

HTLV-1対策推進協議会

2015年9月30日 厚生労働省

HTLV-1関連疾患の原因遺伝子の探索

京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター

松田文彦

集約的オミックス解析による難病の原因究明と 疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

目 的

- (1) 網羅的オミックス解析による難病の病因解明と、疾患の診断・予後予測マーカーの同定と新規診断・治療法の確立
- (2) 実地医療に即応可能な疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

対象疾患と推定患者数

IgG4関連疾患(1):	約26,000人	HTLV-1関連脊髄症(1):	約3,600人
好酸球性胃腸炎(1):	数百人(詳細不明)	肺高血圧症(1,2):	数千人
特発性間質性肺炎(1,2):	約7,500人	網膜色素変性症(2):	4~5万人
小児遺伝性血液疾患(2):	1,000人程度(疾患数が多く、詳細不明)		

期待される成果

- 日本人の稀少難治性疾患に関わるゲノム・オミックス情報の世界への発信と難病研究国際コンソシアムへの貢献
- 臨床的解釈を付与した遺伝子診断結果の医療現場への提供による個人に最適な難病の医療体制(遺伝子情報に基づく最適な薬剤選択や予後予測など)の確立
- 難病の生体試料バンクやレジストリの構築を通じた難病対策事業推進の研究基盤の整備

集約的オミックス解析による難病の原因究明と 疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

共同研究者や難病研究班と連携してIgG4関連疾患、HTLV-1関連脊髄症、肺高血圧症、好酸球性胃腸炎患者より検体収集を行い、本拠点で集約的にオミックス解析を実施する。

- 次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析に加え、血液中の転写物、代謝物、脂質、ペプチド、タンパク質の測定・分析
- これら全ての情報と臨床情報とを統合したオミックス解析



難病の病因・病態解明

遺伝性の網膜色素変性症、肺高血圧症、間質性肺炎を例として、診断や治療と関連する原因遺伝子変異を探索し、遺伝子検査体制を確立する。

- 同定された遺伝子変異の情報を診療応用に必要な解釈を付与して依頼者に提供
- 既知の遺伝子変異が見られない場合は、家系で検体を収集した上であらたな原因遺伝子・変異の同定と臨床的意義づけを実施
- 新規の原因遺伝子が同定された場合は、その情報を以降の解析に統合



遺伝子診断ネットワークの構築

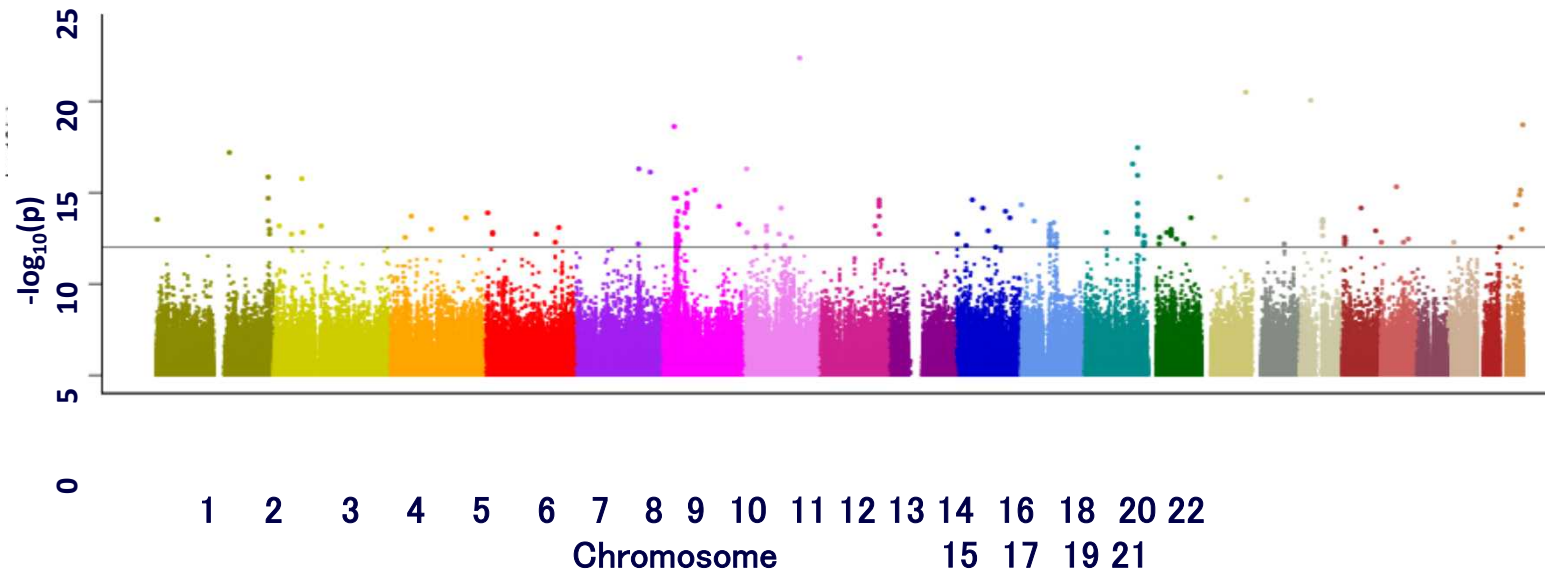
HTLV-1関連疾患の収集検体数

	HAM			HTLV1			ATL		
	総数	GWAS		総数	GWAS		総数	GWAS	
		済	未		済	未		済	未
琉球大学	8	8	0						
鹿児島大学	585	579	6	279	276	3	5	5	0
熊本大学				105	105	0	216	206	10
長崎大学	13	13	0	233	199	34	200	200	0
佐賀大学	11	11	0	5	5	0			
近畿大学	1	1	0	2	2	0	6	0	6
京都大学	27	27	0				42	41	1
聖マリアンナ医大	213	200	14	231	231	0			
関西医大	9	9	0						
東京大学				100	100	0	150	149	1
計	867	848	20	955	918	37	619	601	16

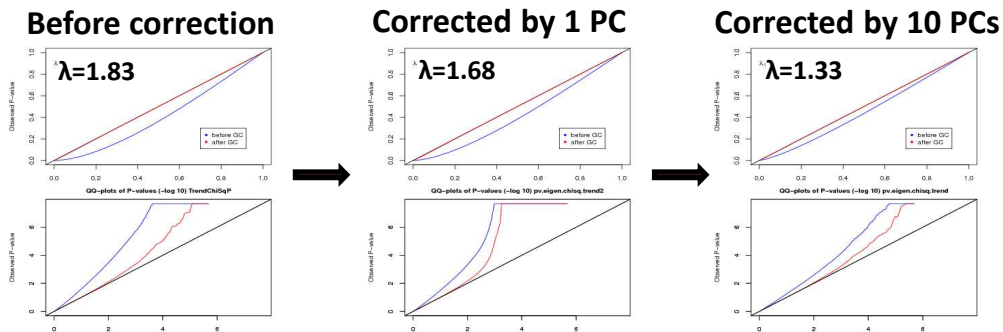
848+918+601=2,367検体のゲノムスキャンを終了

HTLV-1 関連疾患の集団は一般の日本人集団と遺伝的に大きく異なる

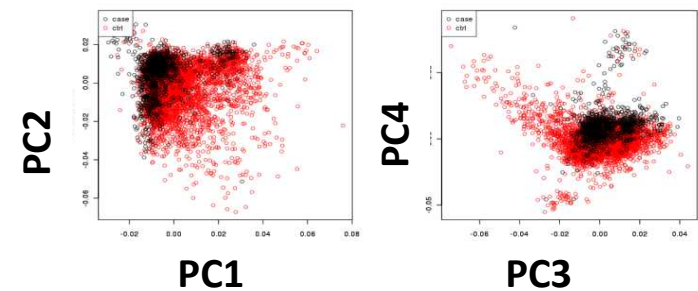
～感染者985人と対照群6,669人の解析～



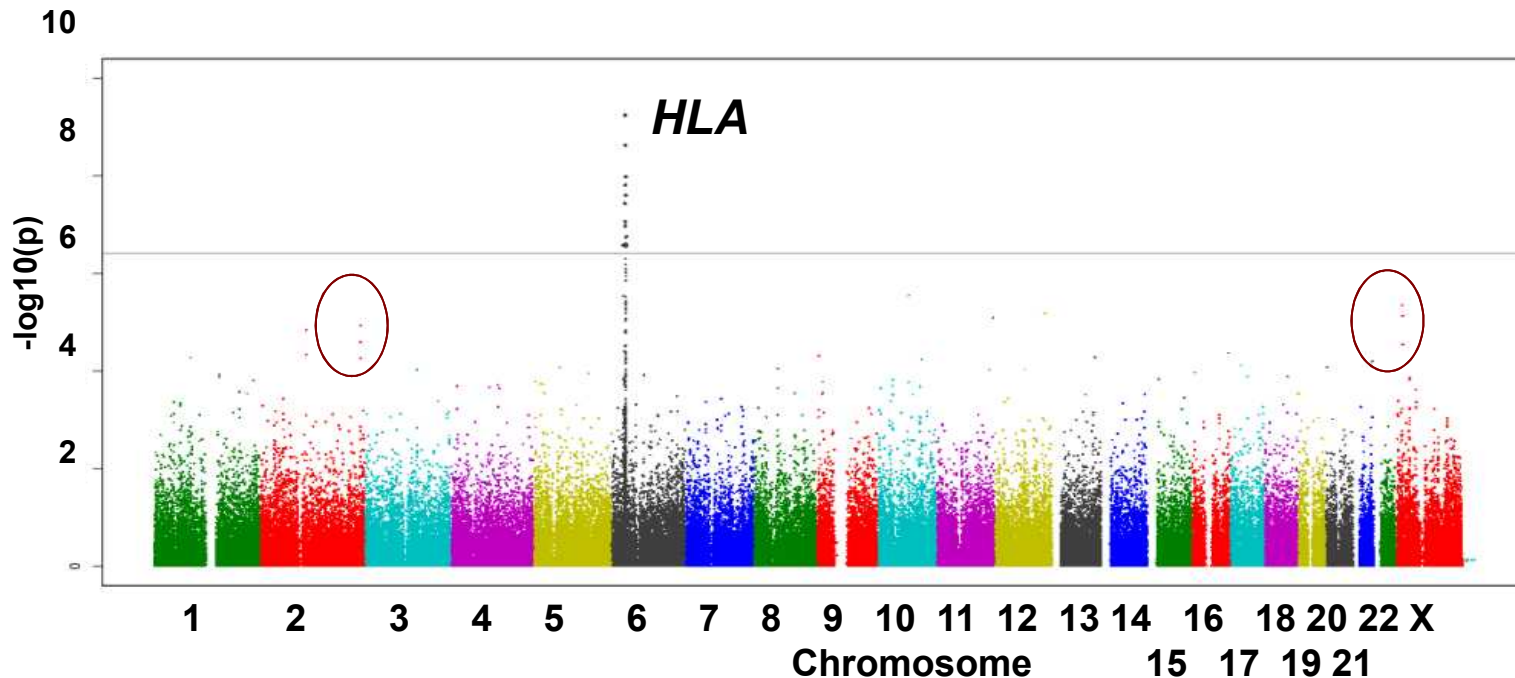
Q-Q plot



Scatter plot of PCA



HAMのゲノムワイド関連解析



検体

HAM患者	n=661
HTLV1キャリア	n=710
ATL患者	n=414

SNPアレイ (illumina)

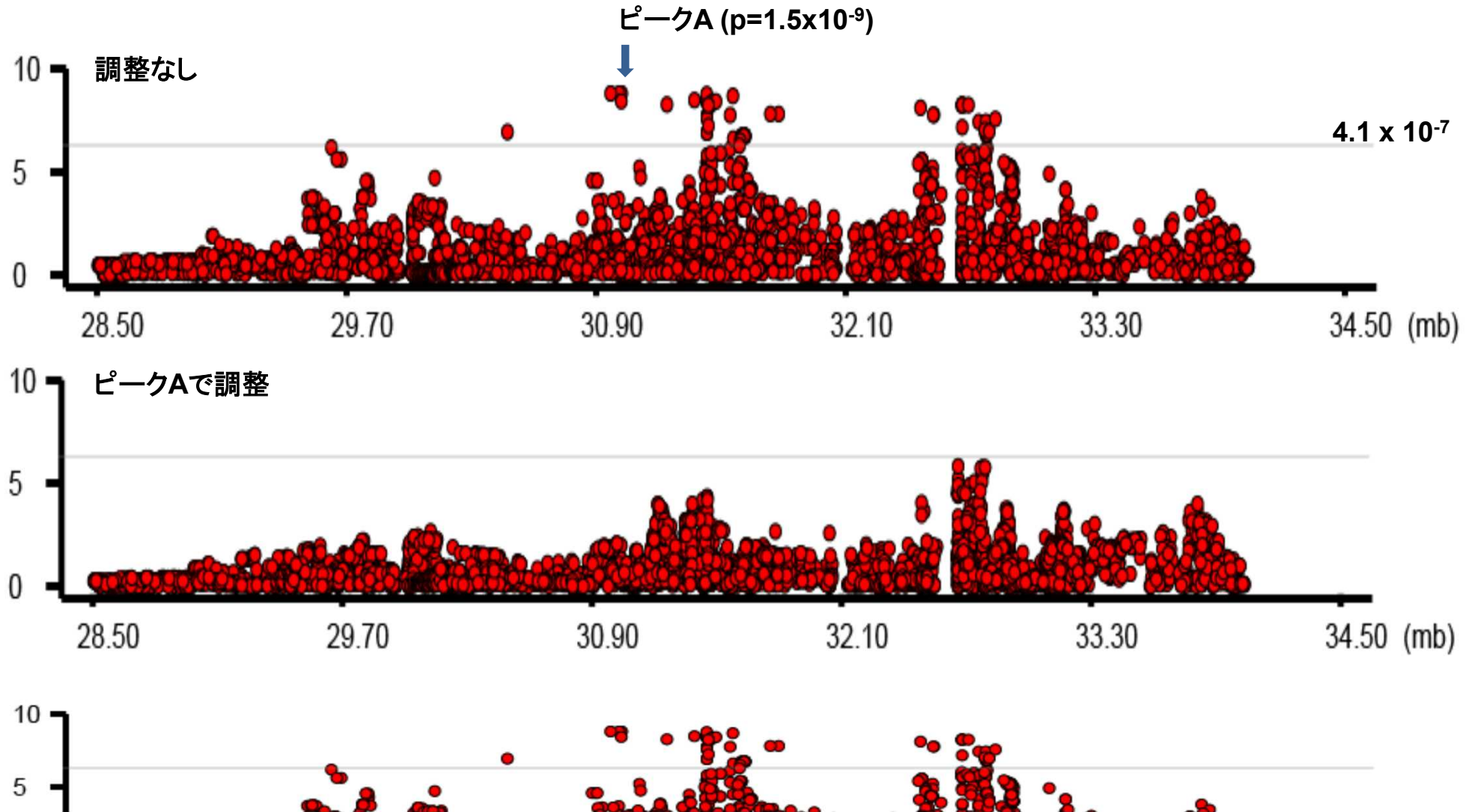
610K, CoreExome

解析マーカー数

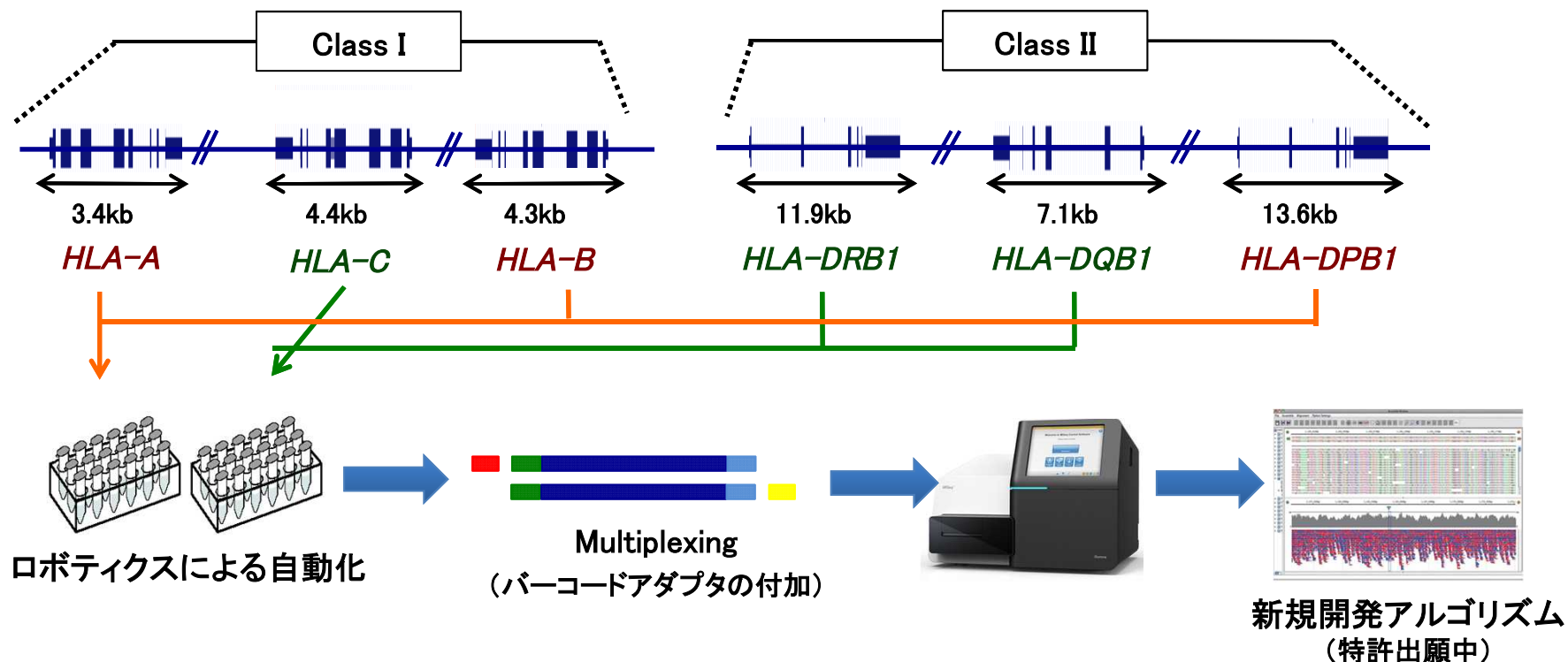
120,003 SNPs

- **HLA領域に強い関連を検出**
- **染色体2番に弱い遺伝的関連(家族性HAMにおいても関連が検出)**
- **X染色体にも同程度の強さの関連を検出**

HLA領域における関連解析の結果



NGSを利用したHLA遺伝子の高出力タイピング



- 1ランあたり、386検体のHLAの6遺伝子座を決定可能（検体あたり4,000円弱の低コスト）
- 新規開発アルゴリズムによる、極めて精度の高いHLAアレルの決定（特許出願中）
- 日本人のHLAアレルの標準パネルを構築中（現在2,000検体を超える塩基配列を完全決定）



炎症性の難病の多くはHLAと強い関連があるため、解析基盤として極めて有用

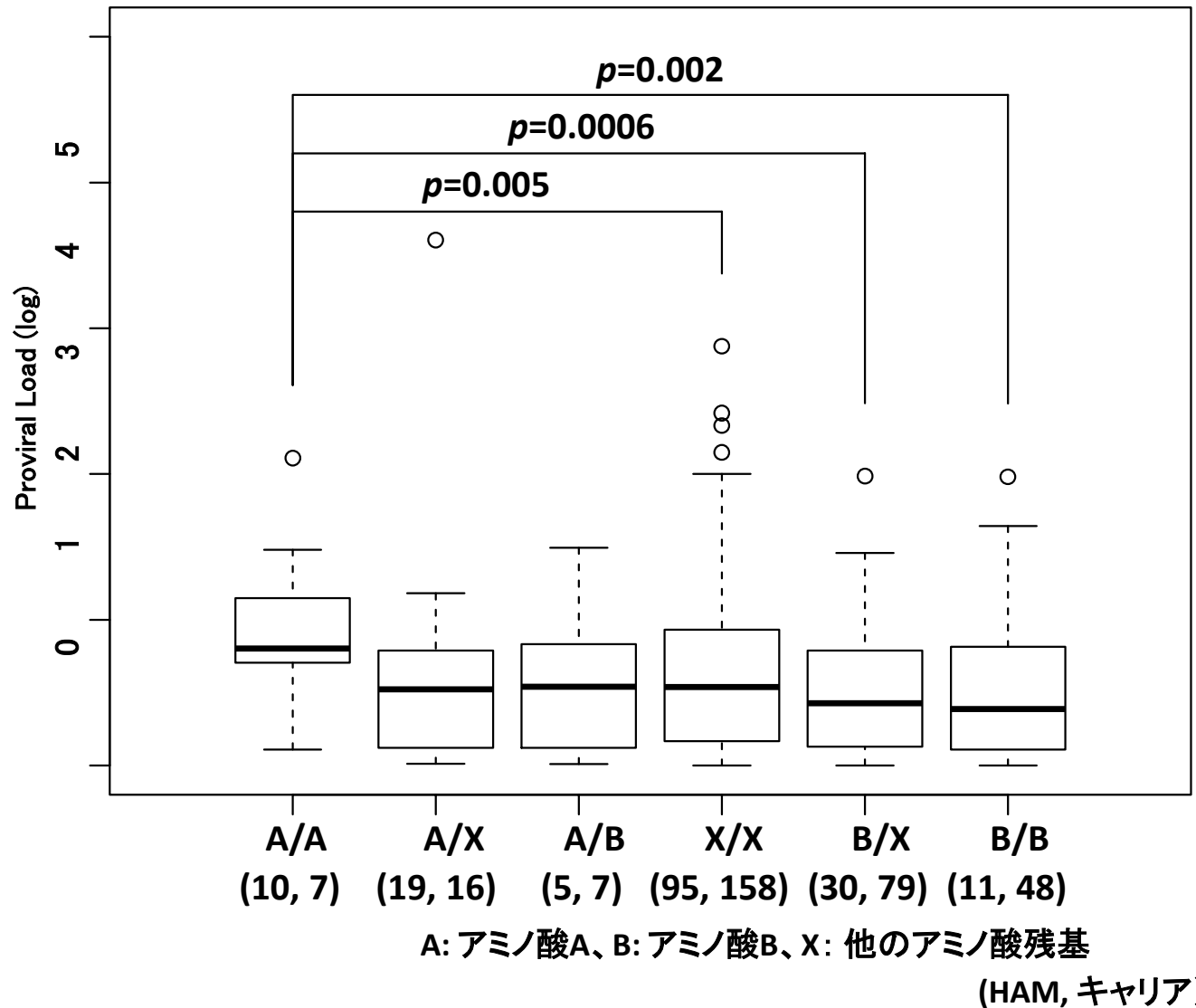
NGSによるHLAのジェノタイピング結果

～患者420例、対照群533例の解析～

HLA Allele	Allele count (freq.)		OR (95% CI)	Effect	F test
	HAM	HTLV-!+			
DRB1*XXXX	106/810 (0.131)	60/1036 (0.058)	2.45 (1.76- 3.41)	risk	4.62x10 ⁻⁸
B*XXXX	89/820 (0.109)	47/1066 (0.044)	2.64 (1.83- 3.81)	risk	7.22 x10 ⁻⁸
DQB1*XXXX	94/816 (0.115)	54/1066 (0.051)	2.44 (1.72- 3.46)	risk	2.22 x10 ⁻⁷
DRB1*XXXX	130/810 (0.160)	265/1036 (0.256)	0.56 (0.44- 0.70)	protective	3.81 x10 ⁻⁷

HLA-B、DRB1、DQB1とHAMの間に強い関連が見られた

DRB1のあるアミノ酸残基はプロウィルス量と強く相関



網羅的ゲノム解析の結果のまとめ

1. ゲノムスキニングによる網羅的ゲノム解析(GWAS)で、*HLA*領域、染色体2番、X染色体にHAMと関連する候補領域を見出した。
2. GWASで検出された*HLA*領域における関連シグナルは、Class I、Class IIの両方の領域で検出された。
3. 次世代シーケンサーを用いた*HLA*の主要6遺伝子座のアレルの同定法を確立し、HAM検体、キャリア検体を用いた解析を実施した。
4. *HLA-B*、*HLA-DRB1*の特定のアレルとHAMの関連が得られた。
5. 抗原結合ドメインのアミノ酸解析から、*DRB1*タンパク質の特定のアミノ酸がHAMと強く関連することが明らかになった。
6. そのアミノ酸は、プロウィルス量とも強い関連があることがわかった。

今後検証すべきことから

1. 今回の解析は、HAM患者と限られた数のHTLV-1感染キャリアの間の解析であり、ウィルスの易感染性に関わる遺伝因子のデータは得られていない。

そのためには、多くのキャリアおよび遺伝的に似通った対照群集団を用いた、集団の多様性を加味したゲノムをスキャンを実施する必要がある

2. HTLV-1(+)のドナーからHTLV-1(-)のレシピエントへの生体腎移植とHAMの発症の関連については、ドナー、レシピエントともにHLAタイピングデータが存在するはずであるので、そのデータを用いた検証は即時可能。

通常のHLAタイピングは、自己・非自己の認識に重要な箇所のためのタイピングであるため、アレルをあやまっている場合もある。理想的にはシーケンスによる再タイピングを実施すべき。

3. DRB1の特定のアミノ酸はプロウィルス量と関連するので、ATL患者のHLAをタイピングし、このアミノ酸とATL発症の関連の検討を行うことも重要。