

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461147

研究課題名(和文) 前向きコホートによる喘息とCOPD発症に対する危険因子の包括的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of risk factors for asthma and COPD by prospective cohort study

研究代表者

坂本 透 (Sakamoto, Tohru)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：50282356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：健康成人1312名を対象とした5年間の追跡では、新規の喘息発症者は35名、COPD発症者は11名であった。COPD発症群は正常群に比べ研究参加時点の1秒率が有意に低下していた。次にこのコホートについて肺機能特性の遺伝率を推定したところ、努力性肺活量、1秒量、1秒率はそれぞれ71%、52%、42%であった。さらにこの健康集団と喘息集団を用いて喘息発症に対するゲノムワイド関連解析を行った。その結果、ヒアルロン酸合成酵素HAS2と粘液分泌に関係すると考えられる蛋白HCG22が喘息発症と関連している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：A follow-up survey of 1312 healthy volunteers for 5 years demonstrated 35 new-onset asthma and 11 COPD patients. FEV1/FVC in the COPD group was significantly lower than that in the control group. Heritabilities for %FVC, %FEV1, and FEV1/FVC were estimated to be 71, 52, and 42%, respectively. Then, genome-wide association study using the healthy volunteers and asthma patients suggested that HAS2 and HCG22 are associated with the development of asthma.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：喘息 慢性閉塞性肺疾患 前向き研究 遺伝子多型

### 1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化に伴い高齢者喘息や COPD の増加が社会的な問題となっている。これらの疾患の発症には種々の外因性因子と内因性因子の相互作用が関係している。外因性因子としては、喫煙、アレルゲン、粉塵暴露、呼吸器感染症などがあり、内因性因子としては複数の遺伝子変異、アトピー素因、肥満、性別、年齢などがあげられる。しかしながら、これらの危険因子が喘息と COPD の発症に対してどのように関与しているかについては未だ十分には解明されていない。

### 2. 研究の目的

本研究では日本人健常成人を前向きに追跡し、性別、年齢、BMI、喫煙、アトピー素因、血清 IgE、血清炎症性バイオマーカー、呼吸機能検査、さらにはゲノム網羅的遺伝子多型 (SNP) などの因子が、喘息や COPD 発症にどのような影響を及ぼすかを包括的に解析する。さらに独立した喘息および COPD 集団を用い、両疾患の発症に関連する遺伝的因子について解析する。

### 3. 研究の方法

(1) 肺機能正常な健常成人 (N = 1312) に対して前向き追跡調査を行い、新規の喘息および COPD 発症者を同定する。

(2) 研究参加時の臨床データや網羅的一遺伝子多型 (single-nucleotide polymorphism; SNP) などの因子が新規の喘息および COPD 発症に対して与える影響について解析する。

(3) 健常者集団に加え、独立した喘息および COPD 集団を用いて、両疾患発症に対する SNP 関連解析を行う。

### 4. 研究成果

(1) 肺機能正常な健常成人 (N = 1312) を 5 年間追跡調査した結果、新規喘息発症者 35 名、新規 COPD 発症者 11 名が確認された。

(2) 新規 COPD 発症群 (N = 11) の研究参加時の 1 秒率は  $79.5 \pm 6.7\%$  であり、正常群 (N = 1266) の  $83.3 \pm 5.2\%$  に比べ有意に低下していた ( $P = 0.015$ )。新規喘息発症群 (N = 35) も正常者群に比べ、1 秒率が低い傾向にあった ( $81.6 \pm 5.7\%$ ,  $P = 0.052$ )。また、新規喘息発症群の研究参加時点の経年的 1 秒量減少は  $40.8 \pm 44.7\text{ml/年}$  であり、正常群の  $24.0 \pm 47.1\text{ml/年}$  に比べて大きい傾向にあった ( $P = 0.054$ )。新規 COPD 発症群の経年的 1 秒量減少も  $40.1 \pm 58.3\text{ml/年}$  と大きかったが、症例数が少なかったため有意な差は認められなかった ( $P = 0.309$ )。この他の臨床データは 3 群において有意な差はなかった。今後も引き続き前向き調査を継続し、疾患発症者の蓄積が必要である。

(3) 健常人の肺機能検査値 (努力性肺活量、1 秒量、1 秒率) に対してゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study; GWAS) を行い、肺機能特性の遺伝率を推定した。そ

の結果、努力性肺活量、1 秒量、1 秒率の遺伝率はそれぞれ 71.2%、51.9%、41.6%であった。また、これまで 6 個の GWAS において 1 秒率との関連が報告されている 24 遺伝子について、日本人における 1 秒率の遺伝率に与える影響について解析した。その結果、日本人の 1 秒率遺伝率 41.6%のうち 4.3~12.0%がこの 24 遺伝子によって説明可能であると推定された。以上より、肺機能特性は数多くの遺伝子多型の相加的な影響により決定されること、さらに人種を越えて共通の遺伝的因子によって影響をうけることが示された。次に、上記の 1 秒率関連 24 遺伝子の中から、我々の GWAS において日本人においても 1 秒率と関連が認められた 16 遺伝子を同定し、それぞれの遺伝子について責任 SNP 16 個を抽出した。この 16SNP のゲノタイプを用いて、我々の日本人健常成人集団において 1 秒率を低下させる遺伝的リスクスコアを計算した。さらに独立した喘息集団 (N = 1143) と COPD 集団 (N = 562) に対して同様に 1 秒率低下の遺伝的リスクスコアを計算し、正常群と比較解析した。その結果、1 秒率低下の遺伝的リスクスコアは喘息および COPD の発症と有意に関連しており (それぞれ  $P = 9.6 \times 10^{-4}$ 、 $0.042$ ) 遺伝的リスクスコアを計算することにより喘息および COPD の発症が予測できる可能性が考えられた。

次に、健常者集団と喘息集団を用い、喘息発症に対してゲノムワイド関連解析を行った。その結果、ヒアルロン酸合成酵素 *HAS2* 遺伝子上流の SNP (rs7846389) がゲノムワイド水準を満たして喘息発症と関連していた ( $P = 7.92 \times 10^{-9}$ )。ヒアルロン酸と喘息の関係は既に報告されており、この SNP と喘息発症との機能的関係について解析する予定である。また、40 歳以上の中高年発症の喘息に対する GWAS では、気道の粘液分泌に関係すると考えられる *HCG22* 遺伝子上流の SNP (rs2517548, rs2523870) が同定された ( $P = 3.98 \times 10^{-7}$ 、 $3.77 \times 10^{-7}$ )。この多型はびまん性汎細気管支炎と COPD 発症にも関連していることが確認され、これら 3 疾患の発症には共通の病態が関与している可能性が考えられた。

以上のように今回の研究では、喘息と COPD の発症に関係する危険因子について多くの新たな知見を得ることができた。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

- (1) Yatagai Y, Hirota T, Sakamoto T, Yamada H, Masuko H, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Tamari M, Kubo M, Takahashi A, Konno S, Makita H, Nishimura M, Hijikata M, Keicho N, Homma S, Taguchi Y, Azuma A, Kudoh S, Hizawa N. Variants near the HLA complex group 22 gene (*HCG22*) confer increased susceptibility to late-onset asthma in

- Japanese populations. *J Allergy Clin Immunol.* 印刷中 doi: 10.1016/j.jaci.2015.11.023. 査読有
- (2) Yamada H, Masuko H, Yatagai Y, Sakamoto T, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Konno S, Nishimura M, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. Role of Lung Function Genes in the Development of Asthma. *PLoS One.* 2016;11(1):e0145832. doi: 10.1371/journal.pone.0145832. eCollection 2016. 査読有
- (3) Iijima H, Kaneko Y, Masuko H, Yamada H, Yatagai Y, Sakamoto T, Kanemoto K, Ishikawa H, Saito T, Endo T, Ninomiya H, Nomura A, Kodama T, Kaneko N, Kokubu F, Makita H, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. MAST<sup>®</sup>法にてスクリーニングされた喘息患者におけるアレルゲン特異的 IgE 抗体の検索 -ImmunoCAP<sup>®</sup>の意義-。アレルギー。2015;64(9):1242-53. doi: 10.15036/arerugi.64.1242. 査読有
- (4) 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. doi: 10.1016/j.resinv.2014.10.004. 査読有
- (5) 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. doi: 10.1038/jhg.2014.57. 査読有
- (6) 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. doi: 10.1097/FPC.000000000000043. 査読有
- (7) Iijima H, Yamada H, Yatagai Y, Kaneko Y, Naito T, Sakamoto T, Masuko H, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. アレルゲン特異的 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. 査読有
- (8) 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. doi: 10.1371/journal.pone.0080941. 査読有
- 〔学会発表〕(計 26 件)
- (1) 藤田純一(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他 12 名。気道平滑筋細胞における IL-17F による IL-8 の発現機構。第 56 回日本呼吸器学会学術講演会、2016 年 4 月 8~10 日、国立京都国際会館(京都)
- (2) 林 土元(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他 6 名。肺気腫形成における転写因子 T-bet の役割の検討。2016 年 4 月 8~10 日、国立京都国際会館(京都)
- (3) 藤田純一(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他 9 名。気道平滑筋細胞からの IL-17F による炎症性サイトカインの発現とステロイドの抑制機構。第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015 年 5 月 26~28 日、グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール(東京)
- (4) 山田英恵(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他 13 名。モンテルカストとサルメテロールとの効果の差に影響する遺伝子の検討。第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015 年 5 月 26~28 日、グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール(東京)
- (5) Kawaguchi M, Ota K, Fujita J, Kiwamoto T, Matsuno Y, Matsukura S, Kokubu F, Morishima Y, Ishii Y, Sakamoto T, Satoh H, Hizawa N. IL-17F induces IL-8 in airway smooth muscle cells via NF- $\kappa$ B-independent pathway. American Thoracic Society 2015 International Conference. 2015 年 5 月 15~20 日、Colorado Convention Center (Colorado, USA)
- (6) Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Kaneko Y, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Konno S, Nishimura M, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. The role of pulmonary function genes in the pathogenesis of asthma. American Thoracic Society 2015 International Conference. 2015 年 5 月 15~20 日、Colorado Convention Center (Colorado, USA)
- (7) Yatagai Y, Sakamoto T, Yamada H, Masuko H, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Makita H, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. Genome-wide association study for late-onset asthma demonstrates possible association with a gene related to diffuse panbronchiolitis. American Thoracic Society 2015 International

- Conference. 2015年5月15~20日、Colorado Convention Center (Colorado, USA)
- (8) 太田恭子(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他9名. IL-17Fによる気道平滑筋細胞からのサイトカイン発現とステロイドの抑制効果. 第55回日本呼吸器学会学術講演会、2015年4月17~19日、東京国際フォーラム(東京)
- (9) 山田英恵(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他9名. 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17~19日、東京国際フォーラム(東京)
- (10) 松野洋輔(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他6名. Notch シグナリングによる IL-6/STAT3 を介した細胞濃度依存性アポトーシスの制御. 第55回日本呼吸器学会学術講演会、2015年4月17~19日、東京国際フォーラム(東京)
- (11) 谷田貝洋平(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他8名. 強制オシレーション法による喘息のクラスター分類. 第55回日本呼吸器学会学術講演会、2015年4月17~19日、東京国際フォーラム(東京)
- (12) Yatagai Y, Sakamoto T, Yamada H, Masuko H, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. Genome-wide association study identifies hyaluronan synthase 2 (HAS2) as a susceptibility gene for adult asthma in a Japanese population. American Thoracic Society 2014 International Conference. 2014年5月16~21日、San Diego Convention Center (San Diego, USA)
- (13) Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. The role of lung function genes in the development of asthma. American Thoracic Society 2014 International Conference. 2014年5月16~21日、San Diego Convention Center (San Diego, USA)
- (14) 山田英恵(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他7名. 健康人における吸入抗原のアレルギー感作に対するゲノム網羅的関連解析. 第26回日本アレルギー学会春期臨床大会、2014年5月9~11日、国立京都国際会館(京都)
- (15) 飯島弘晃(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他5名. ダニ抗原感作における環境ダニ抗原量と TSLP 遺伝子との交互作用について. 第26回日本アレルギー学会春期臨床大会、2014年5月9~11日、国立京都国際会館(京都)
- (16) 谷田貝洋平(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他10名. 中高年発症喘息(late onset asthma: LOA)を対象とした網羅的遺伝子解析. 第26回日本アレルギー学会春期臨床大会、2014年5月9~11日、国立京都国際会館(京都)
- (17) 谷田貝洋平(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他8名. Hyaluronan synthase 2 (HAS2) 遺伝子と喘息との関連-ゲノムワイド関連解析(GWAS)による検討-. 第54回日本呼吸器学会学術講演会、2014年4月25~27日、大阪国際会議場(大阪)
- (18) 太田恭子(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他13名. dsRNAによる気道上皮細胞からの IL-32 の発現. 第54回日本呼吸器学会学術講演会、2014年4月25~27日、大阪国際会議場(大阪)
- (19) 山田英恵(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他7名. 喘息発症における呼吸機能関連遺伝子の役割. 第54回日本呼吸器学会学術講演会、2014年4月25~27日、大阪国際会議場(大阪)
- (20) 飯島弘晃(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他5名. COPD に対する Salmeterol/Fluticasone 配合剤の追加効果および効果予測因子に関する検討. 第54回日本呼吸器学会学術講演会、2014年4月25~27日、大阪国際会議場(大阪)
- (21) 藤田純一(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他8名. 気道平滑筋細胞からの IL-17F による IL-6、IL-8 の産生. 第63回日本アレルギー学会秋期学術大会、2013年11月28~30日、ホテルニューオータニ(東京)
- (22) 山田英恵(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他7名. 健康人における一秒量、一秒率及び努力性肺活量における遺伝率の推定. 第63回日本アレルギー学会秋期学術大会、2013年11月28~30日、ホテルニューオータニ(東京)
- (23) 飯島弘晃(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他4名. 環境ダニ抗原量とアトピー分類との関連について. 第63回日本アレルギー学会秋期学術大会、2013年11月28~30日、ホテルニューオータニ(東京)
- (24) 谷田貝洋平(代表)、坂本 透、檜澤伸之、他8名. 喘息の起源としてのアレルゲン特異的 IgE 反応性の役割 - GWAS の結果による考察. 第63回日本アレルギー学会秋期学術大会、2013年11月28~30日、ホテルニューオータニ(東京)
- (25) Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Kaneko Y, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Hizawa N. A Genomewide Association Study In Healthy Japanese Adults Replicated The Previously Reported Susceptibility Genes To Airflow Limitation. American Thoracic Society 2013 International Conference. 2013年5月17~22日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, USA)

(26) Yatagai Y, Masuko H, Yamada H, Kaneko Y, Sakamoto T, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Imoto Y, Tokunaga T, Konno S, Nishimura 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. American Thoracic Society 2013 International Conference. 2013年5月17 ~ 22 日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, USA)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

坂本 透 (SAKAMOTO TOHRU)  
筑波大学・医学医療系・准教授  
研究者番号：50282356

### (2)研究分担者

檜澤伸之 (HIZAWA NOBUYUKI)  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号：00301896