

令和 4 年 4 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03894

研究課題名(和文) アドオンゲノムコホートによるアトピー性皮膚炎と自閉スペクトラム症の戦略的病態解明

研究課題名(英文) Strategic approach to identify etiology of atopic dermatitis and autism spectrum disorders using an add-on investigation of genome cohort

研究代表者

栗山 進一 (Shinichi, Kuriyama)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：90361071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎(AD)においては、皮膚科専門医2人が1,170人を観察し、意見が一致したのは1,060人であった。意見が一致したADで有病率を算出すると25.6%で、アンケートに基づく有病率11.0%と比較すると、本来のADの有病率は2.3倍であることを見出した。自閉スペクトラム症(ASD)においては、ゲノムワイド関連解析(GWAS)を行った結果、従来のASDという疾患名でまとめられた潜在的に異質な集団を一塊として扱った解析では、有意な関連は観察されなかった。症状などで患者群をより似通ったクラスターに分け、そのクラスターに基づいたGWASを行ったところ、65個の有意な遺伝子座を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎(AD)においては、アンケート調査に基づくADの有無は、ADの患者数を過少評価していると考えられる。今後はアンケート調査では見逃されてしまうような小児のADの症状も含め精緻に分類する必要がある。

自閉スペクトラム症(ASD)においては、クラスタリングが比較的均一な病因をもつサブグループを適切に特定することができる可能性を示唆している。わたしたちの研究は、データセットが複数の異種のサブグループで構成されている場合、均質な個体の数がはるかに少ないサブグループでさえ、影響が大きく統計学的に有意な遺伝的要因を検出できることを示した。

研究成果の概要(英文)：In atopic dermatitis (AD), two dermatologists observed 1,170 patients, and 1,060 were in agreement. The prevalence of AD with concordant opinions was calculated to be 25.6%, and compared to the prevalence of 11.0% based on the questionnaire, the prevalence of original AD was found to be 2.3 times higher.

In autism spectrum disorder (ASD), genome-wide association analysis (GWAS) showed that no significant associations were observed in analyses that treated the potentially heterogeneous population grouped together under the conventional disease name ASD as a lump. When the patient group was divided into more similar clusters based on symptoms and other factors, and a GWAS based on these clusters was performed, 65 significant loci were identified.

研究分野：分子疫学

キーワード：アドオンコホート 三世代コホート アトピー性皮膚炎 自閉症スペクトラム症 クラスター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎、自閉スペクトラム症などの多因子疾患は、単一の疾患というより症候群的要素の強い疾患概念である。これまでの原因探索研究は同症を単一の疾患とみなし、遺伝要因と環境要因を検討してきた。その結果、例えば自閉スペクトラム症ならこれと関連する候補遺伝子領域は少なくとも1,000箇所を数えながら (Simons Simplex Collection) 遺伝要因の70%以上は不明のままである。

以上のような背景から研究代表者らは、2016年度～2018年度の文部科学研究費補助金により自閉スペクトラム症の詳細かつ精度の高い表現型を用いて特定の薬剤に反応するグループの特徴を明らかにし (Sci Rep.2018;8:14840.) さらにクラスターに分けることで同症の原因遺伝子の一部を解明している (Transl Psychiatry. 2020;10:290.) こうした研究成果に基づき、クラスター化によってヘテロな集団を可能な限りホモな集団として捉えることが必要であることが明らかとなってきた。

2. 研究の目的

このようなこれまでの研究経過に基づき、研究代表者らは今回、研究代表者が責任者となって実施している三世代コホート (Int J Epidemiol. 2020;49:18-19m.) にアドオン (追加) コホートを構築し、そこで得られた詳細かつ精度の高い表現型を用い、得られた情報をデータシェアリングしながら統合解析を行うことで、アトピー性皮膚炎及び自閉スペクトラム症のリスク予測式構築と病態解明を行うものである。詳細かつ精度の高い表現型によって多因子疾患とされる症候群をクラスター化して可能な限りホモジニアスな疾患概念に分割することが重要なポイントの一つである。

3. 研究の方法

【本研究の概要】

本研究においては、主として以下の3つの事業を遂行する。

三世代コホートのアドオンコホートの実施

疾患クラスタリング

クラスタリング結果に基づき、アドオンコホートデータのシェアリング及び統合解析によるアトピー性皮膚炎と自閉スペクトラム症のリスク予測式構築及び病態解明

【2019年度の計画】

・アドオンコホートの実施

アトピー性皮膚炎においては、地域支援仙台センター・仙台子どもけんこうスクエアを訪れる児 (以下同胞と区別し児とする。) を主な対象とする。東北大学大学院医学系研究科皮膚科学分野と協力し、以下の調査を行う。

・皮膚科専門医2人による皮膚及び皮膚症状の観察

頸部、四肢 (主として手掌、肘窩、膝窩) の観察を行う。

・調査票調査

生活環境・皮膚疾患に関するより詳細な質問、改訂版 ISSAC、改訂版 U.K. criteria、12-Item Pruritus Severity Scale、The Sensitive Scale-10。

・皮膚の写真撮影

現在最も痒い部位について聴取後、全例に対して頸部、四肢 (主として手掌、肘窩) の写真を撮影する。最も痒い部位が膝窩または背部の場合、その部位を追加する。

皮膚科専門医については東北大学大学院医学系研究科皮膚科学分野、仙台市立病院皮膚科、仙台赤十字病院皮膚科などに所属する総計29人の皮膚科専門医の協力を得られることとなった。これを東北大学アトピー性皮膚炎研究ネットワーク (Tohoku University Atopic Dermatitis Research Network: TAREN) と称している。

三世代コホート調査で保管されるデータには性別、年齢等の基本情報、家屋の種類等、アレルギー疾患の既往、日常生活におけるアレルギー疾患が疑われる症状の有無、アレルギー疾患の要因の一つであるメンタルヘルスに関する質問事項 (Strength and Difficulties Questionnaire: SDQ、K6、Center for Epidemiologic Studies Depression Scale: CES-D) が含まれている。また、血液検査ではアレルギー疾患の指標となる真菌・ダニ・花粉等の抗原特異的 IgE 抗体値が含まれている。

三世代コホート調査で収集する (あるいは、保管している) 試料及び情報に、本研究で新たに得られるデータを補完することによって、アトピー性皮膚炎の病態解明をより詳細に実施することが可能になる。

自閉スペクトラム症においては、アドオンコホートとして ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised) を実施する。ADI-R は半構造化面接により、保護者からの聞き取りを行うもので、言語・その他のスキルの獲得と喪失など5領域、93項目からなる。ADOS2 (Autism Diagnostic Observation Schedule 2) は患者を観察して各種項目に評点をつけていくものであ

る。ADI-RおよびADOS2を使用しての評価は、自閉症診断のゴールドスタンダードとされている。評価者は結果を研究に用いるのであれば研究ライセンスが必要であり、研究代表者はADI-Rの研究用国際ライセンスを取得済みである。研究代表者及び臨床心理士などの補助者が土曜日に検査を実施する。

【2020年度の計画】

- ・アドオンコホートの実施
三世代コホートアドオンコホートを継続する。
- ・クラスター化

人工知能解析技術の一つであるクラスタリングに関する機械学習アルゴリズムを用い、表現型を特徴量としてクラスタリングを実施する。アトピー性皮膚炎においては、皮膚科専門医2人による診察から得られる各種データとオミックス情報を用いてクラスタリングを行う。自閉スペクトラム症においては、表現型の同定の基本はADI-R等の国際的なゴールドスタンダードとされている指標を用いて表現型を多角的に捉えクラスタリングを行う。

【2021年度の計画】

- ・データシェアリング

本研究により得られたデータは速やかにわが国の研究者に使っていただけるよう、各研究機関に個別に訪問するなどして積極的な情報発信を行い、ユーザー視点に立って、利活用していただくために必要な取組を行う。本研究で得られるアトピー性皮膚炎、自閉スペクトラム症に関する極めて重要な情報は、研究者に渴望されているものである。

- ・リスク予測式構築と病態解明

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

左辺ではクラスター化などによってヘテロな疾患の集団を可能な限りホモな集団として捉える。右辺の環境因子では、胎内からの環境因子を変数に含むなど必要かつ十分な変数の選択を行う。さらに右辺の遺伝因子では、家系情報やスパースモデルリングなどで高次元の変数を的確に絞り込む。

- ・他のコホートによる検証

前向きコホートとしてJPHCコホート、J-MICCコホート、久山町研究、ながはまコホートなどのわが国を代表するコホートと連携し、さらに国外においてはUK Biobank、Lifelines、ALSPAC、Generation Rといった世界を代表するバイオバンクのデータを用いて本研究結果の検証を行う。

4. 研究成果

図1. お肌チェックの調査内容



アトピー性皮膚炎においては、2021年3月末までアドオン調査としてお肌チェックを実施した。調査に参加したのは1,217人で、このうち皮膚科専門医2人による観察が実施されたのは1,170人であった。この1,217人のうち皮膚科医の意見が一致したのは

1,060人(一致率91%、kappa=0.77)であった(図1、図2)。お肌チェックにおける皮膚科専門医2人の観察によるアトピー性皮膚炎の有病率は25.6%(271/1,060人)で、アンケート調査に基づく有病率は11.0%(117/1,060人)であった。お肌チェックに基づくアトピー性皮膚炎の有病率はアンケート調査よりも14.5%(95%信頼区間:1.2-17.9%, p<0.001)高

図2. アトピー性皮膚炎診断の一致率

		皮膚科医 2		
		AD	Not AD	合計
皮膚科医 1	AD	394	67	461
	Not AD	81	1097	1178
	合計	475	1164	1639

お肌チェックにおける皮膚科医間の判定の一致 (inter-observer agreement between Dermatologist)
一致率: (394+1097)/1639=91.0%
kappa =0.78 p<0.0001

		お肌チェックでの判定 (皮膚科医2名体制)		
		AD	Not AD	合計
他院での診断	AD	105	66	171
	Not AD	289	1031	1320
	合計	394	1097	1491

お肌チェックでのアトピー性皮膚炎 (AD) の判定と他院でのAD診断の一致
一致率: (105+1031)/1491=81.1%
kappa =0.25 p<0.0001
感度 = 26.6% (105/394)
特異度 = 94.0% (1031/1097)

お肌チェックでのAD有病率 = 26.4% (394/1491)
他院でのAD診断による有病率 = 11.5% (171/1491)

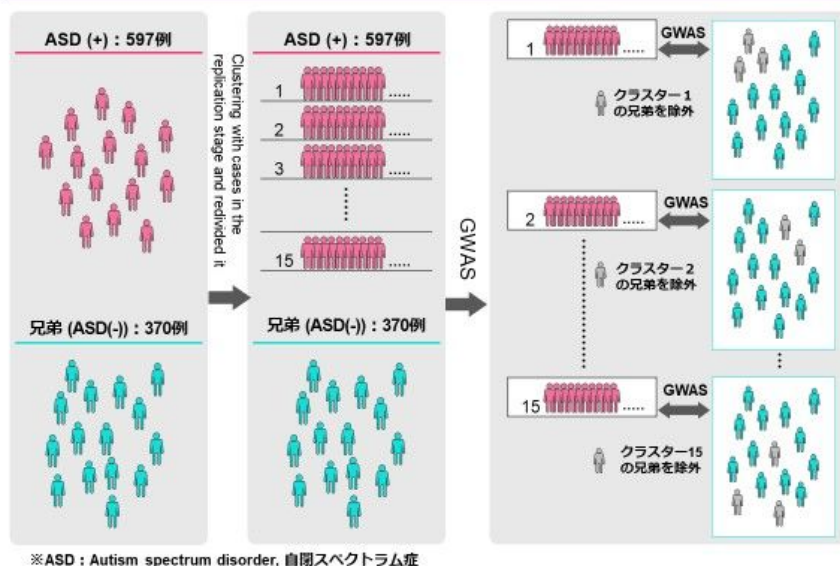
お肌チェックによるアトピー性皮膚炎の有病率は他院での診断による有病率の2.3倍

く、お肌チェックに対してアンケート調査のアトピー性皮膚炎の検出感度は25.8%、特異度は94.0%であった。お肌チェックでのアトピー性皮膚炎の有病率はアンケート調査での有病率の約2倍以上高かったことからアンケート調査に基

づくアトピー性皮膚炎の有無は、アトピー性皮膚炎の患者数を過少評価していると考えられる。今後はアンケート調査では見逃されてしまうような小児のアトピー性皮膚炎の症状も含め精緻に分類していく必要がある。

自閉スペクトラム症においては、予備研究として、597例の自閉スペクトラム症症例と370例の対照のデータセットを使用して、従来のGWASを実施した。2番目のステップでは、表

図3. 研究の方法 (シエーマ)

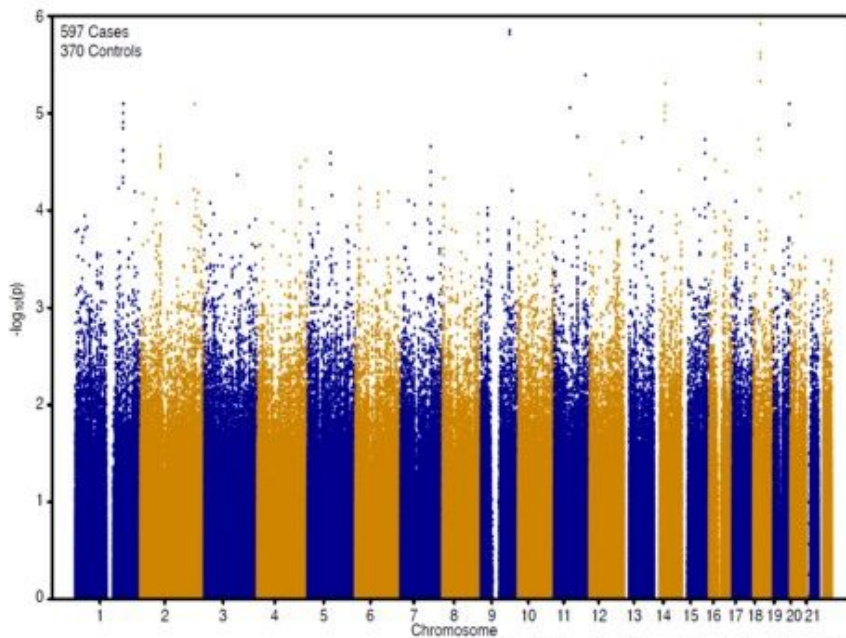


現型を用いたクラスタリングの結果に基づいて症例を分割し、各サブグループとコントロールでGWASを実施した(図3)。

従来の自閉スペクトラム症という疾患名でまとめられた潜在的に異質な集団を一塊として扱った「患者群全員」と対照群を用いたGWAS手法

で行われた予備解析では、有意な関連は観察されなかった(図4)。2番目のクラスターに基づいたGWASでは、65個の有意な遺伝子座を特定した(図5)。これらの65の遺伝子座のうち、SRRM4 遺伝子内に位置する rs11064685 は、再現性を検証する解析でも症例と対照で有意に異なる分布を示し、自閉スペクトラム症の原因のひとつである可能性が示唆された。

図4. 患者群全員と対照群とで実施されたGWASのマンハッタンプロット
 ～有意な関連みられず～

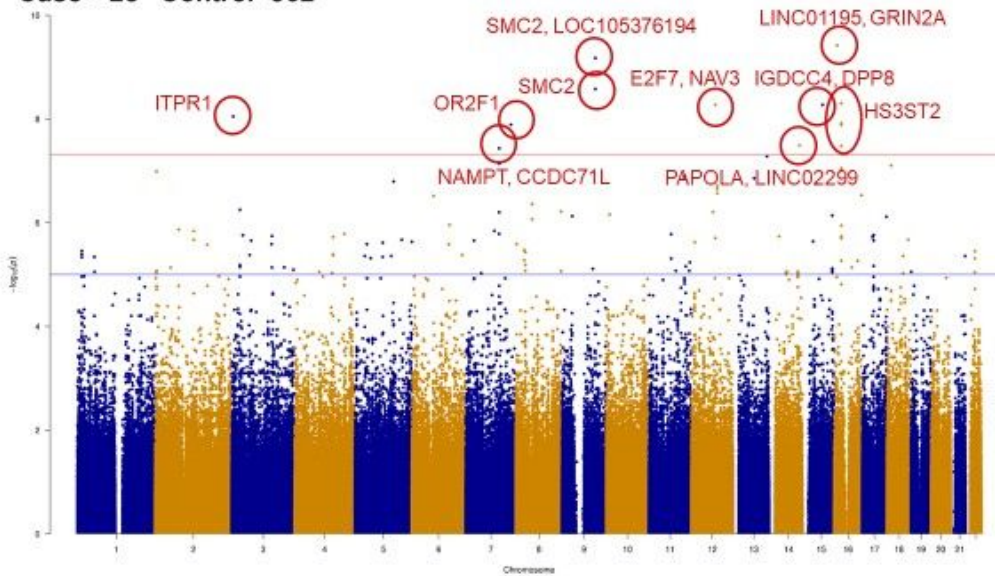


Akira Narita, et al. *Translational Psychiatry*. 2020;10:290.

図5. クラスターごとの患者群と対照群とで実施されたGWASのマンハッタンプロット

Cluster 5

Case=28 Control=362



Akira Narita, et al. *Translational Psychiatry*. 2020;10:290.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 成田暁、永井雅人、水野聖士、荻島創一、田宮元、植木優夫、櫻井利恵子、牧野悟士、小原拓、石黒真美、山中千鶴、松原博子、國吉保孝、村上慶子、上野史彦、野田あおい、小林朋子、小林美佳、臼崎琢磨、大瀬戸恒志、宝澤篤、菊谷昌浩、目時弘仁、呉繁夫、栗山進一	4. 巻 10
2. 論文標題 Clustering by phenotype and genome-wide association study in autism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41398-020-00951-x	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 Chikana Kawaguchi, Keiko Murakami, Mami Ishikuro, Fumihiko Ueno, Aoi Noda, Tomomi Onuma, Fumiko Matsuzaki, Hirohito Metoki, Shinichi Kuriyama, Taku Obara.	4. 巻 22
2. 論文標題 Cumulative exposure to maternal psychological distress in the prenatal and postnatal periods and atopic dermatitis in children: findings from the TMM BirThree Cohort Study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Pregnancy Childbirth	6. 最初と最後の頁 242
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12884-022-04556-8.	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上野史彦、小澤麻紀、日高高德、小原拓、石黒真美、村上慶子、野田あおい、大沼ともみ、松崎美実子、栗山進一、相場節也
2. 発表標題 東日本大震災後の被災地における小児のアトピー性皮膚炎の有病率：三世代コホート調査
3. 学会等名 第31回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 栗山進一	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東北大学出版会	5. 総ページ数 216
3. 書名 分子疫学入門：精密医療の基礎知識	

〔産業財産権〕

〔その他〕

自閉スペクトラム症の表現型クラスタリングとゲノムワイド関連解析の研究成果については、共同通信をはじめ多くのメディアを通して広く報道された。

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
研究 分 担 者	菅原 詩緒理 (Sugawara Shiori) (60642204)	仙台白百合女子大学・人間学部・准教授 (31309)	
研究 分 担 者	相場 節也 (Aiba Setsuya) (80159269)	東北大学・医学系研究科・名誉教授 (11301)	

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