

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461612

研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎関連遺伝子及びアレルギー疾患に共通する遺伝要因の探索

研究課題名(英文) Exploring causal genes in susceptibility loci associated with atopic dermatitis and common genetic factors among allergic diseases

研究代表者

広田 朝光 (Hirota, Tomomitsu)

国立研究開発法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・研究員

研究者番号：50435674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎の病態機構の理解を深めるため、アトピー性皮膚炎のGWASにより同定された関連領域(3p21.33)における責任遺伝子の絞込みを実施した。我々は、この関連領域について、公共データベースの情報(eQTL)、ヒストンのメチル化、アセチル化の状態、ゲノムの3次元的な位置関係について検証を行い、この領域内のGLB1遺伝子のイントロンにおいてCCR4遺伝子の発現が調節される可能性を示した。このことから、このAD関連領域の候補遺伝子としてCCR4遺伝子が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：For a better understanding of the pathological mechanisms underlying AD, we sought to identify the potential causal gene in an AD-associated locus (3p21.33) identified by AD GWAS. We investigated eQTL databases, and conducted analyses for histone modification (methylation and acetylation) and three-dimensional chromatin structure in this region. We confirmed that DNA sequence in an intron of the GLB1 gene at the locus is presumed to regulate CCR4 gene expression. These findings suggest that CCR4 is a plausible candidate gene in the region.

研究分野：遺伝学

キーワード：アレルギー アトピー性皮膚炎 GWAS SNP 関連遺伝子

1. 研究開始当初の背景

近年、アトピー性皮膚炎 (AD: atopic dermatitis)は、国内外問わず、その罹患率が増加の一途をたどっている。現在では、治療ガイドラインの普及により、症状の良好なコントロールが可能になりつつある一方で、一部の症例では、既存の治療法では効果の少ない難治性のもも存在する。また、社会生活に及ぼす影響も大きいため、科学的な病態解明と予防、治療法の確立が待たれる疾患である。

研究代表者は、これまで AD の遺伝的要因について、ヒトの多様性の起因とされる遺伝子多型を用いたゲノム全域を対象とした分子遺伝学的手法 (GWAS: ゲノムワイド関連解析)によって、日本人を対象とした AD の疾患感受性と関連をもつ新規の 8 遺伝子領域の報告を行った (Nature Genetics, 2012)。しかしながら、GWAS により同定された AD 関連遺伝子領域内に複数存在する遺伝子のうち、どの遺伝子が AD の病態機構に参与しているかは不明であった。

また、AD はアレルギーマーチの初期段階で発症することが多く、食物アレルギーや気管支喘息等の他のアレルギー疾患と密接に関連していると考えられている。実際に、乳児期の食物アレルギーは食物アレルギーの関与が大きいことが示唆され、また、AD は気管支喘息を合併率が高く、アレルギー疾患として共通する要因の存在が推測される。

2. 研究の目的

本研究は、日本人を対象としたアトピー性皮膚炎のゲノムワイド関連解析により同定された新規 8 関連遺伝子領域より、疾患関連遺伝子の絞込みを試みる。また、他のアレルギー疾患である気管支喘息、アレルギー性鼻炎について、AD の新規 8 関連遺伝子領域に関する症例対照関連解析を行うことにより、アレルギー疾患に共通する遺伝的要因についての検討を試みる。

3. 研究の方法

(1) AD の新規 8 関連遺伝子領域から、細胞株やプライマリー細胞を用いた遺伝子発現の情報をもとに AD の候補遺伝子の絞込みを行う。公共データベースを使用し、遺伝子発現調節に関する情報 (eQTL, ヒストン修飾など)を集めるとともに、遺伝子発現調節に関する検討 (ChIP: Chromatin Immunoprecipitation, 3C assay: Chromosome conformation capture assay など)も行う。必要に応じて遺伝子強制発現系や RNA 干渉によるノックダウン等を用いて、遺伝子のより詳細な機能的解析を行う。

(2) 食物アレルギー 約 600 例、気管支喘息 約 1600 例、アレルギー性鼻炎 約 900 例、非疾患対照群 約 2000 例を用いて、AD の新規 8 関連遺伝子領域に対して症例対照関連解析

を行う。

(3) より信頼性が高い関連解析を行うため、より多くのサンプルは必須であり、可能な限りサンプル収集を行う。また、既に多くのサンプルを所有している研究施設との共同研究も考慮に入れる。

4. 研究成果

(1) 新規 8 関連遺伝子領域からの関連遺伝子の絞込み

GWAS により同定された AD の新規関連領域である GLB1 遺伝子領域 (3p21.33)についての関連遺伝子の絞込みを実施した。GWAS での最も強い関連が得られた SNP は GLB1 遺伝子のイントロン領域に存在している。このごく近傍に存在する SNP が GLB1 遺伝子の上流に存在する CCR4 遺伝子の発現を調節している領域 (eQTL: expression quantitative trait loci)である可能性が公共データベースの情報から示されている。関連のある SNP を含むゲノム領域において、ヒストンのメチル化 (H3K4me1)、アセチル化 (H3K27ac)が周辺のゲノム領域より相対的に高値であること (ChIP)、また、この領域が CCR4 遺伝子のプロモーター領域と核内において 3 次元的に近接していること (3C assay)が、アレルギー疾患の病態により深く関連すると考えられる分化させた T 細胞 (Th2)も含め、種々の細胞で確認された。

(2) AD 以外のアレルギー疾患での関連解析

AD に関連する新規 8 関連遺伝子領域に対して、アレルギー性鼻炎群 (約 900 検体)と対照群 (約 500 検体)を用いて関連解析を行った。さらにアレルギー性鼻炎群は、ダニ抗原陽性、陰性により患者群を層別化し検討を行った。各遺伝様式 (multiplicative, dominant, recessive)について、アレルギー性鼻炎の易罹患性に関する関連解析、および、アレルギー性鼻炎群のダニ抗原による層別化解析を行ったが、多重比較検定の補正後、有意な関連は認められなかった。

また、気管支喘息群 (約 1600 例)と対照群 (約 900 例)を用いて、AD に関連する新規 8 関連遺伝子領域に対して、アレルギー性鼻炎と同様に各遺伝様式について関連解析を行ったが、多重比較検定の補正後、有意な関連は認められなかった

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 0 件)

[学会発表] (計 11 件)

Tomomitsu Hirota, Mayumi Tamari, Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Motohiro

Ebisawa, Takanori Imai, Teruaki Matsui, Komei Ito, Satoru doi, A variant of Interleukin-13 (IL13) gene is associated food allergy in the Japanese population (Poster session 2-3 #2095), XXIV World Allergy Congress, Oct 15th, 2015, Seoul (Korea)

広田朝光、アレルギー疾患の GWAS (招待講演)、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015 年 5 月 18 日、グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール (港区・東京都)

広田朝光、ゲノムワイド関連解析を用いたアレルギー疾患関連領域の同定 (招待講演) 第 59 回日本人類遺伝学会、2014 年 11 月 21 日、タワーホール船堀 (江戸川区・東京都)

Tomomitsu Hirota, Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Motohiro Ebisawa, Takanori Imai, Teruaki Matsui, Komei Ito, Satoru Doi, Mayumi Tamari, A variant of Interleukine-13 (IL13) gene is associated with food allergy in the Japanese population (Poster Session 1-21), 30th Symposium of the collegium internationale allergologicum, Sep 14th, 2014, Pertersberg (Germany)

Tomomitsu Hirota, Michiaki Kubo, Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Motohiro Ebisawa, Takanori Imai, Masafumi Sakashita, Shigeharu Fujieda, Mayumi Tamari, Polymorphism of Interleukine-13 (IL13) are associated with susceptibility to food allergy in the Japanese population (Poster Discussion Session 10-327), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, June 9th, 2014, Copenhagen (Denmark)

広田朝光、アレルギー疾患の GWAS (招待講演)、第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2014 年 5 月 9 日、国立京都国際会館(京都市・京都市)

広田朝光、玉利真由美、佐藤さくら、海老澤元宏、今井孝成、久保充明、IL13 遺伝子の多型と日本人食物アレルギー患者における関連解析 (一般口演 0-50)、第 58 回日本人類遺伝学会、2013 年 11 月 22 日、江陽グランドホテル (仙台市・宮城県)

Tomomitsu Hirota, Mayumi Tamari, Genome-wide association study (GWAS) of atopic dermatitis in the Japanese population (Invited presentation), Asia Pacific Congress of Allergy, Asthma and Clinical Immunology, November 16th, 2013,

Taipei (Taiwan)

Tomomitsu Hirota, Sakura Sato, Motohiro Ebisawa, Takanori Imai, Masafumi Sakashita, Shigeharu Fujieda, Michiaki Kubo, Mayumi Tamari, A polymorphism of Interleukine-13 (IL13) is associated with susceptibility to food allergy in the Japanese population (Poster Session 805T), Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, October 24th, 2013, Boston (USA)

Tomomitsu Hirota, Mayumi Tamari, Michiaki Kubo, Genome-wide association studies of asthma and atopic dermatitis in the Japanese population, (Poster Session 64-1477), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, June 25th, 2013, Milan (Italy)

Tomomitsu Hirota, Mayumi Tamari, Genome-wide association study (GWAS) of atopic dermatitis in the Japanese population (Invited presentation), KAPARD-KAAACI West Pacific Allergy Symposium Joint International Congress, May 10th, 2013, Seoul (Korea)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
広田 朝光 (HIROTA, Tomomitsu)
理化学研究所 統合生命医科学研究センター
・ 研究員

研究者番号：50435674

(2)研究分担者

なし

研究者番号：

(3)連携研究者

なし

研究者番号：