

令和元年5月20日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09317

研究課題名(和文)炎症性腸疾患小家系におけるパーソナルゲノミクス解析

研究課題名(英文) Personal genomics analysis in the inflammatory bowel disease family

研究代表者

苗代 康可 (Naishiro, Yasuyoshi)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：80347161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、日本人炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease：IBD)の小家系におけるパーソナルゲノミクスを解析に取り組んできた。これまでの研究手法を用いて、数家系のトリオおよび罹患同胞対のexome解析を行い、日本人に特有なIBD関連 single nucleotide variant (SNV)を同定することを試みた。その結果、3家系(IBD患者)の解析を終了した。一家系については、Th2サイトカイン(IL-5, IL-13)発現に関連するプロモーター領域の遺伝子多型が認められた。他の家系ではIL-1 betaの発現に関連するプロモーター領域の遺伝子多型が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IBDは原因不明の難治性炎症性疾患である。現在まで環境因子、遺伝的要素ならびに腸内細菌の異常に基づき、腸管内免疫寛容の破綻が生じた結果、IBDが発症すると考えられてきた。現在までの研究の多くが根本的な病態の解明につながるものではなく、IBD発症後の結果を解析しているものにすぎない。我々の研究結果から、IBD発症に關与する様々なSNPが存在することが明らかとなった。今後は個々の患者におけるサイトカイン産生など(自然免疫)に関連する遺伝子のSNPを見出すことで、IBD治療におけるpersonalized medicineを構築していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：We have performed the analysis of personal genomics in the subfamily of Japanese patients with inflammatory bowel disease (IBD) and tried to identify the IBD-related single nucleotide variants (SNV) that are unique to the Japanese IBD patients, by conducting exome analysis of trio and affected siblings of several families with using the current methods. We completed the analysis of 3 families (related to IBD patients). In one family, polymorphisms in the promoter region associated with Th2 cytokine (IL-5 and IL-13) expression were observed. In other families, gene polymorphisms in the promoter region associated with IL-1 beta expression were observed.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：疾患感受性遺伝子 炎症性腸疾患 日本人 パーソナルゲノミクス解析 希少変異 低頻度多型

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Genome-wide association study (GWAS) の隆盛により、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease IBD) の疾患感受性遺伝子は 163 にも及ぶ。しかし、同定された遺伝子の多くは、オッズ比が小さく、クローン病の遺伝素因のおよそ 20% を説明し得るに過ぎない。欧米人と日本人の疾患感受性遺伝子には驚くべき相違が認められるが、これまで日本人の IBD に関する GWAS は 4 試験のみであり、さらに、われわれが施行したメタ解析で再現性を認めた日本人に特有な SNP は、ごくわずかであった。

2. 研究の目的

上記の現状を踏まえ、本研究は、日本人 IBD の小家系におけるパーソナルゲノミクスを解析する。これまでの予備的な戦略に則り、数家系のトリオおよび罹患同胞対の Exome 解析を行い、日本人に特有な IBD 関連 single nucleotide variant (SNV) を同定する。

3. 研究の方法

- (1) 全エクソンシーケンス解析対象: 予備的解析のそれを踏襲し、その計画・方法について概述する。解析対象は、1~数家系の IBD 小家系であり、最大でも一家系 4 人構成として、5 家系計 20 人までの Exome シーケンス解析を予定している。IBD はその発症に多因子が関わる非メンデル遺伝性複合性疾患であるため、優性および劣性遺伝形式に基づく解析対象の選定の両者を複合して解析対象選定する必要がある。すなわち家系内の健常者を含め全員を対象とする。
- (2) Wet 解析 (次世代シーケンシング): タカラバイオのヒト Exome シーケンス受託サービスを利用する。内容は、SureSelectXT Human All Exon V5 キットを用いてシーケンスライブラリを作成後、HiSeq システム (イルミナ社) による高速シーケンス解析を実施する。シーケンスにより得られたリードから低品質領域やシーケンスアダプター配列由来の領域を除去し、それを参照配列に対してマッピングする。また、マッピング結果から重複リードを除去したデータが納品される。これを Dry 解析する。
- (3) Dry 解析 (Exome 情報のパイオインフォマティクス解析) コンピュータ環境として Bio-Linux8 および Resequencing/Exome 解析パイプラインをプレインストールしたメモリ 32G の専用の解析サーバー (アメリエフ社スタンダードモデル) を準備する。主な解析フローを以下に概述する。Realignment は、indel のため誤って SNV とコールされた領域 (SNV 擬陽性) を再びアレイメントすることでコールの精度を高める。Broad Institute 社製の Genome Analysis Toolkit を使用する。すべてのペアエンド配列情報の配列とその相補鎖が一致しているか Picard で確認する。ソート済みの SAM/BAM ファイルに対して索引ファイルを生成する。暫定的に SNV とコールされた配列に基づき、各リードの塩基の Q 値を、ミスリード確率を反映したものに再調整する (Base Quality Recalibration)。ここまでの情報を、順番に付加して SNV/Indel Call に渡す BAM ファイルを生成する。GATK により高い精度で SNV/Indel Call し、ANNOVAR で変異を検出後、多くの注釈情報をつける。各種フィルターを通して可能性の高い原因変異を絞り込む。ibd2.R により Identity-by-descent ('IBD') 領域を推定する。'IBD'、compound heterozygous mutation などの遺伝様式を考慮した filtering を工夫する。

4. 研究成果

日本人 IBD の小家系におけるパーソナルゲノミクスを解析にとりくんできた。これまでの

研究手法を用いて、数家系のトリオおよび罹患同胞対の exome 解析を行い、日本人に特有な IBD 関連 single nucleotide variant (SNV) を同定することを試みてきた。我々はすでに 3 家系 (IBD 患者) の解析を終了した。一家系については、Th2 サイトカイン (IL-5, IL-13) 発現に関連するプロモーター領域の遺伝子多型が認められた。他の家系では IL-1 beta の発現に関連するプロモーター領域の遺伝子多型が認められた。しかしながら、これらの希少変異の再現性を検討するためには、多数の症例の集積が極めて重要である。したがって、共同研究施設でのさらなる症例集積が必要である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

Nakase H. Optimizing the Use of Current Treatments and Emerging Therapeutic Approaches to Achieve Therapeutic Success in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gut Liver*. 2019 Mar 12. doi: 10.5009/gnl18203.

Nakase H. OPeNing the Epithelial Barrier: Osteopontin Preserves Gut Barrier Function During Intestinal Inflammation. *Dig Dis Sci*. 2019 ;64:294-296.

Nakajima A, Vogelzang A, Maruya M, Miyajima M, Murata M, Son A, Kuwahara T, Tsuruyama T, Yamada S, Matsuura M, **Nakase H**, Peterson DA, Fagarasan S, Suzuki K. IgA regulates the composition and metabolic function of gut microbiota by promoting symbiosis between bacteria. *J Exp Med*. 2018;215:2019-2034.

Ohwada S, Iida T, Hirayama D, Sudo G, Kubo T, Nojima M, Yamashita K, Yamano H, **Nakase H**. Clinicopathological comparison between acute gastrointestinal-graft-versus-host disease and infectious colitis in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS One*. 2018;13:e0200627

Hirayama D, Iida T, **Nakase H**. The Phagocytic Function of Macrophage-Enforcing Innate Immunity and Tissue Homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2017;19: pii: E92.

Iida T, Wagatsuma K, Hirayama D, **Nakase H**. Is Osteopontin a Friend or Foe of Cell Apoptosis in Inflammatory Gastrointestinal and Liver Diseases? *Int J Mol Sci*. 2017; 19: pii: E7.

Nakase H, Motoya S, Matsumoto T, Watanabe K, Hisamatsu T, Yoshimura N, Ishida T, Kato S, Nakagawa T, Esaki M, Nagahori M, Matsui T, Naito Y, Kanai T, Suzuki Y, Nojima M, Watanabe M, Hibi T; DIAMOND study group. Significance of measurement of serum trough level and anti-drug antibody of adalimumab as personalised pharmacokinetics in patients with Crohn's disease: a subanalysis of the DIAMOND trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017; 46:873-882.

Iida T, Onodera K, **Nakase H**. Role of autophagy in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2017; 23:1944-1953.

Kawakami K, Minami N, Matsuura M, Iida T, Toyonaga T, Nagaishi K, **Arimura Y**, Fujimiya M, Uede T, **Nakase H**. Osteopontin attenuates acute gastrointestinal graft-versus-host disease by preventing apoptosis of intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 485:468-475.

Onodera K, **Arimura Y**, Isshiki H, Kawakami K, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto E, Niinuma T, **Naishiro Y**, Suzuki H, Imai K, Shinomura Y. Low-Frequency IL23R Coding

Variant Associated with Crohn's Disease Susceptibility in Japanese Subjects Identified by Personal Genomics Analysis. *PLoS One*. 2015;10:e0137801.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 3 件)

仲瀬裕志. メディカルドゥ 最新 多因子遺伝性疾患研究と遺伝カウンセリング 炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎・クローン病). 2018, 165-169.

仲瀬裕志. 医学と看護社 最適治療を極める! 潰瘍性大腸炎 82 ページ 2018, 1-82

仲瀬裕志. 日本臨床社 日本臨床炎症性腸疾患 (第 2 版) 炎症性腸疾患の免疫学的要因 自然免疫・獲得免疫の関与. 2018, 76:83-86.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔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: 有村 佳昭

ローマ字氏名: Arimura Yoshiaki

所属研究機関名: 札幌医科大学医学部

部局名: 消化器内科学講座

職名: 研究員

研究者番号 (8 桁): 80305218

研究分担者氏名: 仲瀬 裕志

ローマ字氏名: Nakase Hiroshi

所属研究機関名: 札幌医科大学医学部

部局名: 消化器内科学講座

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 60362498

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。