

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（特設分野研究）

研究期間：2018～2022

課題番号：18KT0066

研究課題名（和文）デング熱重症化予測アルゴリズムの開発

研究課題名（英文）Development of a Dengue Fever Severity Prediction Algorithm

研究代表者

中 伊津美（NAKA, Izumi）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・特任助教

研究者番号：10723778

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：デング熱は、蚊によって媒介されたデングウイルスの感染によって引き起こされる熱性疾患である。デング熱感染者では一部の感染者のみが重症化することから、宿主の遺伝因子やウイルスとの相互作用が関与していると考えられる。本研究は、タイ人デング熱患者を対象にゲノムワイドSNP関連解析を行い、デングショック症重症化リスクアレルの同定を行った。また、性別、年齢、SNPの4変数を含めた複数の重症化予測モデルの構築を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デング熱は「なぜ一部の感染者のみが重症化するのか？」についてはよくわかっていない。本研究により、最も重症なデングショック症候群のリスクと一義的に関与している多型が同定された。また、患者の性別、年齢、重症化リスクアレルの情報から、重症化予測モデルを構築した。このことから、重症化が予想される場合には、早期に適切な治療を行う基盤情報の提供を与えられる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Dengue fever is a febrile illness caused by infection with the dengue virus, which is transmitted by mosquitoes. It has been considered that the interaction between the host's genetic factors and the virus plays a role in the severity of the disease, as only a subset of infected individuals develop severe symptoms. In this study, we conducted a genome-wide SNP association analysis in Thai patients with dengue fever to identify genetic variants associated with the risk of dengue shock syndrome, a severe complication. Additionally, we developed prediction models (machine learning algorithms) for disease severity, incorporating variables such as gender, age, and SNPs.

研究分野：人類遺伝学

キーワード：デング熱 GWAS 予測モデル

1. 研究開始当初の背景

デング熱は、蚊によって媒介されデングウイルスの感染によって引き起こされる熱性疾患である。感染者の多くでは不顕性感染として終わるが、一部の感染者では、感染複製急性期(感染2~7日目)に突然の発熱で始まるデング熱を発症し、さらにごく一部の感染者はデング出血熱を発症する。デング出血熱は症状として血漿漏出や出血があり、それがさらに重症化し臓器障害が併発すると、デングショック症候群と診断され死に至ることもある。

デングウイルスには4つの血清型が報告されており、初感染と異なる種類のデングウイルスに再感染すると重症化する、抗体依存性感染増強(Antibody-Dependent Enhancement(ADE))が報告されている。また、デング出血熱の一因として炎症性サイトカインレベルの著しい上昇があげられるが、「なぜ一部の感染者のみが重症化するのか?」についてはよくわかっていない。

2. 研究の目的

本研究は、デング熱患者を対象に、分子疫学的アプローチによって、重症化と関連する宿主側(ヒト)多型、臨床データと多型データを含めて重症化を予測するためのアルゴリズム開発を行う。

3. 研究の方法

(1) Stepwise focusing methodを採用し、step 1: 少ないサンプルでゲノムワイド関連解析(GWAS)を行ない、step 2: 絞り込まれた候補SNPに対しサンプルを増やして関連解析を行った。

step 1 [対象]15歳以下で2度目(もしくはそれ以上)のデングウイルス感染による、タイ人デング出血熱28名、デングショック症候群40名について解析を行った。[方法] Illumina Infinium Asian Screening Array-24 v1.0 BeadChipを用いて遺伝子型の決定を行った。1000 Genomes Project Phase 3を参照配列とし、IMPUTE_v2.3.2ソフトウェアを用いて遺伝子型の推定を行った。PLINK 1.9を用いてクオリティコントロールを行った。集団の階層化を検討するために主成分分析と近縁度推定を行った。年齢、サンプル収集地域、第一主成分得点、第二主成分得点を調整したロジスティック回帰分析を行った。p値<0.001のSNPについて、ExSNPデータベースを用いて遺伝子型と免疫関連遺伝子の発現量に統計的に有意な関連があるSNPを候補変異として抽出した。

step 2 [対象] デング出血熱368名、デングショック症候群70名の438名を対象とした。[方法] TaqMan SNP genotyping assayを用いて候補変異の遺伝子型の決定を行い、年齢、サンプル収集地域を調整したロジスティック回帰分析を行った。関連アリルが近傍遺伝子の発現量に与える影響を調べるため、Gene Expression Variation (GENEVAR) projectのmRNAデータの解析を行った。

(2) *LILRA3* 多型解析

LILRA3 ins/del多型を解析しtagSNPの探索を行った。検出されたtagSNPについて、TaqMan SNP genotyping assayを用いて遺伝子型の決定を行った。

(3) 進化遺伝学的解析

shapeit2ソフトウェアを用いてGWASサンプルのハプロタイプの推定を行い、rehh(R)でEHH, iHH, iHSの計算を行った。

各患者の*HLA class I*の遺伝子型データを用いてアリル毎の関連解析を行った。

(4) 性別、年齢、SNP(rs1143623とrs103294)の4変数を含めた複数の予測モデル(サポートベクターマシン:SVM、ランダムフォレスト:RF、ニューラルネットワーク:NN)を構築した。

4. 研究成果

(1) 集団の階層化を検討するために主成分分析と近縁度推定を行った結果、患者集団は東アジア集団(EAS)とクラスターを形成したものの、サンプル収集地域(Lampang、Ratchaburi)による集団分化が観察された(図1)。そのため、サンプル収集地域と第一主成分得点と第二主成分得点をロジスティック回帰モデルの説明変数に含めることで地域間の遺伝的差異の調整を行った。GWASの結果、p<0.001のSNPは717個検出された(図2)。ExSNPデータベースを用いて、免疫応答関連分子をコードする遺伝子のeQTL多型を検索した結果、43個のSNPが1つ以上の遺伝子のeQTLであることがわかった。中でも、rs1143623やrs12621220は炎症性サイトカインであるIL1-βをコードする*IL1B*遺伝子上流領域に位置する多型であった。

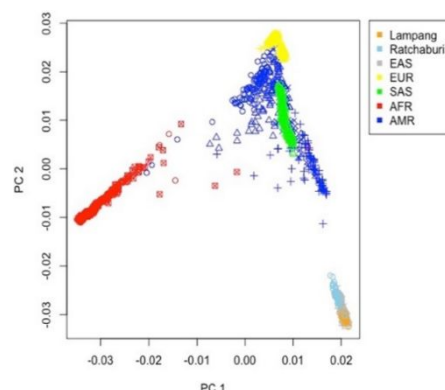


図1 主成分分析

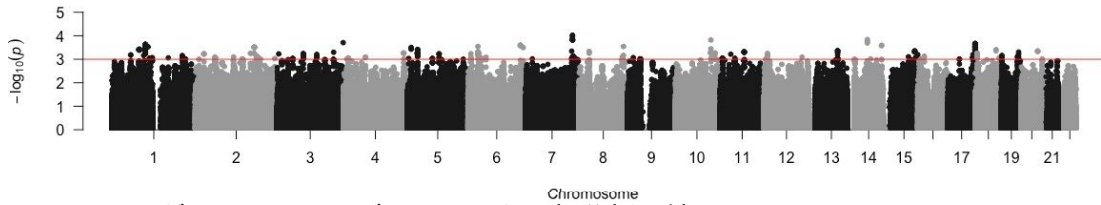


図2 ゲノムワイドロジスティック回帰分析の結果

rs1143623 について 438 名の解析を行った結果、rs1143623-G が Dengue shock syndrome (DSS) のリスクと有意な関連を示した ($p=0.001$, OR[95% CI]=1.954[1.298-2.942])。当該 SNP と、先行研究で関連が報告されている *IL1B* 上流に位置する rs1143627 について、コンディショナルロジスティック回帰分析を行った結果、rs1143623 のみが有意な関連を示した (rs1143627: $p=0.587$, rs1143623: $p=0.040$)。このことから rs1143623 が Dengue shock syndrome のリスクと一義的に関与している可能性が示唆された。また、GENEVAR の結果から rs1143623-G アリルの増加は *IL1B* の mRNA の発現量の減少と有意に関連していた ($p=0.000709$, 回帰係数=-0.3633)。*IL1-β* は、単球やマクロファージによって産生され、病原体に対する免疫応答の一つである炎症反応において重要な役割を持つことが知られている。先行研究において rs1143623-G はプロモーター機能低下が観察されており、rs1143623-G アリルが *IL1B* の発現量減少と関連していたことから、rs1143623-G アリル保有者では十分な量の *IL1-β* が産生されないことで、Dengue virus に対する有効な免疫反応を起こせず、Dengue shock syndrome の一因となっている可能性が考えられた。

(2) *LILRA3* ins/del の del タイプが Dengue shock syndrome のリスクと有意な関連を示したことから、*LILRA3* ins/del の tagSNP として rs103294 の解析を行った。その結果、rs103294-A が Dengue shock syndrome のリスクと有意に関連していた ($p=0.038$, OR[95% CI]=1.494[1.022-2.184])。

(3) rs1143623 と rs103294 について iHS を行ったが、どちらも有意差は観察されなかった (rs1143623-G: $iHS=0.497$ ($p=0.619$)), rs103294-A: $iHS=0.507$ ($p=0.612$))。ゲノムワイドに iHS を計算したところ、6 番染色体において有意な SNP が多数検出される領域 (chr6: 31,007,081-32,988,588 (GRCh37.p13)) が観察された (図3)。この領域には HLA class I 遺伝子や HLA class II 遺伝子が存在している。*HLA class I* のアリルの遺伝子型と Dengue shock syndrome リスクとの関連解析を行なったが、有意な関連を持つアリルは検出されなかった。

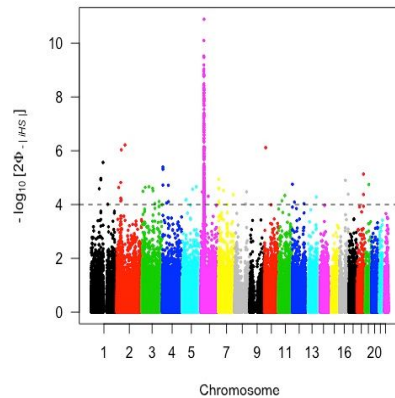


図3 ゲノムワイド iHS 解析

(4) 性別、年齢、SNP (rs1143623 と rs103294) の4変数全てのデータのある427名をトレーニングセット(299名)とテストセット(128名)の2つに無作為に分け、トレーニングセットを用いて構築したモデルでテストセットを予測し、その正答率を計算した。この操作を1,000回繰り返した結果を図4に示す。正答率の平均値は、サポートベクターマシンが0.847、ランダムフォレストが0.836、ニューラルネットワークが0.774であり、サポートベクターマシンの性能が他の二つのモデルよりもわずかに優れていた。関連SNPを検出する際に使用したサンプルを使用してモデルを構築したことで、性能の過大評価をしている可能性がある。今後、独立なサンプルセットを使用して予測性能の評価を行う予定である。

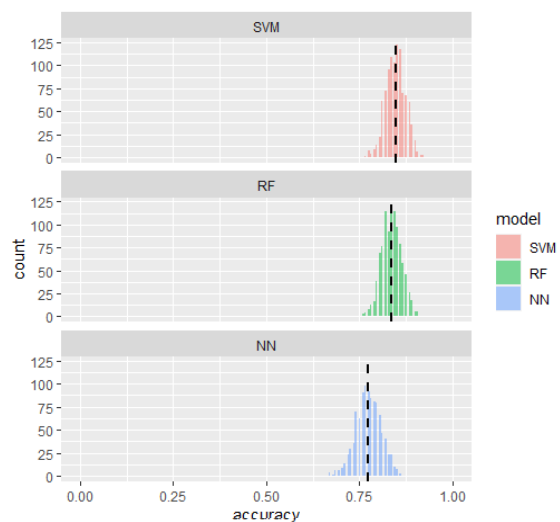


図4 各モデルの正答率の分布

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 長谷川陽央、中伊津美、西田奈央、Areerat S、Surapee A、Pathom S、Jintana P、大橋順
2. 発表標題 デングショック症候群に関連するヒト遺伝子多型の探索
3. 学会等名 第73回日本人類学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川陽央
2. 発表標題 デング熱重症化関連多型の探索
3. 学会等名 東京大学生命科学ネットワーク
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ヒトゲノム多様性研究室ホームページ http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~humgendif/
--

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	西田 奈央 (NISHIDA Nao) (50456109)	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 (82610)	

6. 研究組織（つづき）

	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	大橋 順 (OHASHI Jun) (80301141)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関