

令和 4 年 6 月 26 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03663

研究課題名(和文) 難治性気道疾患のエンドタイプの解明 遺伝子ネットワークのゲノム網羅的探索 -

研究課題名(英文) Endotypes of Refractory Airway Diseases: A Comprehensive Genomic Exploration of Gene Networks

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) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：喘息やCOPDなどの多様な表現型の背景には複数の遺伝因子や環境因子によってドライブされる複雑な分子ネットワーク(エンドタイプ)が存在し、その病態理解には遺伝子相互作用によって構築される分子ネットワークの解明が不可欠である。本研究において、1)喘息やCOPD発症におけるライノウイルス感受性CDHR3遺伝子とアトピー関連遺伝子リスクスコアとの交互作用、2)CDHR3遺伝子と小胞体ストレス応答分子としてのORMDL3遺伝子との交互作用、3)喘息関連遺伝子発現を規定するETS転座バリエーション(ETV4)におけるeQTLと喘息発症、さらには健康人における血清IL-6値との有意な関連を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CDHR3遺伝子の喘息発症に及ぼす影響は、Atopy-GRSやORMDL3遺伝子の影響を強く受けていることが判明した。また、IL-6やTh17と関連する転写因子ETV4が幅広く喘息と関連することが明らかとなった。本研究の成果は、好中球性炎症やライノウイルス感受性分子ネットワークに関連したバイオマーカーや新規治療ターゲットの同定、さらには病名ではなく患者ごとにエンドタイプに基づいたPrecision Medicine(精密医療)やPreemptive Medicine(先制医療)を可能とするための基盤データの創出につながる。

研究成果の概要(英文)：Behind the diverse phenotypes of asthma and COPD, there are complex molecular networks (endotypes) driven by multiple genetic and environmental factors, and the elucidation of molecular networks established by gene-gene interactions is essential for understanding their pathogenesis. In this study, we specifically identified 1) the interaction between rhinovirus susceptibility CDHR3 gene and atopy-related genetic risk score in the development of asthma and COPD, 2) the interaction between CDHR3 gene and ORMDL3 gene, an ER stress response molecule, and 3) the significant associations between eQTLs at the ETS translocation variant (ETV4), which defines asthma-related gene expression network, and asthma development as well as serum IL-6 levels in healthy subjects.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：喘息 COPD エンドタイプ ネットワーク CDHR3 ORMDL3

## 1. 研究開始当初の背景

これまでに喘息や COPD のゲノム網羅的疾患関連遺伝子解析 (GWAS) によって報告された個々の遺伝子が有する疾患への影響は極めて小さく、現時点ではこれらの遺伝子解析結果を直ちに臨床に還元することは困難である。個々の遺伝子の影響が小さい理由として喘息や COPD の分子病態の多様性と同時に遺伝子間の相互作用の重要性が指摘されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでに以下に示す 4 つの検討を実施した。

1. ライノウイルス感受性を規定する CDHR3 遺伝子と Atopy Risk Genetic Score (Atopy-GRS) との交互作用 (若年発症喘息及び中高年発症の喘息及び COPD に関して)
2. 喘息発症において CDHR3 遺伝子と ORMDL3 遺伝子との交互作用について
3. 喘息発症において CDHR3 遺伝子と交互作用をする遺伝子群のゲノム網羅的な検討
4. ネットワーク解析による喘息関連遺伝子発現を調節する転写因子の検討

## 3. 研究の方法

対象: 本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき実施された。遺伝子 DNA を含めた血液検体の収集は文書をもって患者及び健常者の同意を得て行われた。本研究は研究代表者が所属する大学および関連施設における倫理委員会において既に承認済みである。

### Atopy genetic risk score (Atopy GRS) の計算:

定期健康診断のためにつくば総合健診センターを受診した 967 人の非喘息健常者を対象に IgE 感作について GWAS を行った。14 個の吸入抗原に対する特異的 IgE 抗体が少なくとも一つ以上の抗原に対して陽性の場合をアトピーと定義した。欧米人を対象とした GWAS においてアトピーとの関連 ( $P < 5.0 \times 10^{-8}$ ) が示された 25 の遺伝子領域に着目した。我々の GWAS において各遺伝子領域の上下流 100 kb の範囲で最も関連の強い SNP を探索し、アトピーと有意な関連 ( $P < 0.05$ ) がある SNP を Atopy-GRS の計算に用いた。

### 若年発症喘息における CDHR3 x Atopy GRS:

Atopy-GRS は健常者において正規分布することから、Atopy-GRS によって集団を 3 等分し、各群における CDHR3 遺伝子の喘息発症に対する効果をロジスティック回帰分析で検討した。さらにロジスティック回帰分析で交互作用項を用い Atopy-GRS と CDHR3 遺伝子型との交互作用を検討した。

#### 中高年発症喘息または COPD における CDHR3 x Atopy GRS :

2008 年筑波メディカルセンター健診受診健常者 1523 名中 1375 名を対象に 2018 年までの 10 年間のフォローアップを行い、新たな喘息及び COPD の発症を確認した。さらにロジスティック回帰分析で交互作用項を用い Atopy-GRS と CDHR3 遺伝子型との交互作用を検討した。

#### CDHR3 遺伝子と ORMDL3 遺伝子との相互作用 :

CDHR3 遺伝子多型によって集団を分類し、それぞれの集団において ORMDL3 遺伝子多型が喘息発症に与える影響を検討した。解析は全喘息患者を用いた解析に加えて、21 歳以降に発症した喘息患者に限定したサブグループ解析を行った。

#### CDHR3 遺伝子と交互作用をする遺伝子群のゲノム網羅的な検討 :

ゲノム網羅的な遺伝子タイピングが行われた 2 つの独立した集団を用いて、喘息発症における CDHR3 遺伝子と交互作用をすることで喘息発症に関連する遺伝子を探索した。集団 1 (N=1209、BA=242、HV=967、GWAS SNPs n=480162) 集団 2 (N=1106、BA=541、HV=565、GWAS SNPs n=447864) の総計 2315 名において Meta 解析を行い P for interaction  $<1 \times 10^{-4}$  を有意と判断した。

#### 喘息関連遺伝子発現を調節する転写因子の検討 :

ネットワーク解析と遺伝子発現データを組み合わせ、複数の喘息関連遺伝子発現を制御する転写因子として、ETS 転座バリエーション 4 (ETV4) とペルオキシソーム増殖剤活性化受容体ガンマ (PPARG) がバイオマーカーの最も重要な制御因子として報告された。特に ETV4 遺伝子発現と関連する eQTL と喘息発症、さらには健常人における血清 IL-6 値との関連を検討した。いずれもゲノム網羅的な遺伝子タイピングを有する独立した 2 つの日本人成人集団を検討に用いた (a total of 1532 controls and 783 cases)。

## **4 . 研究成果**

#### 若年発症喘息における CDHR3 x Atopy GRS :

CDHR3 は Atopy-GRS が最も高い群で、若年発症成人喘息と強い関連を示した (OR = 2.60、P = 0.0090)。CDHR3 遺伝子と Atopy-GRS 間に有意な交互作用を認めた (P = 0.042)。

#### 中高年発症喘息または COPD における CDHR3 x Atopy GRS :

10 年間で 79 名の喘息、24 名の COPD の新規発症が確認された。CDHR3 遺伝子と Atopy-GRS との間に有意な関連が認められた (p for interaction = 0.0058)。Atopy-GRS が平均値以上の健常人を対象にした場合、CDHR3 遺伝子は新規の疾患発症に有意に関連していた (p = 0.000044)。Atopy-GRS 低値の健常者では喘息及び COPD の新規発症に対する CDHR3 の遺伝的な影響は認められなかった。

#### CDHR3 遺伝子と ORMDL3 遺伝子との相互作用：

CDHR3 遺伝子多型と ORMDL3 遺伝子多型の間に関連のある相互作用が存在した ( $P = 0.014$ )。対象を 21 歳以降に発症した喘息患者に限った場合においても同様の結果が得られた (相互作用  $P = 0.038$ )。

#### CDHR3 遺伝子と相互作用をする遺伝子群のゲノム網羅的な検討：

集団 1 において 3618 SNPs が、集団 2 においては 3012 SNPs がそれぞれ  $p < 0.01$  のレベルで、喘息発症において CDHR3 との相互作用が同定された。両集団の結果の Meta 解析にて、両集団の結果の Meta 解析にて、以下の 4 SNPs において CDHR3 との強い関連が同定された。rs271960/ZNF831 (meta-p =  $4.71 \times 10^{-7}$ ), rs12608960/SH2D3A (meta-p =  $9.35 \times 10^{-6}$ ), rs807193/CACNA1D (meta-p =  $1.94 \times 10^{-5}$ ), rs7812/DERL1 (meta-p =  $9 \times 10^{-5}$ )。

#### 喘息関連遺伝子発現を調節する転写因子の検討：

ETV4 遺伝子発現と関連する eQTL と喘息発症 ( $P = 8.43 \times 10^{-7}$ )、さらには健常人における血清 IL-6 値 ( $P = 0.041$ ) との有意な遺伝的関連を同定、報告した。喘息との強い関連はアレルギー性、好酸球性などの特定のフェノタイプに限ったものではなく、喘息病態に IL-6 や Th17 と関連した炎症性病態が幅広く存在する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Hyodo K, Masuko H, Oshima H, Shigemasa R, Kitazawa H, Kanazawa J, Iijima H, Ishikawa H, Kodama T, Nomura A, Kagohashi K, Satoh H, Saito T, Sakamoto T, Hizawa N.	4. 巻 17
2. 論文標題 Common exacerbation-prone phenotypes across asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD).	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0264397
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0264397.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yatagai Y, Oshima H, Sakamoto T, Shigemasa R, Kitazawa H, Hyodo K, Masuko H, Iijima H, Naito T, Saito T, Hirota T, Tamari M, Hizawa N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Expression quantitative trait loci for ETV4 and MEOX1 are associated with adult asthma in Japanese populations.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Reports	6. 最初と最後の頁 18791
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-98348-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ano S, Kikuchi N, Matsuyama M, Nakajima M, Kondo Y, Masuda M, Osawa H, Ishii Y, Hizawa N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Transcriptome genetic differences between responders and non-responders before bronchial thermoplasty.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Asthma	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/02770903.2021.1945088.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakajima M, Matsuyama M, Arai N, Yamada H, Hyodo K, Nonaka M, Kitazawa H, Yoshida K, Shigemasa R, Morishima Y, Kiwamoto T, Masuko H, Ishii Y, Muratani M, Saito T, Hizawa N.	4. 巻 147
2. 論文標題 Identification of whole blood gene expressions correlated with responsiveness to benralizumab.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 772-775
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2020.08.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazawa H, Masuko H, Kanazawa J, Shigemasa R, Hyodo K, Yamada H, Yatagai Y, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Saito T, Noguchi E, Konno S, Hirota T, Tamari M, Sakamoto T, Hizawa N	4. 巻 70
2. 論文標題 ORMDL3/GSDMB genotype as a risk factor for early-onset adult asthma is linked to total serum IgE levels but not to allergic sensitization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 55-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.04.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazawa H, Masuko H, Kanazawa J, Shigemasa R, Hyodo K, Yamada H, Yatagai Y, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Saito T, Noguchi E, Konno S, Hirota T, Tamari M, Sakamoto T, Hizawa N.	4. 巻 S1323
2. 論文標題 ORMDL3/GSDMB genotype is associated with distinct phenotypes of adult asthma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 8930(21)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2021.04.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsunoda Y, Sherpa MT, Kiwamoto T, Matsuyama M, Osawa H, Sakurai H, Hayashi S, Matsuno Y, Morishima Y, Ishii Y, Hizawa N.	4. 巻 76
2. 論文標題 Has2 deficiency enhances OVA-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 2214-2218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.14715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shigemasa R, Masuko H, Oshima H, Hyodo K, Kitazawa H, Kanazawa J, Iijima H, Naito T, Saito T, Sakamoto T, Hizawa N	4. 巻 S1323-8930(21)00016-2
2. 論文標題 Dust mite-dominant sensitization pattern as a causal factor for adult-onset asthma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2021.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shigemasa R, Masuko H, Hyodo K, Kitazawa H, Kanazawa J, Yatagai Y, Iijima H, Naito T, Saito T, Hirota T, Tamari M, Sakamoto T, Hizawa N	4. 巻 50
2. 論文標題 Genetic impact of CDHR3 on the adult onset of asthma and COPD	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Exp Allergy	6. 最初と最後の頁 1223-1229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cea.13699.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adachi T, Kainuma K, Asano K, Amagai M, Arai H, Ishii KJ, Ito K, Uchio E, Ebisawa M, Okano M, Kabashima K, Kondo K, Konno S, Saeki H, Sonobe M, Nagao M, Hizawa N, Fukushima A, Fujieda S, Matsumoto K, Morita H, Yamamoto K, Yoshimoto A, Tamari M.	4. 巻 69
2. 論文標題 Strategic Outlook toward 2030: Japan's research for allergy and immunology - Secondary publication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 561-570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.04.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada H, Hida N, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N	4. 巻 17
2. 論文標題 Effects of Lung Function-Related Genes and TSLP on COPD Phenotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 COPD	6. 最初と最後の頁 59-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15412555.2019.1708296.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakayama T, Hirota T, Asaka D, Sakashita M, Ninomiya T, Morikawa T, Okano M, Haruna S, Yoshida N, Takeno S, Tanaka Y, Yoshikawa M, Ishitoya J, Hizawa N, Isogai S, Mitsui C, Taniguchi M, Kojima H, Fujieda S, Tamari M	4. 巻 69
2. 論文標題 A genetic variant near TSLP is associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and aspirin-exacerbated respiratory disease in Japanese populations.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 138-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 檜澤伸之	4. 巻 70
2. 論文標題 喘息のフェノタイプとエンドタイプ Precision medicineに向けて	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 107-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15036/arerugi.70.107.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 檜澤伸之
2. 発表標題 喘息の起源を探索する
3. 学会等名 第7回日本アレルギー学会関東地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 檜澤伸之
2. 発表標題 成人喘息における増悪関連フェノタイプの検討 多施設共同による観察研究
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 檜澤伸之
2. 発表標題 閉塞性肺疾患におけるTreatable trait approach
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 檜澤伸之
2. 発表標題 経皮感作と喘息
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北澤晴奈、檜澤伸之
2. 発表標題 成人喘息発症におけるORMDL3/GSDMC遺伝子とCDHR3遺伝子との相互作用
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大島央之、檜澤伸之
2. 発表標題 ETV4遺伝子の発現量的形質遺伝子座 (eQTL) と日本人喘息との関連
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 檜澤伸之
2. 発表標題 喘息のフェノタイプとエンドタイプ—Precision medicineに向けて
3. 学会等名 第69回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kitazawa H, Hizawa N.
2. 発表標題 ORMDL3/GSDMB genotype as a risk factor for early-onset adult asthma is linked to total serum IgE levels but not to atopy
3. 学会等名 ATS 2020 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北澤春奈、檜澤伸之
2. 発表標題 ORMDL3/GSDMB遺伝子多型が成人喘息に与える影響
3. 学会等名 第60回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shigemasa R, Hizawa N
2. 発表標題 Genetic Impact Of CDHR3 On The Adult Onset Of Chronic Inflammatory Airway Diseases
3. 学会等名 ATS 2020 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shigemasa R, Hizawa N
2. 発表標題 Genetic Impact of CDHR3 on the Adult Onset of Chronic Inflammatory Airway Diseases
3. 学会等名 ATS 2020 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kitazawa H, Hizawa N.
2. 発表標題 ORMDL3/GSDMB Genotype As A Risk Factor For Early-onset Adult Asthma Is Linked To Total Serum IgE Levels But Not To Atopy
3. 学会等名 ATS 2020 International Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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