



Genetic prediction of the effectiveness of biologics for psoriasis treatment

Nishikawa, Rika

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2016-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6705号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006705>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



学位論文の内容要旨

Genetic prediction of the effectiveness of biologics for psoriasis treatment

乾癬治療における生物学的製剤の有効性の遺伝学的予知

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
皮膚科学
(指導教員：錦織千佳子教授)

西川 里香

導入

乾癬は遺伝学的要因・環境要因により引き起こされる慢性炎症性皮膚疾患である。生物学的製剤の出現により、乾癬ほか関節リウマチやクローン病など炎症性疾患の予後は飛躍的に改善したが、一部でこの治療に効果が出ない患者が存在する。不幸なことに、臨床効果を予測するためのマーカーが確立していないことで、薬を選ぶ際に我々は試行錯誤を余儀なくされている。生物学的製剤の数が増えることで、臨床家たちが乾癬治療への反応性を予測するバイオマーカーを割り出す必要がある。これまで治療効果に影響を与える遺伝学的な研究報告はあるものの、体系的なものはいまだなされていない。

これまでに様々な疾患において、疾患感受性や治療反応性に遺伝子多型の与える影響が研究されている。乾癬の疾患感受性に関係する遺伝子多型を探す研究は数多くなされている。候補に挙がる遺伝子は、乾癬の病因に重要役割を果たす因子をコードするものがほとんどである。ゲノムワイド関連解析 (GWAS) やゲノムワイドメタ解析では病因に直接関係がなさそうな遺伝子での一塩基多型 (SNP) も見つけられている。

今回我々は、2つの抗TNF- α 製剤に対する治療反応性に与える遺伝学的多様性を見つけるために、GWASを行い、その可能性の高いSNPを報告する。

方法

神戸大学病院と協力病院（神戸労災病院・神戸西市民病院・西神戸医療センター・兵庫県立淡路病院・兵庫県立加古川センター・高槻病院）で乾癬に抗TNF- α 製剤の治療を開始する患者を集め、前向きコホート研究を行った。アダリムマブの治療が38人、インフリキシマブの治療が27人であった。皆生物学的製剤の治療を受けるのは初めてで、治療は乾癬における生物学的製剤の使用指針および安全対策マニュアル(日本皮膚科学会雑誌121(8), 1561-1572, 2011)に沿って行われた。治療開始時・4週目・12週目に臨床評価を行い、DNAは治療開始時に採取した。

臨床評価はPsoriasis Area and Severity Index(PASI)を用い、12週時点での改善率からnon-responders(PASI改善率<50% : 15人)・moderate responders(50% \leq PASI改善率<75% : 16人)・goodresponders(75% \leq PASI改善率 : 34人)の3群に分類した。

ゲノムデータ解析ではイルミナ社の提供するHuman Omni Express -8 v1.2 Beadchipを用い、マイナー対立遺伝子頻度5%以下と95%以下のcall rateを示すSNPを除外して染色体番号22番までの731,442SNPsを対象とした。

PLINK softwareを使い、フィッシャー検定により、non-respondersとgood

respondersを比較して各SNPの抗TNF- α 製剤に与える影響を統計的に評価した。質的に遺伝子解析に適した検体74サンプルのうち、73サンプルは日本人由来で1サンプルは中国人由来であった。4サンプルはゲノムデータ解析が行えず、5サンプルは12週までに治療を中止になったため、最終的に65サンプルが解析されることになった。

結果

65サンプルの患者背景を以下に記す。平均年齢は57.8歳で、80%が男性であった。治療開始前の平均PASIは17.7で、治療経過により徐々に低下した。患者たちは合併症として糖尿病・高血圧・高脂血症・混合性結合組織病・シェーグレン症候群を有していた。1例だけ家族に乾癬を有しており、12例で関節症性関節炎を有していた。65サンプルのほぼ全例で光線療法・シクロスポリン・エトレチナートなどの他の治療を以前に受けていた。

治療反応性に最も関与が示唆される10個のSNPを以下に記す。各SNPは遺伝子名・SNP ID・アレル1・non-responderでの頻度・アレル2・good respondersでの頻度・p値・オッズ比である。アレル1がnon-respondersに頻度の高いSNPを示している。①SPEN・rs6701290・G・0.6071・A・0.1379・7.11E-06・9.659②JAG2・rs3784240・A・0.5714・G・0.1207・9.64E-06・9.714③MACC1・rs2390256・A・0.5357・G・0.1034・1.23E-05・10④GUCY1B3・rs2219538・A・0.4286・G・0.05172・1.59E-05・13.75⑤PDE6A・rs10515637・G・0.4286・A・0.05172・1.59E-05・13.75⑥CDH23・rs10823825・G・0.8214・A・0.3276・1.76E-05・9.44⑦SHOC2・rs1927159・A・0.07143・C・0.5517・1.97E-05・0.0625⑧LOC728724・rs7820834・A・0.7143・G・0.2414・2.63E-05・7.857⑨ADRA2A・rs553668・A・0.1429・G・0.6207・3.14E-05・0.1019⑩KCNP1・rs4867965・C・0.7857・A・0.3103・3.45E-05・8.148である。

これまでに関節リウマチやクローン病を含む炎症性疾患で抗TNF- α 製剤に対する治療反応性を報告されている68個のSNPがある。我々の研究でp値0.05以下を示し治療効果に影響すると考えるSNPの中では、toll-like receptor (TLR) 10上のrs11096957が一致した。さらに、7つの遺伝子上の別のSNP80個を見つけ、既報告のSNPと最も距離の近いものを以下に示す。染色体番号・遺伝子名・本研究でのSNP ID・p値・既報告SNPとの距離・既報告SNPでのSNP ID・p値の順である。①9・MOBK12B・rs2589054・0.03061・45449・rs868856・0.0005②4・

TLR10・rs11096957・0.03101・0・rs11096957・0.042③12・SLCO1C1・rs3794270・0.0355・547・rs3794271・0.0000174④12・PDE3A・rs6487132・0.03906・25804・rs3794271・0.0000174⑤5・MAP3K1・rs726501・0.04299・68738・rs96844・0.0247⑥17・MAP3K14・rs7213493・0.04649・34309・rs4792847・0.0361⑦11・CNTN5・rs7926813・0.04884・28020・rs1813443・0.000137である。

議論

我々が知り得る限り、本研究は、乾癬治療での抗TNF- α 製剤に対して治療反応性を調べた最初のGWASである。既報告SNPと一致したrs11096957が位置するTLR10は、IL-1 β ・TNF- α ・IL-6生産に関わり、量依存性に増加することがわかっている。

本研究での患者数が少ないため、より規模の大きなコホートで検証することが、乾癬の治療反応性を予測する遺伝子バイオマーカーを同定するのに重要である。我々のGWASは抗TNF- α 製剤の治療を受けた乾癬を有する64人の日本人と1人の中国人で行われている。既報告と一致したSNPが一つであったという事実は、アジア人特有の遺伝学的背景が関係しているかもしれない。

今回我々が示した、乾癬治療での抗TNF- α 製剤に対して治療反応性を示すSNPが存在する遺伝子は、乾癬の病因に直結するものではない。考えられる1つの可能性は、まだこれらのSNPの機能が十分に解明されていないことである。最も強く相関する(p値の最も低い)10個のSNPを示したが、これらの存在する遺伝子のうちいくつかは、乾癬の発症機序に関連する可能性がある。

JAG2がコードする蛋白は、Notch受容体を活性化するリガンドの一つで、JAG2を介したシグナル伝達はTh17増加による自己免疫性疾患を増悪させる。さらに、JAG2 ligationがIL-9依存性に病気の進展に影響を与えることがわかっている。一方、IL-9がTh17修飾の炎症や血管新生を介して乾癬の進展に寄与する。このことから、もしTNF- α がJAG2の発現を促すのなら、JAG2の遺伝子多型が抗TNF- α 製剤の反応性に影響を与える可能性がある。

ADRA2Aは炎症反応で内皮細胞接着因子の整合を守る役割があり、ADRA2AアゴニストはIL-12産生を促進する。マウスでp38mitogen活性化型プロテインキナーゼの阻害剤を注射すると、IL-12産生に関わるADRA2Aアゴニストの効果を妨げることがわかっている。このことから、ADRA2Aの遺伝子多型が乾癬治療に対する反応を促すのにIL-12を介して作用している可能性がある。

また本論文では過去に抗TNF- α 製剤の治療と関係があると指摘されたSNPと

共通する遺伝子上の7個のSNP7個とその位置（報告されたSNPからの距離）も示した。これらの中でヒトの病気と関連が指摘されているものはなかったが、PDE3Aの遺伝子多型が血中トリグリセリド濃度と関連しているという報告がある。乾癬患者はしばしばトリグリセリド濃度が高く、このSNPも乾癬の疾患感受性に寄与しているかもしれない。

我々の研究は、乾癬治療反応性に関わる遺伝子を発見するための有益な第一歩を示すものである。共同研究によりサンプルサイズが大きくなればなるほど、同定される遺伝子の数も増えることが期待される。ここに示したSNPは乾癬患者における薬理遺伝学研究をさらに進める根拠となるものである。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2607号	氏 名	西川 里香
論文題目 Title of Dissertation	Genetic prediction of the effectiveness of biologics for psoriasis treatment 乾癬治療における生物学的製剤の有効性の遺伝学的予知		
審査委員 Examiner	主 査 森信 暁雄 Chief Examiner 副 査 飯島 一誠 Vice-examiner 副 査 平井 みどり Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

背景

生物学的製剤の出現により、乾癬ほか関節リウマチやクローン病など炎症性疾患の予後は飛躍的に改善したが、一部でこの治療に効果が出ない患者が存在する。今回申請者らは、抗 TNF- α 製剤に対する治療反応性を与える遺伝学的多様性を見つける事を目的として、神戸大学ならびに神戸大学と連携する医療機関を受診中の乾癬患者における治療反応性と GWAS により SNPs を解析し、治療反応性との相関性の高い SNPs をみつけた。

方法

乾癬にアダリムマブ・インフリキシマブの治療を開始する患者 65 人を対象に、前向きコホート研究を行った。治療開始時・4 週目・12 週目に Psoriasis Area and Severity Index(PASI)による臨床評価を行い、DNA は治療開始時に採取した。

12 週時点での改善率から non-responders(15 人)・moderate responders(16 人)・good responders(34 人)の 3 群に分類した。

ゲノムデータ解析ではイルミナ社の提供する Human Omni Express -8 v1.2 Beadchip を用い染色体番号 22 番までの 731,442SNPs を対象とした。

PLINK software を使い、フィッシャー検定により、non-responders と good responders を比較して各 SNP の抗 TNF- α 製剤に与える影響を統計学的に評価した。

結果

治療反応性に最も関与が示唆された遺伝子として JAG2、ADRA2A など 10 個の SN を記す。候補として挙げられている。JAG2、ADAR2A それぞれについて SNP の識別番号、non-responder で頻度が高い塩基とその頻度、p 値は、JAG2 ; rs3784240・A・0.5714・9.64E-06・9.714、ADRA2A ; rs553668 A・0.1429・3.14E-05・である。

これまでに炎症性疾患で抗 TNF- α 製剤に対する治療反応性を報告されている 68 個の SNP がある。本研究で p 値 0.05 以下を示し治療効果に影響すると考える SNP の中では、TLR10 上の rs11096957 が一致している。さらに、7 つの遺伝子上の別の SNP80 個を既報告の SNP を併記して最も距離の近いものを示しているが、染色体番号・遺伝子名・本研究での SNP ID・p 値・既報告 SNP との距離・既報告 SNP での SNP ID・p 値の順で、TLR10・rs11096957・0.03101・0・rs11096957・0.042 が、遺伝子距離がゼロで、既報告での SNP と同一のものであることを示した。

議論

本研究は、乾癬治療での抗 TNF- α 製剤に対して治療反応性を調べた最初の GWAS である。既報告 SNP と一致した rs11096957 が位置する TLR10 は、IL-1 β ・TNF- α ・IL-6 生産に関わり、量依存性に増加することがわかっている。

今回申請者らが示した、乾癬治療での抗 TNF- α 製剤に対して治療反応性を示す SNP が存在する遺伝子は、乾癬の病因に直結するものではないが、最も強く相関する 10 個の SNP の存在する遺伝子のうちいくつかは、乾癬の発症機序に関連しうる可能性がある。

JAG2 を介したシグナル伝達は Th17 増加による自己免疫性疾患を増悪させる。さらに、JAG2 ligation が IL-9 依存性に病気の進展に影響を与えることがわかっている。一方、IL-9 が Th17 修飾の炎症や血管新生を介して乾癬の進展に寄与することから、TNF- α が JAG2 の発現を促すのであれば、JAG2 の遺伝子多型が抗 TNF- α 製剤の反応性に影響を与える可能性がある。

ADRA2A アゴニストは IL-12 産生を促進する。マウスで p38 mitogen 活性型プロテインキナーゼの阻害剤を注射すると、IL-12 産生に関わる ADRA2A アゴニストの効果を妨げることがわかっている。このことから、ADRA2A の遺伝子多型が乾癬治療に対する反応を促すのに IL-12 を介して作用している可能性がある。

また本研究では過去に抗 TNF- α 製剤の治療と関係があると指摘された SNP と共通する遺伝子上の 7 個の SNP7 個と報告された SNP からの距離も示している。

これまで治療効果に影響を与える遺伝学的な研究報告はあるものの、GWAS を用いて網羅的に SNP を探している報告はない。本研究で申請者らが見出した SNP は、乾癬患者における薬理遺伝学研究をさらに進める臨床的な観点からも意義が大きいと考える。以上より、本研究は重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。