

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2012

課題番号：22689025

研究課題名（和文） 全ゲノム相関解析を用いたクローン病関連遺伝子の同定および病態解明

研究課題名（英文） Clarification of the pathogenesis for Crohn's disease by genome-wide association study

研究代表者

山崎 慶子 (YAMAZAKI KEIKO)

独立行政法人理化学研究所・多型解析技術開発チーム・研究員

研究者番号：50415329

研究成果の概要（和文）：クローン病(Crohn Disease: CD)の疾患関連遺伝子を同定するため、全ゲノム相関解析を行った(CD 374名 VS 健常人 3,389名)。相関を示した SNP について別の日本人集団(CD 1,151名 VS 健常人 15,800名)にて再現性を確認したところ、既報の3領域(MHC, *TNFSF15*, *STAT3*)に加え、新たに「4p14」、「13q14 (*SLC25A15-ELF1-WBP4*)」を新たなCD関連領域として同定した。

研究成果の概要(英文): To clarify the genetic factors for Crohn's disease (CD) in Japanese, we performed a genome-wide association study (372 individuals with CD (cases) and 3389 controls) and a replication study with an independent panel of 1151 CD cases and 15,800 controls. We confirmed the association in the MHC, *TNFSF15* and *STAT3* regions which have been reported. In addition, we identified two novel susceptibility loci on chromosome 4p14 and in the *SLC25A15-ELF1-WBP4* region on 13q14.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2011年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2012年度	2,500,000	750,000	3,250,000
総計	13,000,000	3,900,000	16,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：クローン病、一塩基多型(SNP)、全ゲノム相関解析 (GWAS)

1. 研究開始当初の背景

クローン病(Crohn Disease: CD)は炎症性腸疾患に分類される難治性の疾患である。著しいQOLの低下と医療費が大きな問題となっており、新規治療法の確立が強く望まれている疾患の一つである。

多くの疫学研究よりCD発症に遺伝的要因が強く関わることが知られている。しかしその関連遺伝子の多くに人種差があることも

、報告されている。また、欧米では強い相関を示すCD関連遺伝子が複数報告されているのに対し、日本人集団では*TNFSF15*しか報告されていない。複数の遺伝子が関わる可能性が示唆されていることから、日本人CD関連遺伝子は他にも存在すると考えられる。

本研究は全ゲノム相関解析(genome-wide association study: GWAS)を用いて、日本人のCD遺伝的背景の解明を試みた。

2. 研究の目的

日本人集団における CD 発症メカニズムに関わる遺伝的背景の解明を目的とする。

新規 CD 関連遺伝子を探索するために、約 55 万 SNP を用いた GWAS およびレプリケーション・スタディを行う。また、欧米より報告されている GWAS の結果と本研究で得られた結果を比較することで CD の発症に関係する遺伝子の背景を体系的に比較を行う。

新たに得られた知見をもとに、疾患モデル・治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) GWAS およびレプリケーション・スタディ

CD 関連遺伝子を同定するため、ビーズチップ (Illumina 社 Hap550k Bead chip) を用いてゲノム全体をカバーする約 55 万 SNP をジェノタイピングをした。QC を行い、日本人集団 (CD 374 名, 対照 3,389 名) の約 45 万 SNP のデータを使用して GWAS を行った。

GWAS の結果より関連を示した SNP から既報 2 領域 (MHC (6p21), *TNFSF15* (9q33)) をのぞいた上位 63SNP を CD 関連遺伝子の候補として選抜した。候補 SNP の関連の再現性を確認するため、国内の大学・医療機関と連携をとり、新たに約 1,000 名の CD 患者ゲノム検体・ジェノタイプ情報を得て、統計学的に関連を確認した。

(2) 関連領域周辺の SNP 探索および高密度 SNP 地図の作成

ダイレクト・シーケンス法を用いて、CD 関連 SNP を中心とする候補領域に、新規 SNP が存在するかどうか検索した。多型が確認された SNP を invader 法にてタイピングし、高密度 SNP 地図を作成し、CD 関連領域を同定した。

(3) 欧米人集団で報告された CD 関連遺伝子の検証

欧米人集団を用いた CD の大規模メタ解析により 71 カ所の CD 関連領域が報告されている (Franke et.al 2010)。我々の今までの研究により、CD 関連遺伝子は欧米人と日本人集団で異なることが明らかになっている。そこで、欧米人 CD で報告された SNP が人種共通の関連 SNP であるかどうか、レプリケーション・スタディ (CD 1,311 名, 対照 6,585 名) を行った。

4. 研究成果

(1) GWAS およびレプリケーション・スタディ

この段階で強い相関を示した領域は、MHC

領域と *TNFSF15* (9q33) の既報 2 領域のみであった (図 1)。

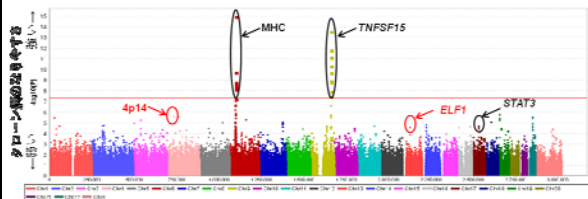


図 1 : CD GWAS の結果

横軸をヒトゲノム染色体上の位置、縦軸を各 SNP の P 値 (偶然にそのような事が起こる確率) として解析結果をプロット。

GWAS で得られた候補 SNP について、別集団をタイピングし、解析した。既報の 3 領域 (MHC (rs7765379, $P = 2.11 \times 10^{-59}$), *TNFSF15* (rs6478106, $P = 3.87 \times 10^{-45}$), *STAT3* (rs9891119, $P = 2.24 \times 10^{-14}$)) の他、新たな CD 関連領域を 2 か所 (4p14 (rs1487630, $P = 2.40 \times 10^{-11}$, OR = 1.33)、*SLC25A15-ELF1-WBP4* (rs7329174 (*ELF1*), $P = 5.12 \times 10^{-9}$, OR = 1.27)) 同定した。

(2) 関連領域周辺の SNP 探索および高密度 SNP 地図の作成

同定した領域について、CD 患者検体を用いて SNP 探索を行った。得られた SNP 情報をもとに、ゲノム検体をタイピングし、高密度 SNP 地図を作成した (図 2)。

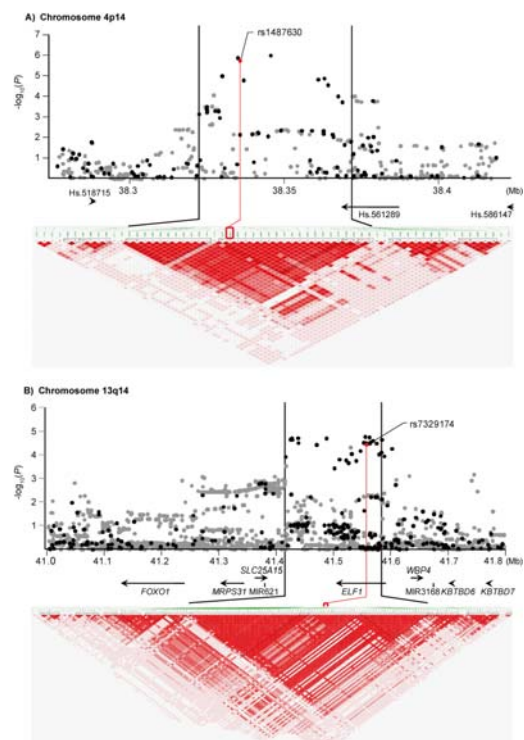


図 2 : 高密度 SNP 地図 (上: 4p14, 下: 13q14)

その結果、4p14は50kbの領域(38.32-38.37 Mb)、*SLC25A15-ELF1-WBP4*(13q14)はELF1を中心とする174kb(41.416-41.59 MB)の領域がCD発症に関連することを確認した。

SLC25A15-ELF1-WBP4 (13q14)内のCD関連SNP(rs7329174)は*ELF1* (E74-like factor 1 (ets domain transcription factor))に位置していた。同SNPは日本人・中国人の全身性エリテマトーデス(SLE)と強く関連することが知られている (Yang et al. 2011, Okada et al. 2012)。自己免疫疾患であるSLEとCDで共通の遺伝要因が関係している可能性が示された。

(3) 欧米人集団で報告された関連遺伝子の検証

71SNPのうち、多重補正後も有意差を示したSNPは11SNPであった。それに対し、十分な検出力があるにもかかわらず関連が確認できなかったSNPは17つであり、日本人集団において多型が確認できない(もしくはとても頻度が低い)SNPは9つだった。自然免疫(例、*NOD2*, *ATG16L1*, *IRGM*)に関係する遺伝子に分布するSNPが日本人CD発症と関連を示さない傾向が見られた。

また、日本人GWASのデータを領域別に比較したところ、同じ領域であっても強い関連を示すSNPが異なるなど、遺伝的背景に人種差があることを再認した。

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4件) [すべて査読あり]

1) Hirano A, Yamazaki K, Umeno J *et al.* (計19名 研究代表者2番目) Association study of 71 European Crohn's disease susceptibility loci in a Japanese population *Inflamm Bowel Dis.* (2013) 19:526-533

2) Yamazaki K, Umeno J, Takahashi A *et al.* (計24名 研究代表者1番目) A Genome-Wide Association Study Identifies 2 Susceptibility Loci for Crohn's Disease in a Japanese Population *Gastroenterology.* in press

3) Okada Y, Yamazaki K, Umeno J *et al.* (計15名 研究代表者2番目) HLA-Cw*1202-B*5201-DRB1*1502 haplotype increases risk for ulcerative colitis but reduces risk for Crohn's disease.

Gastroenterology. (2011) 141, 864-871. e1-5

4) Kochi Y *et al.* (計13名 研究代表者7番目) A regulatory variant in *CCR6* is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Nat Genet.* (2010) 42:515-9

[学会発表] (計5件)

1) Yamazaki K *et al.* (計24名 研究代表者1番目) "A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for Crohn's disease in a Japanese population" ASHG 61th Annual Meeting (2012/11/6-8) San Francisco (USA)

2) 山崎 慶子 *et al.* (計10名 研究代表者1番目) "欧米人大規模メタ解析により同定された71関連領域と日本人クローン病患者の相関解析" 日本人類遺伝学会 第56回大会 (2011/11/10) 幕張(日本)

3) Yamazaki K *et al.* (計10名 研究代表者1番目) "Association analysis of 71 susceptibility loci for European Crohn's disease in the Japanese population", 12th International Congress of Human Genetics (2011/10/13) Montreal (Canada)

4) Yamazaki K *et al.* (計5名 研究代表者1番目) "The association analysis of susceptibility loci for ulcerative colitis in Japanese Crohn's disease", ASHG 60th Annual Meeting, (2010/11/5) USA (Washington D.C.)

5) 山崎 慶子 *et al.* (計5名 研究代表者1番目) "ゲノムワイド関連解析により同定された潰瘍性大腸炎関連領域と日本人クローン病患者の相関解析" 日本人類遺伝学会 第55回大会 (2010/10/29), 日本 (大宮)

〔その他〕

<http://www.src.riken.jp/press/2013/130118>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 慶子 (YAMAZAKI KEIKO)

独立行政法人理化学研究所・多型解析技術開発チーム・研究員

研究者番号：50415329

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし