたらす。このような背景から、同疾患の病因解明による疾患特異的治療の開発は極めて重要であるが未だこのような治療は実現していない。SLEは遺伝要因と環境要因の双方が組み合わさって発症する。中でも遺伝要因はSLEの発症原因の50%以上を占めていると考えられており、遺伝要因に環境要因が組み合わさることで過剰な免疫アレルギー反応を惹起している。つまり遺伝要因はSLEの根本的なリスクを示唆しており、その解明は疾患特異的治療に繋がる。

これまで、SLEの疾患感受性遺伝子はゲノムワイド関連解析 (GWAS) によって行われている。GWASは健常人でも見られる多型を対象として、疾患で濃縮があるかを検討し疾患感受性遺伝子を推定するものである (上図)。そのため必然的に一つの多型の疾患に対する寄与は低く、その多型が実際に機能喪失をもたらしているかについてはほとんど検証されない。SLEの遺伝要因の影響度の強さを考えると、GWASでは捉えられていない稀な非同義置換変異が疾患の根本的なリスクになっている可能性がある。しかしながら、SLEのレアバリアントの検討はほとんどなされていない。これらを解決するために、本研究では全エクソン解析によるSLEにおける真の疾患感受性遺伝子の発見を試みた。



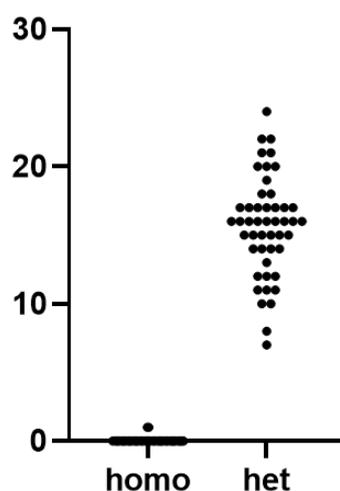
研究成果

家族歴がないSLE患者48例をリクルートした (産業医科大学倫理委員会承認)。患者の平均年齢は47.3歳で全員が女性であった。高疾患活動性の指標であるBILAG A項目1つあるいはB項目2つを満たす症例が85.4%に見られた。また、ループス腎炎合併例は66.7%であった。48例における遺伝要因の探索については、Combined Annotation-Dependent Depletion (CADD) scoreなどを用いてスクリーニングを行った。

研究結果

SLE48名において、一人当たり平均して15程度の遺伝子において病的可能性がある多型 (リスクバリアント) が見出され、合計630のリスクの高いレアバリアントが見出された (右図)。これらのリスクバリアントはホモ接合体で存在せず、ほぼすべて (1つを除いて) がヘテロ接合体で存在していた。リスクバリアントは病的であるため、ホモ接合体で存在した

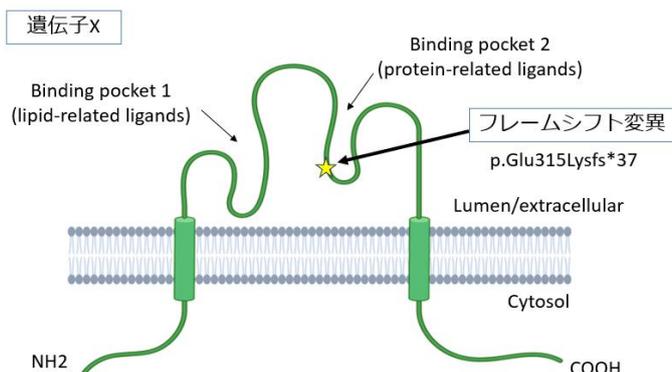
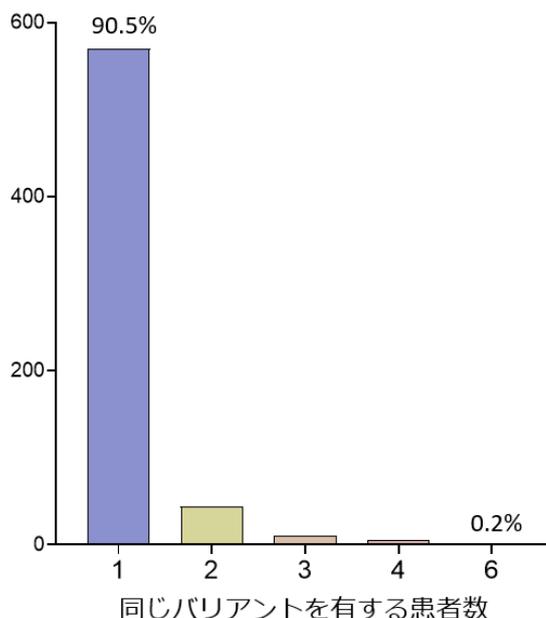
病的可能性がある多型の数 (1名当たり)
(CADD >30など複合的指標に基づく)



場合、単一遺伝子疾患（メンデル疾患）を起こしうる。逆に言えば、本検討で行われたリスクバリエントの検出の正当性が示された。次に、これらのリスクバリエントがSLE患者でどの程度共有されているかを検討した。これらリスクバリエントのうち90.5%がSLE患者で共有されていなかった。すなわち、ほとんどのリスクバリエントはSLEの発症には関連がない孤発性バリエントであることがわかった。一方で、2名で共有されていたものが7%、3名で共有されていたものが1.6%、4名で共有されていたものが0.8%あった。さらに驚くことに、48名のうち6名の患者で全く同一のリスクバリエントを有していることが判明した（右図）。

このリスクバリエント遺伝子Xを有する患者6名の臨床的特徴を検討したところ、全例がBILAG A項目1つあるいはB項目2つを有し、しかも全例がループス腎炎を合併していた。さらに重要な点として、6名の患者のうち、5名が治療後に再燃していた。一方で、このリスクバリエントを有さない患者では再燃率は59.5%と低く、ループス腎炎の合併も61.9%と比較的低かった。これは、遺伝的素因が強いことによる、疾患の治癒がより困難であることを示唆している。

リスク遺伝子の数



一方で、遺伝子Xは受容体としての役割を果たしていることが知られているが、全身性エリテマトーデスのリスク因子としては知られていないものであり、本研究によって初めて見出されたものである。このリスクバリエントはフレームシフト変異で、遺伝子Xの途中でアミノ酸の変化をもたらし、早期のストップコドンを生じさせる。そのため遺伝子Xは途中で切断されることになり、発現レベルを変化させる可能性が考えられる。

そこで、mutagenesisによって、この変異を再現したところ、HEK293T細胞における発現は、

WTに比べて抑制されていることがわかった。さらに患者における遺伝子Xの発現を検討したところ、こちらも同様に抑制されていることがわかった。

総括

SLEの遺伝的素因を、GWASでは捉えることができないレアバリエントに着目して検討した結果、全身性エリテマトーデスの10%以上に共通するヘテロ接合体レアバリエントを検出することができた。このレアバリエントを患者由来細胞およびin vitroの解析を通じて同遺伝子の変異の意義が検討され、本バリエントの病態における重要性が示唆された。これは、新たな治療標的の創出のみならず、「自己免疫疾患の遺伝的素因の解明」という研究課題に対して既存のGWASではなく、レアバリエントに着目することでより強い遺伝的素因を見出すことができるという新たなコンセプトが見出された