

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（特設分野研究）

研究期間：2017～2019

課題番号：17KT0125

研究課題名（和文）多階層テンソル因子分解法を用いたオミックスデータ統合型関連解析手法の開発と応用

研究課題名（英文）Development and Application of Omics Data Integrated Association Analysis Method Using Multi-Hierarchical Tensor Factorization

研究代表者

日笠 幸一郎（HIGASA, Koichiro）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：10419583

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究期間を通して収集した複雑系疾病群および比較対照群のながはまコホート検体を用いて、多角的なオミックス解析を実施し、以下の成果を得た。（1）IgG4関連疾患857例の全ゲノム関連解析を行い、HLA-DRB1とFCGR2B遺伝子領域に有意な関連を見出した。（2）血漿中遊離アミノ酸（PFAA）を代謝障害のバイオマーカーとして利用するために、ゲノムワイド定量的形質座（QTL）解析を行い、PFAA濃度と有意な関連を示す8つの遺伝子を同定した。（3）劣性遺伝疾患である低リン酸血症（HPP）の重症度に関与する血清ALP活性と有意に関連する3変異を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多因子性疾患に代表される様々な複雑系疾病は、遺伝因子だけでなく環境因子や生活習慣などの複数要因の相互作用により、発症や重症化に至る。本課題の対象疾患は、いずれも発症メカニズムが解明されていない疾患群であり、本研究で得られた知見は、患者の類型化による質の高い診療や新規治療薬の開発、発症と重症化プロセスの解明、疾患特異マーカーや治療後の再発予測、診断や重症度判定、治療反応性の指標となる因子の導出など、複雑系疾病群の病因・病態の解明に役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Throughout the study, we collected omics data from thousands of complex disease and control samples, and obtained the following results by a multi-omics analysis. (1) Genome wide association study of 857 cases of IgG4-related diseases revealed significant associations in HLA-DRB1 and the FCGR2B loci. (2) Genome-wide quantitative trait locus analysis of plasma free amino acids (PFAA) identified eight loci associated with PFAA levels. (3) Three mutations in ALPL gene are significantly associated with serum ALP activity, which is involved in the severity of hypophosphatemia.

研究分野：ゲノム解析

キーワード：オミックス解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多因子性疾患に代表される様々な複雑系疾病は、遺伝因子だけでなく環境因子や生活習慣などの複数量の相互作用により、発症や重症化に至る。近年、高速ゲノム解析装置や高精度質量分析機器等の技術革新に伴い、患者-対照群の生体内分子(オミックスデータ)の時系列情報が網羅的に収集可能となってきた。こうしたヒトの体内で刻々と変動する分子情報から、病態の予知・予後予測に有用なバイオマーカーの同定や、治療薬の開発など、臨床に直結する知見を得るためには、オミックスデータ間の高次元相関を維持しつつ総合的に分析する方法論の開発が必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究課題では、多階層テンソル分解と変分ベイズ法の応用により、複雑なオミックスデータ情報を柔軟に統合・圧縮し、抽出された特徴量との全ゲノム関連解析を実現する新手法を開発する。更に、現在収集を進めている様々な複雑系疾病のオミックスデータに本手法を適用し、医学応用可能な知見の導出を目指す。将来的には、コホート事業やバイオバンク事業等で集積されつつある生命ビッグデータから、本法を用いて複雑系疾病の発症に至るメカニズムを分子レベルで解明し、個別化予防医療の進展に資する。

3. 研究の方法

2017年度は、本研究課題で提案する方法論の開発とアルゴリズム実装を行い、2018年度から複雑系疾病症例から収集したオミックスデータに本法を適用し、臨床応用可能な知見の導出を目指す。

4. 研究成果

本課題における主な成果として、IgG4 関連疾患のゲノムワイド関連解析によって同定した新たな原因遺伝子についてその概要を報告する。

(1) 背景

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) は、膵臓 (自己免疫性膵炎) 胆管 (IgG4 関連硬化性胆管炎) 涙腺・唾液腺 (IgG4 関連涙腺・唾液腺病変、いわゆるミクリッツ病) 腎 (IgG4 関連腎臓病) 後腹膜腔 (IgG4 関連後腹膜線維症) 肺 (IgG4 関連呼吸器病変) 動脈 (IgG4 関連動脈周囲病変) など全身臓器の腫大や肥厚と血中 IgG4 濃度の増加に加え、病理組織学的に著しい IgG4 形質細胞浸潤、線維化、閉塞性静脈炎などを認める特異な疾患群である。2001 年我が国の研究グループによる自己免疫性膵炎での高 IgG4 血症の報告を契機として疾患の統合・再分類が進み、2011 年に我が国から「疾患名統一」と「包括診断基準」が提唱され、国際的に承認された。本疾患の治療はステロイドが有効であることが多いが、各臓器疾患からなる全身疾患であり多彩な病変を認めるため、治療適応や治療法は異なる。2012 年以降、厚生労働省の「IgG4 関連疾患に関する調査研究班」、「IgG4 関連疾患の診断基準並びに治療指針の確立を目指した研究班」では、各関連学会とも連携し、数多くの診療科の専門家による 7 分科会を設置し、各臓器疾患の実態調査や診断基準、重症度分類の策定作業を行ってきた。さらに、2014 年と 2017 年には、日米の研究者が共同で国際的な治療指針や鑑別診断法の策定を行い、IgG4-RD は 2015 年度の難病の法律改定に伴い指定難病になった。しかし、指定難病の認定要件はかなり厳しく、臨床調査個人表が認められている患者はごく一部と考えられ、現状では IgG4 関連疾患全体の疫学情報の把握は困難で、我が国における正確な患者数の把握もできていない。また様々な疾患が集まった概念のため、概念自体も変遷しており、動脈、消化管、内分泌疾患など新領域疾患も明らかにされつつあるが、前述のとおり IgG4-RD は多くの症例で複数臓器に病変が及ぶ全身疾患であり、現在までは個々の該当科において調査、研究がなされてきたため、IgG4-RD の疾患情報が集約できていない。IgG4-RD の遺伝子の探索は、候補遺伝子を限定した過去の解析で、HLA 遺伝子、FCRL3 遺伝子、CTLA4 遺伝子および KCNA3 遺伝子が疾患関連遺伝子として報告されている。しかし希少疾患であることに加え、診断が困難であるため、いずれの研究においても使用された検体数は少なく、検体選択のバイアスで結果が過大評価されている可能性も残っている。また、網羅的ゲノム解析は日本人、西洋人でも現在までに行われていない。

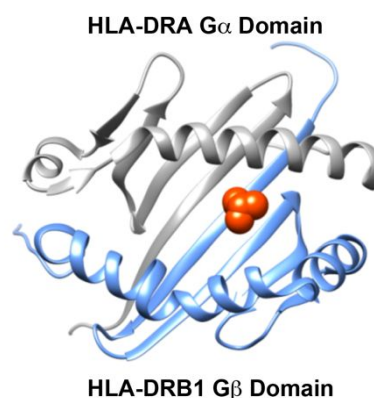
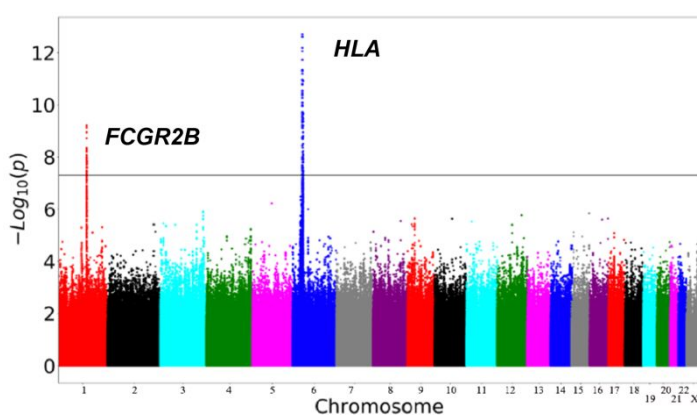
(2) 今回の成果

日本全国の IgG4-RD 専門医の属する 50 の研究・医療機関からなる多施設共同研究を組織し、IgG4 関連疾患患者の臨床情報を集積したデータベースを構築した。加えて、国際診断基準を満たす患者 857 例の DNA 検体を収集した。対照群としては、ながはまコホートの参加者の地域住民 2,082 名の DNA 検体を用いた。IgG4-RD は希少疾患であり、独立検体群による再現性の検証が困難であるため、患者検体採取時で 2 つのセットに分けて解析し、最終的にそれらを統合した。ゲノム上の 95 万 8,440 箇所の一塩基変異 (SNV) の頻度分布を患者と対照群で比較して関連解析を実施したところ、染色体 6 番の HLA 遺伝子座 (rs615698 で $p=1.1 \times 10^{-11}$) と染色体 1 番の FCGR 遺伝子座 (rs1340976 で $p=2.0 \times 10^{-8}$) に有意な関連が検出された。これらの領域の詳細な解析から、HLA 遺伝子座では、HLA-DRB1 遺伝子が、FCGR 遺伝子座では、FCGR2B 遺伝子が疾患と関連することが

明らかになった。HLA 遺伝子については、患者と対照群の各個人の持つ 6 種類の HLA 遺伝子 (HLA-A、-B、-C、-DPB1、-DQB1、-DRB1) の対立遺伝子 (アレル) をこの領域のタイピング結果から推定し、患者と対照群での頻度の比較を行ったところ、HLA-DRB1*04:06 が疾患感受性を、HLA-DRB1*09:01、HLA-DQB1*03:03 が疾患抵抗性を持つことが明らかになった。HLA は抗原提示に関わる分子であるため、HLA タンパクのどの部位のアミノ酸残基が疾患感受性・抵抗性を決めているのかを検討した。予測された対立遺伝子のアミノ酸配列を並べ、N 末端側から一つずつアミノ酸残基の種類の分布を患者と対照群で比較した。その結果、HLA-DRB1 タンパクの抗原提示部位である G ドメインの 7 番目のアミノ酸残基 (DRB1-GB-7) が疾患の感受性と強く関連する ($p=1.7 \times 10^{-14}$) ことが明らかになった。具体的には、DRB1-GB-7 がバリンであるとオッズ比が 2.01 倍に、またアスパラギン酸であるとオッズ比が 0.57 倍になることがわかった。DRB1-GB-7 を持つ HLA-DRB1 アレルは HLA-DRB1*04:06 のほかに HLA-DRB1*04:03、HLA-DRB1*04:05、HLA-DRB1*04:10 があり、こういったアレルを持つ人は IgG4-RD を発症しやすい可能性があることが示された。興味深いことに、DRB1-GB-7 は関節リウマチや全身性エリテマトーデス (SLE) とも関連するが、SLE においてバリンは IgG4-RD と逆で疾患抵抗性を示すことが報告されている。FCGR2B は、複数の FCGR タンパクの中で、唯一 B リンパ球で発現し、抑制的なシグナルを伝達する。FCGR2B 遺伝子は、SLE の主な感受性遺伝子として知られている。今回の研究で同定された rs1340976 は、SLE の疾患感受性と関連する SNV の rs1050501 と強い連鎖不平衡の関係にあるが、SLE では C ヌクレオチドが疾患感受性を示し、IgG4-RD では逆のアレルの T が疾患感受性を示した。さらに、rs1340976 は FCGR2B 遺伝子の発現と強い相関があり、また炎症で腫張を認める臓器の数や診断時の血中 IgG4 濃度とも関連することが示された。以上をまとめると、IgG4-RD は、HLA-DRB1 遺伝子と FCGR2B 遺伝子が主な感受性遺伝子であることが明らかになった。この 2 つの遺伝子は、SLE においても主たる感受性遺伝子であるが、その疾患に対する影響は逆向きであることがわかった。これらの遺伝子がどのように疾患発症、病態や重症度に関わるか今後の研究によって明らかになると期待される。

(3) 本研究の意義と今後の展望

IgG4-RD は我が国から提唱された疾患概念であり、IgG4-RD と関連する遺伝因子を今回の研究で我が国が世界に先駆けて解明したことは極めて意義深く、今後も世界をリードするような研究成果を発信していきたいと考える。IgG4-RD の病因・病態の解明、診断・治療・予防法の開発を推進するためには、患者の臨床・ゲノム情報を集約して統合的解析をすることが不可欠である。現在 AMED で進められている難病プラットフォーム事業では、IgG4-RD の患者レジストリ構築が進んでおり、患者背景、生活環境、生活状況、IgG4-RD の症状及び治療歴等を長期間追跡調査することを通じて、疾患の自然歴が解明され、病態の理解や治療法開発がさらに促進されると期待している。今回の研究で明らかになった 2 つの遺伝子では疾患の一部しか説明できないことから、さらに大規模なゲノム解析を行う必要があり、また次世代シーケンサーを用いた全ゲノム塩基配列の解析による稀な遺伝子変異の集積の解析や、患者の血液中の代謝物やタンパク質、脂質の網羅的測定による、疾患の発症や重症度、予後に関連するバイオマーカーの探索を引き続き行う。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nagata Miho, Setoh Kazuya, Takahashi Meiko, Higasa Koichiro, Kawaguchi Takahisa, Kawasaki Hidenori, Wada Takahito, Watanabe Atsushi, Sawai Hideaki, Tabara Yasuharu, Yamada Takahiro, Matsuda Fumihiko, Kosugi Shinji	4. 巻 65
2. 論文標題 Association of ALPL variants with serum alkaline phosphatase and bone traits in the general Japanese population: The Nagahama Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 337 ~ 343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-019-0712-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terao Chikashi, Ota Masao, Iwasaki Takeshi, Shiokawa Masahiro, Kawaguchi Shuji, Kuriyama Katsutoshi, Kawaguchi Takahisa, Kodama Yuzo, Yamaguchi Izumi, Uchida Kazushige, Higasa Koichiro et al.	4. 巻 1
2. 論文標題 IgG4-related disease in the Japanese population: a genome-wide association study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Lancet Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e14 ~ e22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S2665-9913(19)30006-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imaizumi Akira, Adachi Yusuke, Kawaguchi Takahisa, Higasa Koichiro, Tabara Yasuharu, Sonomura Kazuhiro, Sato Taka-aki, Takahashi Meiko, Mizukoshi Toshimi, Yoshida Hiro-o, Kageyama Naoko, Okamoto Chisato, Takasu Mariko, Mori Maiko, Noguchi Yasushi, Shimba Nobuhisa, Miyano Hiroshi, Yamada Ryo, Matsuda Fumihiko	4. 巻 27
2. 論文標題 Genetic basis for plasma amino acid concentrations based on absolute quantification: a genome-wide association study in the Japanese population	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 621 ~ 630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41431-018-0296-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sato Yoshinori, Tsukaguchi Hiroyasu, Morita Hiroyuki, Higasa Koichiro, Tran Mai Thi Nhu, Hamada Michito, Usui Toshiaki, Morito Naoki, Horita Shoichiro, Hayashi Takao, Takagi Junko, Yamaguchi Izumi, Nguyen Huan Thanh, Harada Masayo, Inui Kiyoko, Maruta Yuichi, Inoue Yoshihiko, Koiwa Fumihiko, et al.	4. 巻 94
2. 論文標題 A mutation in transcription factor MAFB causes Focal Segmental Glomerulosclerosis with Duane Retraction Syndrome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 396-407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2018.02.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaura Tadayoshi, Miyoshi Hiroyuki, Maekawa Hisatsugu, Morimoto Tomonori, Yamamoto Takehito, Kakizaki Fumihiko, Higasa Koichiro, Kawada Kenji, Matsuda Fumihiko, Sakai Yoshiharu, Taketo M. Mark	4. 巻 9
2. 論文標題 Accurate diagnosis of mismatch repair deficiency in colorectal cancer using high-quality DNA samples from cultured stem cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 37534-37548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.26495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Higasa K, Ogawa A, Terao C, Shimizu M, Kosugi S, Yamada R, Date H, Matsubara H, and Matsuda F.	4. 巻 17
2. 論文標題 A burden of rare variants in BMP2 and KCNK3 contributes to a risk of familial pulmonary arterial hypertension.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Pulmonary Medicine	6. 最初と最後の頁 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-017-0400-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murakami R, Matsumura N, Brown JB, Higasa K, Tsutsumi T, Kamada M, Abou-Taleb H, Hosoe Y, Kitamura S, Yamaguchi K, Abiko K, Hamanishi J, Baba T, Koshiyama M, Okuno Y, Yamada R, Matsuda F, Konishi I, Mandai M.	4. 巻 187
2. 論文標題 Exome Sequencing Landscape Analysis in Ovarian Clear Cell Carcinoma Shed Light on Key Chromosomal Regions and Mutation Gene Networks.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 2246-2258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2017.06.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 吉岡 和香子、飯田有俊、岡田随象、大矢寧、大久保真理子、小川恵、松田文彦、日笠幸一郎、森まどか、中村治雅、林晋一郎、野口悟、西野一三
2. 発表標題 GNEミオパチー p.D207V変異は軽症型変異であり、ホモ接合体では極めて稀にしか発症しない
3. 学会等名 日本筋学会第5回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okada D, Nakamura N, Setoh K, Kawaguchi T, Narahara M, Higasa K, Tabara Y, Matsuda F, Yamada R
2. 発表標題 Visualization of comprehensively changes in whole cell subsets after influenza vaccination
3. 学会等名 VIZBI 2019 - the 10th Visualizing biological data (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshioka W, Okubo M, Ogawa M, Matsuda F, Higasa K, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Kimura E, Nakamura H, Hayashi S, Iida A, Noguchi S, Nishino I
2. 発表標題 Frequency of c.620A>T homozygotes is extremely low in Japanese GNE myopathy patients: What is determining the pathogenicity?
3. 学会等名 International conference at Institut des Hautes Etudes Scientifiques (IHES) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永田 美保、山田 崇弘、十川 麗美、馬場 遥香、川崎 秀徳、和田 敬仁、澤井 英明、瀬藤 和也、川口 喬久、日笠 幸一郎、中山 健夫、田原 康玄、松田 文彦、小杉 眞司
2. 発表標題 一般地域住民における低ホスファターゼ症の未診断罹患者および非発症キャリアの研究：ながはまスタディ
3. 学会等名 第63回日本人類遺伝学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 芳憲、塚口 裕康、小岩 文彦、日笠 幸一郎、松田 文彦、高橋 智
2. 発表標題 MAFB転写因子変異によるDuan眼球後退症候群を合併する巣状分節性糸球体硬化症発症の分子機序
3. 学会等名 第63回日本人類遺伝学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田 大瑚、中村 直俊、瀬藤 和也、川口 喬久、奈良原 舞子、日笠 幸一郎、田原 康玄、松田 文彦、山田 亮
2. 発表標題 大規模シングルセル発現データを用いた細胞集団プロファイル全体の異同の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>デュアン症候群と巣状糸球体硬化症を合併する 稀少疾患の責任遺伝子MAFBを同定 http://www.kmu.ac.jp/news/laaes70000002bvj-att/laaes70000002bw7.pdf</p> <p>指定難病IgG4関連疾患とHLA-DRB1、FRGR2B遺伝子との関連を解明 http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2019/190806_3.html</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考