

機関番号： 82401
 研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2009～2010
 課題番号： 21790954
 研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎関連遺伝子の探索
 アトピー性皮膚炎関連遺伝子の探索
 研究課題名(英文)
 Discovery of genes associated with atopic dermatitis
 研究代表者
 広田 朝光 (HIROTA TOMOMITSU)
 独立行政法人理化学研究所・呼吸器疾患研究チーム・リサーチアソシエイト
 研究者番号： 50435674

研究成果の概要(和文)：

アトピー性皮膚炎において重要な役割を担うCCL22遺伝子について遺伝子多型を抽出し、それらの遺伝子多型について日本人の独立2集団を用いて関連解析を行った。Mantel-Haenszel法により第1集団と第2集団を統合しメタアナリシスを行ったところ、強い関連を認めた($P = .0000089$; OR, 1.35; 95% CI, 1.18-1.54)。また、ASTQ法により易罹患性アレルにおいてmRNAの発現量が高いことが認められた。CCL22の遺伝子多型は、CCL22の機能亢進により、アトピー性皮膚炎と関連していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：

CCL22 gene plays an important role in atopic dermatitis (AD). We surveyed genetic variations and conducted association studies of the gene in two independent Japanese populations. We observed a strong association between a CCL22 SNP and AD ($P = .0000089$, combined by the Mantel-Haenszel meta-analysis; OR, 1.35; 95% CI, 1.18-1.54). The susceptible allele showed higher mRNA expression in ASTQ analysis. The polymorphism of the CCL22 gene might be involved in atopic dermatitis in a gain of function manner.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アトピー性皮膚炎・遺伝子多型・遺伝学・疾患関連遺伝子

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎はその罹患率が近年増加の一途をたどっており(全人口の6%

(2003年度厚生労働省調査))、一部の症例は難治性で社会生活に支障をきたすことから、根本的治療に向けて分子レベルでの病態解明が待たれる疾

患である。

2. 研究の目的

疾患関連遺伝子の情報の蓄積は、病態の解明、疾患の原因を標的とした新しい診断法、治療法、治療薬の開発に貢献するのみならず、アレルギー疾患に対する易罹患性のリスク判定により疾患の予防、発症の遅延、早期発見、早期治療といった1次、2次予防に対しても大きく貢献し、医療経済的にも重要な役割を果たす。しかしながら、アトピー性皮膚炎には強く遺伝要因が関与すると考えられているが、遺伝要因の検索は、国内外問わず、充分とはいえ、複数の人種で相関が認められた関連遺伝子は、同じアレルギー疾患の気管支喘息と比べ極めて少ない。本研究では複数の集団を用いた症例対照相関解析を行ない、アトピー性皮膚炎の疾患関連遺伝子の探索を目指す。

3. 研究の方法

(1) アトピー性皮膚炎患者群(以下、AD群)、健常対照群(以下、対照群)の検体収集

第1集団としてAD群1000検体、対照群800検体、第2集団としてAD群500例、対照群1000例はすでに収集済みであるが、遺伝学的な解析の信頼性をより高めるため、第1集団の対照群を200検体、第2集団のAD群を500検体、それぞれ増加させた。

(2) 遺伝子多型の抽出、連鎖不平衡地図の作成及び代表的遺伝子多型の選出

アトピー性皮膚炎の病態と密接に関わりのある候補遺伝子として、自然免疫系、サイトカイン・ケモカイン系の遺伝子を中心に解析した。連鎖不平衡地図の作成には、主にHapMapデータベースの日本人45人分のGenotypeを用いた。また、特に重要と思われるCCL17(TARC)、CCL22(MDC)に関しては遺伝子の転写調節領域(上流3kb)を含め日本人12人のゲノムDNAを用いてリシーケンスを行いデータベースに未登録の遺伝子多型の探索を試みた。

(3) Genotypingと関連解析

既収集のアトピー性皮膚炎患者500検体、健常対象群800検体を用いて患者・対象群関連解析、ハプロタイプ解析を行う。TaqMan PCR法によるGenotypingを第一選択とし、Primer&Probe setを設計できない場合は、PCR-RFLP法やPCR-Direct sequence法などの手法を用いる。

アトピー性皮膚炎の検体は詳細な臨床情報(総IgE, 特異的IgE, 発症年齢, 家族歴,

合併症等)とともに収集されており、表現型を絞り込んだ(高Total IgE群、早期発症群等)解析も行う予定である。

4. 研究成果

(1) CCL22 遺伝子の遺伝子多型の抽出、連鎖不平衡地図の作成及び代表的遺伝子多型の選出

日本人12人を用いて、CCL22 遺伝子上流3kbから下流1kbまでの領域から遺伝子多型を抽出した。その結果、39の遺伝子多型を抽出し、この中よりminor allele frequencyが10%以上である34の遺伝子多型を用いて連鎖不平衡地図を作成し、7つの代表的遺伝子多型を選出した。

(2) Genotypingと関連解析

上記の7つの代表的遺伝子多型について、1次スクリーニングでAD群916人、対照群1021人、2次スクリーニングでAD群1029人、対照群1000人を用いて疾患関連解析を行った。1次と2次スクリーニングに関してメタアナリシスを行い、結果を統合したところ、エクソン上のSNPにおいて、極めて強い関連を認めた(p value = 8.93×10^{-6} , OR = 1.35(1.18-1.54))。

(3) 不死化B細胞株を用いた機能解析(ASTQ: Allele-Specific Transcript Quantification)

関連解析より得られたエクソン上のSNPに関して、CCL22の各alleleの発現量を測定するために、ASTQをTaqman法にて行った。その結果Risk alleleであるMajor alleleがMinor alleleより有意に高い発現量を示した。

これらのことから、CCL22の遺伝子多型がその発現量を正に調節することがアトピー性皮膚炎の病態形成に関与している可能性が示唆された。

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13件)

① Imoto Y, Hirota T, Noguchi E et al(8番目/12人) [査読有り]

S2554X mutation in the filaggrin gene is associated with allergen sensitization in the Japanese population. J Allergy Clin Immunol. 2010 125:498-500

② Isada A, Konno S, Hirota T et al(5番目/10人) [査読有り]

A functional polymorphism (-603A --> G) in the tissue factor gene promoter is associated with adult-onset asthma.

J Hum Genet. 2010 55:167-74.

③ Sakashita M, Hirota T, Harada M et al (2 番目/14 人) [査読有り]
Prevalence of Allergic Rhinitis and Sensitization to Common Aeroallergens in a Japanese Population.
Int Arch Allergy Immunol. 2010 151:255-261.

④ Harada M, Hirota T, Tamari M. et al (2 番目/33 人) [査読有り]
TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma.
Am J Respir Cell Mol Biol 2010 Jul 23. [Epub ahead of print]

⑤ Undarmaa S, Hirota T, Suzuki Y et al (10 番目/13 人) [査読有り]
Replication of genetic association studies in asthma and related phenotypes. 2010 55:342-9.

⑥ 広田朝光, 玉利真由美 (1 番目/2 人) [査読なし]
基礎医学とのダイアログ SNP 解析を用いた稀少疾患の解明 THE Lung perspectives 2010 18(2): 52-56

⑦ 広田朝光, 富田かおり, 玉利真由美 (1 番目/3 人) [査読なし]
特集: アレルギー疾患に対するオーダーメイド医療 I. アレルギー疾患の遺伝子と遺伝学 アレルギー・免疫 2010 17(10): 1652-1660

⑧ 広田朝光, 富田かおり, 玉利真由美 (1 番目/3 人) [査読なし]
小児アレルギー疾患の治療・管理の新しい展開 I. 基礎研究の進歩 2. アレルギー疾患と遺伝子多型 小児科臨床 63(12): 2409-2415

⑨ 広田朝光, 富田かおり, 玉利真由美 (1 番目/3 人) [査読なし]
綜説 薬剤の効果と遺伝要因
呼吸と循環 2010 59(6): 597-604

⑩ Hitomi Y, Hirota T, Tamari M. et al (6 番目/19 人) [査読有り]
Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma.
J Allergy Clin Immunol. 2009 124:779-85

⑪ Harada M, Obara K, Hirota T et al (3 番目/16 人) [査読有り]
A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma.
Am J Respir Crit Care Med. 2009 180:1048-55.

⑫ Kawai T, Hirota T, Noguchi E et al (9 番目/12 人) [査読有り]
Associations between decay- accelerating factor polymorphisms and allergic respiratory diseases.
Clin Exp Allergy. 2009 39:1508-14.

⑬ Otsuka K, Hirota T, Noguchi E et al (5 番目/11 人) [査読有り]
SMAD3 as an atopic dermatitis susceptibility gene in the Japanese population.
J Dermatol Sci. 2009 55:200-2.

[学会発表] (計 4 件)

① 広田朝光 CCL22 遺伝子多型とアトピー性皮膚炎の関連解析 MW6-3
第 60 回日本アレルギー学会秋期学術大会, 2010 年 11 月 25 日, 東京

② 広田朝光 CCL22 遺伝子多型とアトピー性皮膚炎の関連解析 OP4-19
第 55 回日本人類遺伝学会, 2010 年 10 月 28 日, 大宮

③ 広田朝光 17q21 locus の遺伝子多型とスギ花粉症の相関解析 PA055
日本人類遺伝学会第 54 回大会, 2009 年 9 月 24 日, 東京

④ 広田朝光 日本人集団におけるアトピー性皮膚炎と乾癬の GWAS の検証 MS-21-16
第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009 年 9 月 24 日, 秋田

[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)
独立行政法人理化学研究所・呼吸器疾患研究
チーム・リサーチアソシエイト
50435674

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者