

200907009A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

(ヒトゲノムテーラーメイド研究事業)

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツール
および遺伝子検査システムの開発に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 猪子 英俊

平成22(2010)年 5月

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

(ヒトゲノムテーラーメイド研究事業)

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツール
および遺伝子検査システムの開発に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 猪子 英俊

平成22(2010)年 5月

【目 次】

班員名簿

I. 総括研究報告

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツール

および遺伝子検査システムの開発に関する研究 ----- 1

研究代表者 猪子英俊

II. 分担研究報告

1. 関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測アルゴリズム

の開発に関する研究 ----- 15

分担研究者 井ノ上逸朗

研究協力者 中岡博史

研究協力者 田嶋 敦

研究協力者 成田 暁

2. リウマチ感受性遺伝子解析に関する研究 ----- 26

分担研究者 岡 晃

分担研究者 田中正史

研究代表者 猪子英俊

3. 関節リウマチとHLAの関連分析に関する研究 ----- 31

分担研究者 光永滋樹

研究協力者 鈴木康夫、本間康彦、桑名正隆、柏瀬貢一、成田 暁

協力者 奥平裕子、國井七絵、吉川枝里、中川美弥子、伊藤とも美

研究代表者 猪子英俊

4. 等温増幅法による多型解析法の開発に関する研究 ----- 45

分担研究者 光永滋樹、木下健司、太田正穂

協力者 奥平裕子、吉川枝里

研究代表者 猪子英俊

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 55

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 65

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツールおよび遺伝子検査システムの開発
に関する研究班

班員名簿

| 区分 | 氏名 | 所属 |
|-------|-------|--------------------------|
| 研究代表者 | 猪子 英俊 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| 分担研究者 | 井ノ上逸朗 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 田中 正史 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 岡 晃 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 光永 滋樹 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 木下 健司 | 武庫川女子大学薬学部ゲノム機能解析学 |
| | 太田 正穂 | 信州大学医学部法医学 |
| 研究協力者 | 鈴木 康夫 | 東海大学医学部内科学系リウマチ内科学 |
| | 本間 康彦 | 東海大学医学部内科学系循環器内科学・検診センター |
| | 桑名 正隆 | 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 |
| | 柏瀬 貢一 | 東京都赤十字血液センター検査一部 |
| | 田嶋 敦 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 成田 暁 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 |
| | 中岡 博文 | 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団 |

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総括研究報告書

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測ツール
および遺伝子検査システムの開発に関する研究

| | | | |
|-------|-------|--------------------|----|
| 研究代表者 | 猪子 英俊 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 教授 |
| 分担研究者 | 井ノ上逸朗 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 教授 |
| 分担研究者 | 田中 正史 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 教授 |
| 分担研究者 | 岡 晃 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 講師 |
| 分担研究者 | 光永 滋樹 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 教授 |
| 分担研究者 | 木下 健司 | 武庫川女子大学薬学部ゲノム機能解析学 | 教授 |
| 分担研究者 | 太田 正穂 | 信州大学医学部法医学 | 教授 |

研究要旨

本研究プロジェクトでは、診療情報と遺伝子多型の情報を解析することにより関節リウマチの発症の初期に病型・病態進行を予測するアルゴリズムの開発と、アルゴリズムに必要な遺伝子多型のタイピングシステムの開発を目指している。そのために、関節リウマチ感受性遺伝子領域の SNP 解析、HLA タイピング、アルゴリズム開発のためのメタアナリシスと易罹患性モデルの構築、等温増幅方による遺伝子多型解析法の開発を行い、以下の結果を得た。

関節リウマチの病型を、ムチランス型、多関節進行型、少関節型に分け、SNPの遺伝子型と病型との関連を調べたところ、5領域において病型との有意な関連が見出された。HLA classII 領域では少関節型、*CD244*遺伝子領域ではムチランス型、*MRPL48*遺伝子領域では少関節型、*PRKCH*遺伝子領域ではリウマトイドファクター・ネガティブならびに*FTO*遺伝子領域ではムチランス型との関連がそれぞれ認められた。

HLA との関連解析で関節リウマチ感受性であったものは、DRB1*04:05, DRB1*04:01, DRB1*10:01, DPB1*02:01、RA 抵抗性であったものは DRB1*13:02, DRB1*08:02, DPB1*09:01 であった。DRB1 および DPB1 以外の HLA 遺伝子座でも有意な関連が検出されたが、Haploview による LD ブロック および D'等の解析により、これらは DRB1 アリルとの連鎖不平衡によるものと考えられた。一方、DPB1 で検出された RA 感受性アリルおよび抵抗性アリル は、DRB1 との連鎖不平衡では説明ができないので、独立して RA 感受性および抵抗性を付与している可能性が示唆された。特定の DRB1 アリルあるいは遺伝子型で病型との有意な関連が検出された。

関節リウマチとの関連が報告されている複数の感受性遺伝子についてメタアナリシスを行うとともに、シミュレーション実験を行い、5,000 から 20,000 検体を用いたゲノム全域関連解析のメタアナリシスにおいて、異質性の増加に伴い、検出力が低下し、ゲノムワイド有意水準を満たした場合にオッズ比が過大推定される「勝者の呪い」という現象が起こることを明らかにした。

メタアナリシスの情報をデータベースから網羅的に収集し、ベイズの定理を用いて、11SNPs および HLA-DRB1 の情報による評価モデル、genomic profile を構築した。Genomic profile に基づく遺伝的予測の正確度を、ROC 曲線およびその AUC 値によって評価したところ、上記遺伝的マーカーのみを用いた場合、AUC は 0.70 であり、性別の効

果を加えると 0.74 であった。これは、遺伝的多型と性別の情報だけでも比較的精度の高い易罹患性予測が可能であることを示唆するものである。

等温増幅法の一つである LAMP を改変した方法により HLA のタイピングを行った場合、サンプルの状態により非特異的反応・増幅が起こり間違った結果が出る場合があることが分かった。検討の結果、この非特異的反応の多くはサンプル DNA 中にランダムに存在するニックが原因であると推定された。反応液組成を再検討し、非特異的反応を低減して本法の分解精度・信頼性を高めた。同法により SNP タイピングも可能であった。さらにプラスチック基板上に複数のプローブ（プライマー）を固定しマルチプレックス化を行い、可能であることを示した。これらにより、関節リウマチの病型・病態進行予測ツールで必要となる HLA-DRB1 と SNP の情報を、同一のプラットフォーム上でタイピングすることが可能となった。

A. 研究目的

本研究は関節リウマチ（RA）感受性遺伝子の多型と、病型および抗CCP抗体等の診療情報との関連解析に基づくアルゴリズム開発により発症初期に病態進行を予測し、それによる適切な投薬・治療での患者QOLの向上を目指すとともに、それらの診断に用いるための感受性遺伝子の SNP、HLAの迅速・簡便な検査法を開発することにより、“ベンチワークからベッドサイドへ”の医療の実現を目的としている。

B. 研究方法

本研究のために今年度も、診療情報および多型解析結果のデータベースの構築とそれに基づく予測アルゴリズムの開発、② SNP、HLAの多型解析および関連分析、③ 簡便・迅速・安価な多型検査システムの開発、に関しそれぞれサブグループを形成し実行した。

① 診療情報および多型解析結果のデータベースの構築とそれに基づく予測アルゴリズムの開発：

東海大学医学部付属病院リウマチ内科および慶應義塾大学病院リウマチ内科に来院した関節リウマチ患者、東海大学医学部付属病院検診センター受診者（対照群）、から文書によるインフォームドコンセントを取得した上で、診療情報と血液検体入手した。血液検体から常法によりDNAを抽出しDNA多型の解析に用いるとともに、診療情報および多型解析結果（HLA

およびSNPタイピング結果）を入力しデータベースを構築した。これまでに関節リウマチ患者症例438例（ムチランス型12例、多関節進行型182例、少関節型95例、不明4例）、検診センター受診者2,013例（関節リウマチの家族歴なし1,809例、家族歴あり192例、関節リウマチ本人12例）を収集した。この他に、関節リウマチ患者症例938例、対照群937例を収集済みであり、その一部を解析に用いた。

メタアナリシスにおける研究間異質性を評価する統計量の特長や研究間異質性の度合いと偽陽性率および検出力との関係性を評価するシミュレーション実験を行った。統合する研究の数、各研究あたりのサンプル数、疾患感受性アレル頻度、リスクアレルのオッズ比、これらパラメータの組み合わせを変化させたシミュレーション実験を行うことで、パラメータ間の相互作用についても評価した。シミュレーション実験は各パラメータ・セットに対して100,000反復実行した。

PubMedおよびNHGRI GWAS catalogより、系統的文献検索によりメタアナリシスの情報を網羅的に収集した。抽出したオッズ比の推定値およびアレル頻度の情報に基づき、ベイジの定理を用いて、疾患のリスクに関するgenomic profileを構築した。Genomic profileの予測能をROC曲線およびAUC統計量で評価した。

② SNP、HLAの多型解析および関連分析：

我々が同定した感受性遺伝子領域をはじめ、多くの文献を精査することにより感受性遺伝子領域を厳選した。これらの領域から、日本人集団において MAF (Minor Allele Frequency) 0.1 以上の SNP、さらに pair-wise r^2 を算出し、 $r^2 > 0.8$ で規定される LD ブロックについては tagging して候補 SNP をリストアップした。この SNP リストからコンバージョンレートが高いと予測される SNP をさらに厳選し、関節リウマチの感受性遺伝子領域 35 個、平均解像度 6.0kb にて合計 SNP 数 1,152 個配置した。詳細な臨床情報を有する患者 380 個体ならびに健常者 570 個体を対象として illumina 社の BeadsExpress による goldengate-Assay によりこれらの SNP の遺伝子型を決定した。

HLA のタイピングは蛍光ビーズを用いた SSO 法 (Luminex 法) (LABType SSO, ベリタス) により行った。DRB1 の shared epitope は、du Montcel ST et al. の報告に従い分類し解析した。統計解析は R ソフトウェアを用いて、Fisher's Exact Test により行った。

病型との関連解析は、Ochi の分類によりムチランス型、多関節進行型、少関節型に分けて行った。

③ 簡便・迅速・安価な多型検査システムの開発:

等温増幅反応は Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) を用い、その反応液組成や反応条件、プライマーの配列等を検討し、反応特異性の向上を行った。LAMP 反応は、SYBR Green I 存在下で ABI 社の PRISM7000 または PRISM7500 を使用し、増幅した二本鎖 DNA に SYBR Green I がインターカレートして増大する蛍光強度をモニターすることにより増幅の有無を判定した。

さらに、プローブを固定したプラスチック基板上で LAMP を行い、発色反応により陽性プローブを検出するマルチプレックス化についても検討した。96 well プレートに各 well に 5'末端を C6 アミノ化したプローブをプラスチック基板上に固定化した。その後 biotin-dUTP 存在下、各 well 中で

LAMP 反応を行った。プラスチック基板上のプローブから LAMP 反応により伸長した DNA、すなわち陽性プローブ、の検出はストレプトアビジン-AP (バイオ・ラッド) を反応させ、BCIP/NBT 溶液 (パーキンエルマー) により発色させた。

C. 研究結果

① 診療情報および多型解析結果のデータベースの構築とそれに基づく予測アルゴリズムの開発:

ゲノムワイド関連解析のメタアナリシスにおける研究間異質性が統計学的結論に及ぼす影響を検討するため、全ての研究に共通する単一の効果を仮定する母数モデル (FEM) と、研究間で遺伝的効果の異質性を許容する変量モデル (REM) を用いて比較した。

REM を用いた場合、偽陽性率の増加は比較的小さかったが、異質性の検定 (Cochran's Q test; $P < 0.1$) の検出力が 0.8 未満となるシミュレーション条件下であっても、FEM の利用した場合、偽陽性率が増加することが分かった。このことから、REM を適用することが望ましいと考えられた。

さらに、症例・対照が計 5,000 から 20,000 の検体を用いたゲノムワイド関連解析のメタアナリシスにおいて、異質性の増加に伴い、遺伝子 - 疾患の関連を同定する検出力が低下し、ゲノムワイド有意水準を満たした場合にオッズ比が過大推定される「勝者の呪い」という現象が起こることを明らかにした。この現象は、統合されるトータルのサンプル数が少なく、リスクアレルの頻度が低く、オッズ比の真値が小さい場合に顕著であることが分かった。

関節リウマチをモデル疾患とし、メタアナリシスに基づき、易罹患性予測モデルを構築する統計手法の開発を行った。関節リウマチの遺伝的関連解析に関するメタアナリシスの情報を網羅的に収集し、精度が高く、一般化可能性の高い疾患-遺伝子の関連を抽出し、抽出したオッズ比の推定値およびアレル頻度の情報から、ベイズの定理を用いて、疾患のリスクに関する genomic profile を構築するという手法である。変量効果モデルのメタアナリシスで有意水準 $P < 0.0001$ を満たした 11SNPs および HLA-DRB1 の情報による評価モデルを構築した。構築した Genomic profile に基づく遺伝的予測の正確度を、ROC 曲線およびその AUC 値によって評価したところ、上記遺伝的マーカーのみを用いた場合、

AUCは0.70であり、性別の効果を加えると0.74であった。

② SNP、HLAの多型解析および関連分析：

SNPの解析では、ハーディーワインバーグ平衡からの偏り等により、最終的に解析に使用可能なSNPは944SNP(81.9%)となった。得られたデータをもとに、病型による層別化をしないで関連解析を行ったところ(mode: log-additive)、HLA領域におけるrs17191234で $P=8.4 \times 10^{-9}$ 、MRPL48遺伝子領域におけるrs7935825で $P=9.3 \times 10^{-4}$ 、PRKCH遺伝子領域におけるrs12887002で $P=9.3 \times 10^{-4}$ という関連が示された。

病型により層別化して関連解析を行ったところ以下の結果を得た。少関節炎型でのみ関連のあるSNPが検出された領域はHLA-ClassII領域におけるrs9277386で $P=1.2 \times 10^{-4}$ 、OR=2.88 (mode: recessive)、ならびにMRPL48遺伝子領域におけるrs3817514で $P=2.0 \times 10^{-4}$ 、OR=2.56 (mode: recessive)。ムチランス型ではCD244遺伝子領域におけるrs3573389で $P=1.2 \times 10^{-3}$ 、OR=7.66 (mode: recessive)、ならびにFTO遺伝子領域におけるrs2665272で $P=5.4 \times 10^{-3}$ 、OR=3.50 (mode: log-additive)。リウマトイドファクター(RF)陽性ではPRKCH遺伝子領域におけるrs11627926で $P=1.2 \times 10^{-4}$ 、OR=0.38 (mode: dominant)であった。

HLAとの関連解析では、DRB1*04:05、DRB1*04:01、DRB1*10:01がRA感受性であり、DRB1*13:02、DRB1*08:02、DRB1*14:05は抵抗性であった。他のHLA遺伝子座でもRA感受性、および抵抗性アレルが検出されたが、これらはDRB1アレルとの連鎖不平衡によるものと考えられた。一方、DPB1で検出されたRA感受性アレルDPB1*02:01、および抵抗性アレルDPB1*09:01は、DRB1との連鎖不平衡では説明ができないので、独立してRA感受性および抵抗性を付与している可能性が示唆された。HLA遺伝子型では、DRB1*04:05、09:01、DRB1*04:01、

04:05、DRB1*04:05、04:05で強い関連がみられた

病型との関連を解析したところ、DRB1*04:05はすべての病型に対し感受性であったが、DRB1*04:01は多関節進行型、DRB1*04:10は少関節型、A*24:02はムチランス型はとの関連が認められた。HLA遺伝子型では、DRB1*04:01、04:05のヘテロ、DRB1*04:05、09:01のヘテロおよびDRB1*04:05のホモが多関節進行型との強い関連を示したが、このなかでDRB1*04:05、09:01は少関節型との関連は示さなかった。

Shared Epitope (SE)の解析ではS3P、S2が感受性であり、S1とXが抵抗性であった。S3Dは中立であった。病型との関連では、S1は多関節進行型に対し、強い抵抗性を付与するが、少関節型に対する効果はそれよりも弱い傾向であった。遺伝子型として解析した場合も、S1のホモは多関節進行型に対し抵抗性であり、S3PXのヘテロは多関節進行型でのみ感受性であった。

③ 簡便・迅速・安価な多型検査システムの開発：

検討の結果、LAMP反応によりHLAのタイピングを行った場合、サンプルDNA中にランダムに存在するニックからstrand displacementにより生じた1本鎖にプライマーがアニールして伸長反応が起こり、非特異反応が起こる場合があることが分かった。そのため、反応液組成の再検討を行い、非特異反応の低減をはかった。この反応系を用いて、HLA-DRB1のlow-resolution typing system (血清学的レベルでのタイピング)を開発した。これにより、日本人集団でみられるDRB1アレル31種類を増幅の有無により11群に分ける血清学的レベルでのタイピングが可能となった。これは60分の反応終了後に、SYBR Green Iを滴下することにより肉眼的にも判定が可能であった。また、この反応系ではSNPのタイピングも可能であった。

さらに、この反応系をプラスチック基板上に複数のプローブ(プライマー)を固定した系に適用することにより、マルチプレックス化も可能であった。これは等温増幅の増幅産物をプラスチック基板上の特異的プローブ(プライマー)により捕捉し、

Bst DNA polymerase のstrand displacement 活性によるプローブ（プライマー）からの伸長反応で取り込まれる biotin-dUTPを利用して発色させるものである。この方法でも反応プローブは黒色のスポットとして肉眼的に判定可能であった。これらによりHLAとSNPが同一プラットフォーム上で解析可能となった。

D. 考察

我々は、シミュレーション実験を用いて、異質性の増加に伴い、疾患 - 遺伝子の関連を特定する検出力が低下し、ゲノムワイド有意水準を満たした場合にオッズ比が過大推定される「勝者の呪い」という現象が起こることを明らかにした。このことは、複数のゲノム全域関連解析の結果を統合するメタアナリシスを行う際に、研究間の異質性の存在を考慮し、十分に検出力の高い研究デザインを設計する必要を示唆するものである。

関節リウマチをモデル疾患とし、メタアナリシスに基づき、易罹患性予測モデルを構築する統計手法の開発を行った。本法では、Test 集団を用いることなく、メタアナリシスから得られる先験的な情報に基づいて、疾患易罹患性予測モデルを構築することが可能である。また、性別、喫煙などの情報や環境と遺伝子の相互作用なども、モデルに取り込むことができる。構築したモデルの予測能は、遺伝的多型情報のみを用いた場合、AUCが0.70であり、性別の効果を加えると0.74であった。これは、関節リウマチの診断に、抗シトルリン化ペプチド抗体を用いた場合のAUC値が0.8程度であることを考慮すると、遺伝情報だけで比較的精度の高い予測が可能であることを示唆している。

SNP タイピング実験のクオリティーを評価したところ、最終的なコールレートは81.9%であった。本研究の各プライマー・プローブセットはすべてカスタムデザインであることを考慮するとこれは平均的な値であり、大きな問題はなかった。

現時点での収集検体数は目標値には届いていないが、得られたデータにて関

連解析を実施した。特に臨床情報別に集団を層別化して解析した結果では5領域において、関連を示唆するSNPが検出された。この5領域での関連は層別化したときのみ観察される関連であり非常に興味深い。

関節リウマチとHLAアレルとの関連を解析し、感受性および抵抗性のアレルを検出した。良く研究されているHLA-DRB1以外のHLA遺伝子座でも有意な関連が検出されたが、連鎖不平衡の解析からDRB1が第一義的で、他の遺伝子座での有意な関連はDRB1との連鎖不平衡によるものと考えられた。しかしDPB1で検出された感受性、抵抗性アレルはDRB1との連鎖不平衡では説明できないので、独立にそれらを付与している可能性があると考えられる。

関節リウマチの病型との関連解析でも、病型に特徴的な感受性アレル、あるいはHLA遺伝子型が検出された。最重症のムチランス型でDRB1ではなく、HLA-A*24:02との関連が検出されたことは興味深い。HLA-A*24:02は日本人集団で最も高いアレル頻度をもつHLA-Aのアレルであるので、A*24:02それ自体ではなく、近傍の遺伝子が関与している可能性も考えられる。今後、A*24:02遺伝子近傍での特徴的な変異・欠失の探索が必要である。

多関節進行型はDRB1*04:05, 09:01のヘテロあるいはShared Epitope S3P/Xと強く関連していた。A*24:02とムチランス型との関連、および別のグループが解析しているSNPとの関連を組み合わせれば、関節リウマチ発症初期に病型・病態進行を予測することも可能になるのではないかと考えられる。しかし、HLA遺伝子型との関連は症例数が少ないので、今後症例数を増やして解析する必要があると考えられる。

「関節リウマチの病型・病態進行予測ツール」を実用化していくには、HLAとSNPの情報を得る必要がある。必要なプローブの数は30~80個程度と予想されるが、現在HLAのタイピングやSNPのタイピングに使われているシステムは特殊な機器を必要とし、別々の機器でタイ

ピングされる。我々が開発しているプラスチック基板上での等温増幅反応によるタイピングシステムは、等温増幅であるので特殊な機器を必要としない。またHLAとSNPを同一のプラットホーム上でタイピング可能であり、短時間でタイピング可能である。これらにより、比較的広範囲の医療施設で使われ得ると考えられる。よって、「関節リウマチの病型・病態進行予測ツール」を実用化していく上で貢献できるだろうと考えられる。

今後の予定として①関節リウマチ症例収集の継続：特にムチランス型に注力、②最近のGWASで報告されているRA感受性遺伝子多型の解析、③RA感受性遺伝子のリシーケンシングによる稀少多型・変異の解析、④各病型と健常者から10例程度を選び、全エクソンの塩基配列解析と比較、⑤未実施症例および新規症例のHLAタイピングと関連解析、⑥易罹患性モデルにSNPおよびHLA多型と病型との関連解析結果および臨床情報を組み込み、病型・病態進行予測モデルの構築、⑦プレート基板上でのHLAタイピング法の確立、⑧予測モデルに必要なSNPのプレート基板上でのタイピング、を考えている。

E. 結論

関節リウマチの診療情報と関節リウマチ感受性遺伝子の多型情報（HLAおよびSNP）を基に構築する病型・病態進行を予測するツール（数理モデル）開発、および予測ツールを実用化していく上で必要な多型解析システムの開発に目処が立った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kulski JK, Shigenari A, Shiina T, Inoko H. Polymorphic major histocompatibility complex class II Alu insertions at five loci and their association with HLA-DRB1 and -DQB1 in Japanese and Caucasians. *Tissue Antigens*. In press.
- 2) Morishima S, Ogawa S, Matsubara A, Kawase T, Nannya Y, Kashiwase K, Satake M, Saji H, Inoko H, Kato S, Kodera Y, Sasazuki T, Morishima Y. Impact of highly conserved HLA haplotype on acute graft-versus-host disease. *Blood*. In press.
- 3) Murakami K, Meguro A, Ota M, Shiota T, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Analysis of microsatellite polymorphisms within the GLC1F locus in Japanese patients with normal tension glaucoma. *Mol Vis*. 16, 462-6, 2010.
- 4) Ikewaki N, Nakaichi M, Mizuno T, Takamura N, Tokunaga J, Ogata K, Inoko H, Otsu R. Anti-human very late antigen- α 4 (CD49d) monoclonal antibody (BU49) cross-reacts with the canine B-cell leukemia cell line GL-1, resulting in the induction of homotypic cell aggregation. *Cell Immunol*. 263, 55-64., 2010.
- 5) Xu S, Kangwanpong D, Seielstad M, Srikumool M, Kampuansai J, Jin L; HUGO Pan-Asian SNP Consortium. Genetic evidence supports linguistic affinity of Mlabri-a hunter-gatherer group in Thailand. *BMC Genet*. 11, 18, 2010.
- 6) Matsuzaka Y, Kikuti YY, Izumi S, Suzuki T, Cai LY, Goya K, Inoko H, Makino T, Kulski JK, Kimura M. Mapping of susceptibility locus for endometriosis within the HLA region using microsatellite markers in Japanese women. *Tissue Antigens*. 75, 65-7, 2010.
- 7) Kulski JK, Shigenari A, Inoko H. Polymorphic SVA retrotransposons at four loci and their association with classical HLA class I alleles in Japanese, Caucasians and African Americans. *Immunogenetics*. 62, 211-30, 2010.

- 8) Kohno T, Kunitoh H, Shimada Y, Shiraishi K, Ishii Y, Goto K, Ohe Y, Nishiwaki Y, Kuchiba A, Yamamoto S, Hirose H, Oka A, Yanagitani N, Saito R, Inoko H, Yokota J. Individuals susceptible to lung adenocarcinoma defined by combined HLA-DQA1 and TERT genotypes. *Carcinogenesis*. In press.
- 9) Nakamura J, Meguro A, Ota M, Nomura E, Nishide T, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of toll-like receptor 2 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Mol Vis*. 15, 2905-10, 2010.
- 10) Asukata Y, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Ishihara M, Namba K, Kitaichi N, Morimoto S, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Inoko H, Ohno S, Mizuki N. Lack of association between toll-like receptor 4 gene polymorphisms and sarcoidosis-related uveitis in Japan. *Mol Vis*. 15, 2673-82, 2010.
- 11) HUGO Pan-Asian SNP Consortium, Abdulla MA, Ahmed I, Assawamakin A, Bhak J, Brahmachari SK, Calacal GC, Chaurasia A, Chen CH, Chen J, Chen YT, Chu J, Cutiongco-de la Paz EM, De Ungria MC, Delfin FC, Edo J, Fuchareon S, Ghang H, Gojobori T, Han J, Ho SF, Hoh BP, Huang W, Inoko H, Jha P, Jinam TA, Jin L, Jung J, Kangwanpong D, Kampuansai J, Kennedy GC, Khurana P, Kim HL, Kim K, Kim S, Kim WY, Kimm K, Kimura R, Koike T, Kulawonganuchai S, Kumar V, Lai PS, Lee JY, Lee S, Liu ET, Majumder PP, Mandapati KK, Marzuki S, Mitchell W, Mukerji M, Naritomi K, Ngamphiw C, Niikawa N, Nishida N, Oh B, Oh S, Ohashi J, Oka A, Ong R, Padilla CD, Palittapongarnpim P, Perdigon HB, Phipps ME, Png E, Sakaki Y, Salvador JM, Sandraling Y, Scaria V, Seielstad M, Sidek MR, Sinha A, Srikummool M, Sudoyo H, Sugano S, Suryadi H, Suzuki Y, Tabbada KA, Tan A, Tokunaga K, Tongsima S, Villamor LP, Wang E, Wang Y, Wang H, Wu JY, Xiao H, Xu S, Yang JO, Shugart YY, Yoo HS, Yuan W, Zhao G, Zilfalil BA; Indian Genome Variation Consortium. Mapping human genetic diversity in Asia. *Science*. 326, 1541-5, 2009.
- 12) Yonezawa T, Kurata R, Hosomichi K, Kono A, Kimura M, Inoko H. Nutritional and hormonal regulation of uncoupling protein 2. *IUBMB Life*. 61, 1123-31, 2009.
- 13) Averdam A, Petersen B, Rosner C, Neff J, Roos C, Eberle M, Aujard F, Münch C, Schempp W, Carrington M, Shiina T, Inoko H, Knaust F, Coggill P, Sehra H, Beck S, Abi-Rached L, Reinhardt R, Walter L. A novel system of polymorphic and diverse NK cell receptors in primates. *PLoS Genet*. 5, e1000688, 2009.
- 14) Romphruk AV, Romphruk A, Naruse TK, Raroengjai S, Puapairoj C, Inoko H, Leelayuwat C. Polymorphisms of NKG2D ligands: diverse RAET1/ULBP genes in northeastern Thais. *Immunogenetics*. 61, 611-7, 2009.
- 15) Meguro A, Inoko H, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Okada E, Yamakawa R, Yuasa T, Fujioka T, Ohno S, Bahram S, Mizuki N. Genetics of Behçet disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis*. 69, 747-54, 2010.
- 16) Nakabayashi K, Komaki G, Tajima A, Ando T, Ishikawa M, Nomoto J, Hata K, Oka A, Inoko H, Sasazuki T; Japanese Genetic Research Group for Eating Disorders (JGRED), Shirasawa S. Identification of novel candidate loci for anorexia nervosa at 1q41 and 11q22 in

- Japanese by a genome-wide association analysis with microsatellite markers. *J Hum Genet.* 54, 531-7, 2009.
- 17) Nakamura K, Ota M, Meguro A, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of microsatellite polymorphisms of the GPDS1 locus with normal tension glaucoma in the Japanese population. *Clin Ophthalmol.* 3, 307-12, 2009.
 - 18) Kamio M, Meguro A, Ota M, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Investigation of the association between the GLC3A locus and normal tension glaucoma in Japanese patients by microsatellite analysis. *Clin Ophthalmol.* 3, 183-8, 2009.
 - 19) Kita YF, Hosomichi K, Kohara S, Itoh Y, Ogasawara K, Tsuchiya H, Torii R, Inoko H, Blancher A, Kulski JK, Shiina T. MHC class I A loci polymorphism and diversity in three Southeast Asian populations of cynomolgus macaque. *Immunogenetics.* 61, 635-48, 2009.
 - 20) Yonezawa T, Kurata R, Kimura M, Inoko H. PKC delta and epsilon in drug targeting and therapeutics. *Recent Pat DNA Gene Seq.* 3, 96-101, 2009.
 - 21) Hinohara K, Nakajima T, Yasunami M, Houda S, Sasaoka T, Yamamoto K, Lee BS, Shibata H, Tanaka Takahashi Y, Takahashi M, Arimura T, Sato A, Naruse T, Ban J, Inoko H, Yamada Y, Sawabe M, Park JE, Izumi T, Kimura A. Megakaryoblastic leukemia factor-1 gene in the susceptibility to coronary artery disease. *Hum Genet.* 126, 539-47, 2009.
 - 22) Horie Y, Kitaichi N, Katsuyama Y, Yoshida K, Miura T, Ota M, Asukata Y, Inoko H, Mizuki N, Ishida S, Ohno S. Evaluation of PTPN22 polymorphisms and Vogt-Koyanagi-Harada disease in Japanese patients. *Mol Vis.* 15, 1115-9, 2009
 - 23) Kongmaroeng C, Romphruk A, Ruangwerayut R, Paupairoj C, Leelayuwat C, Inoko H, Romphruk A.
 - 24) HLA-B*15 subtypes in Burmese population by sequence-based typing. *Tissue Antigens.* 74, 164-7, 2009.
 - 25) Shojima J, Tanaka G, Keicho N, Tamiya G, Ando S, Oka A, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Kajiki A, Nagai H, Kurashima A, Oketani N, Hayakawa H, Takemura T, Nakata K, Ito H, Morita T, Matsushita I, Hijikata M, Sakurada S, Sasazuki T, Inoko H. Identification of MICA as a susceptibility gene for pulmonary Mycobacterium avium complex infection. *J Infect Dis.* 199, 1707-15, 2009.
 - 26) Horie Y, Meguro A, Ota M, Kitaichi N, Katsuyama Y, Takemoto Y, Namba K, Yoshida K, Song YW, Park KS, Lee EB, Inoko H, Mizuki N, Ohno S. Association of TLR4 polymorphisms with Behcet's disease in a Korean population. *Rheumatology (Oxford).* 48, 638-42, 2009.
 - 27) Ohtsuka M, Warita T, Sakurai T, Watanabe S, Inoko H, Sato M. Development of CRTEIL and CETRIZ, Cre-loxP-based systems, which allow change of expression of red to green or green to red fluorescence upon transfection with a cre-expression vector. *J Biomed Biotechnol.* 2009, 985140, 2009.

- 28) Tabeta K, Shimada Y, Tai H, Ishihara Y, Noguchi T, Soga Y, Takashiba S, Suzuki G, Kobayashi T, Oka A, Kobayashi T, Yamazaki K, Inoko H, Yoshie H. Assessment of chromosome 19 for genetic association in severe chronic periodontitis. *J Periodontol.* 80, 663-71, 2009.
- 29) Kikkawa EF, Tsuda TT, Sumiyama D, Naruse TK, Fukuda M, Kurita M, Wilson RP, LeMaho Y, Miller GD, Tsuda M, Murata K, Kulski JK, Inoko H. Trans-species polymorphism of the Mhc class II DRB-like gene in banded penguins (genus *Spheniscus*). *Immunogenetics.* 61, 341-52, 2009.
- 30) Mano S, Endo TA, Oka A, Ozawa A, Gojobori T, Inoko H. Detecting linkage between a trait and a marker in a random mating population without pedigree record. *PLoS One.* 4, e4956, 2009.
- 31) Kulski JK, Shigenari A, Shiina T, Hosomichi K, Yawata M, Inoko H. HLA-A allele associations with viral MER9-LTR nucleotide sequences at two distinct loci within the MHC alpha block. *Immunogenetics.* 61, 257-70, 2009.
- 32) Shichi D, Ota M, Katsuyama Y, Inoko H, Naruse TK, Kimura A. Complex divergence at a microsatellite marker C1_2_5 in the lineage of HLA-Cw/B haplotype. *J Hum Genet.* 54, 224-9, 2009.
- 33) Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Kee ALS, Kirschek B, Auburger G, Simon M, Krex D, Arlier Z, Nayak N, Ruigrok Y, Niemela M, Tajima A, Frauberg M, Tamas D, Wirjatijasa F, Hata A, Jordi B, Oszvald A, Kasuya H, Gulam Z, Schoch B, Pankaj S, Stuer C, Roelof R, Beck J, Sola T, Ricciardi F, Aromaa A, Illig T, Schreiber S, Duijin CM, Berg LH, Claire P, Carole P, Roder C, Ozturk A, Gaal E, Jeremy W, Berg D, Geisen C, Christoph F, Paul S, Alex F, State MW, Wichmann HE, Breteler MMB, Wijmenga C, Mane S, Juan JE, Sandalcioglu IE, Meyer B, Raabe A, Daniel R, Jaaskelainen A, Hemesniemi J, Rinkel GJE, Zewnbutsu H, Inoue I, Palotie A, Cambien F, Nakamura Y, Lifton RP, Guenel M. Genome-wide association study of intracranial aneurysms identifies 5 risk loci. *Nat Genet* online-published.
- 34) Yoshihara K, Tajima A, Yahata T, Kodama S, Fujiwara H, Suzuki M, Onishi Y, Hatae M, Sueyoshi K, Fujiwara H, Kudo Y, Kotera K, Masuzaki H, Tashiro H, Katabuchi H, Inoue I, Tanaka K. Gene expression profile for predicting survival in advanced-stage serous ovarian cancer across two independent databases. *PLoS One* 5, e9615, 2010.
- 35) Imaizumi T, Tanaka H, Tajama A, Tsuruga K, Oki E, Sashinami H, Matsumiya T, Yoshida H, Inoue I, Ito E. Retinoic acid-inducible gene-1 (RIG-I) is induced by IFN-gamma in human mesangial cells in culture: possible involvement of RIG-I in the inflammation in lupus nephritis. *Lupus* in press.
- 36) Yoshihara K, Tajima A, Komata D, Yamamoto T, Kodama S, Fujiwara H, Suzuki M, Onishi Y, Hatae M, Sueyoshi K, Fujiwara H, Kudo Y, Inoue I, Tanaka K. Gene expression profiling of advanced-stage serous ovarian cancers distinguishes novel subclasses and implicates ZEB2 in tumor progression and prognosis. *Cancer Sci* 100, 1421-1428, 2009.
- 37) Nakaoka H, Inoue I. Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner's curse. *J Hum Genet* 54, 615-623, 2009.
- 38) Brookes AJ, Lehvaslaiho H, Muilu J, Shigemoto Y, Oroguchi T, Tomiki T, Mukaiyama A, Konagaya A, Kojima T, Inoue I, Kuroda M, Mizushima H, Thorisson GA, Dash D, Rajeevan H, Darlison MW, Woon M, Fredman D, Smith AV, Senger M, Naito K, Sugawara H. The phenotype and genotype experiment object model

- (PaGE-OM): a robust data structure for information related to DNA variation. *Hum Mutat* 30, 968-977, 2009
- 39) Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C, Kasuya H, Tajima A, Takahashi T, Hata A, Inoue I, Krischek B. Association analysis of genes involved in the maintenance of the integrity of the extracellular matrix with intracranial aneurysms in a Japanese cohort. *Cerebrovasc Dis* 28, 131-134, 2009.
 - 40) Koike A, Nishida N, Inoue I, Tsuji S, Tokunaga K. Genome-wide association database developed in the Japanese Integrated Database Project. *J Hum Genet* 54, 543-546, 2009.
 - 41) Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Inoue I, Maki K. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor genes in a Japanese population. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 136, 536-541, 2009.
 - 42) Kang E-H, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Tomoyasu Y, Watanabe M, Yamaguchi M, Park S-B, Maki K, Inoue I. Association of the growth hormone receptor gene polymorphisms with mandibular height in a Korean population. *Arch Oral Biol* 54, 556-562, 2009.
 - 43) Sekigawa T, Tajima A, Hasegawa T, Hasegawa Y, Inoue H, Sano Y, Matsune S, Kurono Y, Inoue I. Gene-expression profiles in human nasal polyp tissues and identification of genetic susceptibility in aspirin intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 39, 972-981, 2009.
 - 44) Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a. *J Hepatol* 50, 453-460, 2009.
2. 学会発表
- 1) Inoko H: Identification of NFKB1 L1 as a susceptible locus of rheumatoid arthritis by genome-wide association using microsatellites and its functional analysis in osteoclastogenesis. Symposium "Pathogenesis and epidemiology of Intraocular inflammation" The 10th Congress of International Ocular Inflammation Society, 2009.
 - 2) Ituro Inoue: Resequencing of Entire HLA Region to Identify Haplotype Structure and Disease-susceptibilities. BIOKOREA 2009 Sep 18th Seoul, Korea
Invited lecture
 - 3) 猪子英俊、MHC研究の歴史～過去、現在そして未来、第7回最先端遺伝育種セミナー講演、2009.
 - 4) 猪子英俊、HLA多型の魅力ー疾患解析のモデル領域、第54回日本人類遺伝学会 招待講演、2009.
 - 5) 猪子英俊、HLA領域の遺伝子構造解析と疾患関連解析、第18回日本組織適合性学会シンポジウム、2009.
 - 6) 猪子英俊、予防医学におけるHLAと疾患発症機構の因果関係、第42回中国四国医学検査学会 教育講演、2009.
 - 7) 大塚正人、三浦浩美、萩原早苗、木村穰、猪子英俊、Target transgenesis through pronuclear injection. 第32回日本分子生物学会 2009年12月
 - 8) 三浦浩美、猪子英俊、木村穰、大塚正人、Validation of artificial miRNA expression vectors for generation of knockdown mice. 第32回日本分子生物学会 2009年12月
 - 9) 猪子英俊、細道一善、椎名隆、井ノ上逸朗、HLA領域の遺伝子構造解析と疾患関連解析、第18回日本組織適合性学会、2009年9月
 - 10) 細道一善、猪子英俊、河田寿子、井ノ上逸朗、椎名隆、HLA領域のパーソナルゲノム解析法の開発、第18回日本組織適合性学会、2009年9月
 - 11) 井ノ上 逸朗: 脳動脈瘤感受性遺伝子同定とロジスティック解析による表現型との関連。日本人類遺伝学会シンポジウム 2009年9月24日(東京)
 - 12) 奥平裕子、光永滋樹、山口香織、吉川枝里、岡 晃、猪子英俊: プラスチック基板上での等温増幅反応によるHLAタイピング。第18回日本組織適合性学会大会 (名古屋), 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

関節リウマチをモデルとした病型・病態進行予測アルゴリズムの開発

| | | | |
|-------|-------|---------------------|----|
| 分担研究者 | 井ノ上逸朗 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 教授 |
| 研究協力者 | 中岡 博文 | 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団 | |
| 研究協力者 | 田嶋 敦 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 講師 |
| 研究協力者 | 成田 暁 | 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 | 助教 |

研究要旨

本研究では、関節リウマチをモデル疾患として、DNA 多型情報と抗 CCP 抗体等の診療情報とを利用した多変量解析に基づき、病型・病態進行予測アルゴリズムの開発を行う。予測アルゴリズムの精度を上げるためには、疾患との関連が広く追認されている DNA 多型を用いることが重要であると考え、独立して行われた研究成果を統合する統計手法であるメタアナリシスに着目した。近年のゲノムワイド関連解析や候補遺伝子アプローチから関節リウマチとの関連が報告されている複数の感受性遺伝子についてメタアナリシスを行うとともに、シミュレーション実験を行い、遺伝的関連解析のメタアナリシスにおける研究間異質性が統計的推論に及ぼす影響について検討した。その結果、5,000 から 20,000 検体を用いたゲノム全域関連解析のメタアナリシスにおいて、異質性の増加に伴い、検出力が低下し、ゲノムワイド有意水準を満たした場合にオッズ比が過大推定される「勝者の呪い」という現象が起こることを明らかにした。

関節リウマチ易罹患性予測モデルを構築する統計手法の開発を行った。関節リウマチの遺伝的関連解析に関するメタアナリシスの情報をデータベースから網羅的に収集し、精度が高く、一般化可能性の高い疾患・遺伝子の関連を抽出し、抽出したオッズ比の推定値およびアレル頻度の情報から、ベイズの定理を用いて、疾患のリスクに関する genomic profile を構築するという手法である。11SNPs および HLA-DRB1 の情報による評価モデルを構築し、genomic profile に基づく遺伝的予測の正確度を、ROC 曲線およびその AUC 値によって評価したところ、上記遺伝的マーカーのみを用いた場合、AUC は 0.70 であり、性別の効果を加えると 0.74 であった。これは、遺伝的多型と性別の情報だけでも比較的精度の高い易罹患性予測が可能であることを示唆するものである。

A. 研究目的

関節リウマチは慢性の全身性炎症性疾患であり、主たる病態は年余にわたって持続する慢性滑膜炎である。炎症の結果

として関節は徐々に破壊され、運動機能障害を呈する。発症や病態の進展には複数の遺伝要因および環境要因が関与する、多因子疾患であるとされている。関節リ

ウマチ感受性遺伝子の DNA 多型情報と抗 CCP 抗体等の診療情報などから、発症初期に病態進行を予測することが可能となれば、適切な投薬と治療方針の決定に役立つと考えられる。

本研究では、多変量解析に基づく病型・病態進行予測アルゴリズムの開発を目的としている。現在、SNP 多型情報と診療情報のデータベース構築へ向け、既知の関節リウマチ感受性領域の多型情報の収集を行っているが、予測アルゴリズムの精度を上げるためには、疾患との関連が広く追認されている SNP を用いることが重要であると考え、近年のゲノムワイド関連解析や候補遺伝子アプローチにおいて同定された関節リウマチ感受性遺伝子についてメタアナリシスを行う。

近年、多くの多因子疾患における感受性遺伝子同定研究において、複数の研究グループのゲノム全域関連解析の結果をメタアナリシスの手法で統合し、検出力を高めることで、次々と感受性遺伝子の同定に成功している。メタアナリシスは独立して行われた複数の研究の結果を統合することで、検出力および遺伝的効果の推定精度を向上させることができるといった利点をもつ統計手法であるが、それと同時に、研究間に潜むさまざまな違い、つまり異質性(heterogeneity)について検討することも重要である。そこで、シミュレーション実験により、遺伝的関連解析のメタアナリシスにおける研究間異質性を評価する統計量の特長や研究間異質性の度合いと偽陽性率および検出力との関係性を評価する。

遺伝子診断は、メンデル型遺伝病 - 単

一の遺伝的変異によって引き起こされる遺伝性疾患 - において現実のものとなっており、検査結果に基づき、食事制限や予防的手術といった治療介入がなされている。しかし、多数の遺伝子と環境要因が関与する多因子疾患では、個々の遺伝的要因の効果が小さく、単独の遺伝因子による遺伝子診断は現実的ではなかった。しかし、近年、大規模なゲノム全域関連解析が行われ、感受性遺伝子同定の報告が飛躍的に増加している。そこで、これら新たな知見を取り込み、多数の感受性遺伝子座位を同時に考慮する genomic profile を用い、疾患の易罹患性予測モデルを構築することが重要な課題となる。我々は、関節リウマチをモデル疾患とし、メタアナリシスに基づき、易罹患性予測モデルを構築する統計手法の開発を行う。

B. 研究方法

1) 関節リウマチ感受性遺伝子のメタアナリシス

SNP 多型情報のデータベース構築に向け、我々がこれまでにマイクロサテライトマーカーによるゲノムワイド関連解析によって見出した領域および既知の領域、計 35 領域のうち、*TNFAIP3-OLIG3*、*STAT4*、*TRAF1-C5*、*PADI4*、*TNFRSF1B* についてメタアナリシスを行った。

文献検索には PubMed を用い、2008 年 12 月までに公表された論文およびその参考文献についてスクリーニングを行った。選択条件として、血縁関係のない検体を用いた症例対照関連研究をメタアナリシスに用いた。感受性遺伝子同定のため多段階スクリーニングを用いている報

告については、メタアナリシスに際して、各スクリーニングを一つの研究として扱った。

遺伝的効果の大きさはアレリック・テストにおけるオッズ比とした。遺伝的効果の大きさに関する研究間の異質性の評価として、Cochran's Q test (Cochran, 1954) および I^2 統計量 (Higgins and Thompson, 2002) を用いた。

統合効果の推定には、漸近分散法による母数モデルおよび DerSimonian-Laird の方法による変量モデルの両者を用い、結果を比較した。

2) ゲノムワイド関連解析のメタアナリシスにおける研究間異質性が統計学的結論に及ぼす影響

メタアナリシスにおける研究間異質性

を評価する統計量の特性や研究間異質性の度合いと偽陽性率および検出力との関係を評価するシミュレーション実験を行った。統合する研究の数、各研究あたりのサンプル数、疾患感受性アレル頻度、リスクアレルのオッズ比、これらパラメータの組み合わせを変化させたシミュレーション実験を行うことで、パラメータ間の相互作用についても評価した。シミュレーション実験は各パラメータ・セットに対して 100,000 反復実行した。Table 1 にシミュレーション・シナリオの概略を示す。

Table 1. Description of five simulation scenarios of meta-analysis.

| Scenario | k | $n_{case}/n_{control}$ |
|----------|----|------------------------|
| I | 5 | 500/500 |
| II | 10 | 500/500 |
| III | 20 | 500/500 |
| IV | 10 | 1000/1000 |
| V | 5 | 2000/2000 |

k denotes the number of included studies and n_{case} and $n_{control}$ are the number of cases and controls within each study, respectively.

3) メタアナリシスに基づく関節リウマチ易罹患性予測モデルの構築とその臨床的妥当性

関節リウマチをモデル疾患として、易罹患性予測モデルを構築する統計手法の開発を行った。PubMed および NHGRI GWAS catalog より、系統的文献検索を行うことで、関節リウマチの遺伝的関連解

析に関するメタアナリシスの情報を網羅的に収集した。精度が高く、一般化可能性の高い疾患・遺伝子の関連を抽出するため、厳格な採択基準を設けて、情報の抽出を行った。抽出したオッズ比の推定値およびアレル頻度の情報に基づき、ベイズの定理を用いて、疾患のリスクに関する genomic profile を構築する。Genomic