

第3回ジャポニカアレイ®研究会

テーマ「ジャポニカアレイ®の最新研究成果の共有と討論」

日時 2018年9月15日(土)

場所 東芝ビルディング(浜松町)

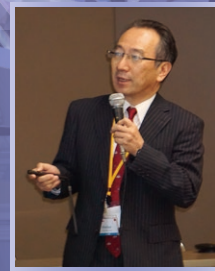
共催 株式会社 東芝

サーモフィッシャーサイエンティフィック
ライフテクノロジーズジャパン株式会社

座長

大阪大学大学院医学系研究科
脳神経感覚器外科学(眼科学) 教授

西田 幸二 先生



神戸大学大学院医学研究科
内科系講座小児科学分野 教授

飯島 一誠 先生

小児ステロイド感受性 ネフローゼ症候群の 疾患感受性遺伝子同定研究

はじめに

ネフローゼ症候群は、糸球体基底膜障害の結果、高度尿蛋白、低蛋白血症と全身性の浮腫が起こる。小児ネフローゼ症候群は小児の慢性腎疾患で最も頻度が高く、日本では小児10万人あたり年間6.49人(全国で約1,000人)が発症する。小児ネフローゼ症候群の約90%は原因不明な突発性ネフローゼ症候群(INS)である。INSの約80%はステロイドや免疫抑制剤に反応して寛解となるステロイド感受性ネフローゼ症候群(SSNS)であるが、少なくとも20%程度の症例は成人期になっても再発を繰り返す難治例である(図1)。従って、本症候群の病因・病態および発症機序の解明と、その知見に基づく原因療法の開発が強く望まれている。小児ネフローゼ症候群の大半は多因子疾患であり、何らかの疾患感受性遺伝子を持つ人にウイルス感染などの免疫学的な刺激等により発症すると考えられているが、疾患感受性遺伝子は明らかではない。

日本人小児SSNSの疾患感受性遺伝子をゲノムワイド関連解析(GWAS)等により同定した研究成果について報告する。

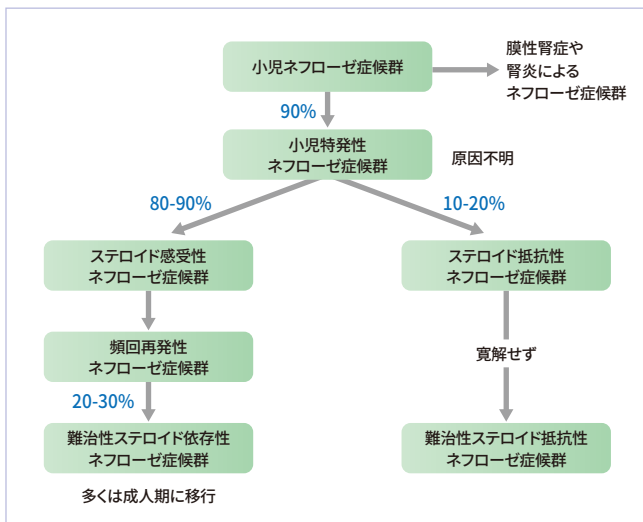


図1 小児ネフローゼ症候群の臨床経過

解析方法

図2にこの研究における解析方法の概要を示す。

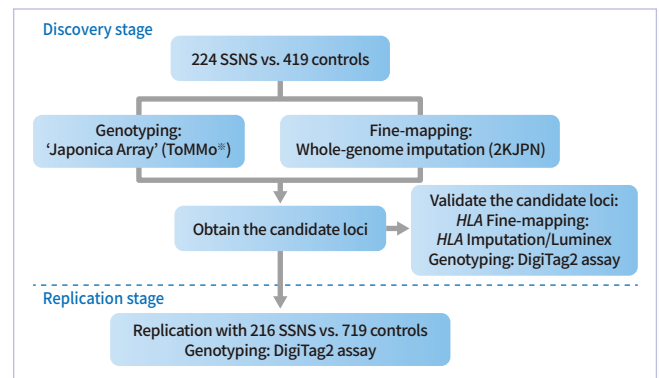


図2 解析方法

【Discovery Stage】

224例の小児SSNSおよび健常者419例を対象として、日本人に最適化された「ジャポニカアレイ®」を使用してGenotypingを実施した。そのGenotypingデータからGWASを実施した。また、リファレンスパネル(ToMMo*の2KJPN)を使用して全ゲノムインピュテーションも行い、併せてGWASを実施した。GWASで得られた疾患感受性遺伝子の候補について、さらにHLA Fine-mapping(HLAインピュテーション法/Luminex法)を行い、小児SSNSの発症リスクの高いHLAアリル、ハプロタイプの探索を行った。

【Replication Stage】

Discovery Stageと異なる216例の小児SSNSおよび健常者719例の日本人集団でReplicationを実施した。HLA領域に関してはLuminex法、HLA領域以外の有望なシグナルについてはDigiTag2 assayを用いたGenotypingを行った。また、Combined AnalysisとしてDiscovery StageとReplication Stageのデータを統合(432例の小児SSNSおよび健常者1119例)して、発症リスクの高いアリル、ハプロタイプを検討した。

ゲノムワイド関連解析 (GWAS)

Discovery StageのGWASのマンハッタンプロットを図3に示す。6番染色体短腕にゲノムワイド有意 ($P < 5 \times 10^{-8}$) なシグナルを同定した。HLA-DR/DQ領域の拡大図を図4に示す。HLA-DR/DQ領域が小児SSNSと最も重要な関連を示した。また、全ゲノムインピュテーションしたデータでGWASを実施したところ、HLA領域以外で複数の有望 ($P < 1 \times 10^{-5}$) なシグナルを認めしたが、replication stageでは有意なシグナルを認めなかった。

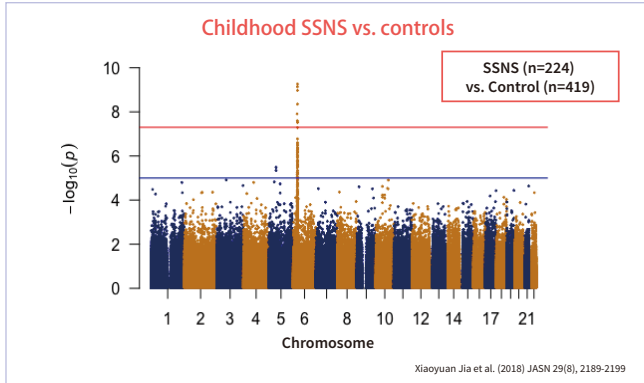


図3 マンハッタンプロット

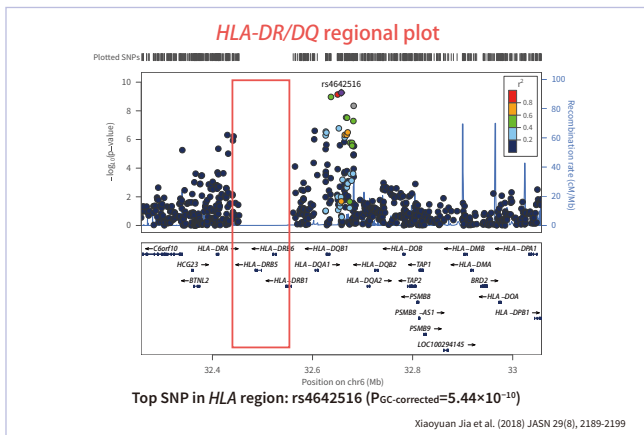


図4 HLA-DR/DQ領域の拡大図

HLA Fine-mapping

HLA-DRB遺伝子コピー数の多型のため、DRB領域のSNPはHardy-Weinbergの平衡に適合せず、一般のSNPアレイにはこの領域のプロンプが搭載されていない。そのため、HLA-DRB領域の情報が欠如している (図4 赤枠)。HLA-DQ領域が第一義的に見ても、極めて強い連鎖不均衡にあるHLA-DR領域も同様に候補である可能性が高いと考えられる。そこで、HLAインピュテーション法を用いて、HLAクラスI (A, B, C) およびHLAクラスII (DRB1, DQB1, DPB1) アリルを推定した。このHLAインピュテーションは東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室で実施していただいた。HLAインピュテーションはあくまで推定のため、Validation StudyではLuminex法によるDNAタイピングでHLA-DRB1およびHLA-DQB1を確定した。HLAインピュテーションとDNAタイピングの結果は99.2%で一致した。

本資料に関するお問い合わせ先

TOSHIBA

株式会社 東芝

研究開発本部 本部企画部 ライフサイエンス推進室

〒105-8001 東京都港区芝浦1-1-1 TEL: 03-3457-2984

Mail: HdqLS-PSG@ml.toshiba.co.jp

小児SSNSの発症リスク

小児SSNSの発症リスクについてValidation, Replication, Combined Analysisの各結果を表1に示す。

HLA-DRB1 - DQB1: Replication and Combined Analyses												
HLA alleles/haplotypes	Validation				Replication				Combined analysis			
	Cases (2n=448)		Controls (2n=818)		Cases (2n=426)		Controls (2n=1420)		Cases (2n=874)		Controls (2n=2238)	
	No (%)	No (%)	OR (95% CI)	P _{corrected}	No (%)	No (%)	OR (95% CI)	P _{corrected}	No (%)	No (%)	OR (95% CI)	P _{corrected}
DRB1*08:02	46 (10.3%)	32 (3.9%)	2.81 (1.76-4.48)	1.24E-04	44 (10.3%)	62 (4.4%)	2.52 (1.69-3.77)	6.84E-05	90 (10.3%)	94 (4.20%)	2.62 (1.94-3.54)	1.82E-09
DRB1*13:02	5 (1.1%)	55 (6.7%)	0.16 (0.06-0.39)	1.28E-04	7 (8.8%)	125 (8.2%)	0.17 (0.08-0.37)	9.32E-06	12 (8.0%)	180 (7.6%)	0.16 (0.09-0.29)	7.31E-11
DQB1*06:04	2 (0.5%)	53 (6.5%)	0.06 (0.02-0.27)	5.26E-06	5 (8.2%)	117 (8.2%)	0.13 (0.05-0.33)	2.89E-07	7 (8.0%)	170 (7.6%)	0.10 (0.05-0.21)	2.09E-12
DQB1*03:02	80 (17.9%)	77 (9.4%)	2.09 (1.49-2.93)	1.44E-04	48 (11.3%)	136 (9.6%)	1.2 (0.85-1.70)	NS	128 (14.6%)	213 (9.5%)	1.63 (1.29-2.06)	4.25E-04
DQB1*06:02	15 (3.4%)	65 (8.0%)	0.4 (0.23-0.71)	1.43E-02	14 (3.4%)	108 (7.6%)	0.41 (0.23-0.73)	1.81E-02	29 (3.3%)	173 (7.7%)	0.41 (0.27-0.61)	7.84E-05
DRB1*08:02-DQB1*03:02	36 (8.0%)	17 (2.1%)	4.12 (2.28-7.42)	8.76E-06	28 (6.6%)	31 (2.2%)	3.15 (1.87-5.32)	1.25E-04	64 (7.3%)	48 (2.10%)	3.6 (2.46-5.29)	7.01E-11
DRB1*13:02-DQB1*06:04	2 (0.5%)	53 (6.5%)	0.06 (0.02-0.27)	1.00E-05	5 (8.2%)	117 (8.2%)	0.13 (0.05-0.33)	5.29E-06	7 (8.0%)	170 (7.6%)	0.10 (0.05-0.21)	4.18E-12
DRB1*15:01-DQB1*06:02	15 (3.4%)	65 (8.0%)	0.4 (0.23-0.71)	2.74E-02	14 (3.3%)	107 (7.5%)	0.42 (0.24-0.74)	3.77E-02	29 (3.3%)	172 (7.7%)	0.41 (0.28-0.82)	1.85E-04

Xiaoyuan Jia et al. (2018) JASN 29(8), 2189-2199

表1 小児SSNSの発症リスク

まとめ

- 日本人に最適化された「ジャポニカアレイ®」を使用して、小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群 (SSNS) とHLA-DR/DQ領域に強い関連を見出した。
- 最も発症リスクの高いHLAハプロタイプは (表1 赤枠) HLA-DRB1*08:02-HLA-DQB1*03:02 (OR:3.60) 最も発症リスクの低いHLAハプロタイプは (表1 青枠) HLA-DRB1*13:02-HLA-DQB1*06:04 (OR:0.10) であった。

今後の展開

現在、今回の対象を含む1,152例の小児ネフローゼ症候群患者検体と日本人健常者コントロール検体2,807例を対象として、ジャポニカアレイ®を利用したGWASを実施中である。このGWASにより、HLA以外の疾患感受性遺伝子も同定できる可能性が高く、今後は、同定された疾患感受性遺伝子が世界共通なのかを確認する国際共同研究に発展させたいと考えている。

これらの研究成果は、今後、小児ネフローゼ症候群の発症機序の解明に貢献するものと期待している。

この研究成果は、「Journal of the American Society of Nephrology」に掲載されました。

Xiaoyuan Jia et al. (2018) 「Strong Association of the HLA-DR/DQ Locus with Childhood Steroid-Sensitive Nephrotic Syndrome in the Japanese Population」 JASN 29(8), 2189-2199

<https://doi.org/10.1681/ASN.2017080859>

※ジャポニカアレイ®は、国立大学法人東北大学の登録商標です。

※ToMMo: 東北大学 東北メディカル・メガバンク機構

※この資料は、第3回ジャポニカアレイ®研究会のご講演より、株式会社東芝 ライフサイエンス 推進室が作成したものです。お問い合わせは下記にお願いします。