

氏名	山田 英恵		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7870 号		
学位授与年月	平成 28 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	呼吸機能及び閉塞性肺疾患に関する遺伝学的研究		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	土屋 尚之
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	濱田 洋実
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	猪股 伸一
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	後藤 行延

論文の内容の要旨

(目的)

喘息や慢性閉塞性肺疾患(COPD)などの閉塞性肺疾患の病態において、気流閉塞の背景に存在する多様な分子病態を理解することは病態解明につながる。遺伝学的観点から喘息の分子病態にアプローチする研究は国内外に多数存在するが、気流閉塞に関連した遺伝子と喘息との関連を調べた報告は少ない。本論文において、山田氏は、日本人健常者を対象に施行されたゲノムワイド関連解析(GWAS)のデータを利用し、呼吸機能検査値の遺伝率を求めた(研究1)。さらに、欧米の大規模 GWAS により報告された複数の呼吸機能関連遺伝子に基づき、1 秒率低下に関連する遺伝的リスクスコア(GRS)を算出し、喘息や COPD 発症に与える遺伝学的寄与度を解析した(研究2)。

(対象と方法)

研究1では、日本人健常者 967 名を対象とした GWAS により、1 秒率、%1 秒量および%努力性肺活量との関連を検討したデータに基づき、Genome-wide complex trait analysis (GCTA®)パッケージにより、制限付き最尤法を用いて、呼吸機能検査値の遺伝率を算出した。また、既報のヨーロッパ系集団における GWAS 論文の中で、1 秒率と有意な関連が報告されている 24 領域において、日本人において 1 秒率との関連の強い SNP を探索し、それらの寄与率を求めた。

研究2では、ヨーロッパ系集団における GWAS で 1 秒率と関連が報告された 24 遺伝子中、日本人健常者でも関連が示唆された 16 遺伝子の中でそれぞれ最も強い関連を示す top SNP の遺伝子型情報を利

用して 1 秒率低下関連 GRS を算出し、1 秒率（健常者 967 人）、経年的 1 秒量低下（健常者 803 人）、患者対照群（筑波コホート：健常者 1364 人、喘息患者 578 人、北海道コホート：健常者 692 人、喘息患者 350 人、COPD コホート：COPD 562 人）における喘息および COPD 発症との関連を検討した。また、GRS の高い喘息患者の特徴を明らかにするため GRS、発症年齢、%1 秒量を用いてクラスター解析（K-means 法）を行った。さらに、GRS に関連する分子経路と生物学的意義を探索するため、GRAIL®、Metacore®を用いた解析を行った。

（結果）

研究 1 では、統計学的に GWAS レベルで呼吸機能との有意な関連を示す SNP は同定できなかったが、GWAS に用いられるゲノム網羅的な common SNP の情報を用いて GCTA により算出された遺伝率は、%努力肺活量において 71.2%、%1 秒量において 51.9%、1 秒率において 41.6%であった。これらは欧米の報告とも概ね一致していた。また、ヨーロッパ系集団における GWAS 論文で報告された 1 秒率関連 24 遺伝子から選ばれた SNP の寄与率は、4.3-12.0%であった。

研究 2 では、1 秒率低下関連 GRS は、喘息や COPD において有意に高値であった。健常成人において、1 秒率低値と GRS との関連が認められたが、1 秒量の経年的変化との関連は認められなかった。また、GRS が高いほど喘息のリスクが上昇する傾向が観察されたのに対し、アトピーのリスク上昇は見られなかった。クラスター解析では、GRS は特に若年発症、アトピー、重度気流閉塞を特徴とする喘息の発症に関連している可能性が示された。パスウェイ解析からは、上皮間葉転換(EMT)経路に関連する *TGFB2*、*TNF*、*NOTCH4* などの遺伝子が GRS の生物学的意義に関連している可能性が示唆された。

（考察）

研究 1 において、日本人集団における GWAS では、ゲノムワイド有意水準で呼吸機能に関連する SNP は同定されなかったが、呼吸機能の遺伝率は複数の common SNP の相加的効果によってある程度説明できることが示唆された。また、ヨーロッパ系集団における呼吸機能関連遺伝子が、日本人においても一定の影響を持つことが示された。

研究 2 において、1 秒率低下関連 GRS と喘息や COPD との有意な関連が示されたことから、呼吸機能の低下と関連する遺伝的感受性が喘息発症の遺伝的要因になり得ることが示唆された。また、GRS は成人後の呼吸機能の経年的変化よりも幼小児期の肺の成長または発達に関与している可能性が示唆された。パスウェイ解析によって示唆された EMT 経路は、生理的には肺の発達、病態においては組織再構築に関与する経路であり、今回の結果から、呼吸機能低下、喘息、COPD に肺における EMT 経路の重要性が示唆された。

最後に山田氏は、今回、GRS を構築するために使用された 16 の遺伝子が日本人以外の集団で行われた GWAS の結果に基づいて選択されているが、本研究の参加者は日本人であり、日本人の GWAS から選択された遺伝子に基づいて、今後、同様の解析を行うことにより、より有用な遺伝学的マーカーが得られる可能性も考えられること、GRS が遺伝的バイオマーカーとして使用できるだけの臨床的に意味のある寄与度を有するかの確認が必要であると考察している。

審査の結果の要旨

(批評)

所属研究室における GWAS を含む遺伝子解析データと遺伝統計学的解析を駆使し、日本人集団における呼吸機能検査値における遺伝率の算出、1 秒率低下関連 GRS の構築とその喘息・COPD 発症における寄与を示し、さらにインフォマティクス解析により、関連する分子経路をも推測した、独創的かつ意欲的な研究である。遺伝統計学的解析、インフォマティクス解析を使いこなし、その結果の医学的・生物学的意義を的確に考察した能力は高く評価される。

平成 28 年 1 月 5 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。