

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02568

研究課題名(和文) 網羅的exome解析による敗血症関連遺伝子の探索と個別化医療への展開

研究課題名(英文) The IL20 Genetic Polymorphism Is Associated with Altered Clinical Outcome in Septic Shock.

研究代表者

中田 孝明 (Nakada, Taka-aki)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：20375794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 29,600,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症は遺伝的要因の個人差である遺伝子多型が敗血症の転帰に影響を与える。IL20 rs2981573 G alleleを有する敗血症性ショック患者はA alleleに比して、より長期間臓器不全を呈した。インビトロ実験でlymphoblastoid cellのIL20の遺伝子発現はrs2981573 GG genotypeが有意に高かった。また心臓血管外科術後ICU患者解析では、rs2981573 GG genotypeを有する患者は有意にICU入室期間が長かった。これらより、IL20 rs2981573 GGは、IL20遺伝子発現、敗血症性ショックや心臓血管外科術後の転帰不良と関連した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

敗血症は依然致死率が高く、新規発見が必要な重要課題である。遺伝的要因の個人差である遺伝子多型が敗血症の転帰に影響を与えることが広く知られている。敗血症の転帰に影響を与える遺伝子多型を同定し、その情報に基づき個別化医療を行うことで敗血症の生存率が向上すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We tested the hypothesis that SNPs in IL10, IL19, IL20, and IL24 of the IL10 family gene alter clinical outcome of septic shock. Patients with septic shock (n=1,193) were genotyped for 13 tag SNPs of IL10, IL19, IL20, and IL24. IL20 gene expression was measured in lymphoblastoid cells in vitro. Cardiac surgical ICU patients (n=981) were genotyped for IL20 rs2981573 A/G.

Patients with the G allele of IL20 rs2981573 had a significantly increased 28-day mortality compared to A allele in septic shock (adjusted HR 1.27; p=8.0×10⁻⁴). Patients with the GG genotype had more organ dysfunction (p<0.05). The GG genotype was associated with increased IL20 gene expression in stimulated lymphoblastoid cells in vitro (p<0.05). The cardiac surgical ICU patients with the GG genotype had an increased ICU stay (p=0.032). The GG genotype of IL20 rs2981573 SNP was associated with increased IL20 gene expression and increased adverse outcomes in patients with septic shock and following cardiac surgery.

研究分野：救急集中治療医学

キーワード：IL-10 IL-19 IL-20 IL-24 遺伝子多型 SNPs

1. 研究開始当初の背景

敗血症(Sepsis)の致死率は依然高く、致命数は近年増加傾向である。この致死率の改善を目的とした国内外の取り組み(国外 Surviving Sepsis Campaign, 国内 Sepsis Registry・日本版敗血症診療ガイドライン)は継続的に活発に行われている。一方、致死率改善を示す新規治療法の報告は少なく、既存の知見にとらわれない新規発見が必要とされている研究領域である。

遺伝的要因の個人差である遺伝子多型が、様々な疾患・病態の発症や転帰に影響を及ぼすことが知られている。敗血症で50才以前に親を亡くしている人は健常者に比べ敗血症で死亡するリスクが有意に高く、この敗血症による死亡に与える遺伝的要因の大きさは(相対危険度5.0)、心血管、脳血管疾患、悪性腫瘍による死亡に与える遺伝的要因(相対危険度0.87-1.92)よりもはるかに大きいことが報告されている。近年、敗血症に影響を及ぼす遺伝的要因として遺伝子多型が国内外で研究され、敗血症の易罹患性や転帰に影響を与えることが報告されてきている。

2. 研究の目的

敗血症の転帰に影響を与える遺伝子多型を同定し、個別化医療の礎とする。

具体的には、まずIL-10は敗血症性ショックや術後の急性炎症に対して、抗炎症性・免疫抑制にはたらく重要な遺伝子である。そこでIL-10ファミリー遺伝子の中で敗血症の転帰に影響を与える遺伝子多型を同定する。

次に敗血症と心血管疾患の病態には共通の経路が関与していることが知られている。また両疾患の転帰に遺伝的素因が影響を及ぼすことが知られ、多くの研究が行われている。そこでこれまでに同定されている、両疾患の遺伝的素因に関する研究を網羅的に収集・解析し、敗血症・心血管系疾患の転帰に影響を与える遺伝子多型を同定する。

3. 研究の方法

3-1. IL-10ファミリー遺伝子の遺伝子多型研究

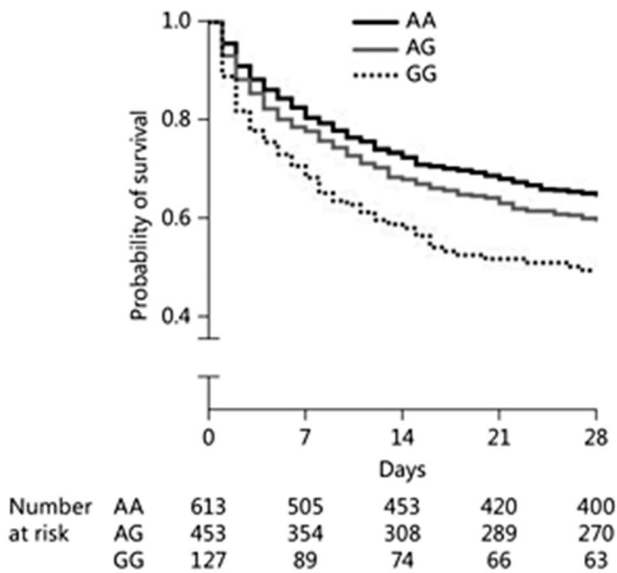
IL-10は敗血症性ショックや術後の急性炎症に対して、抗炎症性・免疫抑制にはたらく重要な遺伝子である。またIL-10ファミリー遺伝子(IL-10, IL-19, IL-20, IL-24)は1q32領域(200 kb)に隣り合って存在する。そこでこれらのIL-10ファミリー遺伝子の一塩基多型(single nucleotide polymorphisms, SNPs)は、敗血症性ショック患者の28日死亡率上昇と関連するかどうか検証した。敗血症性ショック患者(n=1193)を対象にIL-10ファミリー遺伝子の13 tag SNPsをgenotypingし、28日死亡率をprimary outcomeとして関連解析した。

3-2. 敗血症と心血管疾患の転帰に影響を及ぼす遺伝的素因の共通性の探索

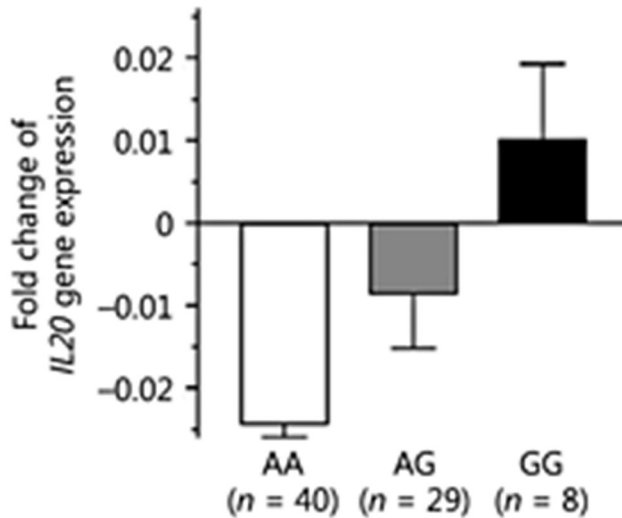
敗血症と心血管疾患の転帰に影響を及ぼす遺伝的素因の研究を、網羅的に収集・解析し、敗血症・心血管系疾患の転帰に影響を与える遺伝子多型を同定する。

4. 研究成果

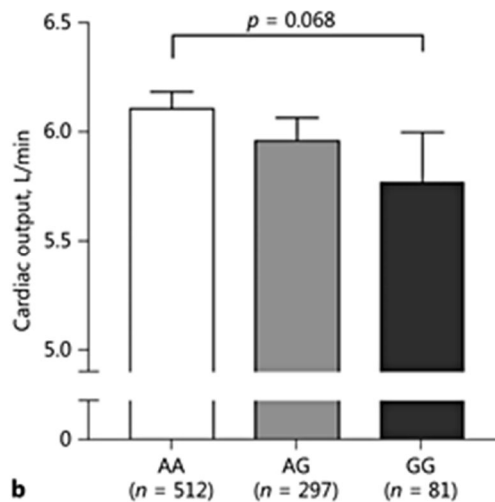
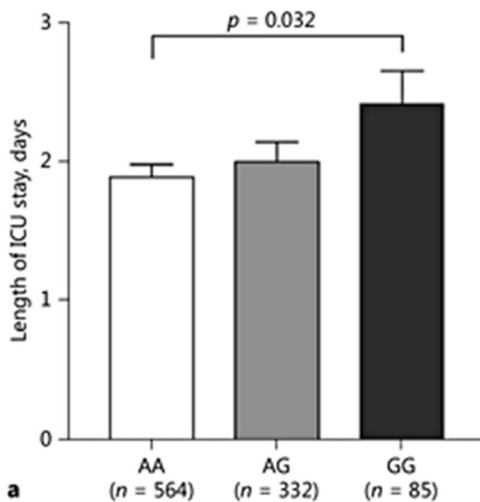
4-1. IL-10 ファミリー遺伝子の遺伝子多型研究



IL20 rs2981573 G allele を有する敗血症性ショック患者の 28 日死亡ハザード比は IL20 rs2981573 A allele を有する患者に比して有意に高かった (adjusted hazard ratio 1.27; 95% confidence interval 1.10-1.47, $P=8.0 \times 10^{-4}$).



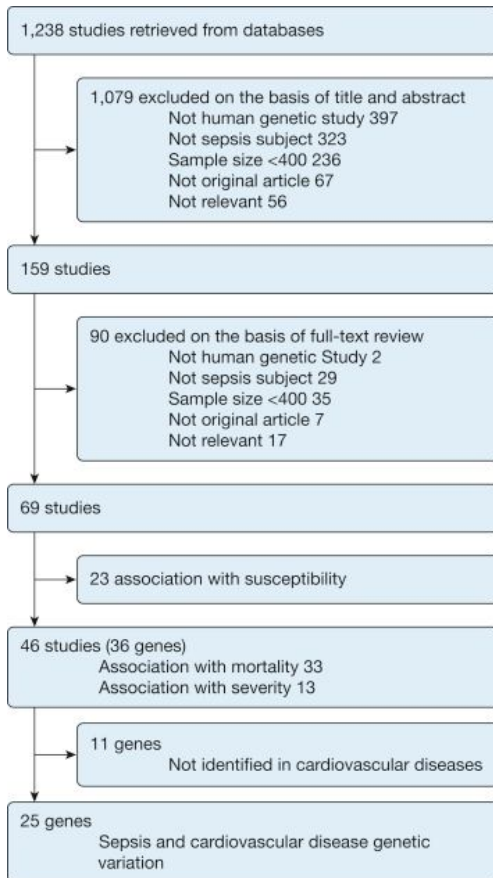
また IL20 rs2981573 G allele を有する敗血症性ショック患者は A allele を有する敗血症性ショック患者に比して、より長期間臓器不全を呈していた。そして、インビトロ実験で機能性を検証すると、敗血症を模した刺激を加えた lymphoblastoid cell の IL20 の遺伝子発現は IL20 rs2981573 GG genotype が有意に高かった。



また secondary cohort として心臓血管外科術後 ICU 患者 (n=981) を対象とした解析では、IL20 rs2981573 GG genotype を有する患者は有意に ICU 入室期間が長かった。これらより、

IL20 rs2981573 GG は、IL20 遺伝子発現、敗血症性ショックや心臓血管外科術後の転帰不良と関連した。

4-2. 敗血症と心血管疾患の転帰に影響を及ぼす遺伝的素因の共通性の探索



Systematic Review を行い 1238 編の論文を抽出し評価した。敗血症と心血管系疾患の両方の転帰に影響を及ぼす遺伝子が同定として 24 の遺伝子 (ADRB2, CD14, FGB, FV, HMOX1, IL1B, IL1RN, IL6, IL10, IL17A, IRAK1, MASP2, MBL, MIR608, MIF, NOD2, PCSK9, PPARG, PROC, SERPINE1, SOD2, SVEP1, TF, TIRAP, TLR1) が抽出された。これらの中でも 9 の遺伝子 (ADRB2, FV, HMOX1, IL6, MBL, MIF, NOD2, PCSK9, SERPINE1) ではリスクアレルが同じであった。この共通したシグナル経路は真の生物学的結果であると考えられ、敗血症と心血管系の治療薬のターゲットとなると考えられた。

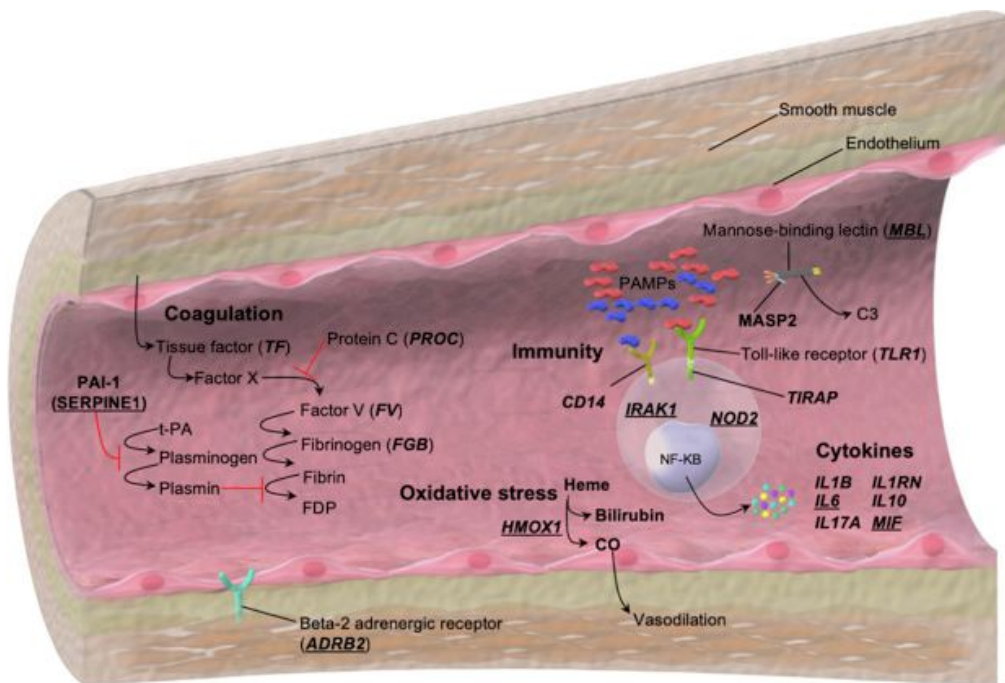


TABLE 1] Identified Genetic Polymorphisms in Sepsis and Cardiovascular Disease

Gene	Cohort (Design)/Size	Genetic Variants	Effect
Cardiovascular function			
<i>ADRB2</i> : Adverse alleles are the same/in complete LD for sepsis and CVD			
Sepsis	2 septic shock cohorts: n = 589, n = 616 ¹¹	<i>ADRB2</i> rs1042717 AA genotype (complete LD in <i>ADRB2 CysGlyGln</i> haplotype)	↑ 28-d mortality, organ dysfunction (↓ response to beta agonists) ⁹
Cardiovascular	Ischemic heart failure, meta-analysis. 2 studies: case = 650, control patients = 558 ¹²	<i>ADRB2</i> 16Gly allele	↑ Ischemic heart failure risk
<i>SVEP1</i> : Identified genetic variants are nonsynonymous but different for sepsis and CVD; functionality of the adverse alleles is unknown			
Sepsis	Septic shock, genotyping 2,125 nonsynonymous SNPs in conserved region: n = 520 ¹⁴	<i>SVEP1</i> rs10817033 (Gln581His) C allele	↑ 28-d mortality (↑ damaging effects on protein structure in in silico analysis)
Cardiovascular	CAD, GWAS: case = 72,868; control patients = 120,770 ¹⁵	<i>SVEP1</i> rs111245230 (Asp2702Gly) C allele	↓ CAD risk
Lipid metabolism			
<i>PCSK9</i> : Adverse genetic variants (LOF genetic variants) are the same for sepsis and CVD			
Sepsis	2 septic shock cohorts: n = 632, n = 415 ¹⁶	<i>PCSK9</i> LOF genetic variants (rs562556, rs11583680, rs11591147)	↓ 28-d mortality
Cardiovascular	GWAS ¹⁷ (n = 3,363) and replicated in 2 large studies: ^{15,18} n = 3,071, n = 193,638	<i>PCSK9</i> LOF genetic variants (rs67608943, ¹⁷ rs28362286, ¹⁷ rs11591147, ^{15,17,18} s11206510 ¹²)	↓ CAD risk
<i>PPARG</i> : Identified genetic variants are nonsynonymous but different for sepsis and CVD			
Sepsis	Sepsis cases = 308, control patients = 345 ^{20,21}	<i>PPARG</i> rs1801282 (<i>Pro12Ala</i>) G allele	↓ 28-d mortality (↓ receptor activity) ²⁰
Cardiovascular	CAD, meta-analysis; 20 studies: case = 5,795, control patients = 9,069 ²²	<i>PPARG</i> rs3856806 (His447His) T allele	↑ CAD risk
Pattern recognition receptors			
<i>CD14</i> : Identified genetic variants are different for sepsis and CVD			
Sepsis	Sepsis: n = 417 ²⁴	<i>CD14</i> rs2569190 TT genotype	↑ 30-d survival (↑ transcriptional activity, ↑ soluble CD14 production) ²³
Cardiovascular	Cardiovascular cohorts, GWAS: n = 3,480 ²⁵	<i>CD14</i> locus including rs5744441 on chromosome 5q31	↑ sCD14 levels
<i>TLR1</i> : Adverse alleles are the opposite for sepsis and CVD			
Sepsis	Sepsis, genotyping 225 tag SNPs in 43 <i>TLR</i> -related genes: n = 724 ²⁶	<i>TLR1</i> rs5743551 GG genotype	↑ Mortality, organ dysfunction (↑ <i>TLR1</i> -induced NF-κB activation, cell surface <i>TLR1</i> expression)
Cardiovascular	CAD: n = 1,002 ²⁷	<i>TLR1</i> rs5743551 GG genotype	↓ CAD risk

(Continued)

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 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakada TA, Russell JA, Boyd JH, Thair SA, Walley KR.	4. 巻 43
2. 論文標題 Identification of a non-synonymous polymorphism in the SVEP1 gene associated with altered clinical outcomes in septic shock.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Crit Care Med.	6. 最初と最後の頁 101-108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/CCM.0000000000000604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakada TA, Boyd JH, Russell JA, Aguirre-Hernandez R, Wilkinson MD, Thair SA, Nakada E, McConechy MK, Fjell CD, Walley KR.	4. 巻 7
2. 論文標題 VPS13D gene variant is associated with altered IL-6 production and mortality in septic shock.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 J Innate Immun.	6. 最初と最後の頁 545-543
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000381265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔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 中田孝明
2. 発表標題 Interleukin-10ファミリー遺伝子の一塩基多型と敗血症性ショック患者の転帰との関連
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中田孝明
2. 発表標題 nterleukin-10ファミリー遺伝子の一塩基多型と敗血症性ショック患者の転帰
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2017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
研究分担者	安部 隆三 (Abe Ryuzo) (30375795)	千葉大学・医学部附属病院・講師 (12501)	
研究分担者	関根 章博 (Sekine Akihiro) (30425631)	千葉大学・予防医学センター・教授 (12501)	
研究分担者	織田 成人 (Oda Shigeto) (90204205)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	