

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業))
分担研究報告書

アスピリン喘息の遺伝的背景(遺伝子多型の検索)

研究分担者 玉利真由美 理化学研究所ゲノム医科学研究センター・呼吸器疾患研究チーム
チームリーダー
研究協力者 広田朝光 理化学研究所ゲノム医科学研究センター・呼吸器疾患研究チーム
研究員

研究要旨:

本研究は遺伝子多型解析を通してアスピリン喘息の関連遺伝子群を同定し、病態の科学的な解明を通してより良い予防法、治療法を確立することを目的とする。今回、我々はゲノムワイド関連解析の手法を用いてアスピリン喘息の発症に関連するゲノム領域の同定を行った。ゲノムワイド水準 ($P < 5 \times 10^{-8}$) は満たさなかったが、HLA 領域 ($P = 5.49 \times 10^{-6}$)、21q21 ($P = 4.8 \times 10^{-5}$) の2つの領域で強い関連を認めた。今後、独立に収集したサンプルでの検証が必要である。

A. 研究目的

アスピリン喘息はNSAIDの投与に起因する全身性の急性アレルギー症状の一つである。アスピリン喘息は重症喘息および難治性の好酸球性副鼻腔炎を合併することが多く、しばしば社会生活に影響をおよぼすことからその科学的な病態解明が待たれている。近年、信頼性の高いゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study, GWAS) の手法が確立され、様々なアレルギー疾患において遺伝要因の解明が進んでいる。本研究はアスピリン喘息関連遺伝子群をGWASの手法を用いて同定し、病態の科学的な解明を通してより良い予防法、治療法を確立することを目的とする。本年度は Validation sample を追加し、独立に収集されたアスピリン喘息141例、コントロール24,608例を用いてGWASにより得られた候補領域について検討した。

B. 研究方法

153例のアスピリン喘息症例と3,304例のコントロールについて Illumina HumanHap 610-Quad Chip によりGWASを行いアスピリ

ン喘息との関連領域について探索を行なった。

アスピリン喘息の診断は

少なくとも2つの異なる非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) により喘息発作が出現した既往をもつ症例、またはアスピリン負荷試験陽性例とした。Hardy-Weinberg 平衡 (コントロール集団において $P < 10^{-6}$)、タイピング成功率 ≥ 0.99 , minor allele frequency ≥ 0.01 の条件にてタイピング結果の Quality control を行い、433,543個の SNPs について Cochrane - Armitage trend test により関連解析を行なった。検証研究はバイオバンクサンプルにて医師が診断したアスピリン喘息症例141例、およびコントロール24,608例を用いて行なった。アスピリン喘息141例のタイピングはTaqMan法およびInvader法を用いて行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して行い、当該実施機関の倫理委員会の承認を受けたうえで研究を行っている。

C . 研究結果

GWASの結果、 $r^2=1.016$ であり、population stratificationにより偽陽性の結果が得られる確率は低いと考えられた。GWASでの最も強い関連はrs7277220において認められた ($P = 8.72 \times 10^{-8}$)。

計98SNPsが $P < 1 \times 10^{-4}$ を示した。その中から75個のTagSNPs ($r^2 \geq 0.8$)を選出し、GWASで得られた結果の検証を行なったところ、メタ解析において計5つのSNPsで $P < 1 \times 10^{-4}$ の強さの関連を認めた。このうち4つのSNPsは6p21.3のHLA領域に存在していた。また1つのSNPは21q21 ($P = 4.8 \times 10^{-5}$)に存在していた。最も強い関連はHLA領域のrs4711358で認められ、 $P = 5.49 \times 10^{-6}$ であった。

D . 考察

合計294例のアスピリン喘息を用いて解析を行なったが、ゲノムワイド水準 ($P < 5 \times 10^{-8}$) を満たすような強い関連は認めなかった。サンプル数が少なく検出力が低いこともその要因と考えられる。今後は他の集団において結果の検証を行ない、メタ解析を行なうとともに、他の疾患関連遺伝子探索の手法も考慮していく必要があると考えられた。アスピリン喘息患者の気管支、肺組織を採取することは困難であるが、高率に合併する鼻ポリープはしばしば手術により摘出を行なう。鼻ポリープは重症喘息の surrogate tissueとして注目されており、その採取は比較的容易である。今後はアスピリン喘息の鼻ポリープの採取を行い、遺伝子発現の網羅的解析を行なっていく。

E . 結論

計294例のアスピリン喘息と計27,912例のコントロール例においてゲノムワイド関連解析を行なった。その結果、HLA領域および21q21領域とアスピリン喘息発症との間に強い関連

を認めた ($\text{minimum } P = 5.49 \times 10^{-6}$)。しかしながら関連の強さはゲノムワイド水準 ($P < 5 \times 10^{-8}$) には到達しなかった。これらの関連についてはさらに独立に収集されたサンプル集団において検証する必要がある。

現在、韓国、スペインのグループとの共同研究を計画しており、異なる人種において、結果の検証を行ないメタ解析を行なっていく予定である。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1) Kinose D, Ogawa E, Hirota T, Ito I, Kudo M, Haruna A, Marumo S, Hoshino Y, Muro S, Hirai T, Sakai H, Date H, Tamari M, Mishima M. A NOD2 gene polymorphism is associated with the prevalence and severity of chronic obstructive pulmonary disease in a Japanese population. *Respirology*. 2012;17:164-171.

2) Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Ezaki H, Takeuchi S, Furue M, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M. Variants of C-C motif Chemokine 22 (CCL22) are Associated with Susceptibility to Atopic Dermatitis: Case-Control Studies. *PLoS One* 2011;6:e26987.

3) Chang WC, Lee CH, Hirota T, Wang LF, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Tomita K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Ebe K,

- Saeki H, Takeuchi S, Furue M, Chen WC, Chiu YC, Chang WP, Hong CH, His E, Hank Juo SH, Yu HS, Nakamura Y, Tamari M. ORAI1 genetic polymorphisms associated with the susceptibility of atopic dermatitis in Japanese and Taiwanese populations. *PLoS One* 2012;7:e29387.
- 4) Himes BE, Jiang X, Hu R, Wu AC, Lasky-Su JA, Klanderma BJ, Ziniti J, Senter-Sylvia J, Lima JJ, Irvin CG, Peters SP, Meyers DA, Bleecker ER, Kubo M, Tamari M, Nakamura Y, Szeffler SJ, Lemanske RF Jr, Zeiger RS, Strunk RC, Martinez FD, Hanrahan JP, Koppelman GH, Postma DS, Nieuwenhuis MA, Vonk JM, Panettieri RA Jr, Markezich A, Israel E, Carey VJ, Tantisira KG, Litonjua AA, Lu Q, Weiss ST. Genome-wide association analysis in asthma subjects identifies SPATS2L as a novel bronchodilator response gene. *PLoS Genet*. 2012 ;8:e1002824.
- 5) Yamaide F, Undarmaa S, Mashimo Y, Shimojo N, Arima T, Morita Y, Hirota T, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Sato K, Suzuki S, Nishimuta T, Watanabe H, Hoshioka A, Tomiita M, Yamaide A, Watanabe M, Okamoto Y, Kohno Y, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Association Study of Matrix Metalloproteinase-12 Gene Polymorphisms and Asthma in a Japanese Population. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;160:287-296.
- 6) Kumasaka N, Aoki M, Okada Y, Takahashi A, Ozaki K, Mushiroda T, Hirota T, Tamari M, Tanaka T, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M. Haplotypes with Copy Number and Single Nucleotide Polymorphisms in CYP2A6 Locus Are Associated with Smoking Quantity in a Japanese Population. *PLoS One*. 2012;7:e44507.
- 7) Hirota T, Takahashi A, Kubo M, Tsunoda T, Tomita K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Tanaka S, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Okumura K, Ogawa H, Ikeda S, Noguchi E, Sakamoto T, Hizawa N, Ebe K, Saeki H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Takeuchi S, Furue M, Nakamura Y, Tamari M. Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. *Nat Genet*. 2012;44:1222-1226.
- 8) 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;68:92-100.
- 9) 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 genotype. *Allergol Int*. 2013 in press.
- 10) 田中翔太,富田かおり,広田朝光,玉利真由美: 特集,呼吸器病学 TOPICS 2012 2.アレルギー・免疫・炎症. 呼吸器疾患と自然免疫, 16:34-36, 2012.
- 11) 広田朝光,富田かおり,田中翔太,玉利真由美: 遺伝・ゲノム学 日本人成人気管支喘息の

ゲノムワイド関連解析. 医学のあゆみ, 240:535-537, 2012.

12) 玉利真由美, 広田朝光: 遺伝子解析から考えるアレルギー疾患の治療戦略 - アレルギー疾患は克服できるか? . 日本医事新報, 4592:81-85, 2012.

13) 広田朝光, 田中翔太, 玉利真由美: 解説(基礎) GWASによる疾患遺伝子の解明. 呼吸, 31(7):605-611, 2012.

14) 玉利真由美, 田中翔太, 広田朝光: 特集 多遺伝子疾患 呼吸器疾患のゲノムワイド関連解析. BioClinica, 27 (11) :1044-1048, 2012.

2 . 学会発表

1) アレルギー疾患のゲノムワイド関連解析. 第85回日本薬理学会年会, シンポジウム, アレルギー疾患の分子機構の新展開, 2012, 京都. 玉利真由美

2) Recent progress in the Pathogenesis and treatment of asthma Genetic factors for adult asthma and asthma severity. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, International symposium 3, 2012, 兵庫. 玉利真由美

3) 呼吸器疾患のゲノムワイド関連解析. 第40回箱根呼吸討論会, 呼吸器病学における新しいパラダイム New paradigm in the study of respiratory medicine, 2012, 滋賀. 玉利真由美

4) 好塩基球と皮膚アレルギー疾患 ゲノムワイド関連解析(GWAS)によるアレルギー関連遺伝子の同定と好塩基球. 第42回日本皮膚アレルギー・接触性皮膚炎学会総会学術大会, 2012, 長野. 玉利真由美

5) Genetic and Environmental Factors in Allergic Disorders Genome wide association study of aspirin-intolerant asthma in the Japanese population. 29th Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum, 2012, 韓国済州島. Mayumi Tamari

6) アレルギーの病態解析の現況 気管支喘息とアトピー性皮膚炎を中心に , 東大医科研勉強会, 2012, 東京. 玉利真由美

H .知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1 . 特許取得

一塩基多型に基づくアトピー性皮膚炎の検査方法 (アトピー性皮膚炎の罹患リスク検査方法) 2013.8.31, 玉利真由美、広田朝光、久保充明 理化学研究所 特願2012-192247

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし