

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790338

研究課題名(和文)多民族のサルコイドーシス患者を対象とした遺伝要因の解明

研究課題名(英文)Genetic analysis of sarcoidosis in a multi-ethnic cohort

研究代表者

目黒 明 (Meguro, Akira)

横浜市立大学・医学(系)研究科(研究院)・特任講師

研究者番号：60508802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：サルコイドーシスは全身の諸臓器に炎症を繰り返す原因不明の難治性炎症性疾患である。本研究では、サルコイドーシスの疾患感受性遺伝子を同定するため、日本人集団およびチェコ人集団を用いてサルコイドーシスのゲノムワイド関連解析(genome-wide association study: GWAS)を実行した。その結果、ゲノムワイドな相関( $P < 5E-8$ )を示す1個の遺伝子領域を同定した。

研究成果の概要(英文)：Sarcoidosis is a chronic multi-systemic inflammatory disorder. In this study, to identify susceptibility genes of sarcoidosis, we performed a genome-wide association study of sarcoidosis using Japanese and Czech populations. This study identified a genetic region showing a genome-wide significance ( $P < 5E-8$ ).

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：サルコイドーシス 遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

(1) サルコイドーシスは全身の諸臓器に炎症を繰り返す原因不明の難治性炎症性疾患であり、長期間にわたり再発と寛解を繰り返すため、本病により重度な視力障害を来す患者は多く、最悪の場合、失明に至ることもある難病である。また、欧米と比較して心臓病変の頻度は高値を示し、心臓病変を主因とする死亡の割合が高い。このような疾患の予防、治療に当たっては、疾患の早期発見が極めて重要であり、疾患の予防および治療に先立った疾患の発症要因の十分な解明が必要とされる。

(2) サルコイドーシスは遺伝要因(疾患感受性遺伝子)として、特定の HLA-DRB1 アリルと相関することが知られている。一方、HLA 領域外では、サルコイドーシスの疾患感受性遺伝子は未だ明確に決定されておらず、疾患の予防および適切な治療は遅々として進展していない。したがって、サルコイドーシスの疾患感受性遺伝子を網羅的に同定し、サルコイドーシスの迅速な遺伝子診断法を確立することは、患者本人にとっても私たち医療従事者にとっても大変意義のあることである。

### 2. 研究の目的

(1) 私達のグループは、長年にわたり、国内外の多くの医師や研究者とサルコイドーシスの病態解明の共同研究を続けている。私達は、すでに日本人集団(サルコイドーシス患者 700 検体、健常者 886 検体)を対象とした Illumina 社の HumanOmniExpress(727,413 個の SNPs (single nucleotide polymorphisms: 一塩基多型))によるゲノムワイドな相関解析(genome-wide association study: GWAS)を完了しており、サルコイドーシスの発症リスクと有意に相関を示す SNP を網羅的に見出している。

(2) したがって、本研究では新たな日本人集団および海外人種集団を対象に、GWAS で得られた結果の再現性の検討(replication study)を行い、人種を超えてサルコイドーシスと真に相関する疾患感受性遺伝子を特定する。

### 3. 研究の方法

(1) 前述の日本人集団を対象としたサルコイドーシスの GWAS により、HLA 領域外において、サルコイドーシスと有意な相関を示す約 3,000 領域を見出している。

(2) 本研究では、これら約 3,000 領域を対象に、新たな日本人集団(サルコイドーシス患者 931 検体、健常者 1,042 検体)およびチェコ人集団(サルコイドーシス患者 271 検体、健常者 264 検体)を用いて GWAS で得られた結果の再現性の検討を行い、人種を超えてサ

ルコイドーシスと真に相関を示す疾患感受性遺伝子を特定する。再現性の検討における SNP のジェノタイピング(遺伝子型判定)は、Illumina GoldenGate genotyping Assay および TaqMan Genotyping Assay により行い、患者・健常者間でアリル頻度差を示す SNP の検索(相関解析)を実行する。

(3) 特定した疾患感受性遺伝子を対象に、疾患感受性 SNP に起因する遺伝子発現量の変動を評価する。さらに、疾患感受性 SNP に伴う発現タンパク質の立体構造および分子動力的変化を評価するとともに、他のタンパク分子との相互作用の変動を検討する。

### 4. 研究成果

(1) 日本人集団を対象としたサルコイドーシスの GWAS において見出された HLA 領域外に位置する約 3,000 個の疾患感受性候補領域を対象に相関解析を実行した結果、人種を超えて有意な相関を示す 6 個の遺伝子領域を特定した。

(2) さらに、すべての集団(GWAS の日本人集団、replication study の日本人・チェコ人集団)を総合的に検討するメタ解析を行った結果、1 個の遺伝子領域において、ゲノムワイドな相関(genome-wide significance:  $P < 5 \times 10^{-8}$ ) が認められた。

(3) 特定した遺伝子を対象に、遺伝子発現解析および発現タンパク質立体構造解析を行ったところ、疾患感受性 SNPs に起因して遺伝子の機能異常および遺伝子発現量の変動が生じる可能性が示唆された。

(4) 本研究で同定された遺伝情報は、サルコイドーシスの発症メカニズムおよび病態の解明に大きく貢献すると考えられる。さらに、同定された遺伝情報は、サルコイドーシス感受性遺伝子(分子)の機能を抑制する分子標的薬の開発につながり、その臨床的意義は極めて高いと言える。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 23 件)

Nakasato H, Uemoto R, Isozaki M, Meguro A, Kawagoe T, Mizuki N. Trabeculectomy ab interno with internal limiting membrane forceps for open-angle glaucoma. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2014;252(6):977-982. (査読有)

DOI: 10.1007/s00417-014-2616-4.

Nakasato H, Uemoto R, Meguro A, Kawagoe T, Hatano H, Mizuki N. Treatment of symptomatic inferior

conjunctivochalasis by ligation. *Acta Ophthalmol* 2014 Feb 13. [Epub ahead of print] ( 査読有 )  
DOI: 10.1111/aos.12349.

Yoshida M, Meguro A, Okada E, Nomura N, Mizuki N. Association study of fibroblast growth factor 10 (FGF10) polymorphisms with susceptibility to extreme myopia in a Japanese population. *Mol Vis* 2013;19:2321-2329. ( 査読有 )  
<http://www.molvis.org/molvis/v19/2321/mv-v19-2321.pdf>

Yoshida M, Meguro A, Yoshino A, Nomura N, Okada E, Mizuki N. Association study of IGF1 polymorphisms with susceptibility to high myopia in a Japanese population. *Clin Ophthalmol* 2013;7:2057-2062. ( 査読有 )  
DOI: 10.2147/OPHT.S52726.

Meguro A ( 他 107 名、77 番目 ) Nine loci for ocular axial length identified through genome-wide association studies, including shared loci with refractive error. *Am J Hum Genet* 2013;93(2):264-277. ( 査読有 )  
DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.06.016.

Kanemaki N, Tchandre KT, Imayasu M, Kawarai S, Sakaguchi M, Yoshino A, Itoh N, Meguro A, Mizuki N. Dogs and Humans Share a Common Susceptibility Gene SRBD1 for Glaucoma Risk. *PLoS One* 2013;8(9):e74372. ( 査読有 )  
DOI: 10.1371/journal.pone.0074372.

Meguro A ( 他 29 名、2 番目 ) Association study of genetic variants on chromosome 7q31 with susceptibility to normal tension glaucoma in a Japanese population. *Eye (Lond)* 2013;27(8):979-983. ( 査読有 )  
DOI: 10.1038/eye.2013.123.

Meguro A ( 他 25 名、12 番目 ) Targeted resequencing implicates the familial Mediterranean fever gene MEFV and the toll-like receptor 4 gene TLR4 in Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(20):8134-8139. ( 査読有 )  
DOI: 10.1073/pnas.1306352110.

Yotsumoto S, Meguro A, Ishihara M, Uemoto R, Ota M, Morimoto SI, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Investigation of the Association Between Toll-Like Receptor 9 Gene Polymorphisms and Sarcoidosis in Japanese Patients. *Ocul Immunol Inflamm* 2013;21(3):234-236. ( 査読有 )  
DOI: 10.3109/09273948.2012.756114.

Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, Takeuchi M, Uemoto R, Kawagoe T, Nomura E, Asukata Y, Ishioka M, Iwasaki M, Fukagawa K, Konomi K, Shimazaki J,

Nishida T, Mizuki N. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Mol Vis* 2013;19:845-851. ( 査読有 )  
<http://www.molvis.org/molvis/v19/845/mv-v19-845.pdf>

Meguro A ( 他 23 名、21 番目 ) Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nat Genet* 2013;45(2):202-207. ( 査読有 )  
DOI: 10.1038/ng.2520.

Nakasato-Sonn H, Uemoto R, Meguro A, Mizuki N. Modification of Swan-Jacobs lens for iridocorneal angle surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251(9):2247-2248. ( 査読有 )  
DOI: 10.1007/s00417-012-2232-0.

Uemoto R, Nakasato-Sonn H, Meguro A, Ito N, Yazama F, Mizuki N. Staining internal limiting membrane with a mixture of BBG and sodium hyaluronate. *Br J Ophthalmol* 2013;97(6):690-693. ( 査読有 )  
DOI:  
10.1136/bjophthalmol-2012-302289.

Meguro A ( 他 19 名、11 番目 ) Genome-wide association study identifies GIMAP as a novel susceptibility locus for Behcet's disease. *Ann Rheum Dis* 2013;72(9):1510-1516. ( 査読有 )  
DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200288.

Meguro A ( 他 23 名、3 番目 ) Genetic Characterization and Susceptibility for Sarcoidosis in Japanese Patients: Risk Factors of BTNL2 Gene Polymorphisms and HLA Class II Alleles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(11):7109-7115.  
DOI: 10.1167/iovs.12-10491.

Meguro A ( 他 16 名、1 番目 ) Common variants in the COL4A4 gene confer susceptibility to lattice degeneration of the retina. *PLoS One* 2012;7(6):e39300. ( 査読有 )  
DOI: 10.1371/journal.pone.0039300.

Meguro A ( 他 29 名、5 番目 ) Genetic variants on chromosome 1q41 influence ocular axial length and high myopia. *PLoS Genet* 2012;8(6):e1002753. ( 査読有 )  
DOI: 10.1371/journal.pgen.1002753.

Meguro A ( 他 16 名、2 番目 ) Lack of association between IL10 polymorphisms and sarcoidosis in Japanese patients. *Mol Vis* 2012;18:512-518. ( 査読有 )  
<http://www.molvis.org/molvis/v18/a56/mv-v18-a56-sakuyama.pdf>

Kawase K, Allingham RR, Meguro A, Mizuki N, Roos B, Solivan-Timpe FM, Robin AL, Ritch R, Fingert JH. Confirmation of TBK1 duplication in normal tension glaucoma. *Exp Eye Res* 2012;96(1):178-180. (査読有)  
DOI: 10.1016/j.exer.2011.12.021.

- Uemoto R, Nakasato-Sonn H, Kawagoe T, Meguro A, Okada E, Mizuki N. Factors associated with enlargement of chorioretinal atrophy after intravitreal bevacizumab for myopic choroidal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250(7):989-997. (査読有)  
DOI: 10.1007/s00417-011-1921-4.
- ②1 Horie Y, Meguro A, Kitaichi N, Lee EB, Kanda A, Noda K, Song YW, Park KS, Namba K, Ota M, Inoko H, Mizuki N, Ishida S, Ohno S. Replication of a microsatellite genome-wide association study of Behcet's disease in a Korean population. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51(6):983-986. (査読有)  
DOI: 10.1093/rheumatology/ker444.
- ②2 Uemoto R, Nakasato-Sonn H, Meguro A, Okada E, Mizuki N. Anatomical and functional changes of retina following subretinal injection of high-speed fluid. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250(3):447-450. (査読有)  
DOI: 10.1007/s00417-011-1800-z.
- ②3 大野重昭、蕪城俊克、北市伸義、後藤 浩、南場研一、水木信久、飛鳥田有里、坂本俊哉、渋谷悦子、藤野雄次郎、目黒 明、横井克俊. Behcet 病 (ベーチェット病) 眼病変診療ガイドライン. *日本眼科学会雑誌* 2012;116(4):394-426. (査読有)  
<http://www.nichigan.or.jp/member/guideline/behcet.jsp>

[学会発表](計7件)

Meguro A, Ishihara M, Ota M, Inoko H, Ohno S, Mizuki N. Association analysis of HLA-DRB1 alleles with the development and clinical manifestations of sarcoidosis in a large Japanese cohort. 12th International Ocular Inflammation Society Congress (第12回国際眼炎症学会) スペイン・バレンシア、2014年2月27日-3月1日.

Meguro A, Kawagoe T, Nakahara M, Fukasaku H, Ohno S, Mizuki N. Association study of IL23R-IL12RB2 and IL10 gene polymorphisms with susceptibility to Vogt-Koyanagi-Harada disease in a Japanese population. ARVO 2013 Annual Meeting (アメリカ視覚眼科学研究協会会

議 2013)、アメリカ・シアトル、2013年5月9日.

目黒 明. ゲノム解析結果の読み方. 第117回日本眼科学会総会、東京、2013年4月5日.

目黒 明. サルコイドーシスのゲノムワイド関連解析. 第66回日本臨床眼科学会、京都、2012年10月26日.

目黒 明、石原麻美、南場研一、蕪城俊克、高瀬 博、後藤 浩、大野重昭、望月 學、水木信久. サルコイドーシスのゲノムワイド関連解析. 第46回日本眼炎症学会、横浜、2012年7月15日.

Meguro A, Ideta H, Ideta R, Inoko H, Mizuki N. Investigation of the association between COL2A1 gene variants and lattice degeneration of the retina. ARVO 2012 Annual Meeting (アメリカ視覚眼科学研究協会会議 2012)、アメリカ・フォートローダーデル、2012年5月6日.

目黒 明. 眼炎症性疾患の分子遺伝学的解析. 第116回日本眼科学会総会、東京、2012年4月6日.

[図書](計5件)

Meguro A, Mizuki N, Gül A, Kitaichi N, Ohno S. Behcet's syndrome according to classical and population genetics. *Behçet's syndrome From pathogenesis to treatment of a rare disease (Springer)* 2014, pp25-37.

目黒 明、水木信久. ぶどう膜炎 (ベーチェット病、サルコイドーシス、原田病). *Retina Medicine (先端医学社)* 2014;3(1):38-43.

目黒 明、木村育子. ぶどう膜炎と遺伝的背景. *眼科 (金原出版)* 2014;56(2):258-265.

目黒 明、猪子英俊. ベーチェット病の遺伝因子. *炎症と免疫 (先端医学社)* 2013;21(5):17-23.

目黒 明、水木信久. 緑内障のゲノムワイド関連解析. *日本の眼科 (日本眼科医会)* 2013;84(3):257-260.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

目黒 明 (MEGURO AKIRA)

横浜市立大学・医学研究科・特任講師

研究者番号: 60508802