

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16600

研究課題名（和文）メンデルランダム化解析を用いた多発性硬化症のリスク同定

研究課題名（英文）The risk estimation of multiple sclerosis using Mendelian randomization

研究代表者

小河 浩太郎（Ogawa, Kotaro）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80870500

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：日本人多発性硬化症605例、コントロール50,484例を対象に8,855,957 variantsについてゲノムワイド関連解析を実施した。最も強い関連を持つことが報告されているMHC領域にゲノムワイド水準を満たす関連領域を同定した。欧米人多発性硬化症のゲノムワイド関連解析結果とあわせてメタ解析を実施したが新規の関連領域は同定されなかった。日本人視神経脊髄炎225例のSNPタイピングデータを作成し、多発性硬化症と同じコントロール群を用いてゲノムワイド関連解析を実施した。既報のMHC領域に加えて、6番染色体に存在するCCR6にゲノムワイド水準を満たす新規関連領域を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人多発性硬化症、視神経脊髄炎における過去最大のゲノムワイド関連解析を実施した。多発性硬化症では欧米人同様MHC領域が最も強い関連を有し、人種を超えて同領域が疾患の発症に重要であることが示された。視神経脊髄炎については新規の疾患感受性遺伝子であるCCR6を同定した。CCR6はIL17産生T細胞に発現することが知られており、IL17産生T細胞と視神経脊髄炎発症との関連が示唆された。今回はコントロールサンプル重複の問題があり、既存のメンデルランダム化解析手法では形質と疾患の間で正確な因果関係の推定が困難であった。サンプル重複の補正が可能なメンデルランダム化解析手法の開発の必要性が示された。

研究成果の概要（英文）：We studied a total of 605 patients with multiple sclerosis of Japanese ancestry and 50,484 controls. The genetic variant in the major-histocompatibility-complex (MHC) region was associated with the disease with a genome-wide significance, which has been reported in Europeans. We then conducted a trans-ethnic genome-wide association study using the results of IMSSGC GWAS summary statistics. No novel associations were found in this study. We conducted a GWAS study including 220 patients with neuromyelitis optica spectrum disorder and 50,484 controls. In addition to the MHC region, we identified a novel association region in CCR6 on chromosome 6.

研究分野：神経内科学

キーワード：ゲノムワイド関連解析 メンデルランダム化解析

## 1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症は成人における中枢神経の脱髄疾患の中で最も頻度が高く、本邦における患者数は約 1.5 万人である。欧米人に比して有病率は 1/10 程度であり遺伝因子、環境因子の関与が指摘されている。今日では欧米人で 10 万人規模の大規模なゲノムワイド関連解析 (GWAS) が実施されており MHC 領域を中心とした 200 を超える関連領域が同定されている。発症リスク要因としては、以前より喫煙、EB ウイルス感染、ビタミン D 低値、肥満の関連が指摘されてきた。しかしながらこうした報告の多くは後ろ向きの観察研究によるものであり交絡因子の影響を排除できていなかった。また、一般には知られていない交絡因子の存在のため、ランダム化比較試験によっても確実な疾患との因果関係を示すことができないことが問題となっていた。2015 年頃より、大規模な GWAS データから得られた SNP 情報を操作変数として利用することで、因果関係の推定を可能とするメンデルランダム化解析が行われるようになった。本手法により、これまで疾患との関連は示されていたが、因果関係がはっきりしなかった形質と疾患での関連解析が広く行われている。欧米人においては肥満とビタミン D についてそれぞれ多発性硬化症とのメンデルランダム化解析が行われ、肥満、ビタミン D 低値が独立した疾患リスク因子となっていることが報告された。肥満の予防やビタミン D の補充が疾患予防に寄与する可能性が示唆され有益な結果が得られている。しかしながら本邦においては大規模なゲノムワイド関連解析が未実施であり、また多発性硬化症におけるメンデルランダム化解析を用いた研究は未実施である。

## 2. 研究の目的

日本人集団における多発性硬化症の遺伝的背景を大規模な GWAS を実施することで明らかにすることが第一の目的である。次に、日本人における約 60 形質の GWAS データと合わせてメンデルランダム化解析を実施することで、各形質が罹患に与える影響を網羅的に同定することが第二の目的である。

## 3. 研究の方法

### 1) ゲノム検体の収集

多発性硬化症患者、多発性硬化症との鑑別が重要となる中枢神経の炎症を引き起こす疾患である視神経脊髄炎 (NMOSD) 患者の DNA サンプルの収集を行った。また、Japan MS/NMOSD Biobank の協力を得て、抽出済みの DNA サンプルを供与いただいた。最終的に日本人多発性硬化症患者 605 名、視神経脊髄炎患者 225 名のサンプルを解析に使用した。

### 2) GWAS の実施

1) で収集した DNA サンプルをイルミナ社の Asian Screening Array を用いて SNP タイピングを実施した。コントロールとしては既に SNP タイピング済みの日本人のデータ (50,484 検体) を用いた。SNP タイピングデータの QC 後、1000 人ゲノムプロジェクト (1KGp3v5) 及びバイオバンクジャパン WGS リファレンスパネル (計 3,541 名の全ゲノムシークエンスデータ) を参照配列として、SHAPEIT4、Minimac4 を用いて SNP imputation を実施した。SNP imputation 後上位 4PC と年齢、性別情報を共変量として、多発性硬化症群とコントロール群での Case Control 解析を実施した。Case Control 比による影響を考慮した SAIGE でも同様の解析を実施した。視神経脊髄炎においても Case Control 解析を実施した。

### 3) メンデルランダム化解析

2018 年に理化学研究所から発表された日本人 17 万人の形質に関する GWAS 論文ならびに、同年に発表された肥満の GWAS 論文において各形質にゲノムワイド水準を満たす関連がみら

れる SNP の多発性硬化症 GWAS における統計量を算出し、各形質と多発性硬化症発症の因果関係の判定をメンデルランダム化解析で実施した。

#### 4 . 研究成果

多発性硬化症における日本人最大規模の GWAS( Case605 名、Control150,484 名 )を実施した。解析の結果欧米人同様 MHC 領域に最も強い関連を有する領域を認めた。視神経脊髄炎においても GWAS ( Case225 名、Control150,484 名 )を実施し、多発性硬化症と同様 MHC 領域に最も強い関連を認めた。6 番染色体の *CCR6* にゲノムワイド水準を満たす関連領域を同定した。いずれの GWAS も日本人では過去最大の GWAS であり、視神経脊髄炎では欧米人を含めて、過去最大規模で実施したことで新規の関連領域の同定に至った。メンデルランダム化解析については今回使用したコントロールサンプルに 2018 年に報告された形質 GWAS とのサンプルの重複が存在することが判明し、一般的なメンデルランダム化解析手法での因果関係の推定は困難であった。サンプル重複を考慮したメンデルランダム化解析手法である MRlap を用いて、欧米人で強い因果関係が報告されている肥満と多発性硬化症についての解析を実施したが、有意な関連は示されなかった。欧米人における GWAS に比して疾患群のサンプルサイズが少ないという問題点があり、因果推定にはさらなる疾患コホートの拡大が必要であると考えられた。

図 1. 多発性硬化症の GWAS Case 605 名、Control 50,484 名

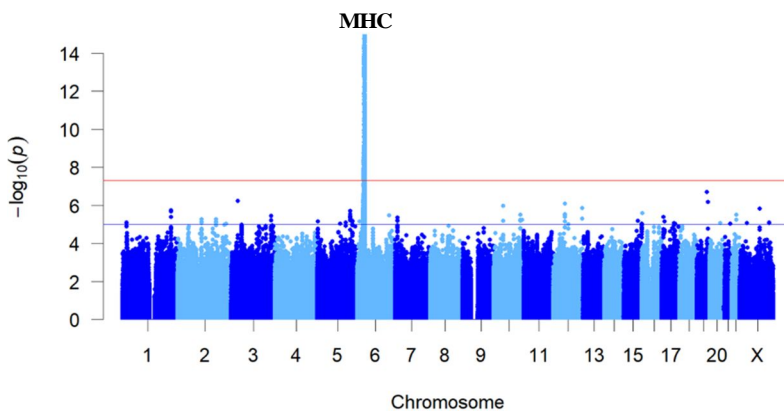
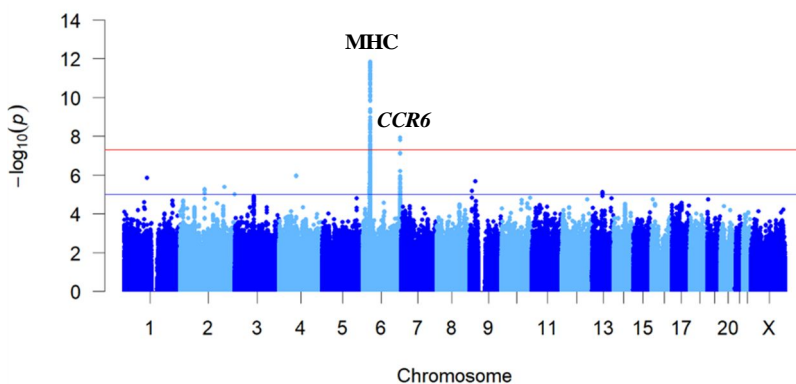


図 2. 視神経脊髄炎の GWAS Case 225 名、Control 50,484 名



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------