

(別紙1)

総括研究報告書

(一行分あける)

課題番号：26-18

課題名：成育医療におけるゲノム情報を含む長期追跡データの構築と病因解明に関するコホート研究

(一行分あける)

主任研究者名（所属施設） 大矢 幸弘

国立成育医療研究センター

（所属・職名） アレルギーセンター・アレルギーセンター長

(一行分あける)

（研究成果の要約）近年急増したアレルギー疾患を中心とした Common diseases の原因について、出生コホート研究という疫学的手法を用いて因果推論を行うことを目的として、縦断的なデータベースの構築を行ってきた。今年度は12歳、13歳、14歳の子どもを対象とした質問票によるデータ収集を行った。12歳質問票は合計で967人に送付し795組の母子から回答を得た（回収率83.2%）。これまでに集積した0歳から9歳までのデータを利用して小児気管支喘息の経過についてトラジェクトリー解析を行ったところ、日本人では5つのサブクラスがあることが分かった。また、健診での採血検査の結果を解析したところ、5歳で約6割、9歳では8割近い子どもが吸入性抗原に感作を受けておりアレルギー体質の子どもが大半を占めていることが判明した。遺伝子解析により、特にフィラグリン機能喪失変異陽性者は植物の交差抗原であるプロフィリンに対して感作を起こしやすいことが示唆された。

(一行分あける)

1. 研究目的

本研究の目的 近年、軽度発達障害、アレルギー疾患、小児肥満などの Common diseases が増加しているが、その原因はまだ不明であり、出生コホート研究による縦断的な因果推論を行う研究が必要とされている。我々が実施している成育コホート研究では、母子の両方を追跡することによって、それぞれの健康影響に加えて親子の関係性等に関する調査が可能である。成育コホート研究では、平成15年末から2年半に亘って1701名の妊婦をリクルートし、出生した1550人の児と母親について、半年～1年ごとのデータを調査票を用いて収集してきた。さらに平成21年～23年には5歳児とその母親に健診と採血を行った。平成25年～27年にも同様に9歳児とその母親に採血を含む健診並びに遺伝子データの収集を実施した。平成30年度には継続して12歳、13歳、14歳の参加者に調査票を送付して情報を収集すると同時に、平成29年から開始した13歳健診を継続し、子どもとその母親のコホート集団を追跡し、各種の病院解明につながる長期的なデータを蓄積している。さらに、これらのデータを用いて、母胎における曝露や遺伝子情報を含む交絡因

子を考慮した疾患発症に関する因果推論を展開する。

(一行分あける)

2. 研究組織

大矢幸弘 国立成育医療研究センター
アレルギーセンター

木戸博 徳島大学先端酵素学研究所
野口恵美子 筑波大学医学医療系遺伝医学
荒田尚子 国立成育医療研究センター
母性内科

堀川玲子 国立成育医療研究センター
内分泌代謝科

成田雅美 国立成育医療研究センター
アレルギー科

(一行分あける)

3. 研究成果

本年度の研究は、平成15年から実施している成育コホート研究について、参加者への質問票調査を継続して施行した。またこれまでに集積したデータを縦断的に結合し、疾患や症状をアウトカムとし、先行暴露との関係について因果推論を行うべく多変量解析するとともに、採取したサンプルから遺伝子情報を得て新たな解析を行った。成育コホート健診に参加した母親についての解析も追加で実施した。

(1) 成育コホート研究

(イ) 質問票送付及び回収

平成 30 年度は 12 歳、13 歳、14 歳の質問票を該当する参加者に送付して郵送で回収した。12 歳質問票は合計で 967 人に送付し 795 組の母子から回答を得た(回収率 83.2%)。

(ロ) 13 歳健診

平成 29 年度から 3 年間の予定で 13 歳になった参加者とその母親を対象に健診を開始し、平成 30 年度も採血を含め医学的データの収集を行った。

(ハ) これまで集積したデータの解析：質問票の ISAAC に関するデータを利用して、0 歳から 9 歳までの気管支喘息の症状推移を縦断的にトラジェクトリー解析を行った結果、5 つの小児喘息のサブクラス分類を見いだした。喘鳴を経験したことがないかわずかであったものが 43.7%，一過性の早期喘鳴が 32.2%，学童期発症喘息が 6.2%，幼少期発症軽快型が 8.6%，幼少期発症持続型が 9.2% であった。乳児期の間接喫煙の影響は一過性喘鳴の増悪に荷担していた。これは欧米の先行研究と異なるもので、欧州アレルギー臨床免疫学会の Pediatric Allergy and Immunology 誌 (PAI) に掲載された。5 歳と 9 歳の健診で採血した検体を特異的 IgE の約 100 種類のコンポーネントで測定したデータを解析したところ、全受検者に占めるアレルギー体質(何らかの抗原特異的 IgE が陽性)の子どもの割合は 5 歳児が 57.8% で 9 歳児は 74.8% に上昇していた。特にダニ、樹木、雑草など吸入性抗原の上昇が目立ち、食物抗原への感作は低かった。日本では一般人口を対象としたこのようなデータは初めてであり、主成分分析の結果と合わせて国際誌に投稿中である。

ゲノム解析研究参加に対して同意が得られた 738 名のうち、双胎や血縁関係のある参加者についてはそのうちの一名をランダムに選抜し、さらに質問紙に全く回答していない 1 名をのぞいた 712 名を解析対象とした。フィラグリン遺伝子型のアレル頻度については c.3321del, p.Gln1701Ter, p.Ser2554Ter, p.Ser2889Ter, p.Ser3296Ter, p.Lys4022Ter がそれぞれ 0.70%, 0.07%, 0.63%, 1.54%, 0.21%, 1.83% であった。コホート参加者中に p.Ser2554Ter の変異型のアレルホモ接合体 1 名が検出された。アトピー

性皮膚炎の医師による診断とフィラグリン機能喪失変異について、0.5 歳から 6 歳までの質問に全て回答している 594 人について発症年齢に関する検討を行ったところ、2 歳までの発症についてはフィラグリン機能喪失変異とアトピー性皮膚炎との関連は強かった ($P < 0.001$, OR 3.54, 95% CI 1.88-6.65) が、3 歳以降の発症例についての関連は認められなかった ($P = 0.981$, OR 0.99, 95% CI 0.29-3.36)。さらに ImmunoCAP ISAC sIgE による IgE 陽性となったアレルゲンコンポーネント数を 5 歳時のデータを使用して検討したところ、フィラグリン機能喪失変異陽性者において陰性者と比較して有意に陽性数が増加していた ($P=0.001$)。さらにフィラグリン機能喪失変異陽性者は植物の交差抗原であるプロフィリンに対して感作を起こしやすいことが示唆された。

(2) 成育コホートにおける母体の予後

1701 名の成育コホート登録妊婦のうち、国立成育医療研究センターで分娩した妊婦は 1548 名で 9 年後健診には 707 組の母児が参加した。そのうち母親の受診は 668 名であった。妊娠前より高血圧であった 2 名、妊娠前より腎臓疾患合併の 1 名、妊娠前より膠原病の 2 名(抗リン脂質抗体症候群 1 名、シェーグレン症候群 1 名)を除いた 663 名の母親の産後 9 年後健診の結果を解析した。

663 名中 3 名は血圧測定拒否、4 名は 1 回のみの血圧測定だったので対象から除外した。また、採血検体量不足で生化学測定不可 1 名、採血拒否 1 名を除外し、最終的に 654 名を解析した。654 名のうち妊娠高血圧症候群に罹患した女性は 15 名、正常血圧妊娠は 639 名であった。9 年後健診では高血圧症有病率は妊娠高血圧症候群罹患女性で有意に高かったが、2 方糖尿病・脂質異常症・メタボリック症候群の有病者の割合は、両方で差を認めなかった。

(3) 母体環境と児の早期代謝異常に関する研究

Adiposity Rebound (AR) 時期について、対象を 3 群に分類した。AR が 3 歳未満の非常に早い群 very early AR (VE, AR, n=32), 3 歳から 5 歳の間早い群 early AR (EA, n=38), 5 歳までに AR を認めなかった群 (NR, n=104)。VE 群では、妊娠中期の母の HbA1c

は NR 群に比し有意に高値だった ($4.91 \pm 0.32\%$ (mean \pm SD) vs $4.78 \pm 0.23\%$, $p=0.02$)。VE と ER 群、ER 群と NR 群には HbA1c の有意差はなかった。TG, LDL-cho1, HDL-cho1, FFA は 3 群で有意な差を認めなかった。母の妊娠前及び現在の BMI、妊娠中の体重増加は AR の時期と有意な関連は認めなかった

(4) 抗原特異的免疫グロブリン (IgE、IgG、IgA) の測定

生後 6 ヶ月齢の時点で、その後の食物アレルギーの発症リスクを予測するバイオマーカーとして、イムノグロブリン CS と IgE の抗原親和性解析が有用であることを示唆するデータを得た。特に生後 6 ヶ月齢までに湿疹を伴った場合には、特にこれらの検査が重要で、その後食物アレルギー発症に進むか、免疫寛容に進むかの判定と、その後の発症予防対策に有用と推定した。さらに経口減感作療法が有効に作用した場合は、IgG4 の増加に伴って高親和性 IgE から低親和性 IgE に変化する事、さらに従来脱感作と耐性獲得を区別するバイオマーカーが無かったが、IgG4/IgG1 除去前後のアレルゲン特異的 IgE の抗原親和性を測定することで、両者を鑑別できる可能性が示された。

(5) 小児アレルギー疾患に関する疾患コホート研究

平成 26 年度に「アレルギー疾患の経過・長期予後に関与する因子解明のための患者登録制度の構築」について倫理委員会で承認を得、平成 27 年度には、登録時の質問票について内容の改訂を行った。平成 28 年度から実際の患者リクルートを開始し、223 名の初診患者の同意を得てデータ収集を開始した。平成 29 年度は継続して初診患者を 130 名登録した。回収した質問票を検討する過程で、さらに改定が必要と判断したため、平成 30 年度にはいったんリクルートを中断して新たな質問票の作成を行っている。具体的には Clinical Question を抽出して収集する情報及びアウトカムを検討し、標準化された質問項目の選定などを進めている。

「食物アレルギー及び関連疾患の診断に有用なアレルギーマーカーの確立」に関しては、負荷試験を実施した 157 人 (3-14 歳、平均 7.4 歳) のうち、112 人に誘発症状が認

められた。尿中脂質代謝産物のうち、肥満細胞が産生するプロスタグランジン D2 の代謝産物である tetranor-PGDM (以下 PGDM) の尿中濃度が負荷試験陽性患者で 4 時間後に有意に上昇していた。

(一行分あける)

4. 研究内容の倫理面への配慮

成育コホート研究及び疾患コホート研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針ガイダンス」に基づき、国立成育医療研究センター倫理審査委員会の承認を得て実施した。また研究参加者の個人情報コホート管理室において研究責任者の管理の元に鍵のついた保管場所で厳重に管理し、保護に関しては最大限に配慮する。採血結果などの検査結果の取り扱いにおいては個人の識別不可能な調査番号により匿名化を行い管理した。

・成育医療の長期追跡データの構築に関する研究 (受付番号 52)

・成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究「成育コホート研究における 5 歳健診での血液検査」(受付番号 341)

・成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究「成育コホート研究を用いた妊娠中のイベントと女性の生活習慣病リスクに関する研究」(受付番号 342)

・成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究 (成育コホート研究 7 歳~15 歳) (受付番号 472)

・アレルギー疾患における遺伝要因の探索研究 (受付番号 533)

・成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究「成育コホート研究における 9 歳健診での血液検査・13 歳健診」(受付番号 614)

・アレルギー疾患の経過・長期予後に関与する因子解明のための患者登録制度の構築 (受付番号 864)

また分担研究者が自施設で実施する研究については、各施設の倫理委員会の承認を得て行った。

(一行分あける)