

令和元年6月19日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03269

研究課題名(和文) 出生コホート研究によるアレルギー疾患の遺伝環境要因の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the Gene and Environment factor for Allergic Diseases using an birth cohort study

研究代表者

野口 恵美子 (Emiko, Noguchi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：40344882

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では出生前からデータ収集がなされている出生コホートサンプルを使用して約66万SNPの遺伝子型決定を行うことにより、アレルギー疾患ならびに中間形質(特異IgE抗体陽性等)と関連する遺伝的要因と環境的要因の解明を目的に研究を行った。アレルギーコンポーネントとHLAアレルとの関連においては、スギアレルゲンコンポーネントCry j 1とHLA-DPB1\*02アレルとの関連が5歳時の解析について追認された( $P=0.00089$ , OR 0.61)。また、アレルギーコンポーネントの9歳時における解析において、主に花粉アレルゲンに対して $P<1\times 10^{-6}$ の有意水準を満たすHLAアレルが7アレル検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息、アトピー性皮膚炎、花粉症、食物アレルギー等のアレルギー疾患は、近年我が国において全人口の約2分の1が罹患していることが明らかとなっている。このような社会的に大きな負担となっているアレルギー疾患の予防・治療のためには「遺伝・環境要因の相互作用」を検討する研究が不可欠である。本研究ではアレルギー疾患発症の前段階であるアレルギー特異的IgE抗体産生に関与すると考えられるHLAアレルを複数検出しており、今後、発症予測法の開発につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to elucidate the genetic and environmental factors associated with allergic diseases/intermediate phenotypes such as specific IgE production. We performed genotyping on samples of an birth cohort study using SNP arrays with approximately 660,000 genetic markers per person. We confirmed association between specific IgE production against Cry j 1 and HLA-DPB1\*02 allele at 5 years old ( $P=0.00089$ , OR=0.61). We also found associations between several HLA alleles and specific IgE production against allergen components at 9 years old ( $P < 1\times 10^{-6}$ ).

研究分野：アレルギー

キーワード：アレルギー 全ゲノム関連解析 アレルゲン感作

### 1. 研究開始当初の背景

喘息、アトピー性皮膚炎、花粉症、食物アレルギー等のアレルギー疾患は、近年我が国において全人口の約2分の1が罹患していることが明らかとなっている。罹患者の生活の質を落とし、学業・労働生産性を損ねることから医療からのみならず、その対策を社会全体で取り組むべき課題であると考えられており、平成26年にはアレルギー対策基本法が制定されるに至った。

このような社会的に大きな負担となっているアレルギー疾患の予防・治療のためには「遺伝・環境要因の相互作用」を検討する研究が不可欠である。近年、遺伝要因の解明を目的として、全ての常染色体を均等にカバーする、数十万から数百万の遺伝子型を決定する全ゲノム関連解析 (Genome wide association study, GWAS) が行われており、アレルギー疾患においても複数の疾患感受性遺伝子が同定されている。申請者はアレルギー病態の解明を目的とし遺伝解析を精力的に行っており、2011年に国際共同研究による小児喘息の全ゲノム関連解析を行い HLA-DP アレルと喘息との関連を報告した (Noguchi et al., PLoS Genet, 2011)。また、石鹼使用により重篤な小麦アレルギーが生じることから社会的問題となったグルパール19S (旧茶のしずく抗原) によるアレルギー反応の疾患感受性遺伝子を同定するためのプロジェクトを遂行している (論文投稿中)。しかし GWAS において環境要因と合わせた解析はほとんど行われていない。成人期を含めた出生後のアレルギー疾患の起源は胎児期から始まることが知られており (Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2015) 胎児期からデータが収集されているコホートと GWAS を組み合わせて解析する重要性が高まっている。

### 2. 研究の目的

- 成育コホートサンプルを使用して約66万遺伝子多型 (SNP) の遺伝子型決定を行うことにより、アレルギー疾患ならびに中間形質 (特異 IgE 抗体陽性等) の関連解析を行う。
- 環境要因と遺伝子型の相互作用解析による、環境要因を含めた疾患発症 (中間形質を含む) の解析、ならびに疾患予測モデルの開発をする。

### 3. 研究の方法

#### 対象

成育コホート研究参加者を対象とする。国立成育医療センター病院産科を受診し、成育コホートへ参加への同意が得られた妊婦1701名、そのうち国立成育医療センターで出産に至った児は1550名である。ゲノム解析について倫理委員会の承認を得て、対象者の代諾者から研究参加に関する同意を得たのちに唾液または血液の収集を開始した。成育コホート研究に参加し、ゲノム解析に対する親権者の同意が得られている738名を対象とした。

#### 方法

唾液からの DNA 抽出は Oragene (DNA Genotek) を使用して行った。血液からの DNA 抽出は QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を使用して行った。遺伝子型決定は、Asian Screening Array (illumina) を使用して行った。アレイは iScan (illumina) を使用してスキャンを行い、得られたデータを GenomeStudio software (illumina) を用いて各参加者の遺伝子型決定を行った。

112 種類のアレルゲンコンポーネントの IgE 値測定は ThermoFisher Diagnostics の ImmunoCAP® ISAC 112 により行った。

## 解析

Quality Check の手順においては、Guo らの論文 (Nat Protoc, 2014) を参考に行った。PLINK ソフトウェア (Purcell et al., Am J Hum Genet, 2007) を使用して血縁度関係のある検体の除外、ならびに 1000 Genomes (The 1000 Genomes Project Consortium, Nature, 2015) に登録されている日本、中国、ヨーロッパ、アフリカ人のゲノムデータを取得し、本研究対象集団と主成分分析により比較することで、日本人ゲノム集団から逸脱しているサンプルをマニュアルで除外した。

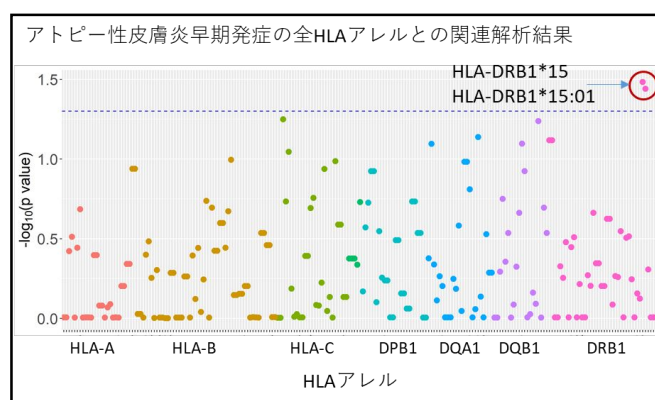
アレイ解析から得られた参加者の遺伝子型と日本人 HLA リファレンスパネル (Hirata et al., J Invest Dermatol, 2018) を使用して SNP2HLA (Raychaudhuri et al., Nat Genet, 2012) を用いた HLA imputation 法により 8 座の HLA アレル型の推定を行った。HLA アレル型と早期発症アトピー性皮膚炎 (2 歳時発症まで) についてロジスティック回帰分析 (additive genotype model) を用いて遺伝子型との関連について検討を行った。

## 4. 研究成果

### ・早期発症アトピー性皮膚炎

上記の遺伝子型に関する QC を満たし、臨床データが存在する 549 名に対し、アトピー性皮膚炎早期発症の全ゲノム関連解析を行った結果、 $P < 1 \times 10^{-6}$  を満たす SNP は検出されなかった。

更に HLA アレル型の推定をおこなった 544 名を対象にアトピー性皮膚炎早期発症と HLA 遺伝子型についての検討を行った。早期発症アトピー性皮膚炎と 226 種類の HLA アレルのロジスティック回帰分析により得られた  $P$  値を、マンハッタンプロットとして左図に示す。アトピー性皮膚炎早期発症と関連する HLA



アレル(2-digit)として、HLA-DRB1\*15、及び 4-digit allele として HLA-DRB1\*15:01 が  $P < 0.05$  を満たすアレルとして検出された。

アレルゲンコンポーネントと HLA アレルとの関連においては、スギアレルゲンコンポーネントの Cry j 1 と HLA-DPB1\*02 アレルとの関連が 5 歳時の解析について追認された ( $P=0.00089$ , OR 0.61)。また、アレルゲンコンポーネントの 9 歳時における解析において、主に花粉アレルゲンに対して  $P < 1 \times 10^{-6}$  の有意水準を満たす HLA アレル (4-digit) が 7 アレル検出されている。

今後、関連が認められた形質を中心に、検討を行っていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

1. Koseki T, Morii W, Noguchi E, Ishikawa M, Yang L, Yamamoto-Hanada K, Narita M, Saito H,

Ohya Y. Effect of filaggrin loss-of-function mutations on atopic dermatitis in young age: a longitudinal birth cohort study. *J Hum Genet*, 2019 in press 査読あり

2. Kanazawa J, Masuko H, Yatagai Y, Sakamoto T, Yamada H, Kitazawa H, Iijima H, Naito T, Saito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. Association analyses of eQTLs of the TYRO3 gene and allergic diseases in Japanese populations. *Allergol Int*, 68: 77-81, 2019 査読あり

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Effect of filaggrin loss of function mutations on atopic dermatitis in young age  
Koseki R., Morii W., Noguchi E., Yang L., Yamamoto-Hanada K., Narita M, Saito H, & Ohya Y Tsukuba Global Science Week 2018 (2018)
2. Association between HLA class II alleles and allergen sensitization: a case control study of 544 Japanese adolescent. Morii W., Sakai A., Kidoguchi M., Miyadera H., Fujieda S., Sumazaki R., & Noguchi E Tsukuba Global Science Week 2018 (2018)
3. 遺伝子から解くアレルギーの謎 野口恵美子 第66回日本アレルギー学会 (2017)
4. アレルギー疾患におけるゲノム解析の基礎とその応用 食物アレルギーを例として  
野口恵美子 第5回総合アレルギー講習会 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：岡田随象

ローマ字氏名：Yukinori Okada

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：70727411

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：大矢幸弘

ローマ字氏名：Yukihiro Ohya

研究協力者氏名：森井 航

ローマ字氏名：Wataru Morii

研究協力者氏名：古関 良多

ローマ字氏名：Ryota Koseki