

博士論文

ゲノムワイド関連解析による虚血性心疾患の
遺伝的背景に関する研究

松永 紘

ゲノムワイド関連解析による虚血性心疾患の
遺伝的背景に関する研究

所属：東京大学大学院医学系研究科 循環器内科

指導教員：小室 一成

氏名：松永 紘

目 次

1. 用語・略語	3
2. 要旨	5
3. 序文	6
4. 方法	16
5. 結果	41
6. 考察	98
7. 結論	106
8. 引用文献	110
9. 謝辞	124

【用語・略語】

1KGP: 1000 Genomes Project

λ_{GC} : Genomic inflation factor

BBJ: BioBank Japan

BMI: Body mass index

CAD: Coronary artery disease

CARDIoGRAMplusC4D: Coronary ARtery DIsease Genome wide Replication and
Meta-analysis plus The Coronary Artery Disease

FDR: False Discovery Rate

DEPICT: Data-driven Expression-Prioritized Integration for Complex Traits

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

eGFR: estimated glomerular filtration rate

eQTL: expression Quantitative Trait Locus

GLP-1: Glucagon-like peptide-1

GTEx: Genotype-Tissue Expression

GWAS: Genome-wide association study

HbA1c: Hemoglobin A1c

IMM: Iwate Tohoku Medical Megabank

JENGER: Japanese ENcyclopedia of GENetic association by Riken

J-MICC Study: The Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort Study

JPHC Study: Japan Public Health Center-based Prospective Study

LDL: Low-density lipoprotein

LDSC: linkage disequilibrium score regression

MAGENTA: Meta-Analysis Gene-set Enrichment of variaNT Association

MI: Myocardial infarction

MR-MEGA: Meta-Regression of Multi-Ethnic Genetic Association

OACIS: Osaka Acute Coronary Insufficiency Study

PANTHER: Protein Analysis through Evolutionary Relationships

QQ plot: Quantile-quantile plot

SGLT2: Sodium glucose cotransporter 2

SNP: Single nucleotide polymorphism

ToMMo: Tohoku Medical Megabank Organization

【要旨】

・ 背景

ゲノムワイド関連解析（Genome-wide association study; GWAS）は虚血性心疾患（Coronary artery disease; CAD）に多くの知見をもたらしてきた。人種間で遺伝的構造の違いがあるため、様々な人種での GWAS が必要となる。

・ 方法と結果

日本人で2つのコホートを用いて CAD の GWAS を行った。その後、欧米人の GWAS も統合し、メタ解析した。3 個の新規疾患感受性領域を発見し、うち 2 個は免疫系により動脈硬化に関与していた。CAD 発症に影響が大きい組織は、日本人では副腎、欧米人では動脈と脂肪組織であると示唆された。この結果は日本人と欧米人での遺伝要因の違いを示していると考えられた。

・ 結論

CAD に関わる 3 個の新規疾患感受性領域を同定し、日本人と欧米人での遺伝要因の共通点と相違点を示した。

【序文】

I. 虚血性心疾患の疫学

虚血性心疾患（Coronary artery disease; CAD）は治療法や予防法の進歩にも関わらず、未だに世界中で主要な死因の一つである。日本においても CAD を含む心疾患による死亡数は、2017 年には 20 万を超えており、悪性新生物に次ぐ 2 番目に多い数字となっている。CAD にかかる年間医療費も約 7,500 億円にものぼり、社会的に大きな問題となっている。

また、CAD の有病率や発生率は人種により違いがある。心筋梗塞（Myocardial infarction; MI）での年齢調節後発症率は日本人では 10 万人あたり 27 人であるが¹、欧米人では 42 から 142 人と報告されている²。日本人の食生活の欧米化により MI の発症率は上昇しているが、欧米人の発症率と比べると未だに低値である。

II. 虚血性心疾患のリスクファクター

CAD のリスクファクターとして、高血圧、糖尿病、脂質異常症、慢性腎不全、喫煙などが報告されている。高血圧は CAD の重要な危険因子であると認識されており、NIPPON DATA 2010 の報告では、わが国の高血圧患者は約 4,300 万人と推定されている³。血圧の上昇に相関して、心血管リスクの上昇が示されており、降圧目標は 140/90mmHg となっている。最近では、SPRINT 試験で、さらに厳格な降圧を行うことにより、心血管イベントのリスクが減らせるという新たなエビデンスも報告されてきている⁴。糖尿病も心血管疾患発症のリスクを 2~4 倍上昇させると報告している⁵。合併症予防を目標に HbA1c は 7.0%未満を目標値として定められている。近年では、SGLT2 阻害薬や GLP-1 受容体作動薬の使用により、心血管イベントの抑制効果も証明されてきている^{6,7}。脂質異常症は、総コレステロールや LDL コレステロール、中性脂肪など心血管疾患との関連が報告されているが、LDL コレステロールに関するエビデンスが豊富である。LDL コレステロール値は 80mg/dL 未満を対照とすると、140mg/dL 以上の群では 2.8 倍に CAD のリスクが増加する⁷。脂質管理の重要性がより高まってきており、わが国のガイドラインでも、より厳格な脂質低下療法が推奨されてきている。慢性腎不全も動脈硬化疾患の重要な危険因子であ

り、eGFR の低下に伴い、CAD 発症のリスクが増加することが明らかになって
いる。慢性腎不全は高血圧や糖尿病がリスクとなるため、包括的な管理が重要
となってくる。喫煙も CAD の独立した危険因子であり、受動喫煙を含めて避
けることが推奨されている。このように、CAD の危険因子は多岐にわたり、動
脈硬化の進行を抑えるよう、管理していくことが大切となる。

III. 虚血性心疾患の遺伝的背景

CAD の発症には環境要因だけでなく、遺伝要因も関与していると考えられている。家族性高コレステロール血症の原因となる *LDLR* の異常により、CAD 発症のリスクが上昇することが報告されていた。その後、ゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study: GWAS) と呼ばれる手法により、現在までに 150 個以上の CAD に関する疾患感受性領域が同定されてきた⁸⁻¹³。これらの遺伝子は、臨床的に報告されているリスクファクターと関連しているものが多い。*LDLR* や *PCSK9* は家族性高コレステロール血症の原因遺伝子として報告されている。*ANGPTL4* は中性脂肪代謝にかかわり、抗 *Angptl4* 薬の開発も注目されている。また、*CCDC92* はインスリン抵抗性にかかわることが明らかとなっている。臨床的なリスクファクターに関わる遺伝子以外にも *IL6R* や *CXCL12* のような炎症に関わる遺伝子や、*EDNRA* など血管収縮にかかわる遺伝子も発見されている。このように報告されている領域の多くは疫学研究で報告されているリスクファクターに関連するものであるが、新たな知見ももたらしめている¹⁴。しかしながら、現在までに GWAS で同定された疾患感受性領域で説明できる遺伝率はせいぜい 15%であり¹³、双子研究などで報告されている割合（約 50%）と比べるとはるかに低い¹⁵。このことはまだ発見されていない疾患感受

性領域があることを示唆している。

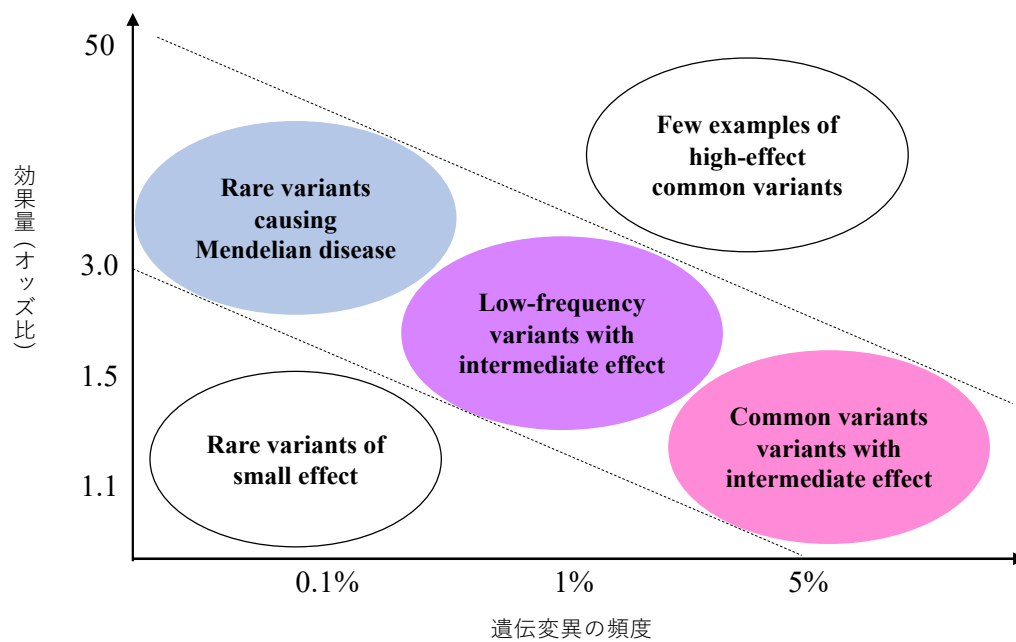


図 1. 遺伝変異の頻度と効果量の関係

IV. Genome-wide association study (GWAS)

従来のゲノム解析は遺伝変異の頻度が著しく低いレアバリエントが中心となっていた（図 1）。メンデル遺伝病では連鎖解析などを用いて、原因遺伝子の同定が行われてきた^{16,17}。しかし、遺伝変異の頻度が高いバリエントが多数関与する疾患では連鎖解析が十分に機能しないことがわかってきた。そこで考案されたのが GWAS と呼ばれる統計的手法であり、ゲノム全体を網羅的に調べることが可能となった。2002 年に理化学研究所の尾崎らによって、世界に先駆けて心筋梗塞の GWAS を報告⁸して以来、世界中で多くの GWAS が行われてきた。2007 年には Science 誌で ”Scientific Breakthrough of the year” にも選ばれている。

ヒトゲノム解読後、遺伝的多様性をさらに理解するために、国際 HapMap 計画が行われた¹⁸。国際 HapMap 計画はヒトゲノムにおけるハプロタイプのパターンをカタログ化することを目的とした国際的なプロジェクトであり、欧米人、日本人を含むアジア人、アフリカ人を対象に解読が行われた。ハプロタイプとは単一の染色体上の DNA 配列のことであり、ヒトゲノム約 30 億塩基対全体を約 5 千塩基対ごとに一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism: SNP）でカバーした。ハプロタイプのパターンを解析することにより、遺伝的組み替えが起きやすい場所、起きにくい場所が同定された。隣接した DNA 配列の相関の強さは連鎖不

均衡（Linkage Disequilibrium: LD）と呼ばれ、 r^2 で評価される。組み換えが全く起こらない領域では隣接する DNA 配列は完全に一致し、 $r^2=1$ となる。このように連鎖不均衡状態にある領域では 1 つの SNP（tag SNP）を代表させれば、隣接した DNA 配列も推測できることになる。GWAS では各 tag SNP と疾患の関連を統計的に評価する。ゲノムワイド水準（ $P < 5.0 \times 10^{-8}$ ）を満たす SNP を疾患と関連があるとし、その周囲を疾患感受性領域と決定する。

国際 HapMap 計画により、ヒトゲノムの参照配列が得られるようになった。また、SNP マイクロアレイが普及し、ゲノム全体の tag SNP が容易に得られるようになった。さらに、連鎖不均衡の情報を用いたインピュテーションという手法により、SNP マイクロアレイで検出できない SNP も推測できるようになった。このように GWAS を行う環境が整い、GWAS の報告数が劇的に増加した。しかし、初期の GWAS では参照配列のサンプル数が少なく、遺伝変異が 5%以上の SNP しか対象にすることができなかった。よりレアなバリエーションも解析するために、参照配列のサンプル数を増大する必要性が出てきた。

国際 HapMap 計画で始まったヒトゲノムのカタログ化をさらに拡大する目的で、1000 人ゲノムプロジェクト（The 1000 Genomes Project: 1KGP）が行われた¹⁹。1KGP の最終フェーズでは世界中の 26 の異なる人種から 2500 人以上の遺

伝子配列が得られた。参照配列のサンプル数が増加したことにより、遺伝変異が 1%の SNP まで対象にすることができるようになった。また、バイオバンクと呼ばれる、組織、細胞、血液、DNA などを収集するプロジェクトも盛んに行われるようになった。世界最大のバイオバンクとしては UK Biobank（50 万人）があるが、日本でも BioBank Japan が構築され（20 万人）、GWAS 研究を後押しした。

V. CAD における検討課題

GWAS で報告されている疾患感受性領域は主に欧米人集団で同定されたものである。様々な疾患で遺伝要因による人種差が報告されており、CAD においても欧米人集団以外での遺伝研究を行う必要性がある。そこで、日本人集団と欧米人集団のデータを用いて解析を行い、CAD 発症メカニズムのさらなる解明や人種間での遺伝要因の相違を検討することを目的に、本研究を開始した。

【方法】

I. 使用したサンプル

本研究は2つの独立した日本人集団を用いて、2種類のGWASを実施した。

そして、これらの2種類のGWASの結果を用いてメタ解析を行なった（図

2）。第1群のGWASの患者群は、すべてMI患者から成り立っており、バイオバンク・ジャパン（Biobank Japan; BBJ）²⁰に登録された患者を対象とした。

BBJは2003年6月から2008年3月に日本の12医療機関でDNAや血清、臨床情報を収集した疾患コホートである。BBJは東京大学医科学研究所倫理委員会により承認されている（承認番号：H17-16(34)）。また、コントロール検体は東北メディカル・メガバンク（ToMMo）²¹、いわて東北メディカル・メガバンク（IMM）、多目的コホート研究（JPHC Study）²²、日本多施設共同コホート研究（J-MICC Study）²³から得られた遺伝情報を用いた。ToMMoは宮城県で行われているコホート研究であり、健常人のサンプルで成り立っている。ToMMoは東北大学医学系研究科倫理委員会により承認されている（承認番号：2013-0003）。IMMは岩手県で行われているコホート研究であり、健常人のサンプルを使用した。岩手医科大学遺伝子解析専門委員会にて承認された（承認番号：2013-0002）。JPHC Studyは全国11カ所で収集されたコホート研究であり、

健常人が集められている。国立がん研究センターの倫理審査委員会で承認されている（承認番号：2011-044）。J-MICC Study は全国 16 カ所で収集されたコホート研究であり、本研究では健常人サンプルを使用している。名古屋大学医学部倫理委員会で承認された。第 2 群の GWAS の患者群では、Osaka Acute Coronary Insufficiency Study（OACIS）²⁴ に登録された MI 患者を対象とした。OACIS は阪神地区 25 施設で集められた急性心筋梗塞患者で成り立っている。OACIS は大阪大学医学部倫理委員会で承認されている（承認番号：17-16-5(2)）。コントロール群は心筋梗塞、不安定狭心症、安定狭心症、脳梗塞、閉塞性動脈硬化症という動脈硬化が関連する疾患を除外した BBJ の検体を使用した（表 1）。インフォームドコンセントは医師またはメディカルリサーチコーディネーターにより、全ての患者から取得している。

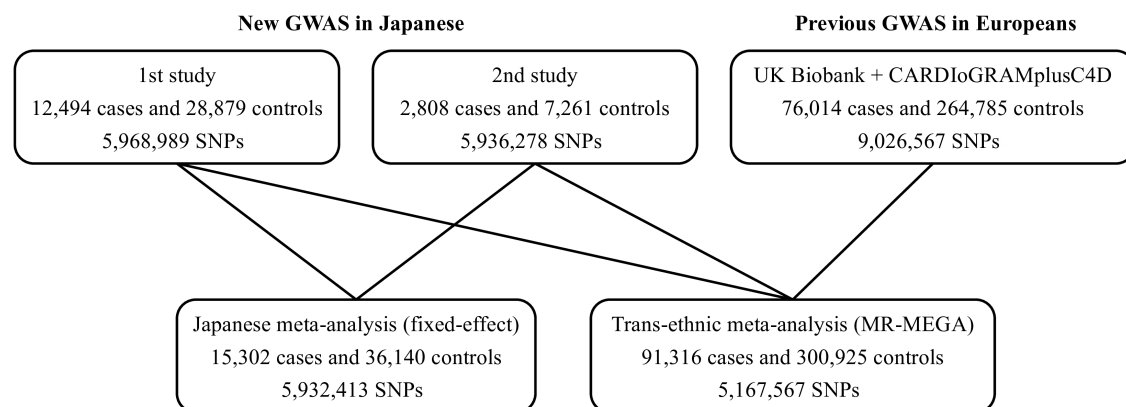


図 2. 研究デザイン

	1st Japanese GWAS		2nd Japanese GWAS	
	Cases (N=12,494)	Controls (N=28,879)	Cases (N=2,808)	Controls (N=7,261)
Male	80.7%	39.4%	78.4%	57.8%
Age (mean±s.d.)	66.9±10.5	NA	64.8±11.5	63.0±9.8
BMI	23.9±3.4	NA	23.9±3.5	22.4±3.7
Medical history				
Dyslipidemia	52.1%	NA	45.6%	12.5%
Hypertension	53.4%	NA	60.6%	50.0%
Type 2 diabetes mellitus	34.7%	NA	33.2%	10.1%

表 1. 日本人の GWAS における患者背景

II. ジェノタイピング、クオリティーコントロール、インピュテーション

Illumina 社の HumanOmniExpress および HumanExome BeadChips を用いてゲノム全域にわたり、SNP を読み込んだ。SNP の読み込みエラーや人種差、親近者の存在など、バイアスを取り除くため、クオリティーコントロールを行なった（表 2）。まず、個人単位のクオリティーコントロールとして、call rate が 98%未満の検体は除外した。また、各 GWAS で検体の重複や近親者の有無を確認するために identity-by-descent および identity-by-state を評価し、検体の重複や近親者がいた場合、解析から外すこととした。さらに、遺伝子より推測される性別と臨床情報で報告されている性別が一致しない検体も除去した。それぞれの GWAS で smartpca ソフトウェアを用いて主成分分析を行った。主成分分析を行うと、サンプルが本州クラスター、沖縄クラスター、中国クラスターなどにわかれるが、目視で日本人集団から明らかに外れている検体は解析から取り除いた（図 3）。引き続き SNP 単位でのクオリティーコントロールを行なった。Call rate が 99%未満、Hardy-Weinberg 平衡の P 値が 1.0×10^{-6} 未満の SNP は除去した。さらに、1KGP の第 1 フェーズの東アジア集団のアレル頻度と 16%より大きい差がある SNP も除外した。MaCH ソフトウェア (ver. 1.0)、Minimac ソフトウェア (ver. 0.1.1) で欠損している SNP をインピュテーションを利用し

て推測した^{12, 13}。推測の精度が低いもの ($R^2 < 0.7$) を除外し、最終的に第 1 群の GWAS では 5,968,989 個の SNP、第 2 群の GWAS では 5,936,278 個の SNP が得られた。

個人単位	
call rate	個人単位でエラーなく読み込まれた SNP の割合。
identity-by-descent identity-by-state	近親者がいると、バイアスとなるため、近親者がいないか調べる手法。
性別チェック	X、Y 染色体を調べることにより、性別を推測し、臨床情報と一致するか調べる。
主成分分析	各個人で人種の違いがないか評価する方法。
SNP 単位	
call rate	SNP 単位でエラーなく読み込まれた SNP の割合。
Hardy-Weinberg 平衡	アレル頻度が既知であれば、遺伝型頻度が推測できる法則。例えば、アレル頻度 C/G の割合が p/q の場合、遺伝型頻度 CC/CG/GG が $p^2/2pq/q^2$ と推測される。この推測から著しく逸脱している SNP は除去する。
アレル頻度	参照配列である、1KGP の第 1 フェーズの東アジア集団のアレル頻度と 16%より大きい差がある SNP も除外。
インピュテーション クオリティー	コンピュータを使用し、インピュテーションという手法を用いて欠損した SNP を推測するが、推測した SNP の正しさの精度を示している。

表 2. クオリティーコントロール

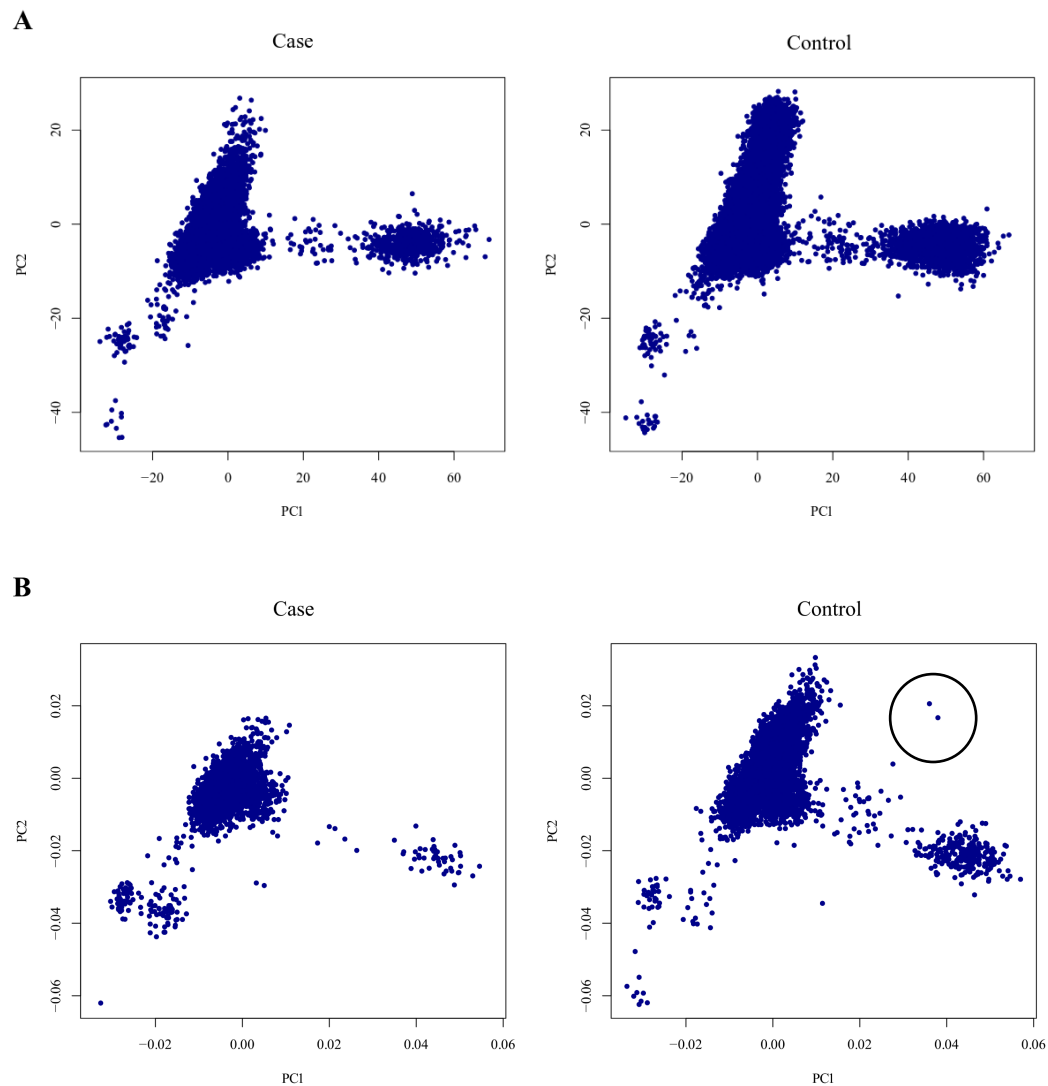


図 3. 日本人の GWAS における主成分解析 (Principal component analysis, PCA)

A, 第 1 群における主成分解析、B, 第 2 群における主成分解析

円で囲んだサンプルは日本人集団から外れていると思われたため、除外した。

III. ゲノムワイド関連解析

クオリティーコントロール、インピュテーションを行なって得られた SNP を用いて、各群で GWAS を行なった。変異がヘテロかホモかで効果が変わると仮定する相加モデルを想定し、それぞれの SNP の遺伝子型を説明変数とした多重ロジスティック回帰分析を用いた。第 1 群では共変量として、年齢、性別、第 1～20 主成分を使用し、mach2dat ソフトウェア (ver. 1.0.24) で解析を行なった。第 2 群では共変量として、年齢、性別、第 1～10 主成分を用いて、EPACTS ソフトウェア (ver. 3.3.0) を使用した。1 群と 2 群で研究間の偏りはないと仮定し、METAL ソフトウェア (2011-03-25 version) を用いて、固定効果 (fixed effect) モデルで結果を統合した。GWAS における有意水準である、 $P < 5.0 \times 10^{-8}$ を満たした SNP を有意とした。

IV. 欧米人とのメタ解析

次に冠動脈疾患国際コンソーシアムである CARDIoGRAMplusC4D による GWAS と英国の大規模バイオバンク研究である UK Biobank の GWAS の結果をメタ解析したサマリーデータ (<http://www.cardiogramplusc4d.org/data-downloads/>) をダウンロードしてきた¹¹。このサマリーデータは 76,014 人の CAD 患者と 264,785 人のコントロールから成り立っており、大部分が欧米人であった。サンプルはイングランド、スコットランド、ウェールズで 2006 年から 2010 年に収集され、患者の年齢層は 40-69 歳であった。患者群の選択基準は狭心症または心筋梗塞の既往のある患者であった。コントロール群は狭心症、心筋梗塞の既往がなく、ICD 9 の 414.1（心室瘤）または ICD 10 の I25.0（アテローム硬化性心血管疾患）、I25.3（心室瘤）、I25.4（冠動脈瘤）が記録されていない患者とした。2 種類の日本人の GWAS の結果とダウンロードしてきたサマリーデータを民族間での違いを考慮したメタ解析の手法である MR-MEGA ソフトウェア（ver. 0.1.2）を用いて、統合した²⁵。

V. 新規感受性領域の生物学的意義の探索

GWAS で検出されたシグナルに関連した遺伝子を明らかにするために、人の体組織ごと、遺伝子ごとの遺伝子発現量に影響を与える座位 (expression Quantitative Trait Locus; eQTL) を網羅的に調べたプロジェクトである Genotype-Tissue Expression (GTEx、release V7) プロジェクト²⁶を探索した。GTEx は健康ドナーから 44 組織を収集し、各組織での遺伝子発現を調べている。CAD に関わる組織として、冠動脈、大動脈、左室、皮下脂肪、白血球を対象に解析を行なった。GWAS で検出された感受性領域と遺伝子発現量に影響を与える座位が強い連鎖不均衡の関係 (1KGP の第 3 フェーズの欧米人集団および東アジア集団の参照配列を元に $r^2 \geq 0.8$ に存在する) にあれば、関連があると見なした。また、免疫系細胞の遺伝子発現を評価するために、健康な日本人から得られた免疫細胞の 5 つのサブセット (CD4⁺T cell、CD8⁺T cell、B cell、ナチュラルキラー細胞 (NK 細胞)、単球) の遺伝子発現量に影響を与える座位 (eQTL) を調べた²⁷。さらに、GWAS で得られたシグナルと臨床検査値との関連を調べるために、日本人集団での 60 個の検査値での GWAS の結果を解析した (表 3)²⁸。また、これらの領域のエピゲノムの情報は HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) で探索した。さ

らに、検出された領域と臨床検査値との関連を調べるために、Japanese
ENcyclopedia of GENetic association by Riken (JENGER、<http://jenger.riken.jp>) を
用いた。さらに、同定された遺伝的変異と他の形質との関係を調べるために
GWAS catalog データベース (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) を用いて、多面的な
作用について検討した。

Category	Trait	Abbreviation
Anthropometric	Adult height	Height
	Body mass index	BMI
Metabolic	Total cholesterol	TC
	High-density-lipoprotein cholesterol	HDL-C
	Low-density-lipoprotein cholesterol	LDL-C
	Triglyceride	TG
	Blood sugar	BS
	Hemoglobin A1c	HbA1c
Protein	Total protein	TP
	Albumin	Alb
	Non-albumin protein	NAP
	Albumin/globulin ratio	A/G
Kidney-related	Blood urea nitrogen	BUN
	Serum creatinine	sCr
	Estimated glomerular filtration rate	eGFR
	Uric acid	UA
Electrolyte	Sodium	Na
	Potassium	K
	Chloride	Cl
	Calcium	Ca
	Phosphorus	P
Liver-related	Total bilirubin	TBil
	Zinc sulfate turbidity test	ZTT
	Aspartate aminotransferase	AST
	Alanine aminotransferase	ALT
	Alkaline phosphatase	ALP
	γ -glutamyl transferase	GGT
Other biochemical	Activated partial	APTT

	thromboplastin time	
	Prothrombin time	PT
	Fibrinogen	Fbg
	Creatine kinase	CK
	Lactate dehydrogenase	LDH
	C-reactive protein	CRP
Hematological	White blood cell count	WBC
	Neutrophil count	Neutro
	Eosinophil count	Eosino
	Basophil count	Baso
	Monocyte count	Mono
	Lymphocyte count	Lym
	Red blood cell count	RBC
	Hemoglobin	Hb
	Hematocrit	Ht
	Mean corpuscular volume	MCV
	Mean corpuscular hemoglobin	MCH
	Mean corpuscular hemoglobin concentration	MCHC
	Platelet count	Plt
Blood pressure	Systolic blood pressure	SBP
	Diastolic blood pressure	DBP
	Mean arterial pressure	MAP
	Pulse pressure	PP
Echocardiographic	Interventricular septum thickness	IVS
	Posterior wall thickness	PW
	Left ventricular internal dimension in diastole	LVDd
	Left ventricular internal dimension in systole	LVDs
	Left ventricular mass	LVM

	Left ventricular mass index	LVMi
	Relative wall thickness	RWT
	Fractional shortening	FS
	Ejection fraction	EF
	E/A ratio	E/A

表 3. 60 個の検査値

VI. パスウェイ解析

CAD に関連したパスウェイを発見するために、MAGENTA ソフトウェア (ver. 2.4) を使用した²⁹。パスウェイのデータベースには Gene Ontology、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)、Protein Analysis through Evolutionary Relationships (PANTHER) および Ingenuity が含まれている。

多くのパスウェイを検定するため、 $P < 0.05$ を閾値とすると、偽陽性の可能性が高くなる。偽陽性の可能性を減らすために、False discovery rate (FDR) という P 値を調整する手法を使用した。FDR が 0.05 未満である場合を CAD と関連したパスウェイと見なした。

VII. 組織特異性の検討

GWAS で得られた疾患感受性領域から CAD がどのような組織や細胞に関連しているか同定するために DEPICT ソフトウェア (2014-07-21 version) を用いた³⁰。関連する組織や細胞を十分に検出するために、この解析ではソフトウェアの推奨する $P < 1.0 \times 10^{-5}$ を満たす SNP を使用することとした。まず、欧米人のデータを加えたメタ解析の結果より $P < 1.0 \times 10^{-5}$ を満たす独立した SNP を用意するために、PLINK ソフトウェア (1.90beta version) を用いた。230 個の SNP を得て、SNP 上にある、もしくは一番近傍にある遺伝子を取り出した。37,427 人のマイクロアレイの結果より、これらの遺伝子が多く発現する組織や細胞を同定した。FDR < 0.05 を満たす組織や細胞を有意とした。

VIII. 人種差の検討

CAD 発症に際して、日本人を含む東アジア人と欧米人での人種間の違いを検討した。日本人集団は MI 患者しか含まないため、CARDIoGRAMplusC4D でも MI 患者のみを対象にしたサブ解析の結果を利用した。欧米人も加えたメタ解析で検出された 76 個の疾患感受性領域に関して、リード SNP の MI 発症に対する効果を日本人集団と欧米人集団でオッズ比を用いて比較した。

さらに日本人集団と欧米人集団でのリスクアレルの頻度を比べた。まず、今回の研究で使用した集団が一般集団と比べて偏りがないか調べるために、遺伝子のリファレンスデータとして広く用いられている 1KGP の第 3 フェーズのデータベースと比較した。日本人が属している 1KGP における第 3 フェーズの東アジア人集団のデータと日本人集団のメタ解析のデータでリスクアレルの頻度を比較した。また、CARDIoGRAMplusC4D と 1KGP の欧米人集団のデータと比較した。その後、2 人種間での頻度の差を調べた。

最後に CAD 発症に関わる組織や細胞を同定するために DEPICT の解析で用いた 230 個の SNP を、リスクアレルの頻度により、東アジア人集団で頻度が多いグループと欧米人集団で頻度が多いグループに分割した (表 4)。リスクアレルの頻度は 1KGP の第 3 フェーズを使用し、頻度の差が 5%未満の SNP に関し

ては解析の対象としなかった。結果、東アジア人集団で頻度が多い SNP が 93 個あり、欧米人集団で頻度が多い SNP は 92 個あった。これらを用いて、それぞれの人種で関与が大きい組織や細胞を探索した。

SNP	A1/A2	A1 Freq in EAS*	A1 Freq in EUR*		SNP	A1/A2	A1 Freq in EAS*	A1 Freq in EUR*
Japanese-frequent loci					European-frequent loci			
rs150183244	G/T	0.922	0.903		rs12743493	G/A	0.568	0.626
rs34232196	C/T	0.855	0.766		rs2651925	C/G	0.708	0.764
rs17111652	T/C	0.051	0.040		rs28380108	C/G	0.317	0.425
rs287230	G/C	0.844	0.833		rs11206803	T/C	0.443	0.528
rs72664355	T/C	0.978	0.884		rs6587520	T/C	0.461	0.476
rs7528419	A/G	0.956	0.787		rs11810571	G/C	0.506	0.860
rs11552449	T/C	0.587	0.191		rs6413828	A/T	0.295	0.321
rs6689306	A/G	0.563	0.442		rs2820315	T/C	0.100	0.287
rs16986953	A/G	0.347	0.088		rs77815753	C/T	0.706	0.980
rs7571647	G/A	0.946	0.878		rs67180937	G/T	0.582	0.738
rs12469758	A/T	0.054	0.023		rs2854725	T/G	0.851	0.912
rs76866386	T/C	0.982	0.921		rs13306194	G/A	0.872	0.998
rs2161967	T/G	0.527	0.446		rs58953077	T/C	0.328	0.387
rs2972146	T/G	0.933	0.625		rs6738009	A/C	0.396	0.488
rs11691714	T/A	0.572	0.572		rs17678683	G/T	0.057	0.086
rs13003675	T/C	0.353	0.285		rs12691704	A/G	0.029	0.350
rs35462537	A/G	0.705	0.510		rs12619842	G/C	0.596	0.837

rs67913572	A/G	0.180	0.028		rs114123510	A/T	0.016	0.130
rs293910	T/G	0.381	0.053		rs10174652	G/A	0.095	0.134
rs9811982	A/C	0.929	0.667		rs1250229	T/C	0.077	0.232
rs12497018	A/G	0.618	0.011		rs4678145	C/G	0.055	0.129
rs13324341	T/C	0.239	0.151		rs2699425	C/T	0.324	0.339
rs10513507	C/T	0.549	0.351		rs7678555	C/A	0.159	0.311
rs17081933	A/T	0.361	0.185		rs4593108	C/G	0.672	0.844
rs10857147	T/A	0.353	0.264		rs2306556	A/G	0.787	0.795
rs11099493	A/G	0.785	0.646		rs869396	C/A	0.434	0.529
rs28590383	T/C	0.575	0.557		rs4074793	G/A	0.069	0.078
rs10305838	C/T	0.227	0.146		rs459193	G/A	0.488	0.709
rs2880099	A/C	0.510	0.115		rs28650790	T/C	0.136	0.178
rs1842896	T/G	0.730	0.530		rs251023	G/A	0.219	0.336
rs10512704	T/C	0.813	0.691		rs216140	T/C	0.537	0.723
rs12916	C/T	0.511	0.413		rs10948377	A/G	0.681	0.702
rs1800449	T/C	0.188	0.162		rs6908574	C/T	0.188	0.364
rs2081914	C/G	0.752	0.475		rs733701	T/C	0.105	0.236
rs7454157	G/A	0.919	0.613		rs1330633	G/A	0.031	0.074
rs3130342	C/A	0.918	0.893		rs117665398	C/T	0.126	0.165
rs12211281	C/T	0.844	0.770		rs12202017	A/G	0.503	0.707
rs4711750	A/T	0.579	0.521		rs577849	C/G	0.634	0.873
rs1931656	A/T	0.485	0.445		rs9456496	G/A	0.019	0.102

rs11153071	G/A	0.964	0.792		rs41269133	T/C	0.765	0.892
rs2327433	G/A	0.181	0.098		rs56393506	T/C	0.094	0.182
rs1810126	T/C	0.461	0.353		rs2314852	A/G	0.361	0.807
rs9457927	G/A	0.022	0.010		rs2520251	A/T	0.316	0.321
rs6956990	C/T	0.024	0.012		rs6945612	T/C	0.461	0.787
rs2107595	A/G	0.358	0.168		rs1892609	T/C	0.503	0.963
rs59261051	T/C	0.406	0.274		rs302953	T/C	0.426	0.572
rs11556924	C/T	0.950	0.623		rs2954029	A/T	0.448	0.552
rs11780610	C/T	0.704	0.282		rs1970014	C/A	0.209	0.283
rs2083636	T/G	0.765	0.715		rs781622	T/C	0.339	0.365
rs6989064	C/T	0.813	0.423		rs3891088	C/T	0.468	0.596
rs2891168	G/A	0.531	0.492		rs1887318	T/C	0.193	0.434
rs7045889	A/G	0.722	0.606		rs623932	T/A	0.717	0.745
rs4149311	T/C	0.685	0.121		rs640577	T/C	0.659	0.854
rs10818583	A/G	0.283	0.215		rs11000448	T/G	0.694	0.948
rs9411476	A/G	0.153	0.007		rs2271271	A/G	0.235	0.757
rs507666	A/G	0.190	0.186		rs2270552	T/C	0.342	0.729
rs11257613	G/A	0.674	0.491		rs7098414	A/C	0.020	0.266
rs1870634	G/T	0.756	0.666		rs2246942	G/A	0.332	0.361
rs2281674	C/G	0.131	0.074		rs55917128	T/C	0.249	0.551
rs2300432	C/T	0.358	0.185		rs11191425	C/T	0.711	0.908
rs56210063	C/G	0.186	0.060		rs79780963	C/T	0.021	0.034

rs10767932	G/A	0.728	0.476		rs2257129	C/T	0.613	0.968
rs2727020	C/G	0.761	0.675		rs360157	T/C	0.370	0.590
rs12146487	G/A	0.943	0.845		rs3993105	T/C	0.563	0.726
rs2839812	T/A	0.596	0.272		rs12801636	G/A	0.573	0.776
rs10488763	T/A	0.372	0.113		rs11235604	C/T	0.900	1.000
rs662799	G/A	0.288	0.083		rs571353	C/T	0.076	0.285
rs75160195	T/C	0.199	0.046		rs634552	G/T	0.554	0.836
rs2681472	G/A	0.316	0.145		rs3133293	G/T	0.604	0.705
rs115704395	A/G	0.154	0.000		rs12221736	C/T	0.770	0.868
rs12230500	G/A	0.169	0.119		rs567040	C/T	0.054	0.349
rs11067475	A/G	0.081	0.009		rs3962568	A/C	0.495	0.700
rs2040571	A/G	0.202	0.085		rs4842680	A/G	0.366	0.563
rs4766519	C/T	0.507	0.488		rs12817989	T/A	0.851	0.942
rs117741012	A/G	0.495	0.003		rs916682	A/G	0.286	0.756
rs12231744	C/T	0.574	0.003		rs7139170	A/C	0.502	0.715
rs11066165	A/C	0.574	0.040		rs4766660	A/G	0.406	0.588
rs10850001	A/T	0.575	0.446		rs11057830	A/G	0.095	0.165
rs1045670	A/G	0.300	0.060		rs117468552	C/G	0.947	0.989
rs2244608	G/A	0.392	0.342		rs3783113	T/C	0.353	0.354
rs11057401	T/A	0.921	0.651		rs9521678	T/C	0.504	0.745
rs9508027	A/C	0.505	0.309		rs11619113	G/C	0.010	0.125
rs9515203	T/C	0.887	0.766		rs4773141	G/C	0.279	0.381

rs10143132	A/G	0.837	0.503		rs10139550	G/C	0.360	0.435
rs72743461	C/A	0.972	0.785		rs7164479	T/C	0.503	0.577
rs62010525	G/C	0.418	0.177		rs4778730	T/G	0.605	0.954
rs17581137	A/C	0.917	0.778		rs2351254	C/G	0.559	0.893
rs247616	C/T	0.825	0.708		rs2071382	T/C	0.189	0.471
rs2000999	A/G	0.310	0.192		rs9930506	G/A	0.218	0.438
rs2925979	T/C	0.417	0.288		rs8052763	C/G	0.781	0.857
rs12602492	C/G	0.274	0.154		rs3851738	C/G	0.545	0.574
rs9897596	T/C	0.828	0.505		rs7500448	A/G	0.732	0.756
rs8068844	C/T	0.350	0.313		rs7209460	T/C	0.403	0.727
rs4968248	G/A	0.418	0.401		rs1122326	C/A	0.166	0.233
rs11655587	C/T	0.837	0.681		rs112502960	A/G	0.216	0.364
rs8067638	T/C	0.101	0.003		rs8079832	C/T	0.205	0.379
rs6504218	G/A	0.686	0.565		rs1867250	A/T	0.123	0.161
rs35489971	A/G	0.265	0.181		rs2068151	G/A	0.777	0.889
rs4393627	A/G	0.908	0.901		rs7229491	C/G	0.444	0.670
rs3813126	A/G	0.579	0.271		rs663129	A/G	0.183	0.240
rs7251746	G/A	0.890	0.839		rs56307353	T/G	0.292	0.563
rs17698352	A/G	0.332	0.069		rs73015715	T/C	0.019	0.229
rs12979495	G/A	0.833	0.729		rs8105002	T/A	0.774	0.859
rs1433099	C/T	0.744	0.708		rs11881953	G/A	0.725	0.829
rs33823	C/T	0.498	0.359		rs7412	C/T	0.900	0.937

rs1982072	T/A	0.558	0.311		rs56131196	A/G	0.099	0.198
rs7256920	G/A	0.570	0.496		rs34761425	T/A	0.858	0.939
rs13734	A/G	0.529	0.158		rs17122844	C/T	0.703	0.810
rs6102322	T/C	0.770	0.294		rs259983	C/A	0.063	0.160
rs56313611	C/T	0.964	0.854		rs7277800	A/G	0.056	0.250
rs555715	G/A	0.377	0.231		rs8140812	G/A	0.926	0.939
rs3813452	T/C	0.663	0.371		rs180803	G/T	0.920	0.986
rs1999323	T/C	0.189	0.140		rs5760389	A/T	0.921	0.984
rs2834414	C/T	0.454	0.319		rs9608859	C/T	0.569	0.572
rs5760271	T/C	0.535	0.485		rs4450	T/A	0.152	0.583

表 4. Suggestive significance ($P < 1.0 \times 10^{-5}$) を満たす疾患感受性領域における

SNP のリスクアレル頻度の比較

リスクアレル頻度は 1000 人ゲノムプロジェクト phase3

(<http://www.internationalgenome.org/category/phase-3/>) を基にしている。

【結果】

I. 日本人集団での GWAS

はじめに日本人集団で2つのコホートを用いて GWAS を行なった（図4）。

第1群では12,494人のMI患者と28,879人のコントロール、第2群では2,808人のMI患者と7,261人のコントロールから成り立っていた。異なる人種が混在していると、バイアスとなる。人種によるバイアスの影響の大きさを評価する手法として、genomic inflation factor (λ_{GC}) がある。 λ_{GC} はP値をカイ2乗値と呼ばれる、統計量に変換して計算する。疾患群とコントロール群に差がなければ、P値は正規分布すると推測される。正規分布した時の中央値はカイ2乗値で0.456となる。GWASで計算された各SNPのカイ二乗値の中央値を0.456で割った値が λ_{GC} となる。そのため、疾患群とコントロール群に差がない場合、 λ_{GC} は1となる。 λ_{GC} が上昇している場合、疾患による影響や人種差による影響が考えられる。 λ_{GC} の上昇が大きい場合は人種差の影響が残っていると予測され、補正が行われる。補正はカイ2乗値を λ_{GC} で割ることにより、カイ二乗値が小さくなるように補正が行われる。つまり、P値が有意水準を超えにくくなるように補正される。日本人集団でのGWASでは、 λ_{GC} の上昇が見られたため（第1群で $\lambda_{GC} = 1.29$ 、第2群で $\lambda_{GC} = 1.09$ ）、P値が低く出ている可能性

が考えられた。 λ_{GC} を用いて P 値が高くなる方向に調整を行なった（図 5）。そして、2 種類の GWAS を固定効果モデル（fixed-effect model）を用いて、5,932,413 個の SNP に対してメタ解析を施行した。メタ解析においては λ_{GC} が十分に小さかったため、補正は行わなかった。メタ解析では GWAS での有意水準である $P < 5.0 \times 10^{-8}$ を満たした領域が 18 個検出された（表 5）。検出された領域のうち、16 個は既報の領域であった。一方、11q22 と 12q24 は新規の疾患感受性領域の候補であった。1KGP の参照配列データなどから 1Mb 以上離れていれば、互いの領域は独立である可能性が高いと考えられており、12q24 領域のリード SNP である rs11066542 は 1Mb 以内に既報の領域はなかった。しかし、2Mb 以内に日本人で特徴的な遺伝構造をしていると報告されている *BRAP-ALDH2* 領域³¹が存在した。そのため、今回検出された領域が *BRAP-ALDH2* 領域と独立しているかどうか検討した。*BRAP-ALDH2* 領域の影響を考量した条件的分析（conditional analysis）を行なったところ、12q24 領域のシグナルは消失した（図 6）。したがって、日本人集団でのメタ解析では rs1848599 をリード SNP とする 11q22 領域のみが新規領域として検出された（図 7）。

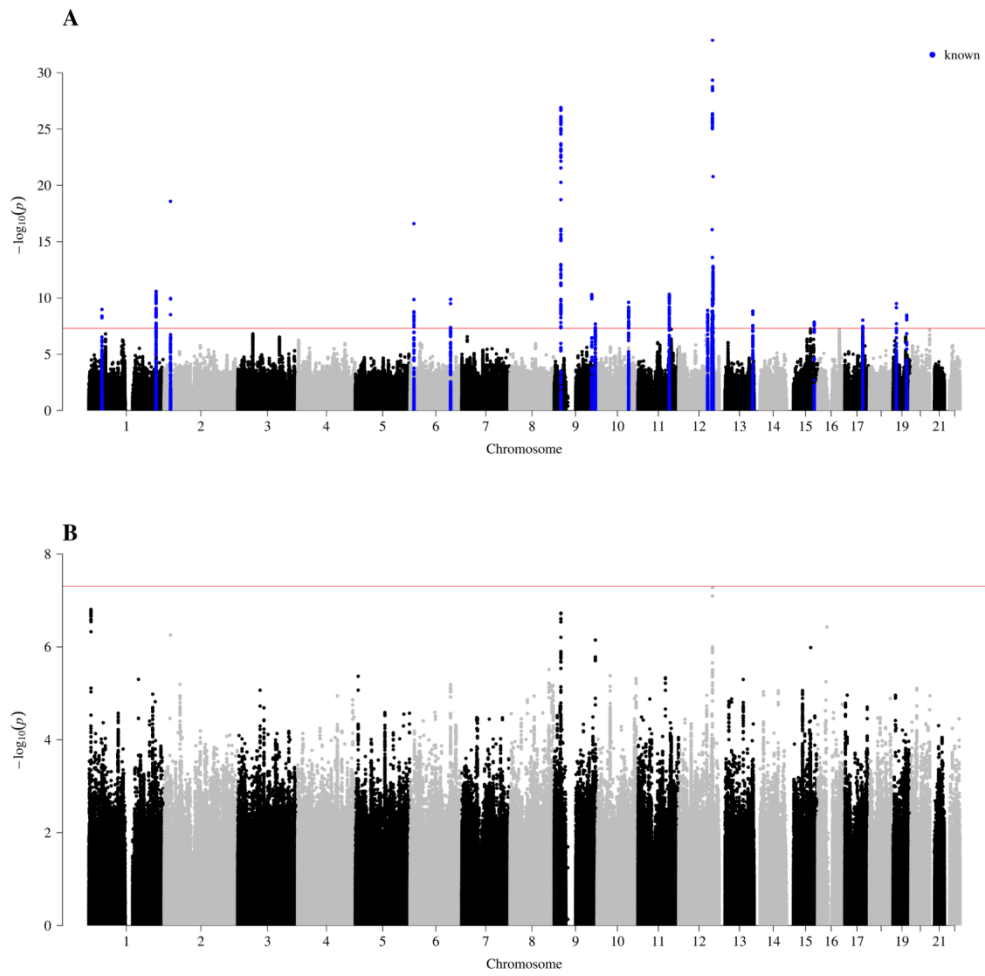
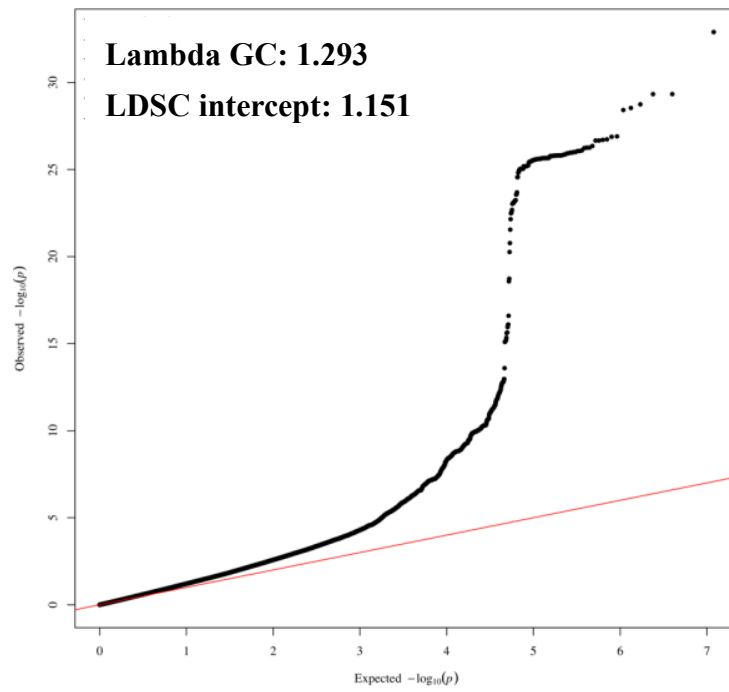
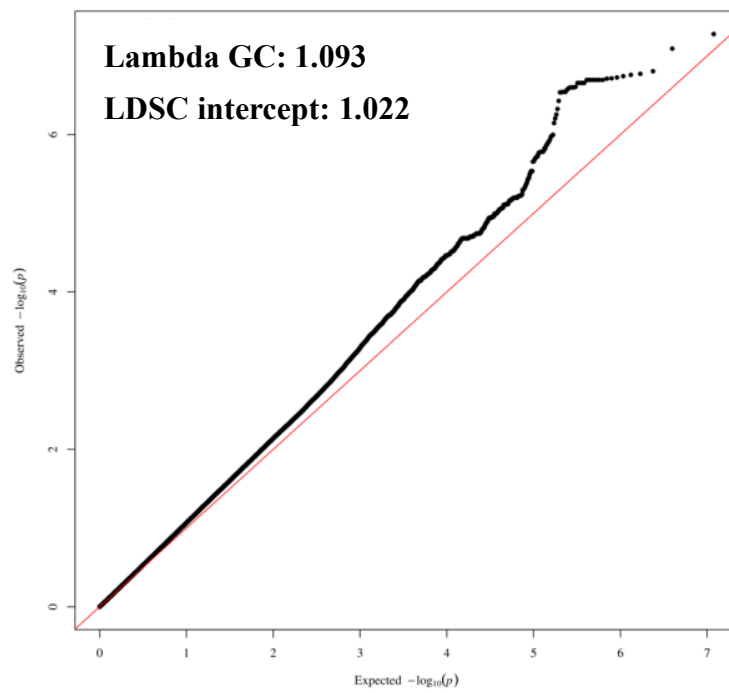


図 4. 日本人の GWAS におけるマンハッタンプロット

A, 第 1 群におけるマンハッタンプロット

B, 第 2 群におけるマンハッタンプロット

A**B**

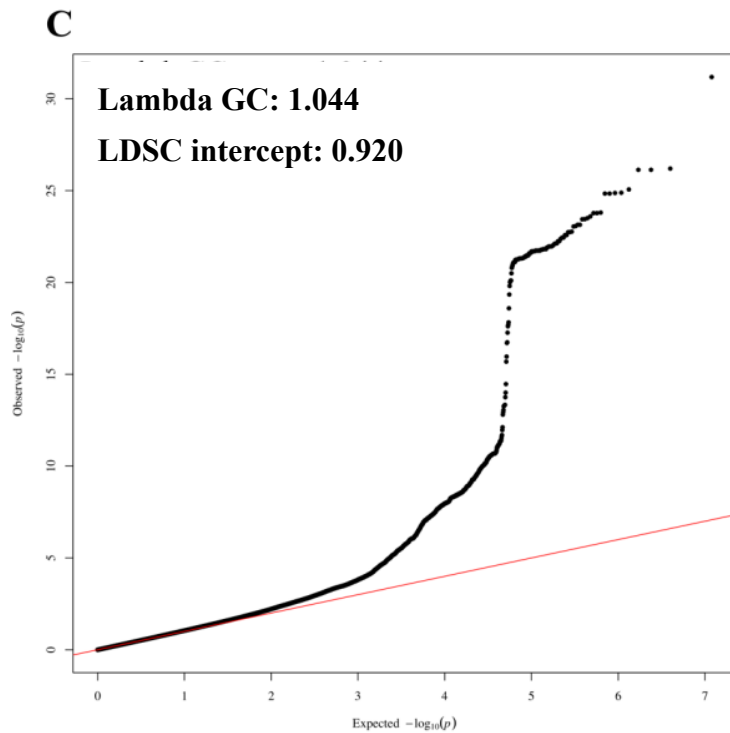


図 5. 日本人集団での QQ plot

A, 日本人第 1 群、B, 日本人第 2 群、C, 日本人のメタ解析

疾患群とコントロール群で差がない場合、P 値が正規分布すると予想される。

QQ plot は正規分布から乖離しているか評価するプロット方法になる。x 軸は正

規分布する場合の $-\log_{10}(\text{P 値})$ であり、y 軸は観測された $-\log_{10}(\text{P 値})$ となる。P

値が正規分布していれば、赤色の直線上に plot されるが、乖離していれば疾患

による差や人種差があると考えられる。乖離が大きい場合は、人種差の影響が

考えられる。

LDSC, linkage disequilibrium score regression

				1st study	2nd study	Japanese Meta-analysis
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs6587520	1:222823743	G/T	<i>MTA3</i>	1.14 (1.10-1.18) 5.39 × 10 ⁻¹¹	1.09 (1.01-1.17) 0.019	1.13 (1.09-1.17) 3.18 × 10 ⁻¹⁰
rs12469758	2:21533107	A/T	<i>TDRD15- KLHL29</i>	1.28 (1.19-1.39) 1.25 × 10 ⁻¹⁰	1.26 (1.09-1.45) 1.50 × 10 ⁻³	1.28 (1.19-1.38) 1.25 × 10 ⁻¹⁰
rs2876301	6:12907411	T/C	<i>PHACTRI</i>	1.17 (1.12-1.23) 5.22 × 10 ⁻⁹	1.12 (1.01-1.23) 0.026	1.15 (1.09-1.21) 1.72 × 10 ⁻⁸
rs2327429	6:134209837	T/C	<i>TCF21</i>	1.13 (1.09-1.17) 1.30 × 10 ⁻¹⁰	1.17 (1.09-1.26) 9.34 × 10 ⁻⁶	1.14 (1.10-1.18) 1.09 × 10 ⁻¹²
rs10757274	9:22096055	G/A	<i>CDKN2B- AS1</i>	1.23 (1.19-1.28) 1.59 × 10 ⁻²⁶	1.21 (1.13-1.30) 2.48 × 10 ⁻⁷	1.22 (1.18-1.27) 6.33 × 10 ⁻²⁷

				1st study	2nd study	Japanese Meta-analysis
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)
				<i>P</i> value	<i>P</i> value	<i>P</i> value
rs10985348	9:124419722	C/G	<i>DAB2IP</i>	1.16 (1.11-1.22)	1.13 (1.04-1.22)	1.16 (1.11-1.21)
				5.07×10^{-11}	3.67×10^{-3}	7.01×10^{-11}
rs9411378	9:136145425	A/C	<i>ABO</i>	1.13 (1.08-1.18)	1.22 (1.13-1.32)	1.15 (1.10-1.20)
				3.28×10^{-7}	7.13×10^{-7}	1.89×10^{-10}
rs11191559	10:104867686	C/T	<i>NT5C2</i>	1.15 (1.10-1.20)	1.07 (0.99-1.16)	1.13 (1.08-1.18)
				7.81×10^{-10}	8.40×10^{-2}	2.17×10^{-8}
rs11226017	11:103664409	C/T	<i>DYNC2H1- PDGFD</i>	1.14 (1.10-1.18)	1.07 (0.99-1.15)	1.13 (1.08-1.17)
				4.77×10^{-11}	8.90×10^{-2}	3.32×10^{-9}
rs1848599	11:110358465	C/T	<i>FDX1- ARHGAP20</i>	1.12 (1.06-1.17)	1.19 (1.09-1.29)	1.14 (1.09-1.19)
				2.60×10^{-6}	9.24×10^{-5}	3.87×10^{-8}

				1st study	2nd study	Japanese Meta-analysis
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)
				<i>P</i> value	<i>P</i> value	<i>P</i> value
rs933899	12:95446288	A/G	<i>NR2C1</i>	1.15 (1.10-1.20)	1.13 (1.03-1.23)	1.15 (1.10-1.20)
				1.27×10^{-9}	8.44×10^{-3}	1.97×10^{-9}
rs79105258	12:111718231	A/C	<i>CUX2</i>	1.34 (1.28-1.40)	1.25 (1.15-1.35)	1.31 (1.25-1.37)
				1.26×10^{-33}	5.28×10^{-8}	6.55×10^{-32}
rs4773140	13:110954237	G/A	<i>COL4A1</i>	1.14 (1.09-1.19)	1.11 (1.02-1.19)	1.14 (1.09-1.19)
				1.84×10^{-9}	8.62×10^{-3}	3.33×10^{-9}
rs28455815	15:79114453	T/C	<i>ADAMTS7- MORF4L1</i>	1.12 (1.07-1.16)	1.12 (1.04-1.20)	1.12 (1.08-1.16)
				5.63×10^{-8}	1.57×10^{-3}	1.24×10^{-8}
rs4533264	15:91431524	T/C	<i>FES</i>	1.15 (1.10-1.21)	1.10 (1.01-1.20)	1.14 (1.09-1.19)
				1.41×10^{-8}	2.40×10^{-2}	4.50×10^{-8}

				1st study	2nd study	Japanese Meta-analysis
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)
				P value	P value	P value
rs2738464	19:11242307	C/G	<i>LDLR</i>	1.14 (1.09-1.19)	1.12 (1.03-1.20)	1.13 (1.08-1.17)
				7.36×10^{-10}	5.01×10^{-3}	1.15×10^{-9}
rs4803458	19:41865293	A/G	<i>B9D2</i>	1.11 (1.06-1.15)	1.15 (1.07-1.23)	1.12 (1.08-1.16)
				2.94×10^{-7}	1.67×10^{-4}	6.66×10^{-9}
rs769446	19:45408628	T/C	<i>APOE</i>	1.34 (1.21-1.47)	1.34 (1.12-1.59)	1.34 (1.22-1.47)
				8.71×10^{-9}	1.36×10^{-3}	2.44×10^{-9}

表 5. 日本人のメタ解析における有意な疾患感受性領域

新規感受性領域は赤字で示した。

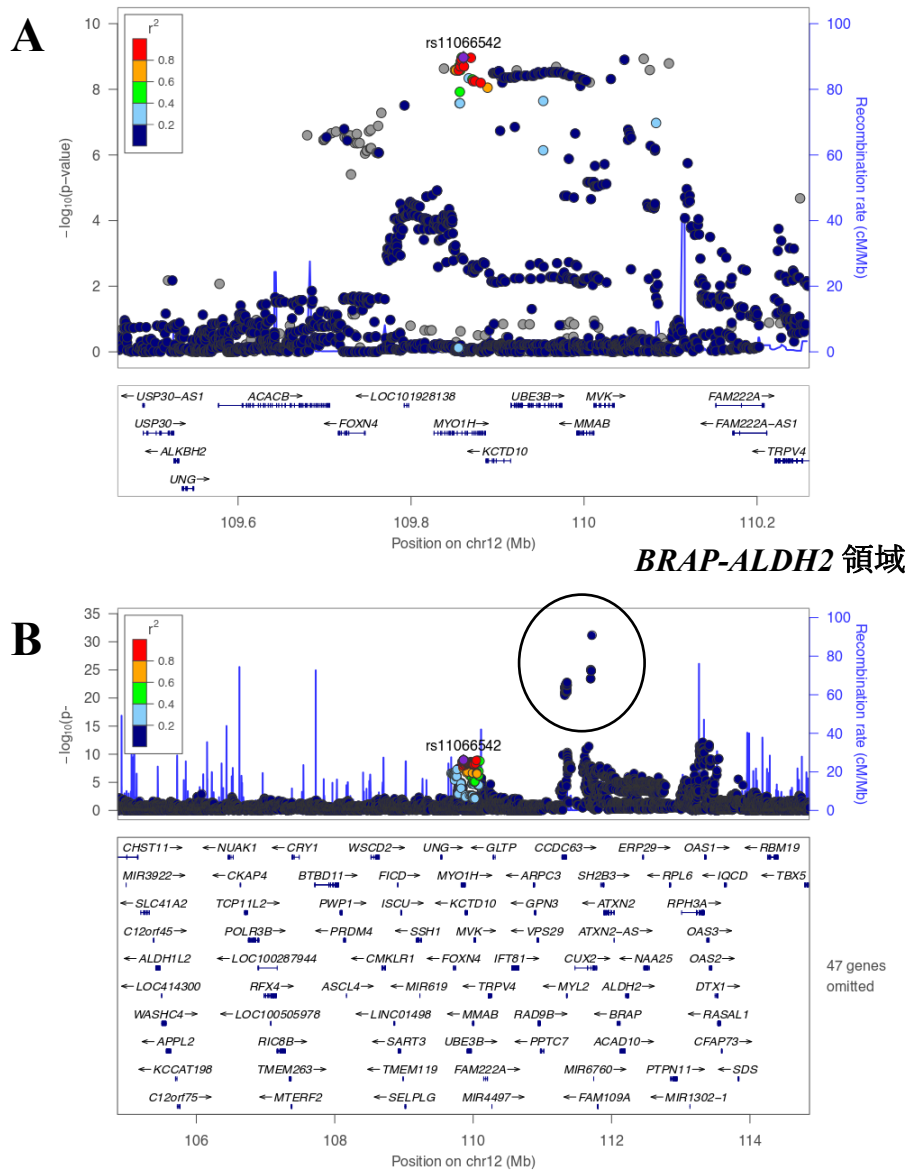


図 6. 12q24 領域に関する新規感受性領域の検討

12q24 領域はゲノムワイド水準 ($P = 5.0 \times 10^{-8}$) を満たしていたが (A)、約 2MB 離れた *BRAP-ALDH2* 領域の影響を考量したところ、シグナルが消失した (B)。A は 800kb pair、B は 10Mb pair のスケールで示している。

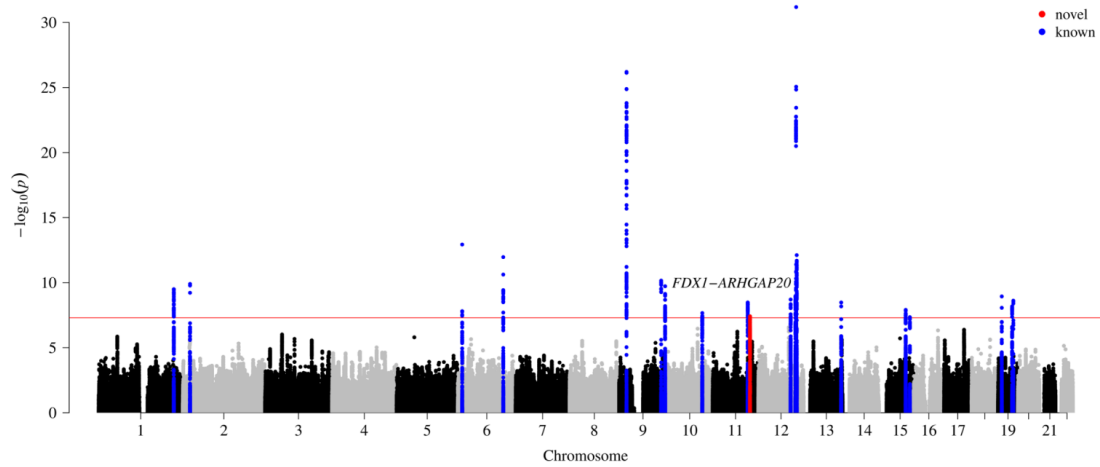


図 7. 日本人集団のメタ解析でのマンハッタンプロット

x 軸は染色体座位を、 y 軸は各 SNP の $-\log_{10}P$ 値を示している。赤い線はゲムワイド水準 ($P = 5.0 \times 10^{-8}$) を表している。赤と青の点はそれぞれ、新規と既報の領域 (リード SNP ± 250 kb) を示している。

II. 欧米人集団も加えたメタ解析

CADに関連した領域をさらに同定することを目的に、MR-MEGA ソフトウェアを用いて、欧米人集団も加えたメタ解析を行なった。日本人の2つのコホートの GWAS と、CARDIoGRAMplusC4D と UK Biobank をメタ解析した欧米人集団の結果を統合し、5,167,567 個の SNP を用いた。この解析では、76 個のゲノムワイド水準を超えた領域を検出し、そのうち3個が新規の領域であった（図8、表6）。 λ_{GC} は 1.09 と軽度上昇していたが、人種差によるバイアスの影響を考量するもう一つの方法として Linkage disequilibrium score regression (LDSC) intercept がある。LDSC intercept は λ_{GC} より人種差の影響を排除した指標である。LDSC intercept が 1 を切っているため、人種差によるバイアスはないと考えられた（図9）。11q22 領域は欧米人集団とのメタ解析でも検出され、それぞれのメタ解析のリード SNP が 1Mb 以内にあった。そのため、欧米人集団のメタ解析で検出されたリード SNP の rs10488763 の影響を考慮して、日本人集団で検出された rs184599 の conditional analysis を行なったところ、rs184599 のシグナルは消失した（図10）。そのため、日本人集団と欧米人集団で検出された領域は同一領域と考えられた。結果、最終的に3領域（1q21、10q26、11q22）が新規領域と考えられた。

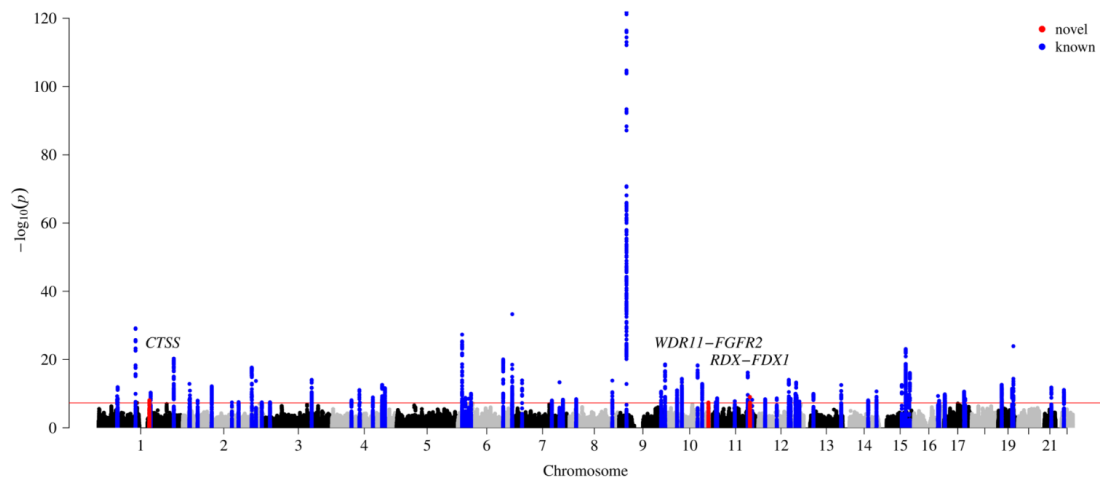


図 8. 人種横断的なメタ解析のマンハッタンプロット

x 軸は染色体座位を、 y 軸は各 SNP の $-\log_{10}P$ 値を示している。赤い線はゲムワイド水準 ($P = 5.0 \times 10^{-8}$) を表している。赤と青の点はそれぞれ、新規と既報の領域 (リード SNP ± 250 kb) を示している。

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs11206510	1:55496039	T/C	<i>BSND</i> <i>-PCSK9</i>	1.14 (1.04-1.24) 3.52×10^{-3}	0.96 (0.82-1.13) 0.65	1.07 (1.04-1.09) 3.68×10^{-8}	1.07 (1.04-1.10) 1.01×10^{-8}
rs56348932	1:56988551	A/C	<i>PPAP2B</i>	1.11 (0.94-1.29) 0.20	1.28 (0.96-1.72) 9.30×10^{-2}	1.11 (1.07-1.14) 4.07×10^{-12}	1.11 (1.08-1.13) 2.31×10^{-12}
rs4970837	1:109822008	T/G	<i>PSRC1</i>	1.20 (1.10-1.30) 8.24×10^{-6}	1.14 (0.99-1.31) 6.40×10^{-2}	1.07 (1.05-1.09) 1.19×10^{-13}	1.07 (1.04-1.11) 7.69×10^{-16}
rs6587520	1:150709723	T/C	<i>CTSS</i>	1.07 (1.03-1.11) 4.29×10^{-4}	1.05 (0.98-1.13) 0.14	1.04 (1.03-1.06) 1.33×10^{-6}	1.04 (1.03-1.06) 8.63×10^{-9}
rs11810571	1:151762308	G/C	<i>TDRKH</i>	1.05 (1.01-1.09) 9.63×10^{-3}	0.96 (0.89-1.03) 0.25	1.06 (1.04-1.08) 2.21×10^{-8}	1.05 (1.02-1.09) 4.41×10^{-8}
rs12129500	1:154423764	T/C	<i>IL6R</i>	1.06 (1.02-1.11) 1.90×10^{-3}	0.97 (0.90-1.04) 0.38	1.05 (1.03-1.06) 8.52×10^{-9}	1.05 (1.02-1.07) 2.84×10^{-9}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs3008629	1:222835930	T/C	<i>MTA3</i>	1.12 (1.07-1.16) 5.68×10^{-8}	1.07 (0.99-1.15) 6.80×10^{-2}	1.06 (1.04-1.08) 1.94×10^{-7}	1.07 (1.04-1.10) 5.81×10^{-12}
rs16986953	2:19942473	A/G	<i>OSR1</i> <i>-TTC32</i>	1.09 (1.05-1.14) 6.59×10^{-5}	1.09 (1.02-1.17) 1.60×10^{-2}	1.12 (1.08-1.15) 4.77×10^{-10}	1.10 (1.09-1.12) 1.39×10^{-13}
rs11124924	2:21206275	G/C	<i>LDAH</i> <i>-APOB</i>	1.16 (1.09-1.23) 6.83×10^{-7}	1.13 (1.01-1.26) 3.40×10^{-2}	1.07 (1.04-1.10) 2.80×10^{-5}	1.09 (1.04-1.14) 4.39×10^{-9}
rs75331444	2:44069772	G/A	<i>ABCG8</i>	1.22 (0.98-1.52) 7.50×10^{-2}	0.97 (0.65-1.47) 0.90	1.11 (1.07-1.14) 2.14×10^{-8}	1.11 (1.08-1.13) 1.81×10^{-8}
rs1058588	2:85808871	T/C	<i>VAMP8</i>	1.02 (0.98-1.06) 0.36	1.05 (0.97-1.12) 0.22	1.06 (1.04-1.08) 1.06×10^{-11}	1.05 (1.03-1.07) 3.52×10^{-11}
rs17678683	2:145286559	G/T	<i>ZEB2</i> <i>-TEX41</i>	1.15 (1.01-1.30) 3.60×10^{-2}	1.07 (0.88-1.29) 0.50	1.08 (1.05-1.11) 1.15×10^{-7}	1.08 (1.07-1.10) 3.72×10^{-8}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs12619842	2:164945044	G/C	<i>FIGN</i> <i>-GRB14</i>	1.08 (1.04-1.12) 1.79×10^{-4}	1.05 (0.98-1.13) 0.16	1.05 (1.03-1.07) 8.57×10^{-6}	1.05 (1.04-1.07) 2.97×10^{-8}
rs72926772	2:203804289	T/C	<i>CARF</i>	1.00 (0.80-1.26) 0.98	1.02 (0.98-1.06) 0.94	1.13 (1.10-1.16) 6.14×10^{-19}	1.13 (1.11-1.15) 4.68×10^{-18}
rs1250229	2:216304384	T/C	<i>FNI</i> <i>-MREG</i>	1.07 (0.99-1.16) 7.40×10^{-2}	1.21 (1.05-1.39) 7.58×10^{-3}	1.07 (1.05-1.09) 1.85×10^{-13}	1.07 (1.05-1.10) 1.91×10^{-14}
rs4458205	2:233557646	T/C	<i>EFHDI</i> <i>-GIGYF2</i>	1.09 (1.04-1.15) 2.80×10^{-4}	1.06 (0.98-1.15) 0.12	1.04 (1.03-1.06) 3.76×10^{-6}	1.05 (1.03-1.07) 4.11×10^{-8}
rs293914	3:14947133	G/C	<i>FGD5</i>	1.08 (1.04-1.12) 9.60×10^{-5}	1.08 (1.01-1.16) 3.20×10^{-2}	1.06 (1.03-1.09) 9.02×10^{-5}	1.07 (1.06-1.08) 4.21×10^{-8}
rs11713141	3:138067626	C/T	<i>MRAS</i>	1.12 (1.07-1.17) 1.29×10^{-6}	1.04 (0.97-1.12) 0.26	1.04 (1.03-1.06) 7.65×10^{-7}	1.05 (1.02-1.08) 9.94×10^{-10}

Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	1st study		2nd study		EUR GWAS		MR-MEGA	
				OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value
rs12645070	4:57770106	A/G	<i>SPINK2</i> - <i>REST</i>	1.07 (1.03-1.12)		0.98 (0.91-1.05)		1.05 (1.03-1.07)		1.05 (1.02-1.08)	
				3.94×10^{-4}		0.58		3.45×10^{-7}		3.10×10^{-8}	
rs11099097	4:81167309	T/C	<i>PRDM8</i> - <i>FGF5</i>	1.05 (1.01-1.09)		1.10 (1.02-1.18)		1.05 (1.03-1.07)		1.05 (1.04-1.06)	
				2.40×10^{-2}		1.60×10^{-2}		1.65×10^{-7}		4.15×10^{-9}	
rs11099493	4:82587050	A/G	<i>RASGEF1B</i> - <i>HNRNPD</i>	1.08 (1.03-1.12)		1.14 (1.05-1.24)		1.04 (1.02-1.06)		1.05 (1.02-1.08)	
				9.85×10^{-4}		2.09×10^{-3}		1.47×10^{-5}		4.16×10^{-8}	
rs1847331	4:120936581	G/T	<i>PDE5A</i> - <i>MAD2L1</i>	1.10 (1.05-1.14)		1.01 (0.93-1.09)		1.04 (1.03-1.06)		1.05 (1.02-1.08)	
				1.70×10^{-5}		0.80		3.26×10^{-6}		2.15×10^{-8}	
rs73855810	4:148383424	A/G	<i>TTC29</i> - <i>EDNRA</i>	1.09 (1.05-1.14)		1.08 (1.00-1.17)		1.07 (1.05-1.09)		1.07 (1.06-1.09)	
				3.01×10^{-5}		4.10×10^{-2}		4.54×10^{-9}		1.94×10^{-12}	
rs34914832	4:156626078	G/A	<i>GUCY1A3</i>	1.08 (1.03-1.13)		1.10 (1.01-1.20)		1.06 (1.04-1.08)		1.07 (1.05-1.08)	
				7.99×10^{-4}		2.90×10^{-2}		7.68×10^{-9}		2.56×10^{-11}	

Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	1st study		2nd study		EUR GWAS		MR-MEGA	
				OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value
				P value		P value		P value		P value	
rs9381634	6:13022728	A/G	<i>PHACTR1</i>	1.07 (1.03-1.11)		1.04 (0.97-1.12)		1.04 (1.03-1.06)		1.05 (1.04-1.06)	
				5.49×10^{-4}		0.23		3.88×10^{-6}		3.31×10^{-8}	
rs6456496	6:22599386	C/G	<i>HDGFLI</i> - <i>NRSN1</i>	1.05 (1.01-1.10)		1.01 (0.93-1.10)		1.05 (1.03-1.07)		1.05 (1.04-1.06)	
				2.40×10^{-2}		0.74		1.53×10^{-8}		4.66×10^{-9}	
rs3130342	6:32080146	C/A	<i>TNXB</i> - <i>ATF6B</i>	1.10 (1.02-1.18)		1.11 (1.00-1.22)		1.07 (1.05-1.10)		1.08 (1.06-1.09)	
				9.10×10^{-3}		4.10×10^{-2}		1.52×10^{-7}		3.09×10^{-9}	
rs55902013	6:39150657	C/G	<i>SAYS1</i> - <i>KCNK5</i>	1.12 (1.06-1.18)		1.13 (1.02-1.24)		1.05 (1.03-1.07)		1.06 (1.03-1.09)	
				5.92×10^{-5}		2.20×10^{-2}		2.28×10^{-7}		3.85×10^{-10}	
rs12193307	6:134103250	A/G	<i>TARID</i>	1.08 (1.04-1.12)		1.08 (1.00-1.16)		1.05 (1.03-1.07)		1.05 (1.04-1.07)	
				1.15×10^{-4}		4.00×10^{-2}		9.89×10^{-8}		1.53×10^{-10}	
rs56393506	6:161089307	T/C	<i>LPA</i>	1.12 (1.05-1.18)		1.09 (0.98-1.21)		1.15 (1.12-1.18)		1.15 (1.13-1.17)	
				4.34×10^{-4}		0.10		6.36×10^{-33}		5.12×10^{-34}	

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value
rs2107595	7:19049388	A/G	<i>HD4C9</i> <i>-TWIST1</i>	1.07 (1.02-1.11) 1.91×10^{-3}	1.05 (0.97-1.13) 0.24	1.08 (1.06-1.10) 3.41×10^{-13}	1.07 (1.06-1.08) 1.34×10^{-14}
rs2107713	7:107232369	T/C	<i>BCAP29</i>	1.07 (1.03-1.11) 1.82×10^{-3}	1.06 (0.98-1.15) 0.12	1.04 (1.03-1.06) 3.14×10^{-6}	1.05 (1.03-1.06) 4.82×10^{-8}
rs11556924	7:129663496	C/T	<i>ZC3HCl</i>	1.23 (1.09-1.40) 1.04×10^{-3}	1.38 (1.09-1.74) 7.60×10^{-3}	1.07 (1.05-1.09) 6.26×10^{-13}	1.07 (1.03-1.11) 4.68×10^{-14}
rs2269997	7:139723400	G/A	<i>PARP12</i>	1.05 (1.02-1.09) 6.10×10^{-3}	1.06 (0.98-1.13) 0.14	1.05 (1.03-1.07) 5.16×10^{-7}	1.05 (1.05-1.05) 1.31×10^{-8}
rs328	8:19819724	C/G	<i>LPL</i>	1.13 (1.07-1.19) 5.83×10^{-5}	0.96 (0.86-1.07) 0.47	1.07 (1.04-1.10) 1.09×10^{-6}	1.07 (1.03-1.12) 3.35×10^{-8}
rs2954026	8:126484526	T/G	<i>TRIB1</i> <i>-FAM84B</i>	1.04 (1.00-1.09) 3.20×10^{-2}	1.01 (0.93-1.08) 0.89	1.06 (1.04-1.08) 6.68×10^{-10}	1.05 (1.04-1.07) 5.36×10^{-10}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value	OR (95%CI) P value
rs10811650	9:22067593	G/A	<i>CDKN2B</i> <i>-AS1</i>	1.12 (1.08-1.16) 4.45×10^{-8}	1.13 (1.05-1.21) 1.17×10^{-3}	1.15 (1.13-1.17) 3.21×10^{-67}	1.15 (1.13-1.17) 1.71×10^{-71}
rs10985343	9:124415691	C/T	<i>DAB2IP</i>	1.09 (1.05-1.13) 3.29×10^{-5}	1.07 (1.00-1.15) 4.80×10^{-2}	1.04 (1.02-1.06) 3.53×10^{-5}	1.05 (1.02-1.07) 4.01×10^{-8}
rs643434	9:136142355	A/G	<i>ABO</i>	1.12 (1.07-1.16) 6.80×10^{-8}	1.12 (1.04-1.20) 3.14×10^{-3}	1.03 (1.02-1.05) 3.64×10^{-5}	1.05 (1.01-1.08) 3.77×10^{-9}
rs10826753	10:30326776	C/T	<i>KIAA1462</i>	1.02 (0.98-1.06) 0.26	0.98 (0.91-1.05) 0.49	1.05 (1.04-1.07) 1.90×10^{-9}	1.04 (1.02-1.07) 2.19×10^{-8}
rs518594	10:44757107	T/C	<i>ZNF32</i> <i>-CXCL12</i>	1.05 (1.01-1.10) 1.20×10^{-2}	1.11 (1.03-1.19) 8.26×10^{-3}	1.07 (1.05-1.09) 7.85×10^{-11}	1.07 (1.06-1.09) 1.07×10^{-12}
rs2250644	10:91008879	T/C	<i>LIPA</i>	1.08 (1.03-1.13) 1.07×10^{-3}	1.15 (1.06-1.25) 6.65×10^{-4}	1.06 (1.05-1.08) 2.97×10^{-13}	1.07 (1.05-1.09) 3.40×10^{-16}

Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	1st study		2nd study		EUR GWAS		MR-MEGA	
				OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value
rs7910601	10:104583395	G/T	<i>WBP1L</i> <i>-CYP17A1</i>	1.09 (1.05-1.14)	5.97×10^{-6}	1.00 (0.93-1.07)		1.06 (1.04-1.08)		1.06 (1.03-1.09)	
						0.97		1.90×10^{-7}		8.74×10^{-10}	
rs2257129	10:122898697	C/T	<i>WDR11</i> <i>-FGFR2</i>	1.08 (1.04-1.13)		1.02 (0.95-1.10)		1.10 (1.06-1.14)		1.08 (1.05-1.12)	
				3.17 $\times 10^{-4}$		0.58		1.64 $\times 10^{-6}$		3.95 $\times 10^{-8}$	
rs360153	11:9762274	C/T	<i>SWAP70</i>	1.05 (1.01-1.09)		0.95 (0.88-1.02)		1.05 (1.03-1.06)		1.04 (1.02-1.07)	
				2.10 $\times 10^{-2}$		0.16		1.39 $\times 10^{-8}$		3.16 $\times 10^{-8}$	
rs4757137	11:13291827	G/T	<i>RASSF10</i> <i>-ARNTL</i>	1.07 (1.03-1.12)		1.03 (0.96-1.11)		1.04 (1.03-1.06)		1.05 (1.03-1.06)	
				8.63 $\times 10^{-4}$		0.35		1.64 $\times 10^{-6}$		1.68 $\times 10^{-8}$	
rs12801636	11:65391317	G/A	<i>PCNXL3</i>	1.07 (1.03-1.11)		1.07 (1.00-1.15)		1.04 (1.02-1.06)		1.05 (1.03-1.07)	
				2.64 $\times 10^{-4}$		4.80 $\times 10^{-2}$		7.75 $\times 10^{-6}$		1.68 $\times 10^{-8}$	
rs11226018	11:103664501	T/A	<i>DYNC2H1</i> <i>-PDGFD</i>	1.14 (1.10-1.18)		1.07 (0.99-1.15)		1.03 (1.01-1.05)		1.04 (1.00-1.09)	
				4.81 $\times 10^{-11}$		8.90 $\times 10^{-2}$		2.63 $\times 10^{-4}$		1.94 $\times 10^{-8}$	

Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	1st study		2nd study		EUR GWAS		MR-MEGA	
				OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value	OR (95%CI)	P value
rs10488763	11:110244360	T/A	<i>RDX</i> <i>-FDXI</i>	1.10 (1.06-1.14)		1.15 (1.07-1.23)		1.05 (1.02-1.07)		1.06 (1.02-1.11)	
				2.16×10^{-6}		1.73×10^{-4}		7.96×10^{-5}		9.33×10^{-10}	
rs662799	11:116663707	G/A	<i>APOA5</i>	1.09 (1.05-1.14)		1.10 (1.02-1.18)		1.06 (1.03-1.09)		1.07 (1.05-1.09)	
				1.22×10^{-5}		1.40×10^{-2}		8.19×10^{-5}		6.43×10^{-9}	
rs10841443	12:20220033	G/C	<i>LINC02398</i>	1.07 (1.03-1.11)		1.05 (0.98-1.13)		1.04 (1.03-1.06)		1.05 (1.04-1.06)	
				7.03×10^{-4}		0.19		1.03×10^{-6}		1.28×10^{-8}	
rs75160195	12:54521594	T/C	<i>HOXC4</i> <i>-SMUG1</i>	1.13 (1.07-1.19)		1.05 (0.95-1.15)		1.09 (1.06-1.13)		1.10 (1.07-1.13)	
				2.95×10^{-5}		0.36		8.64×10^{-7}		2.38×10^{-9}	
rs117742247	12:89991313	T/C	<i>ATP2B1</i>	1.00 (0.95-1.05)		1.08 (1.00-1.18)		1.06 (1.04-1.09)		1.06 (1.02-1.09)	
				0.95		6.00×10^{-2}		5.32×10^{-9}		3.07×10^{-8}	
rs7311541	12:95374260	T/C	<i>NDUFA12</i>	1.14 (1.09-1.19)		1.08 (0.99-1.17)		1.05 (1.02-1.08)		1.07 (1.02-1.13)	
				1.36×10^{-8}		9.90×10^{-2}		1.10×10^{-3}		2.47×10^{-8}	

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs1558803	12:109966198	A/G	<i>UBE3B</i>	1.22 (1.13-1.32) 5.96×10^{-8}	1.27 (1.12-1.44) 1.81×10^{-4}	1.13 (1.05-1.22) 2.12×10^{-3}	1.19 (1.11-1.27) 1.45×10^{-10}
rs3858704	12:111705893	A/G	<i>CUX2</i>	1.26 (1.21-1.31) 4.66×10^{-30}	1.16 (1.08-1.25) 5.29×10^{-5}	1.03 (1.01-1.05) 8.40×10^{-4}	1.06 (0.96-1.17) 2.57×10^{-13}
rs7139170	12:113263518	A/C	<i>RPH3A</i>	1.14 (1.10-1.18) 9.49×10^{-11}	1.08 (1.00-1.15) 4.60×10^{-2}	1.04 (1.02-1.06) 9.86×10^{-4}	1.06 (1.01-1.11) 6.69×10^{-9}
rs2244608	12:121416988	G/A	<i>HNF1A</i>	1.00 (0.96-1.04) 0.98	1.05 (0.98-1.13) 0.15	1.05 (1.03-1.07) 2.32×10^{-9}	1.05 (1.02-1.07) 1.99×10^{-8}
rs9513116	13:29016715	A/G	<i>FLT1</i>	1.10 (1.05-1.15) 4.80×10^{-5}	1.04 (0.97-1.12) 0.25	1.04 (1.03-1.06) 4.39×10^{-7}	1.05 (1.03-1.07) 2.95×10^{-9}
rs55940034	13:111043309	G/A	<i>COL4A2</i>	1.10 (1.03-1.17) 6.17×10^{-3}	1.07 (0.95-1.22) 0.26	1.06 (1.04-1.07) 5.16×10^{-9}	1.06 (1.04-1.07) 4.41×10^{-10}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs2098297	14:75619118	G/T	<i>TMED10</i>	1.12 (1.06-1.17) 2.92×10^{-5}	1.07 (0.98-1.18) 0.14	1.04 (1.02-1.06) 4.15×10^{-6}	1.04 (1.02-1.07) 4.01×10^{-8}
rs12436072	14:100135306	A/G	<i>HHIPL1</i>	1.07 (1.02-1.11) 3.86×10^{-3}	0.99 (0.92-1.08) 0.86	1.04 (1.03-1.06) 2.96×10^{-7}	1.04 (1.03-1.06) 4.71×10^{-8}
rs56062135	15:67455630	C/T	<i>SMAD3</i>	1.21 (1.09-1.34) 1.79×10^{-4}	1.05 (0.88-1.25) 0.57	1.07 (1.05-1.09) 6.36×10^{-12}	1.08 (1.05-1.11) 4.73×10^{-13}
rs62010554	15:79002832	G/A	<i>CHRNA4</i> <i>-ADAMTS7</i>	1.04 (0.99-1.08) 9.20×10^{-2}	1.12 (1.04-1.20) 2.74×10^{-3}	1.06 (1.04-1.09) 6.85×10^{-11}	1.06 (1.04-1.08) 2.83×10^{-12}
rs734780	15:89564958	T/C	<i>MFGE8</i> <i>-ABHD2</i>	1.09 (1.05-1.13) 4.70×10^{-6}	1.02 (0.95-1.09) 0.68	1.07 (1.04-1.10) 4.25×10^{-7}	1.07 (1.04-1.10) 4.38×10^{-10}
rs4932371	15:91404788	C/T	<i>BLM</i> <i>-FURIN</i>	1.12 (1.06-1.17) 3.14×10^{-5}	1.12 (1.01-1.23) 2.70×10^{-2}	1.05 (1.03-1.07) 9.49×10^{-9}	1.06 (1.03-1.09) 1.51×10^{-11}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value	OR (95%CI) <i>P</i> value
rs2000999	16:72108093	A/G	<i>HPR</i>	1.08 (1.04-1.12) 2.39×10^{-4}	1.09 (1.02-1.17) 1.30×10^{-2}	1.06 (1.03-1.08) 6.71×10^{-7}	1.06 (1.05-1.08) 4.70×10^{-10}
rs8057203	16:75404974	C/T	<i>CFDPI</i>	1.05 (1.01-1.09) 1.40×10^{-2}	1.10 (1.02-1.18) 8.71×10^{-3}	1.04 (1.02-1.06) 2.22×10^{-6}	1.04 (1.03-1.06) 3.90×10^{-8}
rs2641438	17:2017786	G/C	<i>SMG6</i>	1.06 (1.02-1.11) 7.03×10^{-3}	1.11 (1.02-1.20) 1.40×10^{-2}	1.05 (1.03-1.07) 1.67×10^{-7}	1.05 (1.03-1.07) 2.52×10^{-9}
rs7214227	17:58991025	T/C	<i>BCAS3</i>	1.14 (1.08-1.20) 2.21×10^{-6}	1.11 (1.00-1.22) 4.40×10^{-2}	1.06 (1.04-1.09) 1.56×10^{-7}	1.07 (1.04-1.11) 4.80×10^{-11}
rs2812	17:62401118	C/T	<i>PECAM1</i>	1.08 (1.03-1.13) 3.94×10^{-4}	1.09 (1.01-1.18) 2.70×10^{-2}	1.04 (1.03-1.06) 1.77×10^{-6}	1.05 (1.03-1.07) 1.01×10^{-8}
rs3786723	19:11166476	T/C	<i>SMARCA4</i>	1.07 (1.01-1.14) 1.90×10^{-2}	1.06 (0.95-1.18) 0.27	1.05 (1.03-1.07) 1.67×10^{-8}	1.05 (1.05-1.06) 2.19×10^{-9}

				1st study	2nd study	EUR GWAS	MR-MEGA
Lead SNP	Position	A1/ A2	Locus name	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)
				<i>P</i> value	<i>P</i> value	<i>P</i> value	<i>P</i> value
rs2241714	19:41869392	T/C	<i>TMEM91</i>	1.10 (1.06-1.14)	1.14 (1.06-1.22)	1.04 (1.02-1.06)	1.05 (1.02-1.09)
				4.10×10^{-7}	2.02×10^{-4}	2.55×10^{-6}	3.68×10^{-11}
rs56131196	19:45422846	A/G	<i>APOC1</i>	1.12 (1.04-1.20)	1.15 (1.02-1.29)	1.09 (1.06-1.11)	1.09 (1.07-1.11)
				1.89×10^{-3}	2.10×10^{-2}	2.71×10^{-12}	2.24×10^{-14}
rs7279974	21:35666961	C/G	<i>SLC5A3</i> <i>-KCNE2</i>	0.98 (0.89-1.07)	1.09 (0.93-1.29)	1.07 (1.05-1.09)	1.06 (1.04-1.09)
				0.61	0.28	2.38×10^{-11}	1.24×10^{-10}
rs6004124	22:24697757	G/A	<i>SPECC1L</i>	1.13 (1.06-1.20)	1.06 (0.95-1.19)	1.10 (1.06-1.14)	1.10 (1.08-1.12)
				1.66×10^{-4}	0.30	7.32×10^{-7}	3.00×10^{-9}

表 6. 人種横断的なメタ解析での疾患感受性領域

新規感受性領域は赤字で示した。

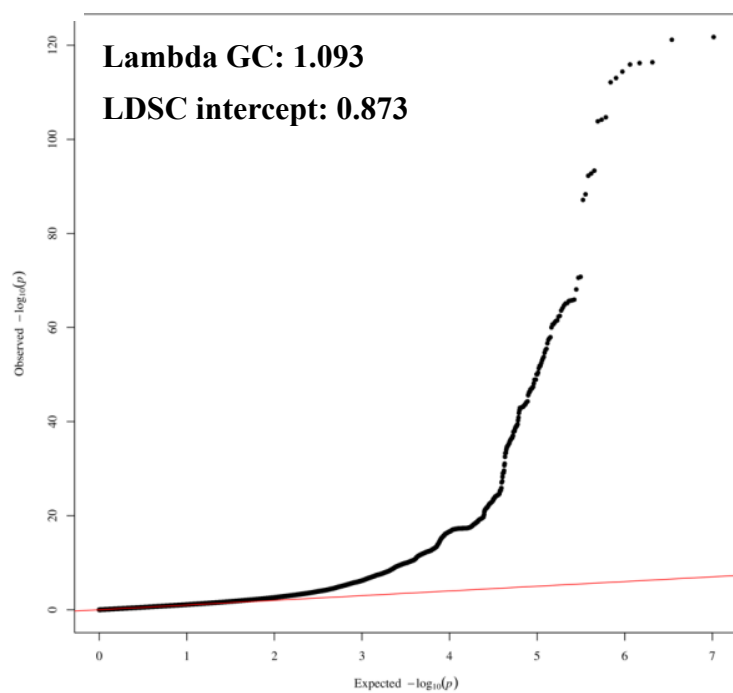


図 9. 人種横断的なメタ解析の QQ プロット

x 軸は正規分布する場合の $-\log_{10}(\text{P 値})$ であり、 y 軸は観測された $-\log_{10}(\text{P 値})$ を示している。

LDSC, linkage disequilibrium score regression

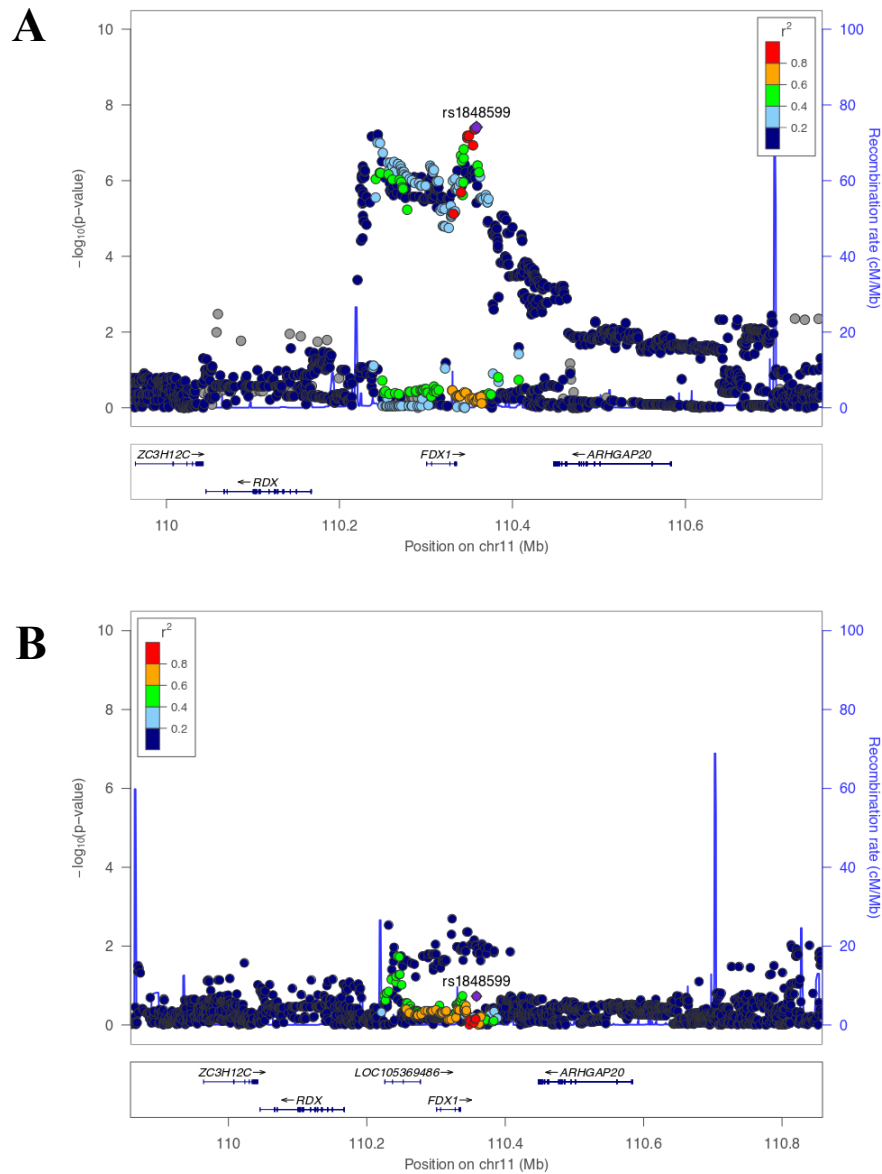


図 10. 11q22 領域の独立性の検討

日本人集団での GWAS では 11q22 領域のリード SNP が rs184599 であった

(A)。欧米人集団も加えたメタ解析でリード SNP として検出された

rs10488763 の影響を考慮したところ、rs184599 のシグナルが消失した (B)。

III. 新規感受性領域の 1q21 領域

rs6587520 は 1q21 領域のリード SNP であり、*CTSS* のイントロンに存在する (図 11)。*CTSS* はリソソームに局在しているシステインプロテアーゼであるカテプシン S をコードしている。rs6587520 は GTEx による eQTL 解析では冠動脈において *CTSS* の遺伝子発現を、白血球において *CTSK* の遺伝子発現を調節している領域だとわかった (図 12)。また、日本人集団の免疫細胞を用いた eQTL 解析では rs6587520 は複数の免疫細胞 (CD4⁺T cell、CD8⁺T cell、B cell、NK 細胞、単球) で *CTSS* の発現上昇と関連していた (図 13)。GWAS catalog データベースや臨床検査値で探索したところ、これらの結果と一致して rs6587520 は好中球や単球の比率変化、リンパ球数の変動など免疫細胞との関連が認められた (表 7)。

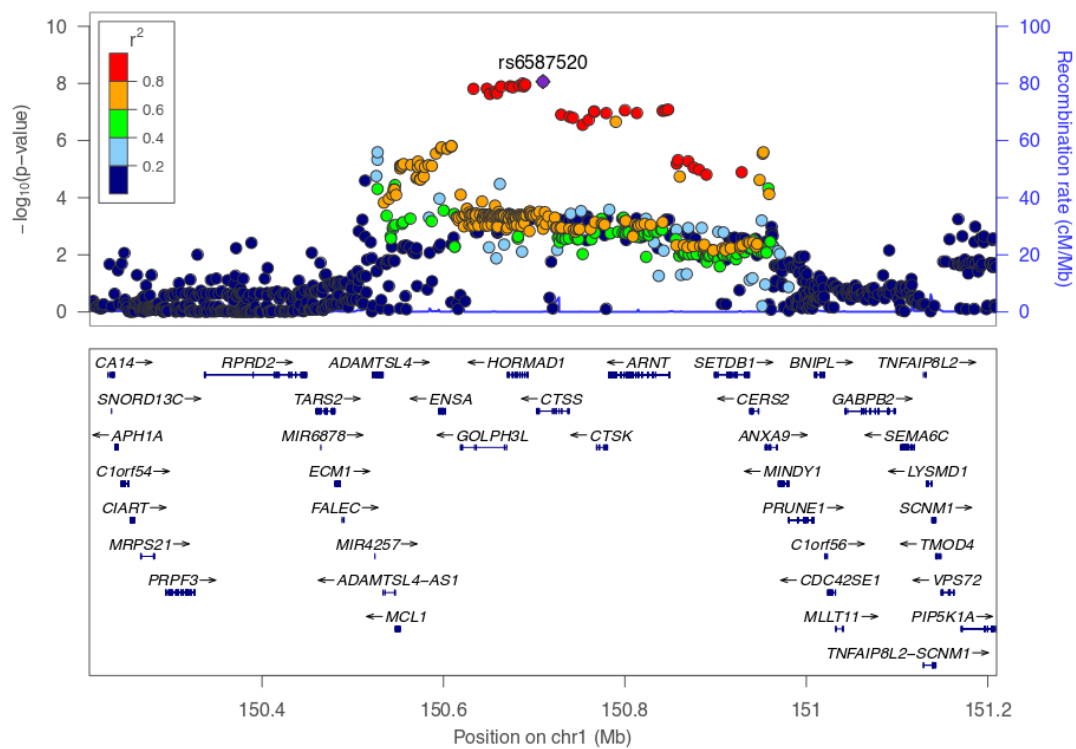


図 11. 1q21 領域の regional plot

リード SNP の rs6587520 は *CTSS* のイントロンに存在している。

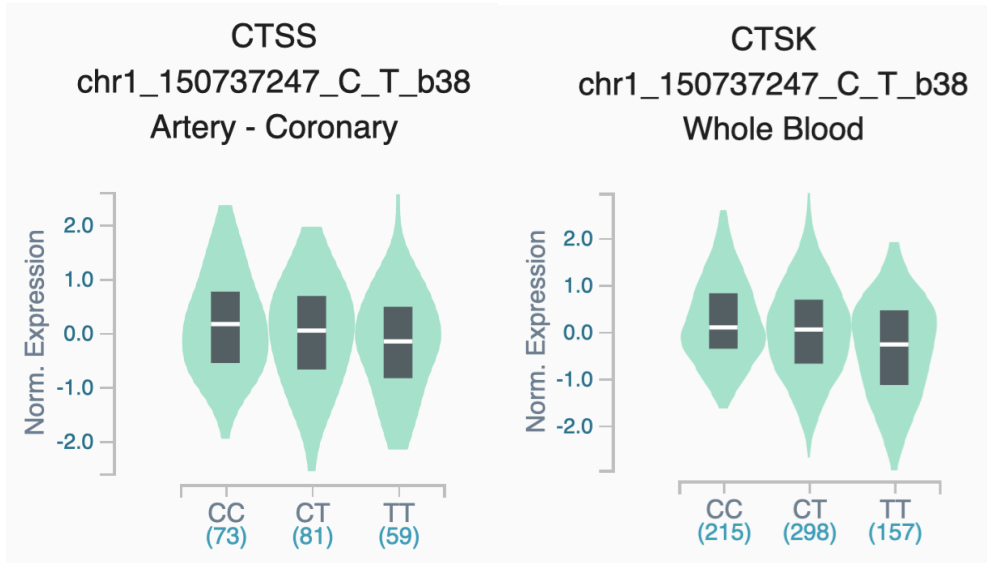


図 12. rs6587520 の eQTL 解析

リード SNP の rs6587520 では冠動脈で *CTSS* の発現量低下、白血球で *CTSK* の発現量低下と関連があった。

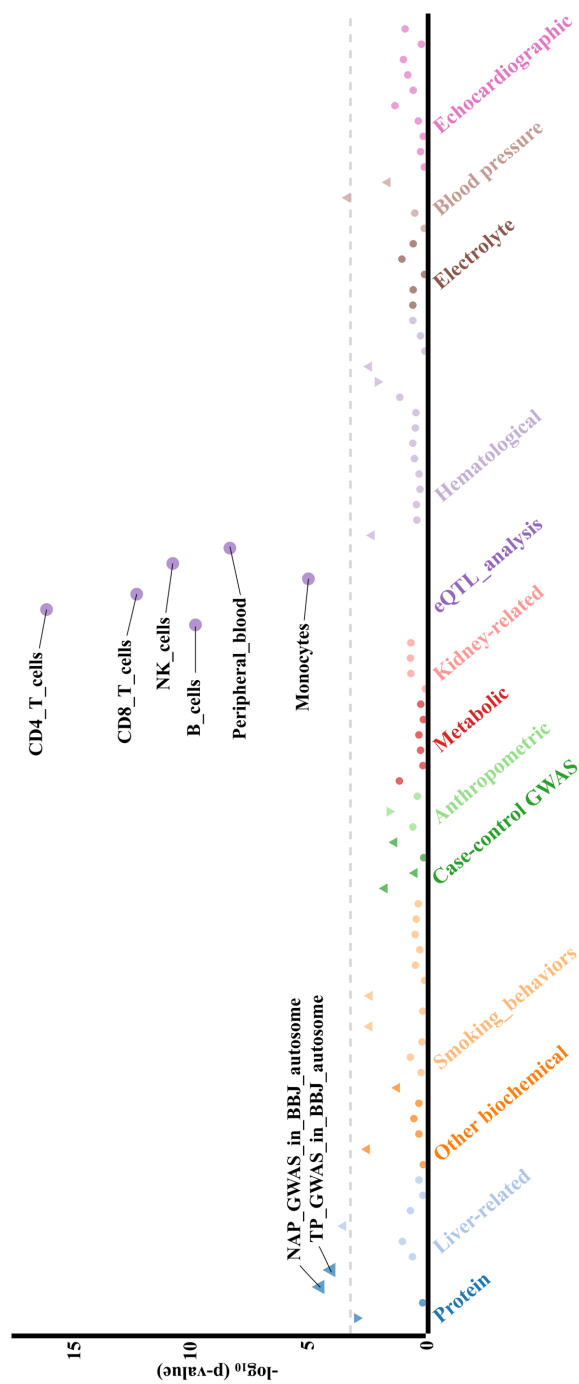


図 13. rs6587520 の検査値との関連

リード SNP の rs6587520 の変異は免疫系細胞やタンパクとの関連が見られた。

NAP, Non-albumin protein、TP, Total protein

Lead variant in new loci	Lead variant in the GWAS catalog data	Selected reasons	r ² in EAS	r ² in EUR	Trait
rs6587520	rs2230061	position	0.45	0.56	Fat body mass
rs6587520	rs11800059	LD	0.99	1.00	Neutrophil percentage of white cells
rs6587520	rs112158604	position	-	-	Lymphocyte counts
rs6587520	rs11204677	LD	0.55	0.75	Monocyte percentage of white cells
rs6587520	rs11204677	LD	0.55	0.75	Granulocyte percentage of myeloid white cells

表 7. rs6587520 における過去の GWAS との関連

rs6587520 の近傍にある SNP で GWAS の報告がある形質を示した。

IV. 新規感受性領域の 10q26 領域

rs2257129 は 10q26 領域のリード SNP であり、*WDR11* と *FGFR2* の遺伝子間領域に存在する（図 14）。今回の領域はエンハンサー領域を示唆するモノメチル化（H3K4me1）のピークとオーバーラップしているが、*WDR11* や *FGFR2* などの遺伝子発現量を調節していなかった。しかし、臨床検査値との関係を探索したところ、CAD 発症のリスクファクターである HDL コレステロール減少と中性脂肪上昇との関連がみられた（図 15）。

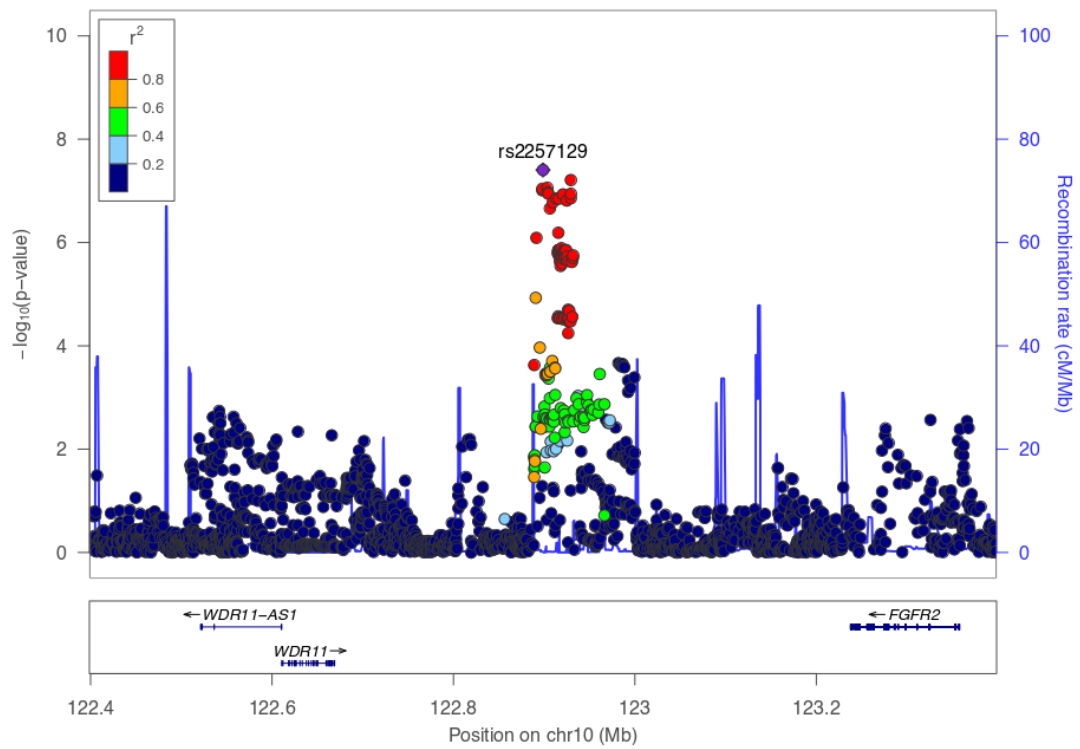


図 14. 10q26 領域の regional plot

リード SNP の rs2257129 は *WDR11-FGFR2* のイントロンに存在している。

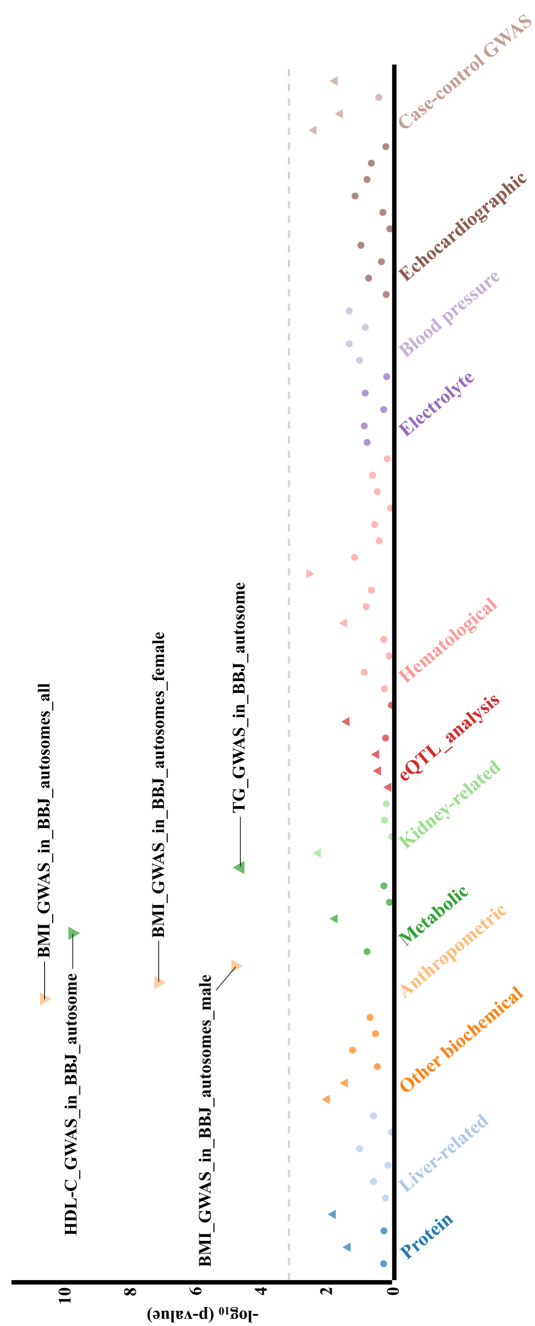


図 15. rs2257129 の検査値との関連

リード SNP の rs2257129 の変異は BMI や HDL-C、TG と関連が見られた。

BMI, Body mass index、HDL-C, High-density-lipoprotein cholesterol

TG, Triglyceride.

V. 新規感受性領域の 11q22 領域

rs10488763 は 11q22 領域のリード SNP であり、*RDX* と *FDXI* の遺伝子間領域に存在している (図 16)。rs10488763 はヒストン修飾領域との重複は確認できなかったが、近傍の rs1443120 (欧米人、東アジア人のどちらの集団でも rs10488763 と完全な連鎖関係 ($r^2 = 1$) にある SNP) は脂肪細胞や血球細胞でプロモーター領域に存在していた。rs10488763 に関して遺伝子発現量との関係を調べたところ、白血球 (GTEx) と単球 (JENGER) で *RDX* の遺伝子発現を調整している座位とわかった (図 17、18)。*RDX* はアクチンと細胞膜の結合に重要な役割を果たしているタンパク質であるラディキシンをコードしている。しかし、この領域は日本人集団での臨床検査値や他の疾患との関連は認められなかった。

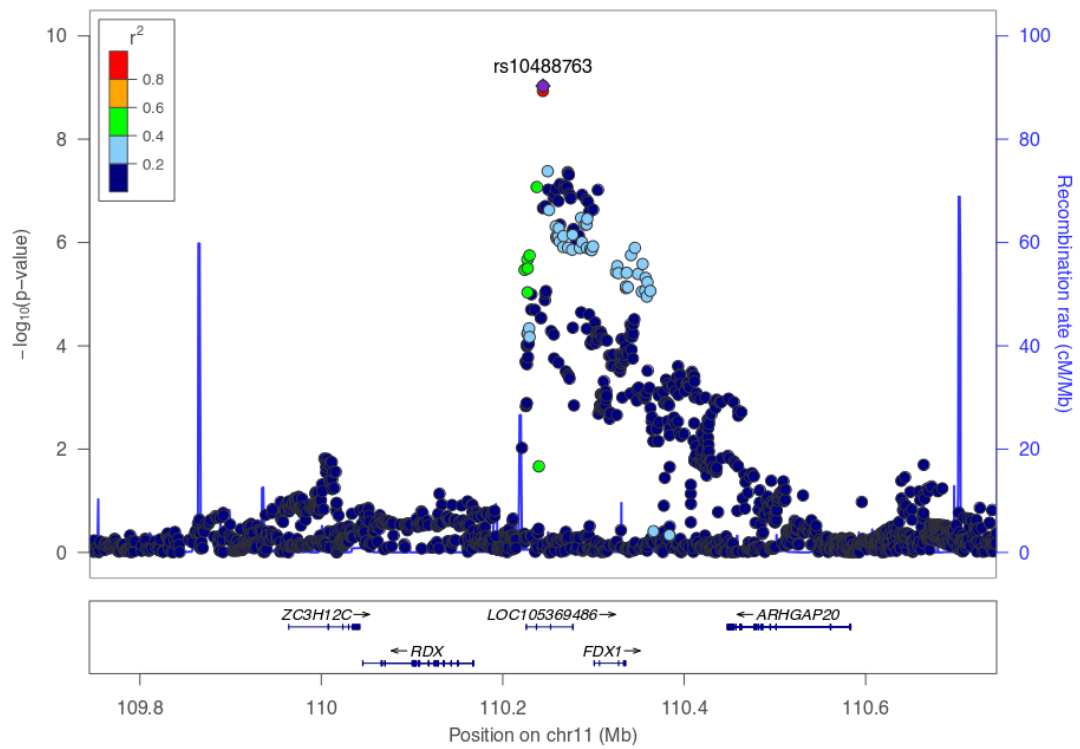


図 16. 11q22 領域の regional plot

リード SNP の rs10488763 は *RDX-FDX1* のイントロンに存在している。

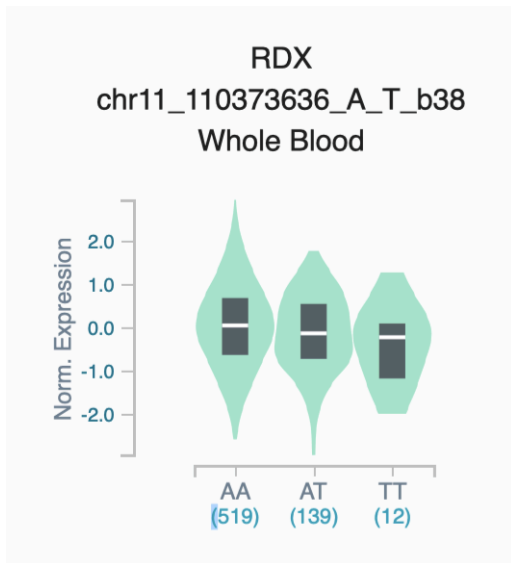


図 17. rs10488763 の eQTL 解析

リード SNP の rs10488763 では白血球で *RDX* の発現量低下と関連があった。

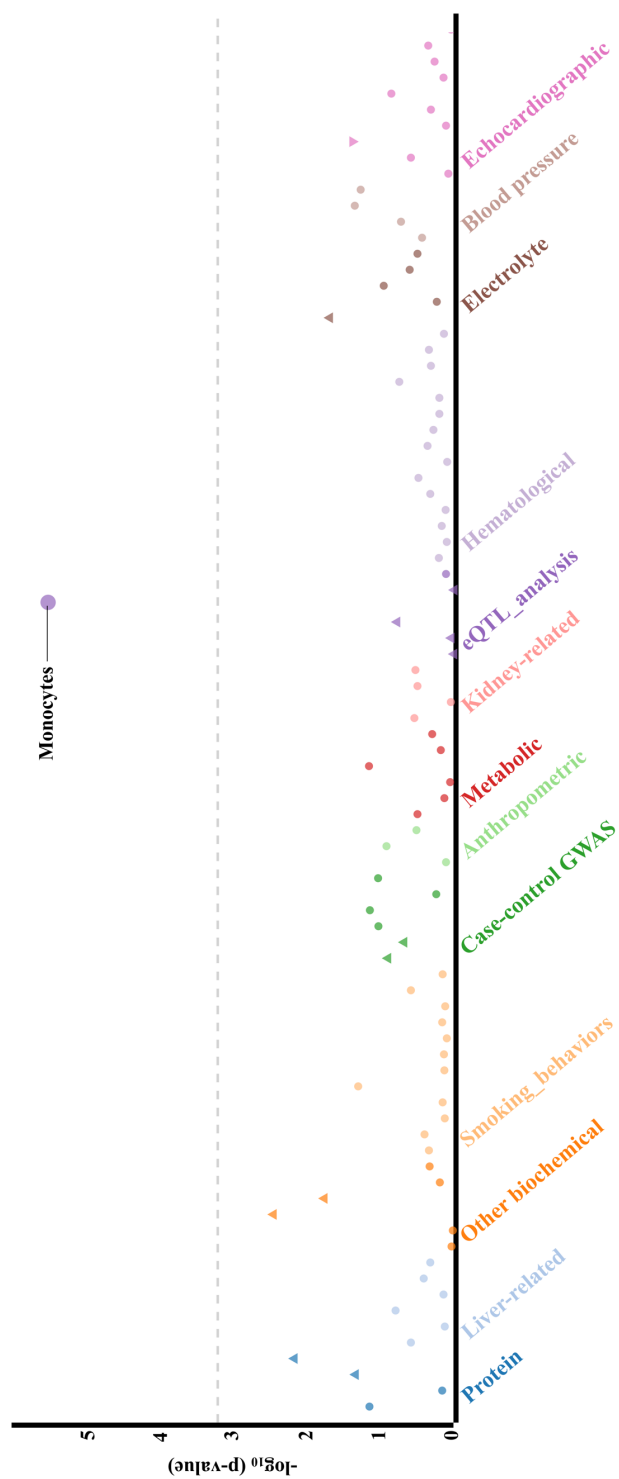


図 18. rs10488763 の検査値との関連

リード SNP の rs10488763 の変異は Monocytes と関連が見られた。

VI. パスウェイ解析

欧米人集団も加えたメタ解析の結果から、MAGENTA ソフトウェアを用いて CAD 発症に関わる生物学的パスウェイを探索した。本研究では 25 個の有意なパスウェイを同定した（表 8）。脂質関連がもっとも頻度が多く（13/25）、輸送系（4/25）やシグナリング経路（3/25）が続いた。この結果は CAD の進展に脂質代謝以外にも様々な生物学的プロセスが関わっていることを示唆した。

Gene Set	<i>P</i> value	FDR	Category
reverse cholesterol transport	9.90×10^{-7}	1.00×10^{-4}	lipid/transport
cholesterol transporter activity	8.00×10^{-6}	6.50×10^{-4}	lipid/transport
LXR.RXR.Activation	2.50×10^{-5}	1.60×10^{-3}	lipid/inflammation
high-density lipoprotein particle remodeling	1.00×10^{-4}	5.47×10^{-3}	lipid
cholesterol homeostasis	4.00×10^{-6}	5.83×10^{-3}	lipid/homeostasis
low-density lipoprotein receptor binding	1.00×10^{-4}	6.04×10^{-3}	lipid/binding
Actin.Cytoskeleton.Signaling	2.00×10^{-4}	7.60×10^{-3}	signaling
Tumor_suppressor	2.70×10^{-5}	1.16×10^{-2}	cell cycle
triglyceride metabolic process	1.00×10^{-4}	1.16×10^{-2}	lipid
chylomicron	6.00×10^{-4}	1.28×10^{-2}	lipid
synaptic transmission, cholinergic	4.00×10^{-4}	1.39×10^{-2}	signaling
glutathione biosynthetic process	4.00×10^{-4}	1.66×10^{-2}	metabolic
vasodilation	5.00×10^{-4}	2.06×10^{-2}	blood vessel
low-density lipoprotein particle	7.00×10^{-4}	2.09×10^{-2}	lipid
cellular response to starvation	1.00×10^{-3}	2.57×10^{-2}	cellular response
cholesterol efflux	1.00×10^{-3}	3.19×10^{-2}	lipid/transport
lipid homeostasis	1.10×10^{-3}	3.91×10^{-2}	lipid/homeostasis
cholesterol metabolic process	1.00×10^{-4}	4.01×10^{-2}	lipid
Neurotrophin.TRK.Signaling	4.90×10^{-3}	4.12×10^{-2}	signaling

positive regulation of endothelial cell proliferation	7.00×10^{-4}	4.46×10^{-2}	cell proliferation
negative regulation of mitotic cell cycle	1.80×10^{-3}	4.52×10^{-2}	cell cycle
microtubule binding	2.75×10^{-4}	4.63×10^{-2}	binding
cellular response to hormone stimulus	1.80×10^{-3}	4.71×10^{-2}	cellular response
phospholipid efflux	4.50×10^{-3}	4.71×10^{-2}	lipid/transport
collagen binding	3.00×10^{-4}	4.77×10^{-2}	binding

表 8. パスウェイ解析

FDR < 0.05 のパスウェイを示した。

VII. 組織特異的解析

次に、DEPICT ソフトウェアを使用し、CAD 発症に関与が大きい組織や細胞を探索した（表 9）。もっとも関連が大きかったのは動脈であった（ $P = 3.05 \times 10^{-6}$ ）。また、代謝や免疫、血圧の調整に重要な役割を果たす副腎も有意であった（ $P = 1.31 \times 10^{-5}$ ）。さらに、脂質代謝に関わる脂肪細胞とも関連が見られた（ $P = 1.78 \times 10^{-5}$ ）。

Name	<i>P</i> value
Arteries	3.05×10^{-6}
Adrenal Glands	1.31×10^{-5}
Adipose Tissue	1.78×10^{-5}
Adrenal Cortex	2.85×10^{-5}
Subcutaneous Fat	3.13×10^{-5}
Adipose Tissue, White	3.13×10^{-5}
Subcutaneous Fat, Abdominal	3.84×10^{-5}
Abdominal Fat	3.84×10^{-5}
Adipocytes	1.88×10^{-4}
Stomach	2.27×10^{-4}
Upper Gastrointestinal Tract	2.86×10^{-4}
Connective Tissue Cells	4.81×10^{-4}
Blood Vessels	7.94×10^{-4}
Cecum	9.63×10^{-4}
Serous Membrane	1.83×10^{-3}
Muscle, Smooth	1.85×10^{-3}
Ileum	2.10×10^{-3}
Intestine, Small	2.63×10^{-3}
Joints	2.85×10^{-3}

Joint Capsule	2.85×10^{-3}
Synovial Membrane	2.85×10^{-3}
Liver	4.00×10^{-3}
Muscle Cells	4.42×10^{-3}
Myocytes, Smooth Muscle	4.42×10^{-3}
Myometrium	4.73×10^{-3}
Lower Gastrointestinal Tract	5.10×10^{-3}
Hepatocytes	5.15×10^{-3}
Rectum	5.19×10^{-3}
Intestine, Large	6.81×10^{-3}
Colon	8.23×10^{-3}
Veins	8.71×10^{-3}

表 9. CAD 発症に関わる組織/細胞

メタ解析で有意となった領域を用いた場合の CAD 発症に関わる組織/細胞を示

した。FDR < 0.05 を満たす、組織/細胞を示している。

VIII. 人種差の解析

引き続き、日本人集団と欧米人集団の MI への遺伝的感受性の相違を検討した。欧米人も加えたメタ解析で検出された 76 個の疾患感受性領域に関して、リード SNP のオッズ比を日本人集団と欧米人集団で比較した（図 19）。大部分のリード SNP でオッズ比は類似しており、日本人集団と欧米人集団の間でオッズ比は中等度の相関を認めた（スピアマンの相関係数 = 0.56、 $P = 1.21 \times 10^{-7}$ ）。しかし、rs11124924、rs1250229、rs3130342、rs2107595、rs643434、rs1558803、rs7139170、rs62010554 では 2 人種間で有意な相違を認めた。rs643434 に関連する *ABO* は欧米人集団で MI 発症に関わる影響が大きく、残りの 7 個の領域（*APOB*、*FNI*、*ATF6B*、*HDAC9*、*UBE3B*、*RPH3A*、*ADAMTS7*）では日本人集団で影響が大きいことを示唆していた。

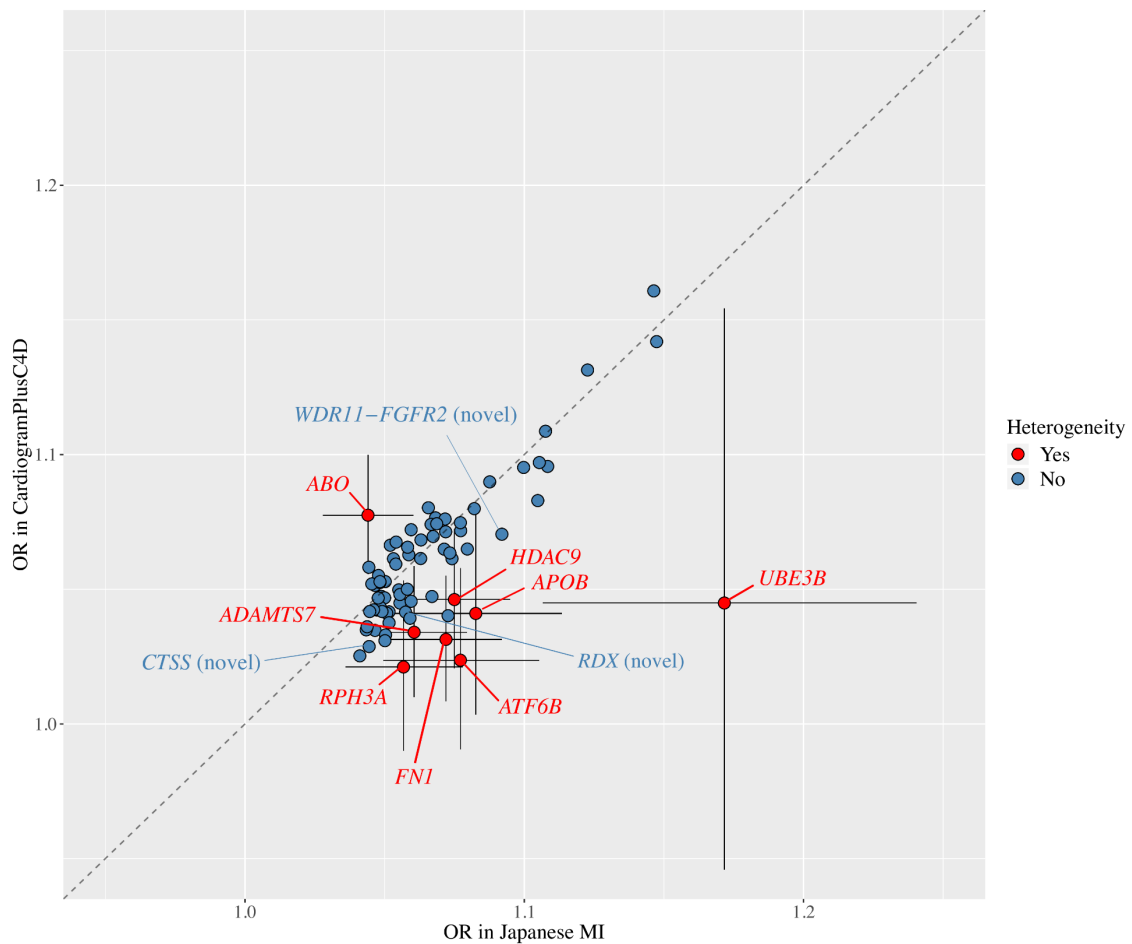


図 19. 日本人集団と欧米人集団での心筋梗塞に対する遺伝的影響の比較

人種横断的なメタ解析で得られた 76 個の心筋梗塞疾患感受性領域を用いたオ

ッズ比 (OR) の散布図。x 軸は日本人集団、y 軸は欧米人集団

(CARDIoGRAMPlusC4D) のデータを使用した。OR が人種間で有意差がある
変異は赤の点で、有意差がない点は青の点で示した。有意差がある変異に関し
ては、95%信頼区間を表示している。

さらに日本人集団と欧米人集団でのリスクアレルの頻度を比べた。日本人が属している 1KGP における第 3 フェーズの東アジア人集団のデータと日本人集団のメタ解析のデータでリスクアレルの頻度を比較すると、強い正の相関を認めた（スピアマンの相関係数 = 0.98、 $P = 1.50 \times 10^{-52}$ ）。1KGP における第 3 フェーズの欧米人集団と CARDIoGRAMplusC4D のデータの間でも同様に強い相関を認めた（スピアマンの相関係数 = 0.99、 $P = 2.71 \times 10^{-59}$ ）。以上より、今回の研究で使用したリスクアレルの頻度と 1KGP のリスクアレルの頻度と比べても大きな違いがないと考えられた。そのため、これ以降は 1KGP のデータを用いて解析を行なった。（図 20、表 10）。1KGP の第 3 フェーズのデータを用いて新規の 3 つの疾患感受性領域を評価した時、1 領域では東アジア人集団で頻度が多く（rs10488763: 37%（東アジア人集団） vs 11%（欧米人集団））、2 領域では欧米人集団で頻度が多かった（rs6587520: 46%（東アジア人集団） vs 48%（欧米人集団）、rs2257129: 61%（東アジア人集団） vs 97%（欧米人集団））。

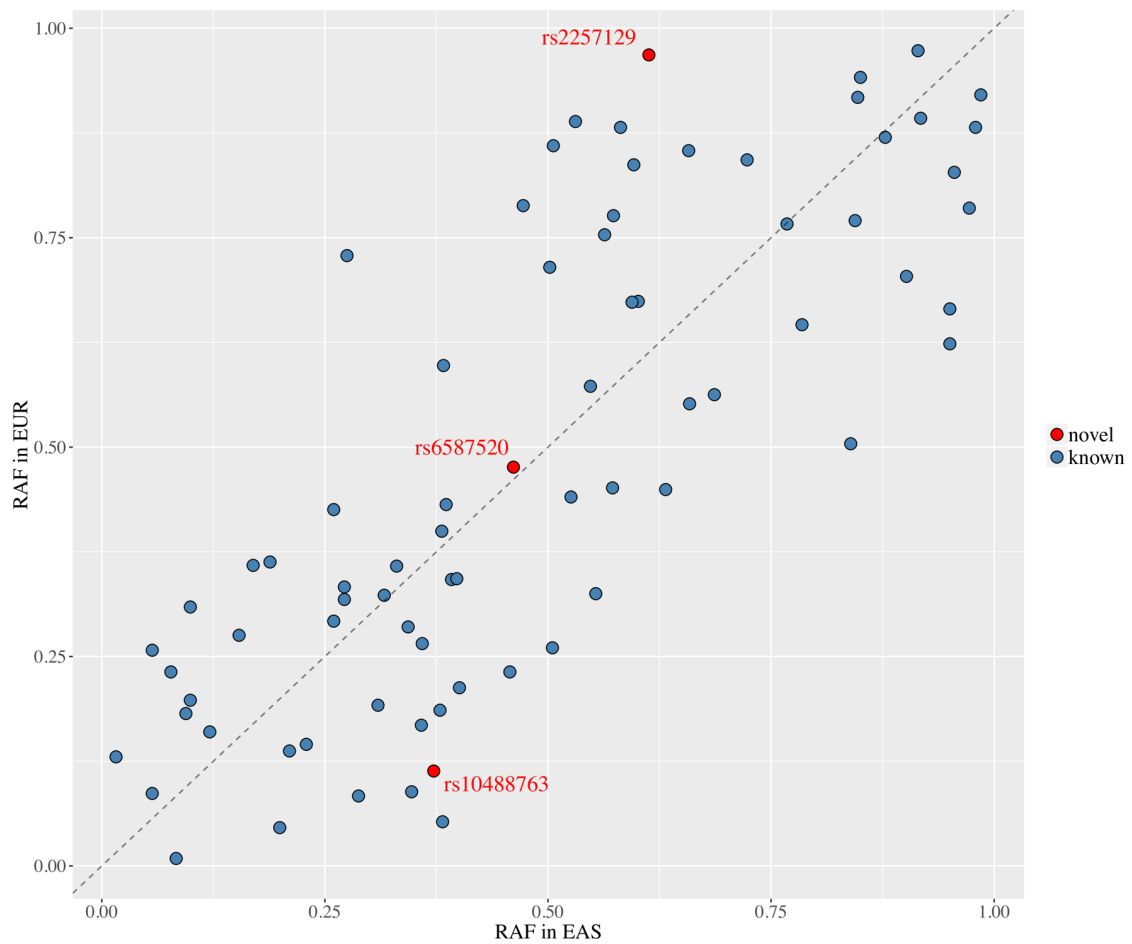


図 20. 東アジア人集団と欧米人集団のリスクアレルの頻度の分布

人種横断的なメタ解析で得られた 76 個のリード SNP のリスクアレルの頻度の比較。x 軸は東アジア人集団、y 軸は欧米人集団のリスクアレルの頻度を示した。それぞれの集団のリスクアレルの頻度は 1000 人ゲノムプロジェクトの第 3 フェーズのデータを利用した。赤と青の点はそれぞれ、新規と既報の領域を表している。

SNP	A1/A2	A1 Freq in EAS*	A1 Freq in EUR*		SNP	A1/A2	A1 Freq in EAS*	A1 Freq in EUR*
Japanese-frequent loc					European-frequent loci			
rs11206510	T/C	0.955	0.828		rs6587520	T/C	0.461	0.476
rs56348932	A/C	0.979	0.882		rs11810571	G/C	0.506	0.860
rs4970837	T/G	0.950	0.665		rs3008629	T/C	0.723	0.843
rs12129500	T/C	0.572	0.451		rs11124924	G/C	0.847	0.918
rs16986953	A/G	0.347	0.089		rs1058588	T/C	0.386	0.431
rs75331444	G/A	0.985	0.921		rs17678683	G/T	0.057	0.087
rs4458205	T/C	0.343	0.285		rs12619842	G/C	0.596	0.837
rs293914	G/C	0.382	0.053		rs72926772	T/C	0.016	0.130
rs12645070	A/G	0.379	0.186		rs1250229	T/C	0.077	0.232
rs11099097	T/C	0.359	0.265		rs11713141	C/T	0.272	0.333
rs11099493	A/G	0.785	0.646		rs1847331	G/T	0.154	0.275
rs73855810	A/G	0.229	0.145		rs6456496	C/G	0.189	0.363
rs34914832	G/A	0.768	0.766		rs12193307	A/G	0.601	0.674
rs9381634	A/G	0.505	0.260		rs56393506	T/C	0.094	0.182
rs3130342	C/A	0.918	0.893		rs2107713	T/C	0.317	0.323
rs55902013	C/G	0.844	0.770		rs2269997	G/A	0.472	0.788
rs2107595	A/G	0.358	0.168		rs2954026	T/G	0.272	0.318

rs11556924	C/T	0.950	0.623		rs643434	A/G	0.381	0.400
rs328	C/G	0.878	0.870		rs518594	T/C	0.658	0.854
rs10811650	G/A	0.526	0.440		rs2250644	T/C	0.330	0.358
rs10985343	C/T	0.457	0.232		rs7910601	G/T	0.581	0.882
rs10826753	C/T	0.659	0.552		rs2257129	C/T	0.613	0.968
rs11226018	T/A	0.632	0.449		rs360153	C/T	0.383	0.597
rs10488763	T/A	0.372	0.113		rs4757137	G/T	0.564	0.754
rs662799	G/A	0.288	0.084		rs12801636	G/A	0.573	0.776
rs75160195	T/C	0.199	0.046		rs10841443	G/C	0.594	0.673
rs117742247	T/C	0.210	0.137		rs7311541	C/T	0.850	0.941
rs1558803	A/G	0.083	0.009		rs3858704	A/G	0.275	0.729
rs2244608	G/A	0.392	0.342		rs7139170	A/C	0.502	0.715
rs9513116	A/G	0.398	0.343		rs55940034	G/A	0.099	0.309
rs2098297	G/T	0.839	0.504		rs12436072	A/G	0.260	0.425
rs56062135	C/T	0.972	0.785		rs734780	T/C	0.531	0.889
rs62010554	G/A	0.401	0.213		rs4932371	C/T	0.170	0.359
rs2000999	A/G	0.310	0.192		rs8057203	C/T	0.548	0.573
rs2812	C/T	0.687	0.563		rs2641438	G/C	0.260	0.292
rs3786723	T/C	0.902	0.704		rs7214227	T/C	0.121	0.160
rs2241714	T/C	0.554	0.325		rs56131196	A/G	0.099	0.198
					rs7279974	C/G	0.057	0.258
					rs6004124	G/A	0.915	0.973

表 10. Genome-wide significance ($P < 5.0 \times 10^{-8}$) を満たす疾患感受性領域におけ

る SNP のリスクアレル頻度の比較

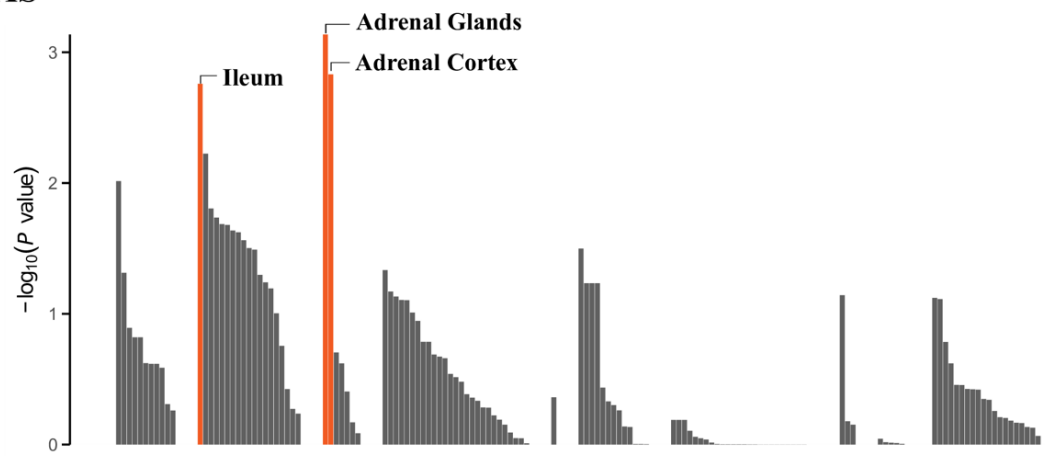
リスクアレル頻度は 1000 人ゲノムプロジェクト phase3

(<http://www.internationalgenome.org/category/phase-3/>) を基にしている。

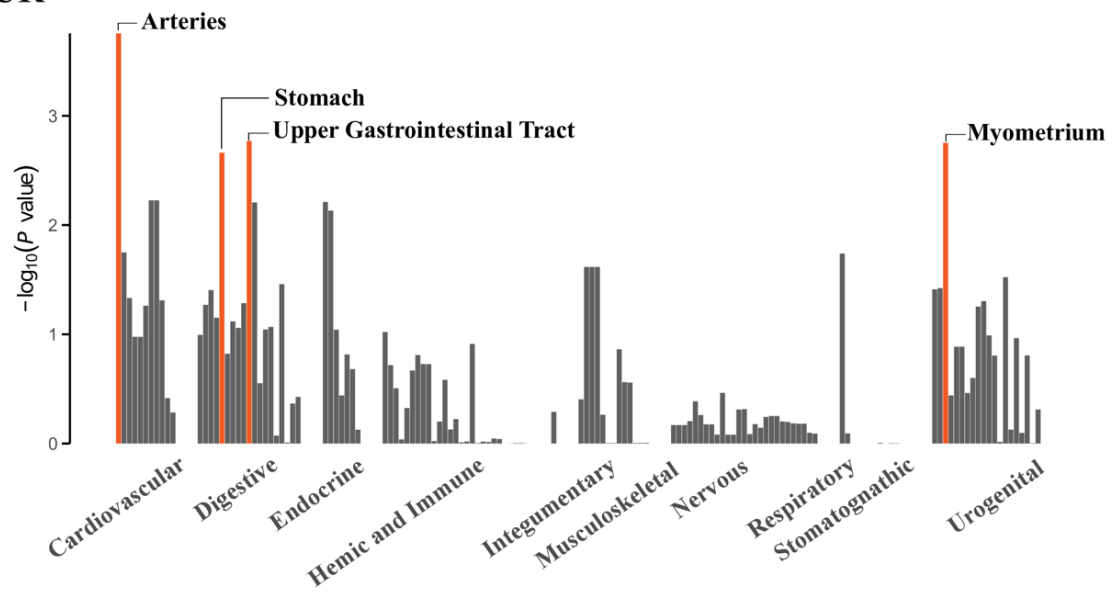
最後に CAD 発症に関わる組織や細胞に関して、人種間の違いを検討した。

東アジア人集団で頻度が多い SNP を用いた場合、副腎や副腎皮質が優位となり、欧米人集団で頻度が多い SNP を用いた場合、動脈や脂肪組織が優位となった（図 21）。リスクアレルの頻度の違いは人種間の有病率の違いに寄与する可能性がある²⁴。そのため、これらの結果は日本人を含む東アジア人集団と欧米人集団での相違を示唆しているのかもしれない。

EAS



EUR



Physiological system

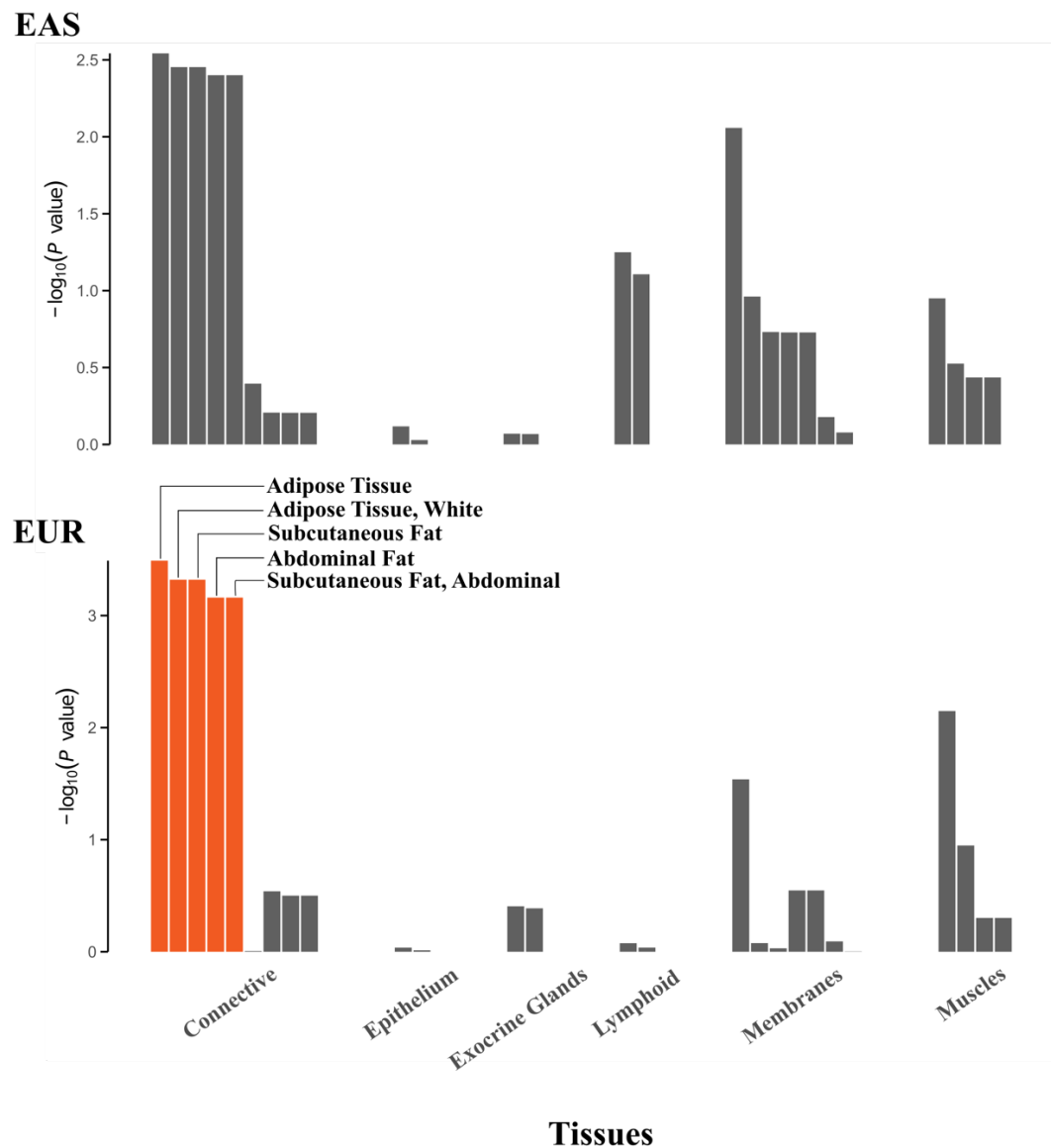


図 21. CAD 発症に関わる組織/細胞の人種間の比較

x 軸は組織/細胞を表しており、 y 軸は $-\log_{10}P$ 値を示している。オレンジ色のバーは有意 ($FDR < 0.05$) に影響が大きい組織/細胞を表している。

【考察】

I. 結果の要約

本研究は、日本人集団で最大規模の CAD に対する GWAS である。さらに、日本人の GWAS に CARDIoGRAMplusC4D と UK Biobank をメタ解析した欧米人集団の結果を統合することにより、人種横断的な大規模なメタ解析も行なった。最終的に CAD に対する疾患感受性領域を 76 個発見し、そのうち 3 個が新規であった。検出されたリード SNP を用いて、日本人集団と欧米人集団を比較し、遺伝要因による人種差を明らかにした。

II. 新規感受性領域に関して

秋山らは今回新規領域として発見した *WDR11-FGFR2* 領域のリード SNP である rs2257129 とボディマス指数 (BMI) との関連を報告していた³²。肥満は CAD のリスクファクターであるため、CAD の GWAS で肥満に関わる領域が検出されるのは関連するのは妥当な結果だと考えられる。さらに、JENGER データベースを用いた臨床データとの関係を調べたところ、rs2257129 は HDL コレステロールの低下と中性脂肪の上昇と関係しており、疫学研究で報告されている CAD の発症リスクと一致していた。しかし、遺伝子発現量を調べた解析では rs2257129 と関連した遺伝子は示すことができず、遺伝子変異と形質の間の分子機序を説明することができなかった。この領域は遺伝子間に存在しており、遺伝子発現量やエピゲノムに関わる可能性が高いと思われる。今後、これらの情報がさらに蓄積されていくと予想される。新たに報告されていく情報と GWAS の結果と統合していくことにより、この領域がどのような機序で CAD 発症に関わるのか、明らかになっていくと考えられる。

遺伝子発現量の情報や過去の GWAS より 1q21 領域は免疫細胞や冠動脈にて *CTSS* や *CTSK* などのカテプシンの発現調整を行うことが示された。カテプシンはリソソームに局在したシステインプロテアーゼであり、動脈硬化や CAD、高

血圧、心肥大、心筋症など多くの心疾患との関連を報告されている。カテプシン S とカテプシン K は人間の動脈硬化病変の内皮細胞やマクロファージ、平滑筋細胞で最初に発見されたカテプシンである³³。アテローム性動脈硬化症の疾患モデルの ApoE 欠損マウス (*ApoE*^{-/-}) で、*Ctss* をノックダウンさせるとプラークサイズが小さくなり、プラーク破裂も少なくなると言われている³⁴。さらに、カテプシン S の活性化はマクロファージが集積しやすくなり、エラスチン繊維が破壊されている範囲が増大する³³。さらに LDL 受容体欠損マウス (*Ldlr*^{-/-}) では、*Ctss* をノックダウンさせると単球やマクロファージから成るプラークの範囲が減少する³³。これらの結果はカテプシン S や K が免疫系を介して動脈硬化の進展、そして CAD の発症に影響していると示唆している。

遺伝子発現量の解析により、*RDX-FDX1* 領域のリード SNP である rs10488763 は単球において *RDX* の発現量を変化させている。*RDX* がコードしているラディキシンはモエシン、エズリンとともに ERM ファミリーを構成している。ERM ファミリーは細胞膜とアクチンフィラメントの結合に重要な役割を果たす。また、ERM は細胞遊走や接着にも関与する³⁵。過去の研究ではアンジオテンシンIIやインターロイキン 1β のような炎症性刺激は培養中の冠動脈平滑筋細胞で Rho キナーゼの発現を増加させるとわかっている。そして、Rho キナー

ぜの発現上昇は EMR ファミリーのリン酸化を促進し、動脈硬化の進展を導く³⁶。したがって、EMR ファミリーの一つであるラディキシンは免疫系を介して動脈硬化の進展に関与している可能性がある。

新規の疾患感受性領域の 3 個のうち 2 個 (*CTSS*・*CTSK* と *RDX*) は動脈硬化の進展に重要な役割を果たす免疫系の関与が示唆された。また、残りの 1 個も脂質に関するものであり、動脈硬化にかかわっていると考えられる。新規感受性領域の考察から CAD の発症に動脈硬化が強く関わっており、また動脈硬化の進展に免疫の関与もあると推定された。

III. CAD の発症機序に関して

パスウェイ解析では CAD に脂質代謝が最も関連していることが示された。

さらに、CAD 発症に関わる組織や細胞を調べたところ、動脈や脂肪細胞が関与していると確認された。加えて、副腎との関連も示唆された。副腎は内分泌器の 1 つであり、カテコラミンや副腎皮質ホルモンを産生している。カテコラミンは脈拍や血圧を調整し、副腎皮質ホルモンはストレス応答や免疫応答、炎症の調節、炭水化物代謝に影響を与えている。これらの解析は臨床的に報告されているリスクファクターと強く関連している。パスウェイ解析で脂質代謝が多く認められ、CAD 発症に関与する組織としても脂肪細胞が検出されていることは脂質異常症が CAD の重要なリスクファクターの一つであることと一致している。また、副腎が CAD 発症に関わるのは、高血圧や糖尿病がリスクファクターであることと関連していると考えられる。以上より、パスウェイ解析や組織特異的解析は CAD と臨床的に示されているリスクファクターとの関連性を示した。

IV. 人種差に関して

これまでの発表された CAD に対する GWAS の大部分は欧米人集団を対象に行われたものあり¹⁰⁻¹²、欧米人集団以外の GWAS は少数であった^{8,9}。過去の研究では CAD 発症に関わる疾患感受性領域の効果は人種間で概ね一致していると報告されているが³⁷、本研究でも同様の結果であった。しかし、欧米人集団も含めたメタ解析で得られた 76 個のリード SNP のうち 8 個は人種間で効果の違いがあり、そのうち 7 個は日本人集団で影響が大きいと考えられた。特に、日本人集団で一番影響が大きいと考えられた rs1558803 は、*BRAP-ALDH2* 領域近傍に存在していた。この領域は日本人で特異的な遺伝構造をしており³¹、GWAS においても初期の報告より日本人で検出されていた³⁸。*ALDH2* はアルコール代謝に関与しているが、冠動脈の攣縮に影響していると報告されている³⁹。日本人は冠攣縮が多いと報告されており、CAD の発症に日本人では特に関連しているのかもしれない。

個々の変異の影響の大きさ以外では、リスクアレルの頻度の分布の違いも認めた。CARDIoGRAMplusC4D と UK Biobank のメタ解析で rs10488763 はゲノムワイド水準 ($P < 5.0 \times 10^{-8}$) に近いレベルである”suggestive significance” ($P < 1.0 \times 10^{-5}$) にも到達していなかったが、残りの rs6587520 と rs2257129 では

suggestive significance に到達していた。本研究で検出された新規の領域に関して、サンプル数の増加に起因するところが多いが、特に rs10488763 では東アジア人集団でリスクアレルの頻度が多かったことも寄与したと思われる。このように人種間で遺伝的構造の違いがあるため、様々な人種で CAD の GWAS を行うことは大切となる。

東アジア人集団と欧米人集団で CAD 発症に関わる組織や細胞を調べたところ、東アジア人集団では副腎、欧米人集団では動脈や脂肪組織の関与が大きいことが示された。脂肪組織に関しては、日本人集団を含む東アジア人集団では他の人種と比べ、皮下脂肪の量が少なく、脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出 (lipid spillover) が生じやすいことが示唆されている⁴⁰。また、日本人で CAD 発症率が低値にもかかわらず、日系アメリカ人ではヨーロッパ系アメリカ人よりも動脈硬化が進んでいると報告されている⁴¹。このことは日本人が動脈硬化になりにくいわけではないことを示している。これらの所見により、東アジア人集団と欧米人集団で CAD 発症の遺伝要因の部分的な相違が説明できるかもしれない。

V. 本研究の限界

この研究にはいくつかの限界がある。第一に、本研究は欧米人集団として CARDIoGRAMplusC4D と UK Biobank をメタ解析の結果を使用した。この集団は大部分が欧米人であるが（約 91%）、一部東アジア人も含め欧米人以外の人種が含まれている。このことは日本人集団と欧米人集団での比較において過小評価している可能性がある。しかし、保守的な結果にもかかわらず、本研究では 2 人種間の遺伝要因の違いを示すことができた。次に、今回の研究で使った日本人集団のサンプル数が最近発表された欧米人集団の GWAS のサンプル数と比べると比較的少なかった。その結果、新規に発見できた疾患感受性領域は少数となってしまった。遺伝研究では人種間の違いは大切ではあるが、さらに疾患の理解を深めるにはよりサンプル数を増やすことも必要となる。

【結論】

本研究では CAD に関わる新規の疾患感受性領域を 3 個発見した。近年は GWAS で得られた結果を用いて、各個人の遺伝的なリスクを評価する多遺伝子リスクスコアが積極的に作成されている。多遺伝子リスクスコアはオーダーメイド医療に適応できる可能性を秘めており、今後さらに拡大していくと予測されている。多遺伝子リスクスコアにも人種差があると考えられているため、本研究の結果を用いて、日本人での多遺伝子リスクスコアを作成していくことが重要になると考えられる。また、欧米人集団も含めたメタ解析の結果を用いて、日本人集団と欧米人集団での遺伝要因の共通点と相違点を示した。人種間で遺伝的構造の違いがあるため、CAD 発症の遺伝要因を明らかにするには欧米人集団以外での解析がさらに必要となってくるだろう。

バイオバンク名	略語	URL
バイオバンク・ ジャパン	BBJ	https://biobankjp.org
東北メディカル・ メガバンク	ToMMo	https://www.megabank.tohoku.ac.jp
いわて東北メディカル・ メガバンク	IMM	http://iwate-megabank.org
多目的コホート研究	JPHC Study	https://epi.ncc.go.jp/jphc/
日本多施設共同 コホート研究	J-MICC STUDY	http://iwate-megabank.org
大阪急性冠症候群研究	OACIS	NA

表 11. 使用したバイオバンク

Software	Ver.	URL
EIGENSOFT	5.0	https://github.com/chrchang/eigensoft/blob/master/POPGEN/README
MaCH	1.0	http://csg.sph.umich.edu/abecasis/MACH/download/
Minimac	0.1.1	https://genome.sph.umich.edu/wiki/Minimac
mach2dat	1.0.24	http://csg.sph.umich.edu/abecasis/MACH/index.html
METAL	2011-03-25	http://csg.sph.umich.edu/abecasis/metal/
MR-MEGA	0.1.2	https://genomics.ut.ee/en/tools/mr-mega
MAGENTA	2.4	https://software.broadinstitute.org/mpg/magenta/
DEPICT	2014-07-21	https://data.broadinstitute.org/mpg/depict/
PLINK	1.90beta	https://www.cog-genomics.org/plink/1.9/

表 12. 使用したソフトウェア

データベース名	内容	URL
1000 人ゲノムプロジェクト	参照配列のデータベース	https://www.internationalgenome.org
CARDIoGRAMplusC4D	欧米人の GWAS データ	http://www.cardiogramplusc4d.org
GTEx	遺伝子発現量のデータベース	https://gtexportal.org/home/
HaploReg	エピゲノム情報のデータベース	https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php
JENGER	理研から報告している GWAS のデータベース	http://jenger.riken.jp
GWAS catalog	過去の GWAS のデータベース	https://www.ebi.ac.uk/gwas/

表 13. 使用したデータベース

【引用文献】

1. Takii T, Yasuda S, Takahashi J, Ito K, Shiba N, Shirato K, Shimokawa H and on behalf of the M-AMISI. Trends in Acute Myocardial Infarction Incidence and Mortality Over 30 Years in Japan. *Circulation Journal*. 2010;74:93-100.
2. Widimsky P, Wijns W, Fajadet J, de Belder M, Knot J, Aaberge L, Andrikopoulos G, Baz JA, Betriu A, Claeys M, Danchin N, Djambazov S, Erne P, Hartikainen J, Huber K, Kala P, Klineva M, Kristensen SD, Ludman P, Ferre JM, Merkely B, Milicic D, Morais J, Noc M, Opolski G, Ostojic M, Radovanovic D, De Servi S, Stenestrand U, Studencan M, Tubaro M, Vasiljevic Z, Weidinger F, Witkowski A, Zeymer U and European Association for Percutaneous Cardiovascular I. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction in Europe: description of the current situation in 30 countries. *Eur Heart J*. 2010;31:943-57.
3. Miura K, Nagai M and Ohkubo T. Epidemiology of hypertension in Japan: where are we now? *Circ J*. 2013;77:2226-31.
4. Group SR, Wright JT, Jr., Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, Rocco MV, Reboussin DM, Rahman M, Oparil S, Lewis CE, Kimmel PL,

Johnson KC, Goff DC, Jr., Fine LJ, Cutler JA, Cushman WC, Cheung AK and Ambrosius WT. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med.* 2015;373:2103-16.

5. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC and Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Bmj.* 2000;321:405-12.

6. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, Mattheus M, Devins T, Johansen OE, Woerle HJ, Broedl UC and Inzucchi SE. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *The New England journal of medicine.* 2015;373:2117-28.

7. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JF, Nauck MA, Nissen SE, Pocock S, Poulter NR, Ravn LS, Steinberg WM, Stockner M, Zinman B, Bergenstal RM and Buse JB. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *The New England journal of medicine.* 2016;375:311-22.

8. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H,

Hori M, Nakamura Y and Tanaka T. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet.* 2002;32:650-4.

9. Lu X, Wang L, Chen S, He L, Yang X, Shi Y, Cheng J, Zhang L, Gu CC, Huang J, Wu T, Ma Y, Li J, Cao J, Chen J, Ge D, Fan Z, Li Y, Zhao L, Li H, Zhou X, Chen L, Liu D, Chen J, Duan X, Hao Y, Wang L, Lu F, Liu Z, Yao C, Shen C, Pu X, Yu L, Fang X, Xu L, Mu J, Wu X, Zheng R, Wu N, Zhao Q, Li Y, Liu X, Wang M, Yu D, Hu D, Ji X, Guo D, Sun D, Wang Q, Yang Y, Liu F, Mao Q, Liang X, Ji J, Chen P, Mo X, Li D, Chai G, Tang Y, Li X, Du Z, Liu X, Dou C, Yang Z, Meng Q, Wang D, Wang R, Yang J, Schunkert H, Samani NJ, Kathiresan S, Reilly MP, Erdmann J, Coronary ADG-WR, Meta-Analysis C, Peng X, Wu X, Liu D, Yang Y, Chen R, Qiang B and Gu D. Genome-wide association study in Han Chinese identifies four new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2012;44:890-4.

10. Howson JMM, Zhao W, Barnes DR, Ho WK, Young R, Paul DS, Waite LL, Freitag DF, Fauman EB, Salfati EL, Sun BB, Eicher JD, Johnson AD, Sheu WHH, Nielsen SF, Lin WY, Surendran P, Malarstig A, Wilk JB, Tybjaerg-Hansen

A, Rasmussen KL, Kamstrup PR, Deloukas P, Erdmann J, Kathiresan S, Samani NJ, Schunkert H, Watkins H, CardioGramplusC4D, Do R, Rader DJ, Johnson JA, Hazen SL, Quyyumi AA, Spertus JA, Pepine CJ, Franceschini N, Justice A, Reiner AP, Buyske S, Hindorff LA, Carty CL, North KE, Kooperberg C, Boerwinkle E, Young K, Graff M, Peters U, Absher D, Hsiung CA, Lee WJ, Taylor KD, Chen YH, Lee IT, Guo X, Chung RH, Hung YJ, Rotter JI, Juang JJ, Quertermous T, Wang TD, Rasheed A, Frossard P, Alam DS, Majumder AAS, Di Angelantonio E, Chowdhury R, Epic CVD, Chen YI, Nordestgaard BG, Assimes TL, Danesh J, Butterworth AS and Saleheen D. Fifteen new risk loci for coronary artery disease highlight arterial-wall-specific mechanisms. *Nat Genet.* 2017;49:1113-1119.

11. Nelson CP, Goel A, Butterworth AS, Kanoni S, Webb TR, Marouli E, Zeng L, Ntalla I, Lai FY, Hopewell JC, Giannakopoulou O, Jiang T, Hamby SE, Di Angelantonio E, Assimes TL, Bottinger EP, Chambers JC, Clarke R, Palmer CNA, Cubbon RM, Ellinor P, Ermel R, Evangelou E, Franks PW, Grace C, Gu D, Hingorani AD, Howson JMM, Ingelsson E, Kastrati A, Kessler T, Kyriakou T, Lehtimäki T, Lu X, Lu Y, Marz W, McPherson R, Metspalu A, Pujades-Rodriguez M, Ruusalepp A, Schadt EE, Schmidt AF, Sweeting MJ, Zalloua PA, AlGhalayini

K, Keavney BD, Kooner JS, Loos RJF, Patel RS, Rutter MK, Tomaszewski M, Tzoulaki I, Zeggini E, Erdmann J, Dedoussis G, Bjorkegren JLM, Consortium E-C, CardioGramplusC4D, group UKBCCCw, Schunkert H, Farrall M, Danesh J, Samani NJ, Watkins H and Deloukas P. Association analyses based on false discovery rate implicate new loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2017;49:1385-1391.

12. Klarin D, Zhu QM, Emdin CA, Chaffin M, Horner S, McMillan BJ, Leed A, Weale ME, Spencer CCA, Aguet F, Segre AV, Ardlie KG, Khera AV, Kaushik VK, Natarajan P, Consortium CAD and Kathiresan S. Genetic analysis in UK Biobank links insulin resistance and transendothelial migration pathways to coronary artery disease. *Nat Genet.* 2017;49:1392-1397.

13. van der Harst P and Verweij N. The Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease. *Circ Res.* 2017.

14. Webb TR, Erdmann J, Stirrups KE, Stitzel NO, Masca NG, Jansen H, Kanoni S, Nelson CP, Ferrario PG, Konig IR, Eicher JD, Johnson AD, Hamby SE, Betsholtz C, Ruusalepp A, Franzen O, Schadt EE, Bjorkegren JL, Weeke PE, Auer

PL, Schick UM, Lu Y, Zhang H, Dube MP, Goel A, Farrall M, Peloso GM, Won
HH, Do R, van Iperen E, Kruppa J, Mahajan A, Scott RA, Willenborg C, Braund
PS, van Capelleveen JC, Doney AS, Donnelly LA, Asselta R, Merlini PA, Duga S,
Marziliano N, Denny JC, Shaffer C, El-Mokhtari NE, Franke A, Heilmann S,
Hengstenberg C, Hoffmann P, Holmen OL, Hveem K, Jansson JH, Jockel KH,
Kessler T, Kriebel J, Laugwitz KL, Marouli E, Martinelli N, McCarthy MI, Van
Zuydam NR, Meisinger C, Esko T, Mihailov E, Escher SA, Alver M, Moebus S,
Morris AD, Virtamo J, Nikpay M, Olivieri O, Provost S, AlQarawi A, Robertson
NR, Akinsansya KO, Reilly DF, Vogt TF, Yin W, Asselbergs FW, Kooperberg C,
Jackson RD, Stahl E, Muller-Nurasyid M, Strauch K, Varga TV, Waldenberger M,
Wellcome Trust Case Control C, Zeng L, Chowdhury R, Salomaa V, Ford I,
Jukema JW, Amouyel P, Kontto J, Investigators M, Nordestgaard BG, Ferrieres J,
Saleheen D, Sattar N, Surendran P, Wagner A, Young R, Howson JM, Butterworth
AS, Danesh J, Ardisino D, Bottinger EP, Erbel R, Franks PW, Girelli D, Hall AS,
Hovingh GK, Kastrati A, Lieb W, Meitinger T, Kraus WE, Shah SH, McPherson
R, Orho-Melandar M, Melander O, Metspalu A, Palmer CN, Peters A, Rader DJ,
Reilly MP, Loos RJ, Reiner AP, Roden DM, Tardif JC, Thompson JR, Wareham

- NJ, Watkins H, Willer CJ, Samani NJ, Schunkert H, Deloukas P, Kathiresan S, Myocardial Infarction G and Investigators CAEC. Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69:823-836.
15. Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen NL, Marenberg ME, Yashin AI and De Faire U. Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins. *J Intern Med*. 2002;252:247-54.
16. Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, Holmer S, Martin LJ, Comuzzie AG, Blangero J, Nurnberg P, Reis A, Riegger GA, Jacob HJ and Schunkert H. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet*. 2002;30:210-4.
17. Pajukanta P, Cargill M, Viitanen L, Nuotio I, Kareinen A, Perola M, Terwilliger JD, Kempas E, Daly M, Lilja H, Rioux JD, Brettin T, Viikari JS, Ronnema T, Laakso M, Lander ES and Peltonen L. Two loci on chromosomes 2 and X for premature coronary heart disease identified in early- and late-settlement populations of Finland. *Am J Hum Genet*. 2000;67:1481-93.
18. The International HapMap Project. *Nature*. 2003;426:789-96.

19. Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA and Abecasis GR. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526:68-74.
20. Ohnishi Y and Nakamura Y. [BioBank Japan project]. *Nihon Rinsho*. 2005;63 Suppl 12:35-41.
21. Kuriyama S, Yaegashi N, Nagami F, Arai T, Kawaguchi Y, Osumi N, Sakaida M, Suzuki Y, Nakayama K, Hashizume H, Tamiya G, Kawame H, Suzuki K, Hozawa A, Nakaya N, Kikuya M, Metoki H, Tsuji I, Fuse N, Kiyomoto H, Sugawara J, Tsuboi A, Egawa S, Ito K, Chida K, Ishii T, Tomita H, Taki Y, Minegishi N, Ishii N, Yasuda J, Igarashi K, Shimizu R, Nagasaki M, Koshihara S, Kinoshita K, Ogishima S, Takai-Igarashi T, Tominaga T, Tanabe O, Ohuchi N, Shimosegawa T, Kure S, Tanaka H, Ito S, Hitomi J, Tanno K, Nakamura M, Ogasawara K, Kobayashi S, Sakata K, Satoh M, Shimizu A, Sasaki M, Endo R, Sobue K, Tohoku Medical Megabank Project Study Group T and Yamamoto M. The Tohoku Medical Megabank Project: Design and Mission. *J Epidemiol*. 2016;26:493-511.
22. Tsugane S and Sawada N. The JPHC study: design and some findings on

the typical Japanese diet. *Jpn J Clin Oncol*. 2014;44:777-82.

23. Hamajima N. The Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort Study (J-MICC Study) to detect gene-environment interactions for cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2007;8:317-23.

24. Kurotobi T, Sato H, Kinjo K, Nakatani D, Mizuno H, Shimizu M, Imai K, Hirayama A, Kodama K and Hori M. Reduced collateral circulation to the infarct-related artery in elderly patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:28-34.

25. Mägi R, Horikoshi M, Sofer T, Mahajan A, Kitajima H, Franceschini N, McCarthy MI, Morris AP and COGENT-Kidney Consortium TD-GC. Trans-ethnic meta-regression of genome-wide association studies accounting for ancestry increases power for discovery and improves fine-mapping resolution. *Hum Mol Genet*. 2017;26:3639-3650.

26. Battle A, Brown CD, Engelhardt BE, Montgomery SB, Consortium G, Laboratory DtACCLAWG, Group SMgAW, groups EGe, Fund NC, NIH/NCI, NIH/NHGRI, NIH/NIMH, NIH/NIDA, Site—NDRI BCS, Site—RPCI BCS, Resource—VARI BC, Bank BBRUoMBE, Management LBP, Study E,

&Visualization—EBI GBDI, Genome Browser Data Integration &Visualization—

UCSC Genomics Institute UioCSC, analysts: L, Laboratory DtACCL,

management: Np, collection: B, Pathology: and group: emw. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature*. 2017;550:204-213.

27. Ishigaki K, Kochi Y, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, Sumitomo S, Yamaguchi K, Nagafuchi Y, Nakachi S, Kato R, Sakurai K, Shoda H, Ikari K, Taniguchi A, Yamanaka H, Miya F, Tsunoda T, Okada Y, Momozawa Y, Kamatani Y, Yamada R, Kubo M, Fujio K and Yamamoto K. Polygenic burdens on cell-specific pathways underlie the risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet*. 2017;49:1120-1125.

28. Kanai M, Akiyama M, Takahashi A, Matoba N, Momozawa Y, Ikeda M, Iwata N, Ikegawa S, Hirata M, Matsuda K, Kubo M, Okada Y and Kamatani Y. Genetic analysis of quantitative traits in the Japanese population links cell types to complex human diseases. *Nat Genet*. 2018;50:390-400.

29. Segre AV, Groop L, Mootha VK, Daly MJ and Altshuler D. Common inherited variation in mitochondrial genes is not enriched for associations with type 2 diabetes or related glycemic traits. *PLoS genetics*. 2010;6.

30. Pers TH, Karjalainen JM, Chan Y, Westra HJ, Wood AR, Yang J, Lui JC, Vedantam S, Gustafsson S, Esko T, Frayling T, Speliotes EK, Boehnke M, Raychaudhuri S, Fehrmann RS, Hirschhorn JN, Franke L and Consortium GloATG. Biological interpretation of genome-wide association studies using predicted gene functions. *Nat Commun.* 2015;6:5890.
31. Okada Y, Momozawa Y, Sakaue S, Kanai M, Ishigaki K, Akiyama M, Kishikawa T, Arai Y, Sasaki T, Kosaki K, Suematsu M, Matsuda K, Yamamoto K, Kubo M, Hirose N and Kamatani Y. Deep whole-genome sequencing reveals recent selection signatures linked to evolution and disease risk of Japanese. *Nat Commun.* 2018;9:1631.
32. Akiyama M, Okada Y, Kanai M, Takahashi A, Momozawa Y, Ikeda M, Iwata N, Ikegawa S, Hirata M, Matsuda K, Iwasaki M, Yamaji T, Sawada N, Hachiya T, Tanno K, Shimizu A, Hozawa A, Minegishi N, Tsugane S, Yamamoto M, Kubo M and Kamatani Y. Genome-wide association study identifies 112 new loci for body mass index in the Japanese population. *Nat Genet.* 2017;49:1458-1467.
33. Sukhova GK, Shi GP, Simon DI, Chapman HA and Libby P. Expression

of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1998;102:576-83.

34. Rodgers KJ, Watkins DJ, Miller AL, Chan PY, Karanam S, Brissette WH, Long CJ and Jackson CL. Destabilizing role of cathepsin S in murine atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:851-6.

35. Baeyens N, Latrache I, Yerna X, Noppe G, Horman S and Morel N. Redundant control of migration and adhesion by ERM proteins in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;441:579-85.

36. Hiroki J, Shimokawa H, Higashi M, Morikawa K, Kandabashi T, Kawamura N, Kubota T, Ichiki T, Amano M, Kaibuchi K and Takeshita A. Inflammatory stimuli upregulate Rho-kinase in human coronary vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;37:537-46.

37. Marigorta UM and Navarro A. High trans-ethnic replicability of GWAS results implies common causal variants. *PLoS genetics.* 2013;9:e1003566.

38. Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, Lin TH, Miyamoto Y, Aoki A, Onouchi Y, Sheu SH, Ikegawa S, Odashiro K, Nobuyoshi M, Juo SH, Hori M, Nakamura Y and Tanaka T. SNPs in BRAP associated with risk

of myocardial infarction in Asian populations. *Nat Genet.* 2009;41:329-33.

39. Mizuno Y, Harada E, Morita S, Kinoshita K, Hayashida M, Shono M, Morikawa Y, Murohara T, Nakayama M, Yoshimura M and Yasue H. East asian variant of aldehyde dehydrogenase 2 is associated with coronary spastic angina: possible roles of reactive aldehydes and implications of alcohol flushing syndrome. *Circulation.* 2015;131:1665-73.

40. Sugimoto D, Tamura Y, Takeno K, Kaga H, Someya Y, Kakehi S, Funayama T, Furukawa Y, Suzuki R, Kadowaki S, Nishitani-Yokoyama M, Shimada K, Daida H, Aoki S, Kanazawa A, Kawamori R and Watada H. Clinical Features of Nonobese, Apparently Healthy, Japanese Men With Reduced Adipose Tissue Insulin Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104:2325-2333.

41. Sekikawa A, Miura K, Lee S, Fujiyoshi A, Edmundowicz D, Kadowaki T, Evans RW, Kadowaki S, Sutton-Tyrrell K, Okamura T, Bertollet M, Masaki KH, Nakamura Y, Barinas-Mitchell EJ, Willcox BJ, Kadota A, Seto TB, Maegawa H, Kuller LH, Ueshima H and Group EJS. Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and incidence rate of coronary artery calcification in Japanese men in Japan and white men in the USA: population based prospective cohort study. *Heart.*

2014;100:569-73.

謝 辞

本研究および論文作成にあたり、ご指導ご鞭撻を頂きました東京大学大学院医学系研究科循環器内科・小室一成教授、赤澤宏講師に心より御礼を申し上げます。

本研究の立案、遂行にあたり、親身にご指導頂きました理化学研究所循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム・伊藤薫チームリーダーに深く感謝致します。本研究では、バイオ・バンクジャパン、東北メディカル・メガバンク、いわて東北メディカル・メガバンク、OACIS 研究、J-MICC 研究、JPHC 研究のデータを使用する機会を頂きました。各研究に関わる全ての関係者の方に心から感謝の念を申し上げます。