第 41 回総会ポスター受賞記念論文

総 説 (推薦論文)

推薦者: 日本臨床免疫学会理事, 第 41 回総会長 山田治基

高安動脈炎疾患感受性 HLA アレルおよびアミノ酸

寺尾知可史^{*1}, 吉 藤 元^{*2}, 三 森 経 世^{*2}, 松 田 文 彦^{*1}

Susceptibility HLA alleles and amino acids to Takayasu arteritis

Chikashi TERAOKA^{*1}, Hajime YOSHIFUJI^{*2}, Tsuneyo MIMORI^{*2} and Fumihiko MATSUDA^{*1}

^{*1}Center for Genomic Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine

^{*2}Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Kyoto University Graduate School of Medicine

(Accepted April 7, 2014)

summary

Takayasu arteritis (TAK) is a systemic vasculitis affecting aorta and its large branches which were firstly reported from Japan. TAK develops mainly in young females and the number of patients with TAK in Japan is estimated about 6,000 to 10,000. This low prevalence has made genetic studies of TAK difficult to elucidate its genetic background. The HLA region, especially HLA-B locus, is the strongest susceptibility locus to TAK. The association between TAK and HLA-B*52:01 has been established beyond ethnicity. Recently, two different Japanese research groups identified HLA-B*67:01, a relatively rare allele in East Asian population, as a novel susceptibility allele. At the same time, two amino acid variations, namely, histidine at position 171 and phenylalanine at position 67 were reported as susceptibility and protective variations, respectively. Since these positions of amino acid are in the peptide binding grooves of HLA-B protein, changes of peptide-binding in MHC class I seem to play a critical role on susceptibility to TAK. Furthermore, the importance of these two amino acid variations would explain the lack of susceptibility effect of HLA-B*51:01 to TAK, which shares most of amino acid sequences with HLA-B*52:01 except for two amino acids including the position 67.

Key words——Takayasu arteritis; genetics; HLA

抄 録

高安動脈炎は本邦から報告された大動脈とその第一分枝を炎症の首座とする血管炎であり, 若年女性に好発する。高安動脈炎の患者数は本邦で 6000-10000 人程度と推定されている。症例数の少なさが遺伝子解析の進展を難しくしているが, その遺伝因子としては HLA 領域の関連が最も知られている。HLA 領域の中で, HLA-B 領域が最も強く高安動脈炎の疾患感受性に関連する。HLA-B*52:01 は古くから知られた関連アレルである。HLA-B*52:01 以外の確たるアレルは同定されてこなかったが, 近年, 比較的まれなアレルである HLA-B*67:01 が疾患感受性に関連することが独立した二施設から報告された。また, 疾患感受性に重要なアミノ酸が二カ所報告された。これら 171 番目と, 67 番目のアミノ酸は HLA-B 分子のペプチド結合部位に存在しており, 抗原結合の変化が高安動脈炎疾患感受性に重要であることが示唆される。これらの結果から, 67 番目のフェニルアラニンを持つ HLA-B*51:01 が高安動脈炎に関連を示さない理由が説明可能であると思われる。HLA-B 領域以外の関連も示唆されており, さらなる解析が期待される。

高安動脈炎の疫学・症状

高安動脈炎は 20 世紀初めに本邦の高安右人博士により世界で初めて報告された疾患であり, 大動脈炎症候群・脈なし病とも呼ばれ, その名の通り大動脈及びその主要分枝における炎症を特徴とする疾患

であり, 巨細胞性動脈炎 (側頭動脈炎) と共に, 大血管を病変の首座とする血管炎の一つとして国際的に分類されている¹⁾。女性に多く, 患者の 90% 前後は女性である。その疾患発症は若く, 10 代, 20 代が多い。症状は全身性の炎症を反映して多岐にわたり, 発熱, 全身倦怠感, 易疲労感を来とし不明熱の原因となるほか, 頭痛, めまい, 筋痛, 動悸, 息切れなどを来す¹⁾。疾患の診断に難渋することも多

^{*1} 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター

^{*2} 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学分野

く、以前は発症から診断まで 10 年前後かかった症例も珍しくはなかったが、疾患の周知と画像撮像設備の充実、進歩などにより、近年は発症から診断までのタイムラグは短くなってきている。本疾患は血管の狭窄、閉塞に関連して、脳梗塞、視力低下、失明、心不全、大動脈弁閉鎖不全症（AR）、大動脈解離、肺梗塞、心筋梗塞、腎不全など重篤な病態を呈する。本邦では厚生労働省が特定疾患に指定しており、2012 年には、5881 人が受給者として登録されているが、未登録や症状の落ち着いた患者も含めると約 6000～10000 人ほどの患者がいると推定される。本邦を含めアジア人に多く報告されているが、患者は世界中に存在する¹⁾。発症原因は不明であるが、環境因子と遺伝因子が関与していると考えられている。高安動脈炎患者の分布が世界的に結核の罹患地域に一致すること、ツ反陽性患者が本疾患患者によく見られることから²⁾、高安動脈炎は結核の一症状という考えがあるが^{3,4)}、相反するデータもあり^{5,6)}、その病態は不明な点が多い。

高安動脈炎と HLA 領域

家族性の発症はまれではあるが認められており、遺伝因子が関与していることは以前から知られていた。ヒト白血球組織適合抗原である MHC 分子をコードする HLA 領域は広く自己免疫性疾患の疾患感受性に関連しており、本疾患も例外ではない。本疾患の HLA 領域の関連は世界的に示されている（表 1）。

高安動脈炎と HLA-B 領域との関連

高安動脈炎との関連においては、HLA 領域の中で特に HLA クラス I に属する HLA-B の関連が知ら

れている。その中でも HLA-B*52:01 が強く関連している⁷⁻¹⁰⁾。HLA-B*52:01 の他には HLA-B39 との関連の報告があるが¹¹⁾、それと反する報告もある¹²⁾。HLA-B*52:01 や 39 は高安動脈炎の疾患感受性のみならず、重篤な合併症である大動脈弁閉鎖不全症や肺梗塞と関連しているという報告がある。疾患感受性のみならずその進展にも影響しているという報告は、疾患の本質における HLA 領域の重要性を示唆するものである。最近、著者らのグループを含む異なる二施設から、比較的まれなアレルである HLA-B*67:01 の関連を示すデータが報告された^{12,13)}。

高安動脈炎と HLA-B 領域以外の HLA

では、HLA-B 以外の HLA は高安動脈炎と関連していないのだろうか。この点については、いくつかの報告がある。HLA-B67:01 を報告した東京医科歯科大学からの報告では、HLA-A, C, DRB1, DQB1 アレルを 96 例の患者群と健常者 371 例でタイピングし比較した結果において、HLA-B*52:01 と連鎖不平衡にある HLA-Cw:12:02, DRB1*15:02, DQB1*06:01 以外、B 以外のアレルには関連を認めていない¹²⁾。

Lv らは中国人患者 72 例と 180 例の健常人を用いた解析で DPB1*09, DPB1*17:01 との関連を報告しているが、HLA-B をタイピングしておらず、HLA-B52:01 との連鎖不平衡を見ている可能性がある。実際に、日本人においては HLA-DPB1*09:01 は、HLA-B*52:01 と連鎖不平衡にある HLA-DRB1*15:02 と強い連鎖不平衡を示す（HLA 研究所データ）。

それ以外に、MICA, MICB, NFKBIL などとの関連の報告がある。HLA 領域の関連に関する報告の評価の際に注意が必要なことは、HLA 領域が非常に多型性に富み、連鎖不平衡が強く、さらにそこには

表 1 1990 年以降に 40 例以上の高安動脈炎患者検体を用いた HLA に関する遺伝子解析

報告	手法	HLA 領域の遺伝子	症例群	対照群
Terao et al. ¹⁴⁾	全ゲノム関連解析	HLA-B	379	1,985
Saruhan-Direskeneli et al. ¹⁵⁾	全ゲノム関連解析	HLA-B/MICA, HLA-DRB1/HLA-DQB1	451	1,115
Terao et al. ¹³⁾	候補遺伝子	HLA-B*67:01, HLA-B*52:01	173	2,000
Takamura et al. ¹²⁾	候補遺伝子	HLA-B*67, HLA-B*52	96	371
Sahin et al. ⁷⁾	候補遺伝子	HLA-B52	330	210
Lv et al. ²¹⁾	候補遺伝子	DPB1*09, DPB1*1701	72	180
Soto et al. ²²⁾	候補遺伝子	HLA-B39, B44, B52	40	171
Shibata et al. ²³⁾	候補遺伝子	NFKBIL1	84	217
Kimura et al. ²⁴⁾	候補遺伝子	C1-2-A, MIB, C1-3-1	91	248
Kimura et al. ²⁵⁾	候補遺伝子	MICA	81	160
Mehra et al. ²⁶⁾	候補遺伝子	HLA-B51, B52	80	289
Yoshida et al. ⁹⁾	候補遺伝子	HLA-B52, B39.2	64	156

文献 1 より改変。

人種間の多様性が絡み、関連を見つけたとしてもそれが普遍的な第一の原因であるとは断言することが難しいという点にある。

全ゲノム関連解析を用いた高安動脈炎と HLA 領域の関連の評価

HLA の多様性を評価し、primary な原因領域を推定するため、全ゲノム関連解析における HLA 領域のデータを用いることは非常に有用である。著者らのグループが発表した日本人における全ゲノム関連解析および、同時にトルコ・アメリカのグループが発表した全ゲノム関連解析の結果、最も強いピークは両方ともに HLA-B 領域であった^{14, 15)}。HLA-B 領域の他に、トルコのグループは DRB1/DQB1 に関連を認めており、著者らの日本人データでも HLA-B 領域の多型 (HLA-B*52:01 と連鎖不平衡) の影響を考慮しても、さらなる関連が HLA 領域に存在する可能性があることを確認している。これらのことから、高安動脈炎と HLA 領域との関連の第一の原因が HLA-B 領域、特に HLA-B*52:01 であることが考えられるが、それだけでは HLA 領域における関連を説明することは難しく、他にも関連する領域/多型があることはまず間違いないと思われる。

高安動脈炎と関連する HLA-B 領域の二つのアミノ酸

では、MHC 分子のどの部分が高安動脈炎の疾患感受性に重要なのであろうか。近年の解析手法の進展によって、大規模なデータを基に、決定的な MHC 分子のアミノ酸を推定することが可能となってきた。実際に、関節リウマチは HLA との関連が古くから知られており、その疾患感受性には HLA-DRB1 が重要であると以前から思われてきたが、全ゲノム関連解析を用いた大規模な解析によって、HLA-DRB1 のみならず HLA-B, DPB1 の計 5 つのアミノ酸で説明可能であるという解析結果が発表されている¹⁶⁾。

高安動脈炎に HLA-B 領域が決定的に重要であることは示されているので、この手法を HLA-B のアミノ酸にのみ適応した手法も可能であると思われる。これを行ったのが 2013 年に著者らが発表した報告である¹³⁾。

著者らは、合計 173 名の患者検体と合計 2,000 名の健常者のデータを用いて高安動脈炎の疾患感受性

図1 HLA-B分子のアミノ酸解析

- A HLA-B分子の各アミノ酸変異と高安動脈炎疾患感受性との関連。
 B 171番目のヒスチジンの影響を除外した結果。
 C 171番目のヒスチジンと67番目のフェニルアラニンを除外した結果。文献13より改変。

において重要な役割を果たすアミノ酸の推定を行った。その結果、171番目のヒスチジンと67番目のフェニルアラニンが関連を示した(図1)。これら2つのアミノ酸の影響を除くと、158番目のアラニンが関連を示したが、他のアミノ酸のモデルと比し有意差がなく、疾患感受性に重要であるアミノ酸は158番目のアラニンであるとは結論付けられなかった。171番と67番のアミノ酸はHLA-Bタンパクのペプチド結合領域に存在しており、これらのアミノ酸によってもたらされる抗原結合の変化が高安動脈炎の疾患感受性に重要であることが示唆された(図2)。HLA-B*52:01を除外するとこれらのアミノ酸の関連は有意でなかったため、これらのアミノ酸と疾患感受性の関連は主にHLA-B*52:01がもた

図2 疾患感受性に重要なアミノ酸二つは HLA-B 分子のペプチド結合部位に存在する。
文献 13 より改変。

らしていると考えられた。171 番目と 67 番目のアミノ酸が HLA-B の機能において重要であることは、過去の研究で示されてきた^{17, 18)}。また、以前のメキシコからの少数例を用いた報告では、63 番目のグルタミン酸と 67 番目のセリンが疾患感受的であるとしており¹⁹⁾、67 番目のフェニルアラニンが防御的であるという今回の解析結果と適合する。

HLA 解析結果からわかること

高安動脈炎の疾患感受性に重要なアミノ酸 2 つがペプチド結合部位に存在していることは、なぜこれらのアミノ酸が感受性に影響しているかというメカニズムを考えるうえで、示唆に富む。これら二つのアミノ酸の組み合わせについては、著者らの報告で見られた B アレルでは、B*52:01 と同一の組み合わせを持ったアレルは他にはなかった（表 2）。HLA-B*51:01 は B*52:01 と二つのアミノ酸しか異ならないにもかかわらず、高安動脈炎には関連せず、別の膠原病であるベーチェット病と関連する²⁰⁾。興味深いことに、67 番目のアミノ酸はこれら二つのアレルで異なる二つのアミノ酸のうちの一つであり、

HLA-B*51:01 は 67 番目のフェニルアラニンを持つ。著者らの解析の結果によって、なぜ HLA-B*51:01 が高安動脈炎に関連しないか⁷⁾の説明がつくと思われる。B*67:01 は 171 番目のヒスチジンを持っていない（表 2）。一方で、新規感受性アレルである B*67:01 を持った検体の数は小さく、アミノ酸の解析でその疾患感受性を十分説明できなかった。

上で述べたように、これまでの研究では、HLA-B 以外の HLA 分子において、B 領域を超える関連は示されていない。他の HLA 分子で HLA-B*52:01, 67:01 の関連が説明できる可能性は低いと思われるが、第 6 染色体の HLA 領域に含まれる他の遺伝子が、HLA-B 領域の影響を除いたうえで関連している可能性はある。疾患責任感受性領域の最終的な確定のためには、HLA 全体の塩基配列の決定が重要である。また、HLA-B 分子のアミノ酸変化により、HLA-B*52:01 や 67:01 と結合可能なペプチドを探索することは大変重要である。

文 献

- 1) Terao, C., et al.: Recent advances in Takayasu arteritis. *Int J Rheum Dis.* **17**: 238–247, 2014.
- 2) Hong, C.Y., et al.: Takayasu arteritis in Korean children: clinical report of seventy cases. *Heart Vessels Suppl.* **7**: 91–96, 1992.
- 3) Aggarwal, A., et al.: Takayasu's arteritis: role of Mycobacterium tuberculosis and its 65 kDa heat shock protein. *Int J Cardiol.* **55**: 49–55, 1996.
- 4) Chauhan, S.K., et al.: Reactivity of gamma/delta T cells to human 60-kd heat-shock protein and their cytotoxicity to aortic endothelial cells in Takayasu arteritis. *Arthritis Rheum.* **56**: 2798–2802, 2007.
- 5) Jain, S., et al.: Current status of Takayasu arteritis in India. *Int J Cardiol.* **54 Suppl**: S111–116, 1996.
- 6) Kothari, S.S.: Aetiopathogenesis of Takayasu's arteritis and BCG vaccination: the missing link? *Med Hypotheses.* **45**: 227–230, 1995.
- 7) Sahin, Z., et al.: Takayasu's arteritis is associated with HLA-B*52, but not with HLA-B*51, in Turkey. *Arthritis Res Ther.* **14**: R27, 2012.
- 8) Vargas-Alarcon, G., et al.: Immunogenetics and clinical aspects of Takayasu's arteritis patients in a

表 2 高安動脈炎疾患感受性に重要なアミノ酸 2 つと感受性アレルにおける塩基

アミノ酸の位置	リファレンス	変異	変異の疾患感受性に対する影響	B*52:01	B*67:01	B*51:01
171	Y	H	感受的	H	Y	H
67	not F	F	防御的	S	Y	F

文献 13 より改変。

- Mexican Mestizo population. *Clin Exp Rheumatol*. **19**: 439–443, 2001.
- 9) Yoshida, M., et al.: DNA typing of HLA-B gene in Takayasu's arteritis. *Tissue Antigens*. **42**: 87–90, 1993.
- 10) Yajima, M., et al.: Comparative studies of patients with Takayasu arteritis in Japan, Korea and India—comparison of clinical manifestations, angiography and HLA-B antigen. *Jpn Circ J*. **58**: 9–14, 1994.
- 11) Kimura, A., et al.: Comprehensive analysis of HLA genes in Takayasu arteritis in Japan. *Int J Cardiol*. **54 Suppl**: S61–69, 1996.
- 12) Takamura, C., et al.: New human leukocyte antigen risk allele in Japanese patients with Takayasu arteritis. *Circ J*. **76**: 1697–1702, 2012.
- 13) Terao, C., et al.: Association of Takayasu arteritis with HLA-B 67:01 and two amino acids in HLA-B protein. *Rheumatology (Oxford)*. **52**: 1769–1774, 2013.
- 14) Terao, C., et al.: Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am J Hum Genet*. **93**: 289–297, 2013.
- 15) Saruhan-Direskeneli, G., et al.: Identification of Multiple Genetic Susceptibility Loci in Takayasu Arteritis. *Am J Hum Genet*, 2013.
- 16) Raychaudhuri, S., et al.: Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet*. **44**: 291–296, 2012.
- 17) Appel, H., et al.: The solvent-inaccessible Cys67 residue of HLA-B27 contributes to T cell recognition of HLA-B27/peptide complexes. *J Immunol*. **173**: 6564–6573, 2004.
- 18) Maenaka, K., et al.: Nonstandard peptide binding revealed by crystal structures of HLA-B*5101 complexed with HIV immunodominant epitopes. *J Immunol*. **165**: 3260–3267, 2000.
- 19) Vargas-Alarcon, G., et al.: Comparative study of the residues 63 and 67 on the HLA-B molecule in patients with Takayasu's Arteritis. *Immunol Lett*. **96**: 225–229, 2005.
- 20) Maldini, C., et al.: Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behcet's disease clinical characteristics: systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology (Oxford)*. **51**: 887–900, 2012.
- 21) Lv, N., et al.: Association of susceptibility to Takayasu arteritis in Chinese Han patients with HLA-DPB1. *Hum Immunol*. **72**: 893–896, 2011.
- 22) Soto, M.E., et al.: Comparison distribution of HLA-B alleles in mexican patients with takayasu arteritis and tuberculosis. *Hum Immunol*. **68**: 449–453, 2007.
- 23) Shibata, H., et al.: Direct determination of single nucleotide polymorphism haplotype of NFKBIL1 promoter polymorphism by DNA conformation analysis and its application to association study of chronic inflammatory diseases. *Hum Immunol*. **67**: 363–373, 2006.
- 24) Kimura, A., et al.: Mapping of the HLA-linked genes controlling the susceptibility to Takayasu's arteritis. *Int J Cardiol*. **75 Suppl 1**: S105–110; discussion S11–12, 2000.
- 25) Kimura, A., et al.: MICA gene polymorphism in Takayasu's arteritis and Buerger's disease. *Int J Cardiol*. **66 Suppl 1**: S107–113; discussion S15, 1998.
- 26) Mehra, N.K., et al.: Immunogenetic analysis of Takayasu arteritis in Indian patients. *Int J Cardiol*. **66 Suppl 1**: S127–132; discussion S33, 1998.