

平成30年9月7日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08712

研究課題名(和文)日本人高齢者連続剖検例を用いた疾患感受性遺伝子多型の病理フェノーム関連解析

研究課題名(英文) Phenome Wide Assosiation Study of disease candidate gene using Japanese elderly consecutive autopsy cases

研究代表者

池田 仁子 (IKEDA, SHINOBU)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・上級研究員

研究者番号：20415508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では疾患感受性が確立している遺伝子の中から、既知の心血管関連遺伝子多型と脳血管疾患関連多型を選出し、JG-SNPに登録されている約2000検体の日本人高齢者連続剖検例を対象者としてTaqMan SNP Genotyping Assay, TaqMan CNV Assay, Illumina Exome-chipにより判定した多型と病理フェノーム情報を統合させたPheWAS解析用データセットを用いて、各多型と病理フェノーム情報等との関連を検討した。その結果いくつかの遺伝子多型において、臨床診断の下に埋もれていた病理診断の血管疾患や癌と既知の疾患関連遺伝子との新たな関連を見いだす事ができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the relationship between the genetic variants of disease candidate gene and the pathological phenotype information using Japanese elderly consecutive autopsy cases. Several single nucleotide variations (SNVs) and copy number variants (CNVs) were retrieved from genotyping by TaqMan Assay system and Illumina exome-chip in about 2000 Japanese elderly consecutive autopsy cases. All subjects met well-determined genotyping results and appropriate availability of their clinical history including pathological phenotype information. We were observed for the novel association between some genetic variants and cardiovascular disease or any type of cancer in this study population. This is the first study analyzing the relationship between genetic variants and pathological diagnosis diseases in this study population. Future longitudinal studies are warranted to characterize the mechanisms by each genetic variant may affect the development of diseases.

研究分野：分子疫学

キーワード：PheWAS 日本人高齢者 連続剖検例 病理フェノーム情報 SNV CNV 疾患感受性遺伝子 老年病

1. 研究開始当初の背景

全ゲノム関連解析(Genome-Wide Association Study; GWAS)やエクソーム解析などの研究戦略により、個々の疾患に関連する遺伝子の探索が行われているが、挙がってきた遺伝子多型の多くは、当初考えていたほど疾患との遺伝的関連が説明できておらず、多くの報告では臨床的な関連性が全くないのが現実である。

近年、詳細なフェノーム情報と遺伝子多型の関連をみる全フェノーム関連解析(Phenome-Wide Association Study; PheWAS)が欧米で行われており、電子カルテ情報から取得したCTイメージ画像やMRIイメージ情報など遺伝子の関連が検討されている。

2. 研究の目的

我々は、臨床症状の下に埋もれている病理フェノームとの関連をみる全フェノーム関連解析(Phenome-Wide Association Study; PheWAS)をヒトで行い、遺伝子と病理フェノームとの新たな相互関連を、詳細な病理情報が蓄積された「高齢者バイオリソースセンター」から入手した連続剖検例のDNA検体を用いることにより、心疾患・脳血管疾患・悪性腫瘍・アルツハイマー病などの老人性疾患に焦点を当て検討した。

(1) 初年度は循環器疾患の中から日本人によるGWAS研究で疾患関連遺伝子が数多く報告されている心筋梗塞に焦点を当て病理フェノームスキャン解析(PheWAS)を行い、対象者に付加されている詳細な臨床病理情報、生活習慣情報、臨床検査値などをジェノタイピングデータと統合し作成したデータセットを使って、1つのSNPと詳細な臨床病理情報との相互関連を検討した。

(2) 次年度は悪性腫瘍(胃癌、肺癌、大腸癌、造血器系悪性腫瘍など)のPheWASを検討する目的で、既知の悪性腫瘍感受性遺伝子以外の疾患感受性遺伝子を候補遺伝子として挙げて、日本人集団におけるマイナーアレル頻度(MAF)が一定以上の遺伝子多型を幾つか選出し、臨床病理情報、生活習慣情報、臨床検査値などをジェノタイピングデータと統合し作成したデータセットを使って、1つのSNPと詳細な悪性腫瘍の病理情報(全身の癌の個数、原発部位、組織型、潜在癌など)との相互関連を詳細に検討した。

(3) 最終年度は、脳血管疾患(脳出血、脳梗塞、認知症、アルツハイマー病、血管性痴呆症など)の既知の疾患感受性遺伝子を選出し、対象者に付加されている詳細な臨床病理情報、特に臨床疾患として発現する以前の前臨床状態情報となる血管イベントの中間形質であり、心筋梗塞、脳血管疾患、末梢動脈疾患などの基礎疾患である粥状硬化症の程

度を連続病理解剖例において判定量的に検索した値(粥状硬化指数、冠状動脈狭窄指数)や8動脈(総頸動脈、鎖骨下動脈、大動脈、総腸骨動脈、外腸骨動脈、大腿動脈、脾動脈、上腸管膜動脈)の各粥状硬化程度、および動脈硬化症などとの相互関連を詳細に検討した。

3. 研究の方法

(1) GWAS研究などにより世界中で既に疾患との関連が確立している疾患感受性遺伝子の中から候補遺伝子を選出した。

心筋梗塞関連遺伝子の中から4種類の遺伝子多型(CXCL12 rs1746048, rs1801157, COL4A2 rs3809346, rs4773144)を候補遺伝子多型として選出した。

心筋梗塞以外の心血管疾患関連遺伝子の中からLp(a)遺伝子の13種類の候補遺伝子多型(rs3798220, rs1084651, rs1652507, rs7770628, rs6919346, rs186413938, rs189377046, rs201740563, rs200154828, 142720914, rs199952286, rs139937718, rs140720828)を選出した。

脳血管疾患関連遺伝子の中から10種類の候補遺伝子多型(APOE rs7414, rs429358, rs769452, rs769455, rs376170967, rs796443813, rs769449, TOMM40 rs2075650, rs157580, rs1322372863)と2種類のリピート多型(TOMM40 poly-T repeat, Lp(a) KVI-repeat)を選出した。

(2) 対象者にはJG-SNPデータベースに登録されている約2300検体の高齢者連続剖検例を用いた。JG-SNPの検体には、詳細な臨床病理情報、特に臨床疾患として発現する以前の前臨床状態情報動脈硬化に関する情報、潜在癌の情報など、生活習慣情報、臨床検査値などが不随している。

特徴的な病理情報としては、粥状硬化症の程度を半定量的に検索した粥状動脈硬化指数(PAI)と冠状動脈狭窄指数(CSI)、脳動脈狭窄指数(ICAI)が有り、他にも臓器の重量、厚み、石灰化の有無、癌の病理情報などが紐付いている。

(3) 遺伝子多型は、各検体の腎組織からフェノールクロロフォルム法により抽出したDNAを使用して、TaqMan SNP Genotyping Assay法、TaqMan CNV Assay法、Illumina Exome-chipにより候補遺伝子多型およびリピート多型のコピー数を判定した。

(4) 遺伝子多型データと臨床情報・病理フェノームデータ等は統合され、PheWAS解析様データセットを作成した。

PheWAS 解析様データセットを用いて、各多型と病理フェノームの関連解析を、SAS 統計解析ソフトウェアを使って検討した。

SAS 統計解析ソフトウェアでは Chi-square test, Fisher test, ANOVA, Logistic regression 等により各多型と病理フェノームとの関連を解析した。全ての解析結果は P-値が 0.05 未満の時に統計学的に有意であると判定した。

4. 研究成果

(1) CXCL12 遺伝子 rs1746048 多型の T-アレルを 1 つ以上持っているとは病理診断の腹部大動脈瘤に罹患するリスクが統計学的有意に高いことが明らかになった。更に、rs1746048 多型の T-アレルを 2 つ持っているとは心房細動や閉塞性動脈硬化症の罹患リスクが有意に高い事がわかった。一方で、本研究の集団では全ての心筋梗塞関連遺伝子多型が臨床診断の心筋梗塞と統計学的に有意な関連はみられなかった。

Table 3. Associations between rs1746048 and MI, PAI, and CSI in the logistic regression analysis

	C/G+G/T vs. T/T		C/G vs. C/T+T/T	
	Adjusted OR (95%CI)	P-value	Adjusted OR (95%CI)	P-value
MyocardialInfarction	0.863 (0.566-1.316)	0.494	1.072 (0.827-1.390)	0.598
PAI	0.859 (0.553-1.336)	0.501	1.014 (0.777-1.324)	0.916
CSI	0.918 (0.599-1.409)	0.696	1.025 (0.793-1.325)	0.851

Adjusted for age at death, gender, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, smoking and alcohol drinking. OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Table 4. Associations between rs1746048 and AAA, AF, and ASO in the logistic regression analysis

	C/T+T/T vs. G/G		T/T vs. G/T+G/G	
	Adjusted OR (95%CI)	P-value	Adjusted OR (95%CI)	P-value
Abdominal descending aortic aneurysm	2.093 (1.192-3.365)	0.009	1.201 (0.560-2.578)	0.638
Atrialfibrillation	1.112 (0.809-1.529)	0.512	2.218 (1.423-3.457)	< 0.001
Arteriosclerosis obliterans	0.952 (0.551-1.645)	0.861	2.201 (1.076-4.498)	0.031

Adjusted for age at death, gender, smoking and alcohol drinking. OR, odds ratio; CI, confidence interval.

このことから、日本人高齢者集団において、心筋梗塞感受性遺伝子として知られている CXCL12 遺伝子 rs1746048 多型は心筋梗塞以外の心血管疾患のリスク因子として働いている可能性が示唆された。

(2) 近年、Lp(a) 遺伝子は既知の GWAS 研究で同定された心血管疾患感受性遺伝子の中で、世界的に注目を集めているが、本研究集団においては、全ての Lp(a) 遺伝子多型について心筋梗塞などの臨床診断での心疾患との関連はみられなかった。

しかしながら、Lp(a) 遺伝子の 4 つの多型で癌との関連を新規に見いだすことができた。Lp(a) 遺伝子 rs1652507 多型の G-アレルを 1 つ以上持っているとは胃癌と肺癌の罹患リスクが有意に高いことがわかった。rs3798220 多型も肺がんと有意な関連がみられた。癌の組織別にみると、特に rs3798220 多型の C-アレルが肺癌の腺癌と扁平細胞癌の罹患リスクを有意に高くしていた。rs1084651 多型と rs7770628 多型は悪性リンパ腫と有意な関連を示したが、rs7770628 多型の方が悪性リンパ腫の罹患リスクをより高めていた。

SNP ID (rs number)	Genetic model	Site of Cancer	Adjusted OR (95% CI)	p-value
rs1652507	G/G+A/G vs. A/A(Ref.)	Total Cancer presence	1.30 (1.06-1.59)	0.013
rs1652507	G/G+A/G vs. A/A(Ref.)	Gastric cancer	1.52 (1.09-2.10)	0.013
rs1652507	G/G+A/G vs. A/A(Ref.)	Lung cancer	1.43 (1.02-2.01)	0.039
rs3798220	C/C vs. T/C+T/T(Ref.)	Lung cancer	3.79 (1.39-10.3)	0.009
rs3798220	C/C vs. T/C+T/T(Ref.)	Adenocarcinoma	3.70 (1.06-12.9)	0.040
rs3798220	C/C+T/C vs. T/T(Ref.)	Squamous cell carcinoma	1.92 (1.08-3.40)	0.027
rs1084651	A/A vs. A/G+G/G(Ref.)	Malignant lymphoma	1.78 (1.06-2.98)	0.030
rs7770628	C/C vs. T/C+T/T(Ref.)	Malignant lymphoma	3.43 (1.15-10.2)	0.027

欧米では血清 Lp(a) 値が心血管リスクの判定に用いられるほど一般的な検査項目だが、日本においてはほとんど測定されていない。本研究の解析結果で癌と有意な関連がみられた多型は血清 Lp(a) 値とも統計学的に有意な関連がみられ、これまで提唱されていた Lp(a) の血栓形成および炎症促進効果以外に腫瘍効果を持つことが示唆された。

(3) APOE 遺伝子

APOE 遺伝子 rs769449 多型は、臨床診断のアルツハイマー症と病理診断のアルツハイマー症の両方と統計学的に有意な関連がみられ、アルツハイマー症の罹患リスクを上げることが示された。

臨床診断のアルツハイマー症と有意な関連がみられた TOMM40 遺伝子 rs2075650 多型は病理診断のアルツハイマー症とも統計学的有意な関連を示した。

一方、TOMM40 遺伝子 rs157580 多型は病理診断のアルツハイマー症と統計学的有意な関連を示したが、臨床診断のアルツハイマー症とは関連がなかった。しかも rs157580 多型は病理診断のアルツハイマー症の罹患リスクを下げる方へ働くことが示された。

Gene name	SNP ID	Allele	Genetic model	Disease	OR (95% CI)	P-value
APOE	rs769449	A/G	Recessive	Alzheimer disease (Clinical diagnosis)	9.06 (3.20-25.76)	>0.001
			Dominant		3.78 (2.80-5.10)	>0.001
TOMM40	rs2075650	A/G	Recessive		2.52 (1.36-4.67)	>0.001
			Dominant		2.13 (1.63-2.78)	>0.001

Gene name	SNP ID	Allele	Genetic model	Disease	OR (95% CI)	P-value
APOE	rs769449	A/G	Recessive	Alzheimer disease (Pathological diagnosis)	6.36 (1.92-21.03)	>0.001
			Dominant		3.64 (2.61-5.08)	>0.001
TOMM40	rs2075650	A/G	Recessive		2.58 (1.28-5.22)	0.011
			Dominant		1.95 (1.45-2.62)	>0.001
TOMM40	rs157580	A/G	Recessive	0.50 (0.34-0.74)	>0.001	
			Dominant	0.71 (0.52-0.97)	0.032	

APOE 遺伝子 rs769449 多型と TOMM40 遺伝子 rs2075650 は臨床診断の痴呆症の罹患リスクを有意に高くすることが明らかになった。

Gene name	SNP ID	Allele	Genetic model	Disease	OR (95% CI)	P-value
APOE	rs769449	A/G	Recessive	Dementia (Clinical diagnosis)	3.33 (0.99-11.14)	0.062
			Dominant		1.91 (1.35-2.70)	>0.001
TOMM40	rs2075650	A/G	Recessive		2.39 (1.22-4.68)	0.015
			Dominant		1.45 (1.08-1.95)	0.015

しかしながら、病理診断の脳血管疾患とは統計学的有意な関連はみられなかった。

以上の結果から、本研究においてアルツハイマー症の疾患感受性遺伝子である TOMM40 遺伝子は rs157580 多型はアルツハイマー症の罹患に働く rs2075650 多型と、予防的に働く rs157580 多型があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計0件)

(学会発表)(計2件)

池田仁子, Associated genes of the cancer in Japanese consecutive autopsy

cases. 第76回日本癌学会学術総会（横浜・パシフィコ横浜），2017
池田仁子，Genetic variants in LPA gene are associated with the risk of cancer in elderly Japanese population. 日本人類遺伝学会 第62回大会（神戸市・神戸国際会議場），2017

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

- ・ 研究代表者のローマ字氏名：池田 仁子
（IKEDA SHINOBU）
- ・ 所属機関：国立国際医療研究センター臨床
研究センター
- ・ 部局：データサイエンス部
- ・ 職名：上級研究員