

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02941

研究課題名(和文)大規模コホートによる家系ゲノム情報を用いた妊娠高血圧腎症の遺伝学的原因究明

研究課題名(英文) Exploring the Genetic Causes of Preeclampsia Using Family Genome Information in a Large Cohort

研究代表者

菅原 準一 (Sugawara, Junichi)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60280880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,400,000円

研究成果の概要(和文)：三世代コホートから解析対象である症例及び対照の妊婦・夫・児のトリオの選択及び抽出して解析対象のジャポニカアレイを実施した。妊婦・夫・児のトリオ(妊娠高血圧腎症152組、対照280組)のジャポニカアレイ解析を進めた。さらに、トリオ相互作用を考慮したゲノムワイド関連解析から、病態に關与すると推測されるゲノム変異を見出した。加えて、トリオ家系情報を用いたより複雑なゲノムワイド関連解析を行った。コホート研究により収集された血漿(妊娠高血圧腎症593例、対照509例)を用いたメタボローム解析を完了し、調査票情報などを用いた予測式構築および遺伝環境相互作用を紐解く統合解析を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠高血圧腎症は、遺伝・環境因子が複雑に關与する多因子疾患であるが、いまだ明確な原因は不明である。我が国においては、本疾患に關する大規模なゲノムワイド関連解析の報告はなく、遺伝的要因の究明が求められている。

本研究は、大規模出生三世代コホートの検体を用い、日本人のゲノム解析に最適化されたジャポニカアレイによる、妊産婦・父・児のゲノムワイド関連解析を行った。

具体的には、これまで報告された疾患感受性遺伝子変異の日本人PEにおける妥当性の検証を行い、さらに新規のゲノム変異を同定し、これらのゲノム変異情報に、疾患に有意に關連する疫学的要因等を加えることで、超高次

研究成果の概要(英文)：We proceeded with the Japonica array analysis of the trio of pregnant women, husbands, and children (152 pairs with gestational hypertension nephropathy and 280 pairs of controls). In addition, genome-wide association analysis considering trio interaction revealed genomic variants that are presumed to be involved in the pathogenesis, and we proceeded with validation analysis. In addition, genome analysis including imputation is underway to conduct more complex genome-wide association analysis using trio family tree information. We have completed metabolomic analysis using NMR and mass spectrography of plasma collected from the cohort study (593 cases of preeclampsia and 509 controls), and are constructing prediction equations using information from questionnaires and other sources. Furthermore, integrated analysis is underway to unravel the genetic-environmental interactions by combining genomic and plasma metabolomic information.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠高血圧腎症

1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧腎症は、多くの母児合併症を引き起こす重篤な疾患であり、根本的な治療はなく唯一の病態改善法は分娩である。また、母および児への短期・長期的疾患罹患リスクから、次世代の成育にかかる重要な健康問題となっている。近年、次世代シーケンサーを中心とした解析技術の向上、バイオ情報科学の進展により、本疾患に対して遺伝因子・環境因子を統合的に解析することで、病因究明と共に新しい早期診断法・治療法の開発が強く求められている。

最近の報告では、初回妊娠 PE の次回再発の相対リスクは 32 (95%CI: 17~48) を示し、PE の家族歴を持つ妊婦の相対リスクは、2.9 (95%CI: 1.7~4.9) であり、遺伝的関与が強く疑われる症例は多い。従来の GWAS などの全ゲノム解析研究において、疾患感受性遺伝子群の同定には、数々の参照パネルが用いられてきた。一方、疾患感受性遺伝子群によるリスクが人種間で大きく異なることも報告されている。そのため、人種的な背景を十分に考慮したゲノム解析が求められている。現在まで使用可能な参照パネルは、日本人の遺伝的背景が反映されていないものがほとんどであった。これらの課題を克服するため、我々は日本人ゲノム解析ツールである「ジャポニカアレイ®」を開発した。近年、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析におけるコストやスループットが課題となっているが、情報科学の進展によるジェノタイプインピュテーション技術を適応することで、より安価に最大の研究成果を導き出すことが期待できる。一方、これまでの研究により、PE 全体で 55%程度が遺伝的素因に基づくこととされており、母方の遺伝的関与が全体の 35%、胎児の遺伝子による影響が 20%、両親の遺伝的素因の相互作用が 13%と推定され、PE 発症のトリオの遺伝的要因がクローズアップされている。PE の発症予測には遺伝的要因に環境要因を加えることが必要であるが、爆発的なビッグデータ情報処理が必要となることから、リスク予測式構築の実現には高度な遺伝統計学的検討が求められてきた。

以上述べた学術的背景から、日本人の人種的差異を考慮した大規模コホートによるトリオ検体を用いた PE 疾患感受性遺伝子群の検証・探索、および超高次元変数選択法による疾患予測式の構築を立案するに至った。

2. 研究の目的

大規模出生コホート検体を用い、PE 罹患妊婦・夫・児に対して既報のゲノム変異の関連性を検証し、日本人の疾患感受性遺伝子群候補の同定を行う。さらに、ゲノム変異情報と環境因子を組み合わせた超高次元変数選択法による疾患予測式を構築する。これらによって、日本人における PE の遺伝的要因を究明し、遺伝的背景を考慮した個別発症予測の端緒を切り拓くことを目的としている。

世界初の大規模出生三世代コホートの基盤を活用し、我々が初めて開発した日本人ゲノム解析ツール「ジャポニカアレイ®」を適用することで、人種的差異を考慮した PE 罹患トリオの大規模ゲノム解析が初めて可能となった。また、インピュテーション技術を応用することで、低コスト・短時間で全ゲノム復元が可能となり、従来困難であった大規模解析を PE 発症の関連解析に初めて適応することが可能となった。また、独自に開発した超高次元変数選択法によって遺伝的背景を考慮した疾患予測式の構築が現実的となった。このような多くの探索的手法を組み合わせることで、欧米で得られたゲノム変異の妥当性の検証やいままでも得られなかった新規の疾患感受性遺伝子群が発見されることが期待できる。また、本研究の成果により培養細胞・動物実験

モデルの構築等、疾患感受性遺伝子群の幅広い機能解析への応用が可能となる。これらの本研究構想によって、妊娠高血圧腎症の発症機序の一端を解明するとともに将来の個別化予防・治療への基礎的知見を得ることが期待できる。

3. 研究の方法

(1)ゲノム解析および疾患予測式構築に資するデータの質の確保

大規模出生コホートによって、遺伝継承性に基づく遺伝・環境要因の両方を考慮した調査が推進され、妊婦（母親）においては妊娠中の血圧・生体試料・生活習慣情報等の継時的データを取得している。本研究においてはデータクリーニングによるデータの質の確保をすすめ、発症予測式構築に供する。

(2)ジャポニカアレイを用いたトリオゲノム解析

遺伝的素因が家系内で共有されている可能性があり、家系内での解析は必須である。そこでジャポニカアレイを用いて罹患妊婦（母）・父・児トリオ 100 組、コントロールトリオ 100 組（合計 600 検体）の全ゲノム SNP スキャンニングを実施し、GWAS によって候補多型を同定する。インピュテーション技術を導入し全ゲノム復元を行い、候補遺伝子マーカーとして同定する。既報のゲノム変異についても妥当性の検証を行う。

(3)発症リスク予測式の構築

遺伝的要因や環境要因などの網羅的な相互作用解析は、説明変数の次元数を急速に増加させ、同検討は事実上、不可能であるとされてきた。例えば、50 万の SNP の 2 個ずつの相互作用検討は約 1,249 億通りの組み合わせを生じさせ、遺伝子間の組み合わせまで含めると、次元数は 1 兆を超える。このジレンマの解決のため、我々は世界に先駆けて超高次元変数選択法を創出し、関連するソフトウェアを開発している。解析戦略の第一は、SNP 解析と全ゲノム解析の組み合わせを最適化しながら、連鎖解析と GWAS の両者を併用して座位を推定し、その座位を精緻に解析する。置換（SNV）、挿入・欠失（small InDel）、重複や、さらに 1Kbp 以上のより大きな構造として、配列断片単位での重複・欠失（CNV 等）、挿入・欠失（無秩序）、逆位、転位なども念頭に超高次元変数選択を行って、疾患リスク予測式の構築を行う。

疾患リスク予測式としては、以下のような式が挙げられる。

$$\text{リスク予測式例：} \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = a_1(\text{環境 1}) + a_2(\text{環境 2}) + a_3(\text{環境 3}) + \dots \\ + a_1(\text{児ゲノム情報}) + a_2(\text{母ゲノム情報}) + a_3(\text{父ゲノム情報}) + \dots$$

ゲノム情報は、候補遺伝子変異、SNP など

(4)解析のロードマップ

2018 年度：データクリーニングを進めると共に、診断分類に基づいた病型分類を行い、解析対象トリオ（PE100 組、対照 100 組）を選択する。並行して DNA 抽出とジャポニカアレイ解析を開始する。

2019 年度：前半期までにデータクリーニングを終了し、ジャポニカアレイを継続する

2020 年度：インピュテーション、GWAS を行い、発症予測式の構築を開始する。

2021 年度：GWAS 解析結果、発症予測式の構築結果を取りまとめて情報発信を積極的に行う。

4. 研究成果

三世代コホートから解析対象である症例及び対照の妊婦・夫・児のトリオの選択及び抽出して解析対象のジャポニカアレイを実施した。妊婦・夫・児のトリオ（妊娠高血圧腎症 152 組、対照

280組)のジャボニカアレイ解析を進めた。さらに、トリオ相互作用を考慮したゲノムワイド 関連解析から、病態に關与すると推測されるゲノム変異を見出した。加えて、トリオ家系情報を用いたより複雑なゲノムワイド関連解析を行った。コホート研究により収集された血漿(妊娠高血圧腎症 593例、対照 509例)を用いたメタボローム解析を完了し、調査票情報などを用いた予測式構築および遺伝環境相互作用を紐解く統合解析が進行中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菅原 準一
2. 発表標題 大規模出生三世代コホート 周産期領域の個別化予防・医療へ
3. 学会等名 第54回日本周産期新生児医学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅原 準一
2. 発表標題 遺伝環境相互作用による 妊娠高血圧腎症発症予測
3. 学会等名 第4回日本メディカルAI学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅原 準一
2. 発表標題 出生三世代コホート基盤とDOHaD研究
3. 学会等名 第9回日本DOHaD学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------