

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102
研究種目：基盤研究(B)
研究期間：2012～2014
課題番号：24390206
研究課題名(和文)統合的ゲノム情報による難治性喘息多様性の分子機構の解明

研究課題名(英文)Comprehensive analysis of severe asthma pathogenesis

研究代表者
檜澤 伸之(HIZAWA, NOBUYUKI)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：00301896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：40歳以上で発症した喘息、さらには喫煙の影響がほとんどない喘息を対象としたGWASをそれぞれ施行。それぞれのGWASからPBMUCL2遺伝子、HAS2遺伝子を新規喘息感受性遺伝子として同定した。一方、呼吸機能のGWASでは有意な遺伝的関連を認めなかったが、GWASの結果から検討した呼吸機能の遺伝率は50%以上であり、個々の遺伝因子の影響は強くないが、多数の遺伝因子の集合的な影響によって呼吸機能が規定されていることが推測された。これまでに欧米で報告されている16の呼吸機能関連遺伝子の情報を用いて個人の遺伝的Risk Scoreを計算、喘息及びCOPDの発症のリスクになっていることを確認した。

研究成果の概要(英文)：To identify additional genetic determinants of susceptibility to asthma or COPD, we conducted GWAS using a selected Japanese population with reduced tobacco smoking exposure or with late-onset-asthma. These GWASs identified HAS2 gene and PBMUCL2 gene as susceptibility genes for particular phenotypes of asthma. PBMUCL2 gene was also associated with COPD or DPB. We have also conducted GWAS for FEV1/FVC, which failed to find any significant regions; however, this GWAS indicated that the heritability for FEV1/FVC were 41.6% in a Japanese population. Therefore, given many loci with individual weak effects may contribute to asthma risk, in this study, we created a quantitative score of genetic load based on 16 SNPs implicated in lower lung function both in Japanese and non-Japanese populations. This genetic risk score (GRS) for lower FEV1/FVC was consistently associated with the onset of asthma in two independent Japanese populations as well as with the onset of COPD.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：喘息 COPD 呼吸機能 GWAS HAS2 PBMUCL2 DPB

1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで一貫して喘息や COPD の分子病態の解明に向けて、遺伝的な側面からの検討を続けてきた。平成 21 年度から 3 年間の科学研究費[基盤(B)]では特に以下に示す成果を上げた。1) 成人及び小児の気管支喘息に対するゲノムワイド遺伝子関連解析 (GWAS) を実施し、HLA 遺伝子 (PLoS genetics, 2011) や TSLP 遺伝子 (Nature genetics, 2011) の重要性を明らかにした。2) 種々の外因に対するセンサー分子である TSLP (Int J COPD, 2011) 及び Nrf2 (BMC Med genetics, 2011) の呼吸機能の低下に及ぼす役割を健常人コホート研究によって明らかにし、喘息や COPD の病因・病態における外因に対する気道の一次防御機構の破綻が重要な役割を果たしていることを示した。一方、我々の GWAS による検討を含め、これまでの喘息遺伝子解析の結果から予測される個々の遺伝子の影響は極めて小さく、まさにこの事実が遺伝子解析結果を臨床に還元するための最大のハードルとなっている。個々の遺伝子の影響が小さい理由として 1) 喘息分子病態の多様性、2) Rare variants の重要性、3) 遺伝子 - 遺伝子、遺伝子 - 環境交互作用の存在が指摘されている。申請者はこれらの問題点を統合的に解決していくことが、症候群としての喘息分子病態の多様性の解明につながると考え、研究を開始した。

2. 研究の目的

喘息や COPD などの難治性気道疾患は気道の慢性炎症、リモデリングや気流制限によって特徴づけられる多因子疾患であり、多様な表現型 (Phenotype) を呈する。気道疾患の難治化を規定する遺伝因子の同定は、その分子病態の多様性を明らかにし、病態の理解に基づいた個別化治療や一次予防の実現を可能にする。これまで申請者らは一貫して喘息や COPD の発症や病態に關与する遺伝因子の探索を行ってきた。本研究では、低喫煙喘息、中高年発症喘息、呼吸機能、に着目した GWAS を施行し、より明確な Phenotype を有する患者群を対象とした遺伝解析によって、新たな疾患感受性遺伝子の同定を試みる。

3. 研究の方法

低喫煙集団：喫煙指数 200 以下の日本人成人 974 名 (健常人 734 名、喘息患者 240 名) を対象とし、喘息に対するロジスティックモデルにより 480,026 個の一塩基多型 (SNP) を用いた GWAS を行った。最も有意な関連が認められた SNP について、日本人成人 949 名 (喫煙指数 200 以下の健常人 531 名、喘息患者 418 名) を対象として、喘息との関連を追試した。

中高年発症喘息：40 歳以上発症の喘息と健常人からなる 2 つの集団 (1st : 喘息 588 名、健常人 2375 名、2nd : 喘息 132 名、健常人 967

名) を対象にそれぞれ GWAS を行った。両者の結果のメタ解析にて、 $p < 1 \times 10^{-5}$ を満たす SNP についてさらに独立した 40 歳以上発症の喘息集団を用いて追試を行った (3rd : 喘息 169 名、健常人 701 名)。

呼吸機能：非喘息健常人 967 名を対象とし、一秒率に対して GWAS を行った (480,026 SNP)。欧米における GWAS にて一秒率との関連が報告された 24 遺伝子のうち 16 遺伝子において日本人においても遺伝的関連が示唆された ($P < 0.05$)。16 遺伝子の遺伝子型に基づいて個々人の呼吸機能関連 Risk score を算出した。Risk score と一秒率、経年的一秒量変化 (健常人 $N=803$)、さらには独立した 2 つのコホート (筑波コホート：健常人 $N=1364$ 、喘息患者 $N=578$ 、北海道コホート：健常人 $N=692$ 、喘息患者 $N=350$) における喘息発症との遺伝的関連を検討した。

4. 研究成果

低喫煙集団：GWAS 解析にて最も強く関連性が認められたのは、HAS2 遺伝子近傍の rs7846389 であった ($P = 1.43 \times 10^{-7}$)。同 SNP と喘息との関連は追試にて再現された。合計 3 つのコホートを用いたメタ解析においてゲノムワイド有意水準での関連が認められた ($P = 7.92 \times 10^{-9}$)。

中高年発症喘息：2 つの集団を用いた GWAS のメタ解析では、10 個の SNP が $p < 1 \times 10^{-5}$ を満たした。rs2523870 及び rs2517548 はさらに 3 番目の集団においても再現性 ($p < 0.05$) が認められた (meta $p < 5 \times 10^{-7}$)。両 SNP はリンパ芽球において HCG22 遺伝子の mRNA 発現と強い関連が認められた ($P < 5 \times 10^{-84}$)。さらに rs2523870 は COPD 及び DPB とも有意に関連した。

呼吸機能：Risk score は一秒率と強く関連した ($p < 0.0001$) が、一秒量の経年的変化とは関連がなかった。いずれのコホートにおいても喘息患者において有意に Risk score が高値を示した (meta $P = 9.6 \times 10^{-4}$)。さらに同リスクスコアは COPD の発症とも有意に関連していた。

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 20 件)

1) Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N: Heritability of pulmonary function estimated from genome-wide SNPs in healthy Japanese adults. *Respir Investig*. 2015;53(2):60-7.

2) 清水薫子, 今野 哲, 木村孔一, 荻 喬

博,谷口菜津子,清水健一,伊佐田朗,服部健史,檜澤伸之,谷口正実,赤澤 晃,西村正治:北海道上土幌町における成人喘息,アレルギー性鼻炎有病率の検討 2006年,2011年の比較 .アレルギー. 2014:63(7):928-937

3)飯島弘晃,山田英恵,谷田貝洋平,金子美子,内藤隆志,坂本透,増子裕典,広田朝光,玉利真由美,今野哲,西村正治,檜澤伸之:アレルギー特異的IgE反応性から分類した喘息フェノタイプ Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) 遺伝子と喫煙の役割 .アレルギー. 2014:63(1):33-44.

4)檜澤伸之:[気管支喘息:診断と治療の進歩] 病因と病態 喘息関連遺伝子.日本内科学会 雑誌.2013: 102(6):1365-1369

5) Yatagai Y, Sakamoto T, Yamada H, Masuko H, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. Genomewide association study identifies HAS2 as a novel susceptibility gene for adult asthma in a Japanese population. Clin Exp Allergy.2014; 44(11): 1327-34.

6) Nanatsue K, Ninomiya T, Tsuchiya M, Tahara-Hanaoka S, Shibuya A, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Arinami T, Noguchi E. Influence of MILR1 promoter polymorphism on expression levels and the phenotype of atopy. J Hum Genet.2014; 59(9):480-3.

7) Taniguchi N, Konno S, Isada A, Hattori T, Kimura H, Shimizu K, Maeda Y, Makita H, Hizawa N, Nishimura M. Association of the CAT-262C>T polymorphism with asthma in smokers and the nonemphysematous phenotype of chronic obstructive pulmonary disease. Ann Allergy Asthma Immunol.2014; 113(1):31-36.

8) Konno S, Hizawa N, Makita H, Shimizu K, Sakamoto T, Kokubu F, Saito T, Endo T, Ninomiya H, Iijima H, Kaneko N, Ito YM, Nishimura M; J-Blossom Study Group. The effects of a Gly16Arg ADRB2 polymorphism on responses to salmeterol or montelukast in Japanese patients with mild persistent asthma. Pharmacogenet Genomics. 2014; 24(5): 246-55.

9) Taniguchi N, Konno S, Hattori T, Isada A, Shimizu K, Shimizu K, Shijubo N, Huang SK, Hizawa N, Nishimura M:The CC16 A38G polymorphism is associated with asymptomatic airway hyper-responsiveness

and development of late-onset asthma. Ann Allergy Asthma Immunol.2013: 111(5):376-381.

10) Hizawa N: Pharmacogenetics of chronic obstructive pulmonary disease. Pharmacogenomics. 2013:14(10):1215-25.

11) Iijima H, Kaneko Y, Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Sakamoto T, Naito T, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Noguchi E, Hizawa N: A distinct sensitization pattern associated with asthma and the thymic stromal lymphopoietin (TSLP) genotype. Allergol Int.2013:62(1): 123-30.

12) Kaneko Y, Masuko H, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Yatagai Y, Yamada H, Konno S, Nishimura M, Noguchi E, Hizawa N: Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. Allergol Int.2013:62(1): 113-21.

13) Ano S, Morishima Y, Ishii Y, Yoh K, Yageta Y, Ohtsuka S, Matsuyama M, Kawaguchi M, Takahashi S, Hizawa N: Transcription factors GATA-3 and ROR t are important for determining the phenotype of allergic airway inflammation in a murine model of asthma. J Immunol. 2013: 190(3): 1056-65

14) Tomita K, Sakashita M, Hirota T, Tanaka S, Masuyama K, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Hizawa N, Kubo M, Nakamura Y, Tamari M: Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the Japanese population. Allergy.2013: 68(1):92-100.

15) Kaneko Y, Yatagai Y, Yamada H, Iijima H, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N: The search for common pathways underlying asthma and COPD. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.2013; 8:65-78.

16) Yatagai Y, Sakamoto T, Masuko H, Kaneko Y, Yamada H, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Imoto Y, Tokunaga T, Fujieda S, Konno S, Nishimura M, Hizawa N: Genome-wide association study for levels of total serum IgE identifies HLA-C in a Japanese population. PLoS One. 2013: 8(12): e80941.

17) Kaneko Y, Yatagai Y, Yamada H, Iijima H, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N: The search for common pathways underlying

asthma and COPD. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2013;8:65-78.

18) Tomita K, Sakashita M, Hirota T, Tanaka S, Masuyama K, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Hizawa N, Kubo M, Nakamura Y, Tamari M: Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the Japanese population. Allergy 2013; 68(1): 92-100.

19) Iijima H, Kaneko Y, Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Sakamoto T, Naito T, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Noguchi E, Hizawa N: A Distinct Sensitization Pattern Associated with Asthma and the Thymic Stromal Lymphopoietin (TSLP) Genotype. Allergol Int. 2013; 62(1):123-30.

20) Kaneko Y, Masuko H, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Yatagai Y, Yamada H, Konno S, Nishimura M, Noguchi E, Hizawa N: Asthma Phenotypes in Japanese Adults - Their Associations with the CCL5 and ADRB2 Genotypes. Allergol Int. 2013; 62(1):113-21.

〔学会発表〕(計 18 件)

1) Yatagai Y, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: Genome-Wide Association Study for Late-Onset Asthma Demonstrates Possible Association with a Gene Related to Diffuse Panbronchiolitis.

International Conference American Thoracic Society 2015 May, Denver

2) Yamada H, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: The Role of Pulmonary Function Genes in the Pathogenesis of Asthma.

International Conference American Thoracic Society 2015 May, Denver

3) 檜澤 伸之: シンポジウム 9 気管支喘息の Phenotype レビュートーク: 喘息の Phenotype クラスター解析の意義

第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月品川

4) Yatagai Y, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: Genome-wide association study for late-onset asthma demonstrates possible association with a gene related to diffuse panbronchiolitis.

Session-Oral 6 Clinical aspects of biomedical asthma (and related diseases) The role of pulmonary function genes in the pathogenesis of asthma 第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月品川

5) Yamada H, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: English Session-Oral 6 Clinical aspects of biomedical asthma (and related diseases) The role of pulmonary function genes in the pathogenesis of asthma 第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月品川

6) 檜澤伸之: 難治性喘息のフェノタイプ/エンドタイプ ゲノム情報からのアプローチ . 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会 2015 年 4 月, 東京

7) 山田英恵, 檜澤伸之, 野口恵美子, 玉利真由美, 他: 呼吸機能関連遺伝子による喘息病態の検討. 第 55 回日本呼吸器学会学術講演会 2015 年 4 月, 東京

8) 檜澤伸之: 喘息のエンドタイプにもとづく治療の可能性 シンポジウム 中高音発症喘息のフェノタイプ, エンドタイプ. 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2014: 京都

9) 檜澤伸之: エビデンスからの SMART 療法

イブニングシンポジウム 4 今後の喘息・COPD 治療 ~ ICS/LABA の有用性 ~ : 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2014: 京都

10) 檜澤伸之: 気道炎症をターゲットとした喘息の治療戦略: 教育セミナー14: 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2013: 横浜

11) Yatagai Y, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: Genome-Wide Association Study Identifies Hyaluronan Synthase 2 (HAS2) As A Susceptibility Gene For Adult Asthma In A Japanese Population. ATS 2014 International Conference San Diego, USA

12) Yamada H, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: The Role Of Lung Function Genes In The Development Of Asthma. ATS 2014 International Conference San Diego, USA

13) 檜澤伸之: 成人喘息のフェノタイプ: クラスター解析と遺伝因子: 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム 8, 2013: 横浜

14) 檜澤伸之: Phenotype に基づく喘息診療: 第 53 回日本呼吸器学会総会イブニングシンポジウム 1 気管支喘息・COPD 治療へのアプローチ ~ ICS/LABA 配合剤の可能性, 2013: 東京

15) Hizawa N: Asthma phenotypes in Japanese adults and their associations

with the CCL5 and ADRB2 genotypes: The 53rd Annual Meeting of the Japanese Respiratory Society 2013 International Symposium "Phenotype to genotype of asthma and COPD"

16) Yatagai Y, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: Genome-Wide Association Study Of Serum Total IgE Levels In The Japanese Population Identifies A Novel Responsible Locus In HLA Class I Region. ATS 2013 International Conference, Denver, USA

17) Yamada H, Noguchi E, Tamari M, Hizawa N: A Genomewide Association Study In Healthy Japanese Adults Replicated The Previously Reported Susceptibility Genes To Airflow Limitation. ATS 2013 International Conference, Denver, USA

18) 檜澤伸之: 喘息難治化における遺伝因子の役割, 第23回国際喘息学会日本・北アジア部会シンポジウム4喘息難治化因子とその対策, 2013: 東京

〔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:
出願年月日:
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

檜澤 伸之 (Hizawa Nobuyuki)
筑波大学 医学医療系 教授

研究者番号: 00301896

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者

野口 恵美子 (Noguchi Emiko)
筑波大学 医学医療系 教授
研究者番号: 40344882

玉利 真由美 (Tamari Mayumi)
独立行政法人理化学研究所
呼吸器疾患研究チーム チームリーダー
研究者番号: 00217184