

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08621

研究課題名(和文)慢性好中球性気道炎症のエンドタイプ解明に向けた基盤研究

研究課題名(英文)Fundamental research to elucidate endotypes of chronic neutrophilic airway inflammation

研究代表者

増子 裕典(Masuko, Hironori)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：50758943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ときに非好酸球性喘息やCOPDとの鑑別が困難な遺伝性疾患：原発性線毛機能不全症(PCD)に着目することで、喘息やCOPDの分子病態、特に好中球性炎症をドライブする新たなエンドタイプの発見を目的とした。

日本人成人集団を対象に、5つのPCD関連遺伝子から分子的帰結を引き起こす12SNPを選択し遺伝的リスクスコア(GRS)を計算した。クラスター解析から、GRS値が高い又は低いクラスターは、喘息発症が遅く、女性が多く、肺機能が保たれ、2型免疫の特徴が少ないという似た特徴を有していた。DNAH5の異常発現に関連する遺伝子型は、粘膜線毛運動クリアランスの障害を介して成人喘息の病態の根底にある可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息は遺伝的要因と環境的要因が相互に影響して病態を形成する多因子疾患であり、均一な病態からなる単一の疾患ではなく多様な分子病態から構成される症候群と考えられている。好酸球性気道炎症を主とした患者群がいる一方で、好中球性気道炎症が病態の中心を占める喘息フェノタイプも存在する。

本研究の結果から、典型的な臨床像をもたらすほどの線毛機能低下を伴わないが、わずかな機能異常をもたらすような遺伝子多型が、他の遺伝因子や環境因子との相互作用によって喘息フェノタイプ(特に非好酸球性喘息フェノタイプ)や難治性病態に影響を与えている可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：By focusing on a genetic disorder that is sometimes difficult to distinguish from non-eosinophilic asthma and COPD: primary fibrillary dysfunction (PCD), we aimed to discover new endotypes that drive the molecular pathogenesis of asthma and COPD, especially neutrophilic inflammation.

Three independent Japanese adult cohorts were included. 12 SNPs causing molecular consequences were selected from five PCD-related genes and genetic risk scores (GRS) were calculated. A two-step cluster analysis using GRS, forced expiratory volume in one second, and age at onset of asthma. The results showed that clusters with high or low GRS values had similar characteristics: late onset of asthma, a higher proportion of women, preserved lung function, and fewer features of type 2 immunity as determined by IgE reactivity and blood eosinophil count. Genotypes associated with abnormal expression of DNAH5 may underlie the pathogenesis of adult asthma, possibly through impaired mucociliary clearance.

研究分野：喘息・COPDの疾患感受性遺伝子

キーワード：喘息 フェノタイプ エンドタイプ 好中球性気道炎症 原発性線毛機能不全症

1. 研究開始当初の背景

喘息や COPD において One-size-fits-all の従来型医療から脱却し、遺伝子情報、生活環境やライフスタイルにおける個々人の違いを考慮して疾病予防や治療を行う Precision Medicine への進展が求められている。一方、喘息や COPD はいずれも均一な病態からなる単一の疾患ではなく、多様な分子病態から構成される症候群であり、好中球性気道炎症は喘息と COPD とに共通する重要な基本病態の一つである。

疾患感受性遺伝子の同定は、疾患と遺伝子または遺伝子パスウェイとの因果関係から疾患ドライバーとしてのエンドタイプの解明につながる。アレルギー性好酸球性喘息 (Type-2 asthma) の根幹に存在するエンドタイプとして、アレルゲン感作のみならず、ウイルスに対する易感染性、肺の成長障害、気道や皮膚のバリア障害などの複数のエンドタイプが重要であることをこれまで報告してきた。一方で中高年発症喘息、COPD さらにはびまん性汎細気管支炎といった、慢性の好中球性気道炎症を特徴とする複数の疾患に共通する遺伝因子として HCG22 を同定し、特定のエンドタイプが病名を超えた共通病態の形成に関与している可能性を示した。非好酸球性喘息 (Non type-2 asthma) における好中球性気道炎症の背景には細菌のコロナイゼーション、加齢、喫煙、肥満、胃食道逆流、さらにはそれらに伴うインフラマソームの過剰な活性化など、種々の病態の関与が示唆されているが、分子レベルでの理解は Type-2 喘息と比べ未だ十分ではない。

2. 研究の目的

本研究は、慢性の好中球性気道炎症を呈し、ときに非好酸球性喘息や COPD との鑑別が困難な臨床症状を呈する遺伝性疾患:原発性線毛機能不全症 (PCD) に着目することで、喘息や COPD の分子病態の多様性を理解し、特に好中球性炎症をドライブする新たなエンドタイプの発見を試みる。これらの遺伝性疾患に関連する遺伝因子の喘息や COPD の特定のフェノタイプへの影響を明らかにすることで、「喘息」や「COPD」といった病名で疾患を理解し予防・治療することの限界を明らかにし、個々のエンドタイプに基づいた精密医療に繋げることを目的とする。

3. 研究の方法

3つの独立した日本人成人集団を対象とした。筑波コホート1は、健常者565人と喘息患者537人、筑波コホート2は、965人の健常者と242人の喘息患者が含まれていた。3つ目のコホートである北海道コホートは、健常者673人と喘息患者446人であった。

まず、過去の文献で報告されている29のPCD関連遺伝子を抽出した。ClinVarデータベース (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) を利用して、29のPCD関連遺伝子において分子的な影響を引き起こすことが報告されているSNPを検索し、日本人集団でマイナーアレル頻度(MAF) < 0.1の希少なSNPを除外し、最終的に5遺伝子から12SNPを解析した。これらの多型を用いてPCD関連遺伝子の累積的影響の指標としてGenetic risk score (PCD-GRS) を算出した。PCD関連遺伝子が影響する喘息の表現型を明らかにするために、3つの変数(PCD-GRS、対標準1秒量、喘息発症年齢)を用いて2段階クラスター分析を行った。PCD-GRSが高い喘息クラスターと低い喘息クラスターに対する各遺伝子またはSNPの遺伝的影響を明らかにするために、つくばコホート1および2でGWASを実施し、その後メタ解析を行った。

4. 研究成果

PCD-GRS は正規分布を示した (図 1)。DNAH5 は PCD-GRS 高値群と低値群の GWAS メタ解析で最も有意な関連を示した (図 2)。PCD-GRS 値が平均的なクラスターと比較して、PCD-GRS 値が高いクラスターと低いクラスターは、喘息発症が遅い、女性が多い、肺機能が保たれている、IgE 反応性と血中好酸球数で決定する 2 型免疫の特徴が少ない、という全体的に似た特徴を有していた (表 1)。肺における DNAH5 の発現量的形質座 (eQTL) を表す SNP である rs1530496 の対立遺伝子頻度は、PCD-GRS 高値と PCD-GRS 低値の喘息クラスター間で最大の統計的有意差を示した ($p = 1.4 \times 10^{-15}$ 、表 2)。DNAH5 の異常発現に関連する遺伝子型は、おそらく粘膜線毛運動クリアランスの障害を介して、成人発症喘息の異なる表現型の病態の根底にある可能性がある。

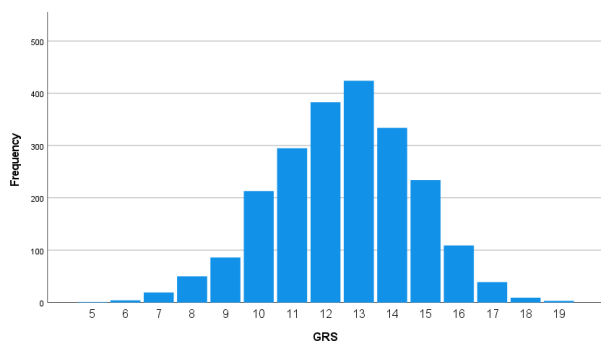


図 1 原発性線毛機能不全症関連遺伝子から算出した遺伝的リスクスコアの分布

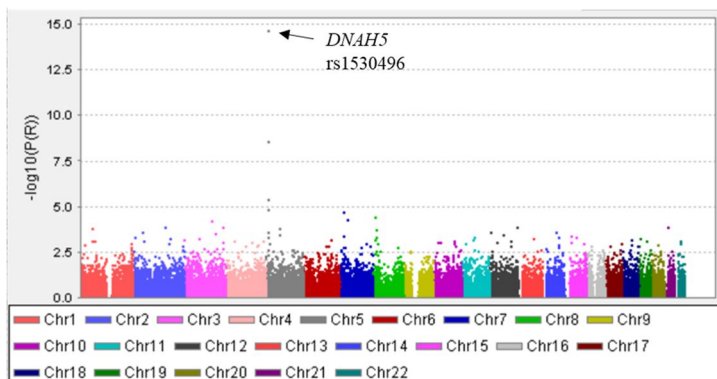


図 2 PCD-GRS 高値群と低値群に対するゲノムワイド解析結果のマンハッタンプロット

	Group1: PCD-GRS-Hi asthma (Combined group of T1-A, T2-A, -B, H-A)	Group2: PCD-GRS-Lo asthma (Combined group of T1-D, T2-D, -E, H-D, -E)	Group3: PCD-GRS-average asthma (Combined group of the other clusters)	P value †
N	320	395	443	
PCD-GRS - mean (SD)	14.37 (1.28)	11.02 (1.53)	12.47 (1.95)	<0.001
Female - n (%)	197 (61.6)	250 (63.3)	219 (49.4)	<0.001
Adjusted residual	1.7	2.9	-4.4	
Age - years, median (range)	61.5 (21-84)	61 (19-89)	49 (16-90)	<0.001
Age of onset - years, median (range)	51 (19-82)	51 (1-87)	20 (0-82)	<0.001
FEV ₁ %predicted - mean (SD)	93.23 (18.42)	91.69 (19.05)	68.11 (20.89)	<0.001
FEV ₁ /FVC - mean (SD)	74.27 (10.72)	73.30 (10.30)	65.61 (14.28)	<0.001
Smoking status - n (%)				
Never	202 (63.9)	217 (55.2)	254 (57.7)	0.10
Ex-	80 (25.3)	129 (32.8)	124 (28.2)	
Current	34 (10.8)	47 (12)	62 (14.1)	
Atopy* - n (%)	174 (60.4)	204 (55)	313 (75.6)	<0.001
Adjusted residual	-1.7	-4.7	6.1	
Total serum IgE (log) - mean (SD)	2.20 (0.61)	2.15 (0.67)	2.36 (0.64)	<0.001
Eosinophilic asthma † - n (%)	146 (54.1)	208 (58.8)	244 (67)	0.0030
Adjusted residual	-2.5	-0.9	3.2	

表 1 PCD-GRS 高値群と低値群、平均群の患者特性

<u>Chr</u>	<u>BP</u>	<u>dbSNP</u>	Minor allele	MAF	Meta-P value	Meta-OR	<u>eQTL</u> (tissue)
5	13931340	rs1530496	G	0.31	1.4×10^{-15}	4.71	<i>DNAH5</i> (lung)
5	13934349	rs12653156	C	0.40	2.4×10^{-15}	4.33	<i>DNAH5</i> (lung)
5	13933125	rs983649	C	0.29	1.7×10^{-13}	4.19	<i>DNAH5</i>
5	13954951	rs173090	T	0.27	6.3×10^{-12}	3.59	<i>DNAH5</i> (lung)
5	13939830	rs10070196	C	0.23	2.6×10^{-9}	3.88	<i>DNAH5</i> (lung)
5	13717471	rs2277046	T	0.49	7.0×10^{-9}	2.48	-

Asthma clusters with high PCD-GRS were used as the reference. SNPs with meta-P value $<10^{-8}$ are shown in the table. *PCD-GRS*, primary ciliary dyskinesia-genetic risk score; *Chr*, chromosome; *BP*, base pair position; *SNP*, single nucleotide polymorphism; *MAF*, minor allele frequency; *OR*, odds ratio; *eQTL*, expression Quantitative Trait Locus.

表 2 DNAH5 ± 100kb 領域の SNP と PCD-GRS 高値群と低値群とのメタ解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 重政理恵, 増子裕典, 金澤潤, 北沢晴奈, 兵頭健太郎, 谷田貝洋平, 飯島弘晃, 内藤隆志, 坂本透, 広田朝光, 玉利真由美, 檜澤伸之
2. 発表標題 原発性線毛機能不全症に関連する遺伝子群が喘息に与える影響について
3. 学会等名 第68回 日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重政理恵
2. 発表標題 PCD原因遺伝子が影響する喘息のフェノタイプの検索
3. 学会等名 第30回Pneumo Forum
4. 発表年 2021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
---------	---------