

博士論文

閉塞性動脈硬化症のゲノムワイド関連解析

松倉 満

目次

略語一覧

要旨

第1章

緒言

研究目的

第2章

ゲノムワイド関連解析に関する方法論

第1節

ゲノムワイド関連解析について

第2節

一塩基多型と連鎖不平衡解析について

第3章

ゲノムワイド関連解析及び Replication study

第1節

解析対象者の背景と主成分分析結果

第2節

ゲノムワイド関連解析及び Replication study の方法と結果

第4章

疾患関連遺伝子多型の機能解析

第1節

13q32.2 染色体領域の SNP 地図作成と tag SNPs タイピング

第2節

ルシフェラーゼアッセイによるレポーター遺伝子解析

第5章

考察

第6章

総括

謝辞

文献

補足資料

略語一覧

ASO ; arteriosclerosis obliterans : 閉塞性動脈硬化症

GWAS ; genome wide association study : ゲノムワイド関連解析

BBJ ; Biobank japan project : バイオバンクジャパン計画

SNP ; single nucleotide polymorphism : 一塩基多型

LD ; linkage disequilibrium : 連鎖不平衡解析

PCA ; principal component analysis : 主成分分析

DRLA ; dual reporter luciferase assay : デュアルレポータールシフェラーゼアッセイ

HASMC ; human aortic smooth muscle cell : ヒト大動脈平滑筋細胞

IPO5 ; importin-5 : インポートイン 5

RAP2A ; Ras-related protein Rap-2a : Ras 関連タンパク質 Rap-2a

EDNRA ; endothelin receptor type A : エンドセリン受容体 A 型

HDAC ; histone deacetylase : ヒストン脱アセチル化酵素

apo A-1 ; apolipoprotein A-1 : アポリポタンパク A-1

閉塞性動脈硬化症のゲノムワイド関連解析

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻血管外科

指導教員 渡邊聡明教授

松倉 満

要旨

閉塞性動脈硬化症は下肢の慢性虚血性変化を本態とする疾患だが、同時に心血管病の高リスク群であり全世界的で罹患患者が大幅に増加している。本疾患は多数の環境因子と遺伝的因子が疾患発症に関連する生活習慣病の一種と想定されているが、疾患発症に関する遺伝学的報告は極めて少ない。今回遺伝子多型の一種である一塩基多型 (SNPs) に着目して、多数の患者群 DNA サンプルと対照群サンプルを使用して全染色体で網羅的解析を行い、第 4、7、13 染色体上で疾患に関連する遺伝子領域を特定した。第 13 染色体上の SNP に関しては、*In vitro* でリポーター遺伝子解析による機能解析を行った。今回検出した 3 SNPs は全て動脈硬化進展メカニズムに関与する遺伝子と相関を認め、従来のリスクファクターに依存しない本疾患固有の遺伝的因子であることを確認した。

第1章 緒言

閉塞性動脈硬化症 (Arteriosclerosis obliterans; ASO)は動脈硬化による両側総腸骨動脈以下の下肢を栄養する動脈の狭窄もしくは閉塞と定義される。近年では上肢動脈、内臓動脈、頸動脈病変、腹部大動脈病変と併せて末梢動脈疾患 (Peripheral Arterial Disease; PAD)と総称されている[1]。ASO 罹患患者は非罹患患者と比較して約3倍の心血管病変発症リスクと死亡リスクが有り、動脈硬化に関連した心血管病死亡原因の第三位を占めている[2-6]。過去10年間で罹患患者数は20%増加しており糖尿病罹患数の増加と相まって、今後も全世界で罹患患者数の増加が確実視されている[7]。ASO の疫学的な疾患罹患危険因子としては喫煙・高血圧・脂質代謝異常症・糖尿病・家族歴が挙げられる[8-10]。いずれの基礎疾患に関しても遺伝学的に危険因子は同定されているが、ASO 自体に関して発症に直接関与する明確な遺伝学的危険因子、メンデル遺伝する確立した遺伝子は報告されていない。ただし家族歴を有することは有意な発症危険因子として知られており[11-14]、スウェーデンの国家規模の登録で双子を調査した結果では発症の58%が遺伝的因子と非共有環境因子によるものと算出されている[11]。同胞解析に加えて数多くの候補遺伝子解析や linkage analysis が行われたが、疾患発症に関与する遺伝子及び発症メカニズムに関して明確な結論は得られていな

い[15]。本邦でも ASO 罹患患者数の更なる増加・重症患者数の増加は避けられない状況にあり、未発症者に対して発症予測を診断し、重症化が予測される患者群に可能な限り早期に治療介入することが医療経済の観点からも必要とされている。ゲノムワイド関連解析 (Genome wide association study; GWAS) は各人種の全ゲノム塩基配列が明らかになったことで可能になった手法であり、全染色体の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) を検定して疾患に関係した領域を特定する手法である[16,17]。家系情報を考慮するパラメトリック解析では候補領域を絞り込むのに限界がある疾患に有効と考えられている。前述したように ASO は多数の環境因子と遺伝学的因子が疾患発症に関係する生活習慣病の一種であり、既存の知見を考慮しない GWAS が有効な解析手法と考えられた。

本研究で私はバイオバンクジャパン計画 (BioBank Japan Project; BBJ) の一部門として、理化学研究所 循環器疾患研究グループ、統計解析グループ、医科学数理研究グループと共同して ASO 患者及び対照群で採取した DNA サンプルを用いて GWAS を行い疾患関連領域を同定し、更に細胞モデルで疾患関連 SNP の機能解析を行い病態への寄与メカニズムを明らかにしたので報告する。

研究目的と概要

本研究の目的は ASO に関連する遺伝子領域を明らかにすることである。ASO は生活習慣病の一種と考えられており、環境因子と様々な危険因子が病態発症に関連しているため、全染色体を俯瞰する網羅的解析が適していると考えられた。

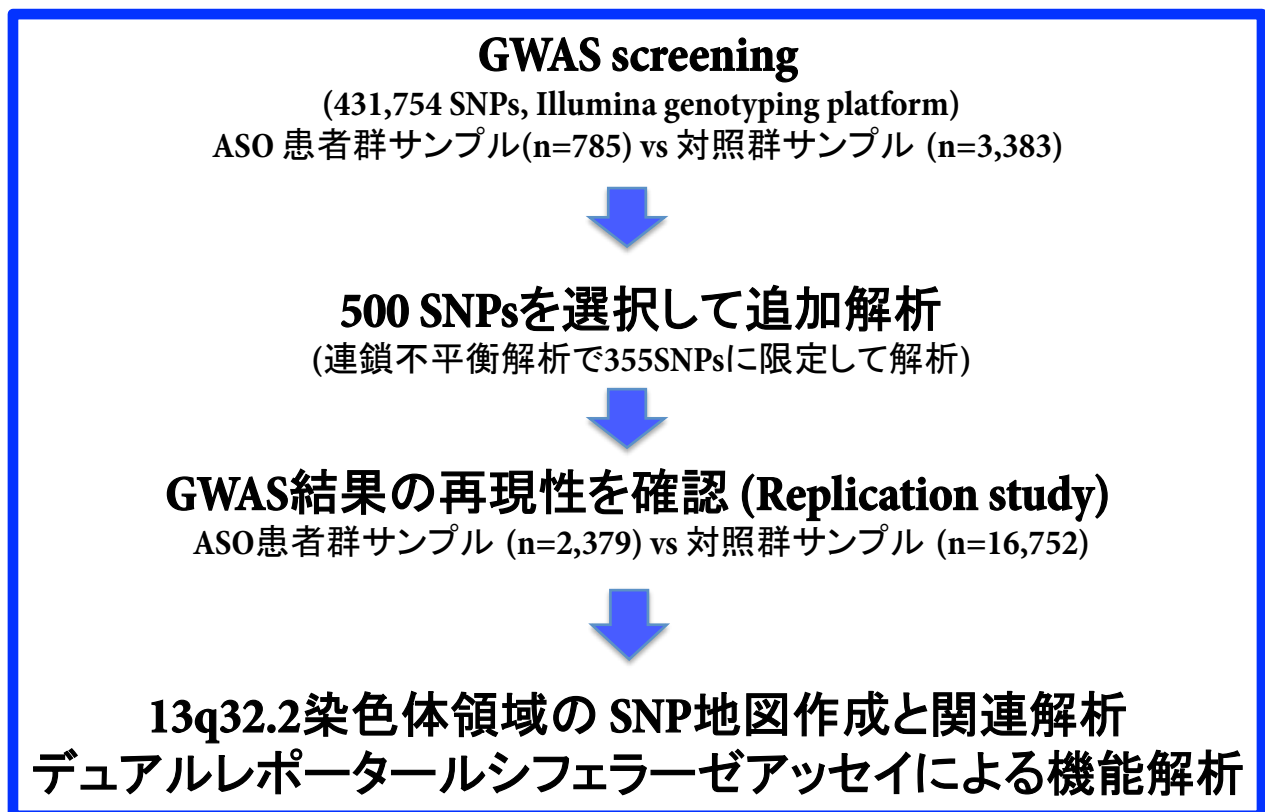
今回の研究では具体的に以下の点について検討を行った。

- ・可能な限り多数の患者サンプルと対照群サンプルをリクルートして GWAS を行い、結果の再現性を検証してゲノムワイド有意性を満たす SNPs を特定した。
- ・上記で特定された SNPs に関して領域図 (regional plot) を作成して、*In vitro* で細胞モデルによる機能解析を行った。

続いて今回施行した GWAS 及び機能解析の概要を記載する。

GWAS では BBJ で収集された ASO 患者群サンプル (n=785) と対照群サンプル (n=3,383) を対象に、約 50 万 SNPs をタイピングして関連解析を行った。Replication study として GWAS で p 値が低い順番に 500 SNPs を選択して GWAS と異なる患者群サンプル (n=2,379) と対照群サンプル (n=16,752) を使用してタイピングと関連解析を行った。最終的に GWAS と

Replication study の結果を統合して、ゲノムワイド有意性を満たす SNP を第 4、7、13 染色体で特定した。第 4、7 染色体上の SNP は他の動脈硬化関連疾患で報告されている領域であったが、13 染色体上の SNP はこれまでに報告がなく遺伝子間に位置しており、隣接する遺伝子に及ぼす影響が不明であったため、13q32.2 領域の詳細な SNP 地図を作成して同領域で疾患に最も有意に関係する SNP を特定して、*In vitro* でルシフェラーゼアッセイによるレポーター遺伝子解析を行った。本研究のデザインを以下に図示する。



第2章 ゲノムワイド関連解析に関する方法論

第1節 ゲノムワイド関連解析について

本研究で我々は SNPs を使用した GWAS を施行した。GWAS は遺伝子の機能や既知の疾患発症機序を考慮せず、ゲノム全体をカバーして疾患との関連性を検証するノンパラメトリックな手法である。特に複数の交絡因子が疾患発症に関与する場合、患者群と対照群の DNA サンプルを用いて SNPs の頻度に統計学的有意差を認める領域を特定する GWAS は一般的手法として頻用されている。GWAS は比較的頻度が高いが相対危険度が低い SNPs を検出するのに適しており、解析した検体数が多いほど相対危険度が低い SNPs の検出が可能になる。

GWAS の統計学的検定と主成分分析について

GWAS における統計学的検定に際しては有意水準を設定する必要があり、ボンフェローニ補正が最も簡便な方法として普及している。具体的には解析対象となる SNPs 数を k とすると、 $p = (0.05/k)$ がゲノムワイド有意性を満たす水準と算定する。例えば 50 万 SNPs を

解析した場合、 $p=1.0\times 10^{-7}$ が統計学的有意な水準となる。また GWAS で得られた結果は再現性の有無を検証する必要がある、検証実験は Replication study と呼ばれ GWAS で使用したサンプルと重複しないサンプルを使用して、GWAS で特定された領域を対象に SNPs の塩基情報(ジェノタイプデータ)を精査する。Replication study で GWAS と同様の結果が得られた場合、再現効果 (replicated effect)があると判断される。異なる人種で再現効果があった場合は一般性 (generalization)があると判断される。遺伝子解析に際しては人種間で遺伝情報は異なるため、使用したサンプルがどの人種に属するかを把握する必要がある。この解析は主成分分析 (principal component analysis; PCA)と呼ばれる。STRUCTURE[18]や EIGENSTAT[19]は HapMap project で得られた遺伝情報を基に、解析サンプルの人口階層 (population stratification)を精査する方法である。この手法により使用したサンプルがどの人種に属するかを可視化して提示することが可能になる。

第2節 一塩基多型と連鎖不平衡解析について

一塩基多型 (SNPs)について

GWASにおいて主要な解析対象となるSNPsはヒトの遺伝子多型の90%以上を占める一塩基対の変化であり、2億以上のSNPsが同定され公共データベース (db SNP; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)に登録されている。SNPsの位置は様々であり、全体の80%以上は遺伝子-遺伝子間もしくはイントロン領域に位置している。SNPsの機能に関しては大半が不明であるが、遺伝子上に位置しないものであってもRNA機能やタンパク質の立体構造に関係しているSNPsも存在する。集団内のSNPsの頻度はアレル頻度で示され、疾患罹患患者に多い多型はリスクアレル、健常者に多い多型は非リスクアレルと呼ばれる。アレル頻度の少ない多型はMinor Allele Frequency (MAF)と呼び、SNPsのアレルの組み合わせをハプロタイプと呼ぶ。ASOを生活習慣病の一種と想定すると、疾患に関係したSNPの相対危険度は低いと比較的高いアレル頻度で一般人口に存在する可能性が高いことが想定される、これはCommon disease common variant theoryと呼ばれている[16]。HapMap projectの解析によると、ヨーロッパ人を対象にした解析では全染色体に含まれる50-100万SNPsを精査することで、ゲノム全体のSNP情報の80%以上を得られると算出されている。この

ため先述した Common disease common variant theory に基づいて研究する場合も 50-100 万 SNPs の解析が推奨されている。

連鎖不平衡解析について

次に GWAS の解析に際しての理論的背景として重要となる、連鎖不平衡 (Linkage Disequilibrium; LD) に関して詳述する[20]。LD は調査人口内での SNP 間のアレル頻度の差と塩基間の距離から算出される係数であり、HapMap project で各人種の SNP 情報が得られた結果測定可能になった指標である。LD は r^2 もしくは D' で示され、 r^2 が高い値をとる 2 つの SNPs は基本的に同じ遺伝情報を有すると想定されている。複数の SNPs で同じ遺伝情報を有する場合はその中の 1 つの SNP を選択して精査することになり、この際に選択された SNP は tag SNP と呼ばれる。LD は集団の人口サイズ、調査されたゲノムサイズ、世代の差で変化する他に、人種間でも異なる。tag SNP は同じ遺伝情報を有する SNPs グループの代表であり、実際に tag SNP が疾患に関係していれば direct association と呼び、他の SNP が疾患に関与していれば indirect association と呼ぶ。解析した SNP がゲノムワイド性を満たして疾患と関係していると判断した場合、当該 SNP が両者のどちらに相当するか判別するには詳細な機能解析を行う必要がある。SNPs のジェノタイプデータを得る方法は様々ある

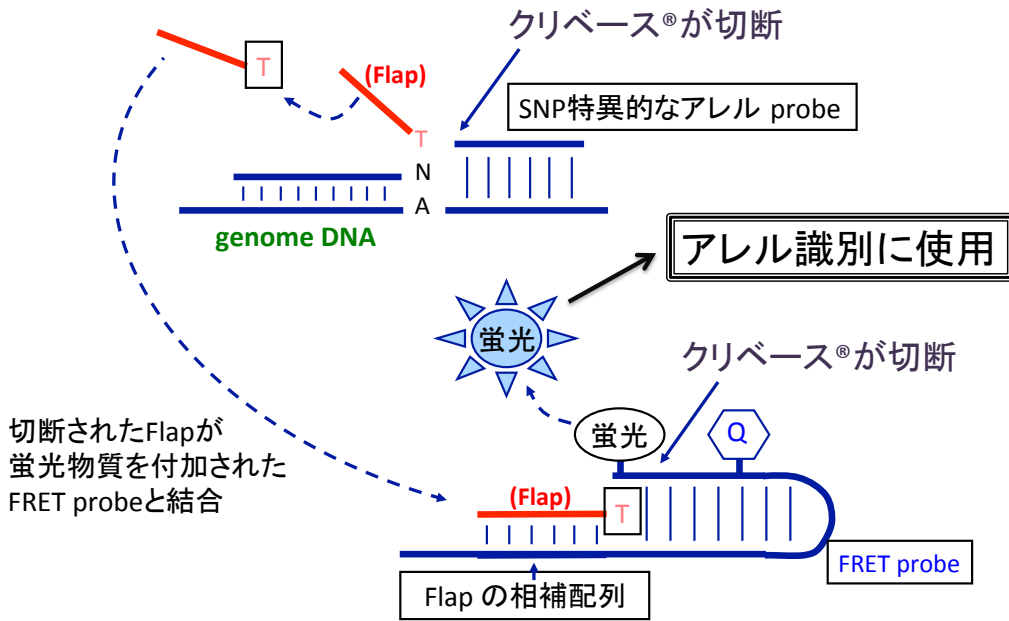
が、解析するサンプル数が非常に多数になる場合、企業製のプラットフォームを使用するのが一般的である。1 検体につき 50-100 万 SNPs の解析が可能になり作業が自動化できるため非常に効率的である。ゲノムコントロール法でプラットフォームによるタイピング精度の検定を行い、ジェノタイプデータをフィルターしてタイピングミスがある SNP を除外した後に関連解析を行う。疾患関連を認めた SNPs に関しては領域図 (regional map) を作成して、遺伝子との関連を精査するのが一般的である。

インベーター法について

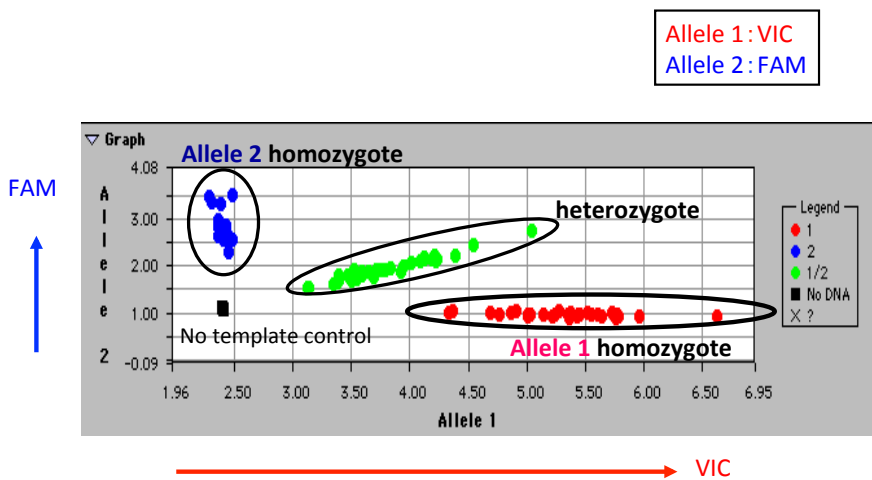
インベーター法 (Third wave technology) は SNPs のハプロタイプデータを得る方法の一つである[21]。DNA 修復酵素の一つクリベース®を使用して検出された 2 種類のシグナルを、蛍光プレートリーダーで解析してアレル間の違いを可視化する。マルチプレックス PCR を併用することで、少量の DNA サンプル使用でマニュアルでも比較的安価に多数の検体解析が可能となる。以下にインベーター法の原理と解析例を示す。

(参考) インベーター法の原理と SNPs のアレル頻度解析例

インベーター法の原理について



インベーター法による解析結果例



第3章 ゲノムワイド関連解析及び Replication study

第1節 解析対象者の背景と主成分分析結果

ゲノムワイド関連解析及び Replication study で使用したサンプルについて

本研究は BBJ の一部門として行われており [22]、GWAS 及び Replication study で使用した ASO 患者群検体と対照群検体は 2003 年から 2006 年にかけて同計画で収集された DNA サンプルを使用した。BBJ は 2003 年より開始された文部科学省主導の個別化医療実現を目指すための研究計画であり、47 疾患を対象に全国の 66 の拠点病院にて書面で承諾を得た患者を対象に、詳細な臨床情報の取得と静脈血採取を行い、得られた DNA サンプル及び血清サンプルを専用施設に貯蔵して解析を行っている (詳細に関しては <http://biobankjp.org/> を参照)。ASO 患者由来のサンプルであることの判断は、検体収集時に登録された臨床情報項目で行った (Ankle Brachial Index <0.90、Fontaine 分類 IIa 以上、もしくは ASO による治療歴を有するサンプルを選択した)。Replication study では 2009 年 9 月から 2014 年 9 月にかけて東京大学医学部附属病院 血管外科、東京医科大学病院 心臓血管外科及び関連病院 (東京医科大学八王子医療センター 心臓血管外科、関西医科大学附属滝井病院 末梢血管外科、杏林大学医学部附属病院 心臓血管外科、茨城県立中央病院 外科)にて各施設の担

当医が書面で承諾を得て採取した静脈血 10ml 由来の ASO 患者 DNA サンプルを併用した (使用した患者サンプルの臨床情報は Table1 参照)。本研究施行に先立って各施設の倫理委員会で承認を受けた (理化学研究所 横浜キャンパス倫理委員会、東京大学大学院医学系研究科・医学部 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会 (平成 21 年 8 月 18 日、課題番号 G2542)、東京医科大学 医学倫理委員会、関西医科大学 倫理委員会、杏林大学医学部 倫理委員会、青梅市立総合病院 倫理委員会、茨城県立中央病院 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会)。

上記ASO患者群サンプル収集に関して、東京大学医学部附属病院に関しては私が全例サンプル採取を行った。採血後の検体処理は全症例で匿名化後に外部業者に委託して、DNAのみ抽出された状態で実験に使用した。

解析サンプルの主成分分析について

EIGENSTAT を用いて GWAS 対象者の主成分分析を確認した (principal component analysis; PCA) [19]。PCA に際して Phase II HapMap database より各人種のゲノム情報を取得して使用した (European (CEU), African (YRI), and East Asian (JPT and CHB))。Hapmap サンプルを使用して人口階層を評価した結果、全てのサンプルが Asian population に合致してお

り、日本人特有の2つの母集団に集約された (Fig. 1)。

主成分分析は理化学研究所 統合生命医科学センター 医科学数理研究グループ及び統計解析研究グループで行った。

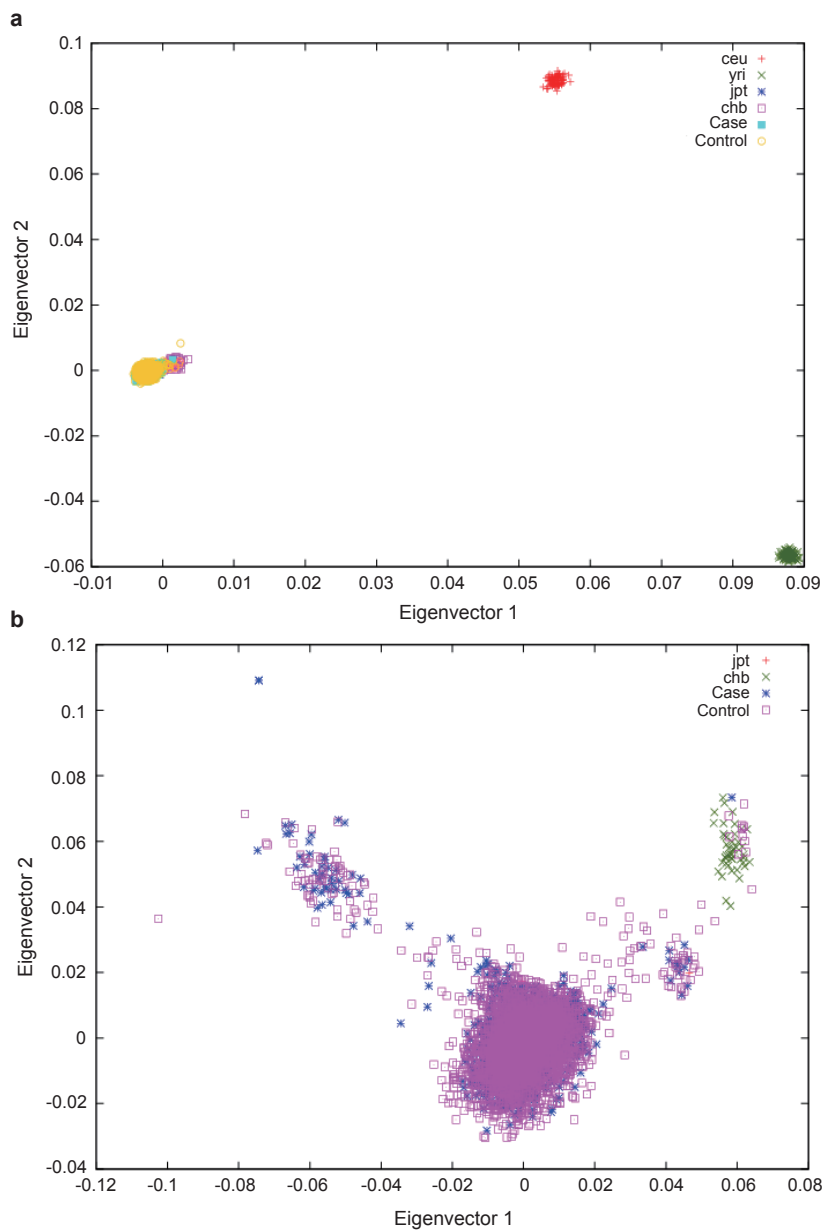
Table 1. Characteristics of Study Subjects

Sample	Subjects	Age \pm SD	Male %	ABI \pm SD	BMI \pm SD	Smoking %	HT %	CAD%	DM%	DL%
GWAS	ASO	70.4 \pm 9.5	79.8	0.69 \pm 0.20	22.6 \pm 3.3	81.1	70.7	37.9	46.7	37.9
	Controls	51.6 \pm 16.6	55.4	-	22.5 \pm 3.7	54.0	28.3	3.3	8.1	0
Replication	ASO	70.6 \pm 9.1	77.8	0.73 \pm 0.22	22.7 \pm 3.5	78.9	80.9	45.0	38.6	34.9
	Controls	61.1 \pm 12.8	43.9	-	22.2 \pm 3.4	47.3	26.2	0	0	0

ABI; ankle-brachial index, BMI; body mass index, HT; hypertension, CAD; coronary artery diseases, DM; diabetes mellitus, DL; dyslipidemia

Figure 1.

- (a) GWAS解析対象者のprincipal components analysis (PCA)。HapMap projectから得られた European (CEU)、African (YRI) 及び East-Asian (JPT and CHB) のデータとGWASで使
用した患者及び健常者サンプルとの関連性を表示している。
- (b) HapMap projectより得られたEast-Asian (JPT and CHB)との関連性を解析している。



第2節 ゲノムワイド関連解析及び Replication study の方法と結果

(方法)

ゲノムワイド関連解析の方法について

新規に ASO に関係する遺伝子領域を検出する目的で ASO 患者群サンプル (n=785) と対照群サンプル (n=3,383) を使用して GWAS を施行した。ASO 患者群サンプルのタイピングはイルミナ社 HumanHap610-Quad ビーズチップを使用して行い、対照群サンプルのタイピングにはイルミナ社 HumanHap550v3 ビーズチップを使用した。対照群サンプルは解析作業の効率、コストを考慮して複数疾患に対する複数の GWAS を行うための日本人一般コントロールとして選定されたサンプルを使用した (Table 1)。両群で得られた 497,509 SNP のデータに関してクオリティフィルター (call rate of ≥ 0.99 in both cases and controls and Hardy-Weinberg equilibrium test $P \geq 1.0 \times 10^{-6}$ in controls) を適用して、フィルターをパスした 431,666 SNPs を対象にデータ解析を行った。ボンフェローニ補正に基づき $p=1.2 \times 10^{-7}$ ($0.05/431,666$) が統計学的にゲノムワイド有意性を満たす水準とした。Cochran-Armitage 検定により GWAS で精査した SNP と疾患の関連性を評価した。ゲノムコントロール法 ($\lambda_{\text{genomic control}}$ (λ_{gc}) 値を算出) にてサンプルの階層化を検証した [23]。全ゲノムタイピングとジェノタ

イプデータの解析、サンプルの階層化は理化学研究所 統合生命医科学センター 医科学
数理研究グループ及び統計解析研究グループで行った。

Replication study の方法について

GWAS の結果から p 値が低かった順に 500 SNPs を選択した。Haploview software による連鎖不平衡解析の結果、500 SNPs 中 145 SNPs に他の SNPs と強い連鎖不平衡関係 ($r^2 > 0.8$) を認めたため除外して、残った 355 SNPs を対象に GWAS と重複しない ASO 患者群サンプル ($n=1,150$) と対照群サンプル ($n=16,752$) を使用して追加でジェノタイプデータを収集した。両群ともに BBJ で収集されたサンプルを使用した。対照群サンプルは登録されている臨床情報で高血圧、喫煙歴を除いて動脈硬化関連疾患を含まないサンプルを選択した (Table 1)。この段階で $p < 1.0 \times 10^{-4}$ に到達した 13 SNPs を対象に更に患者群サンプル ($n=1,229$) を追加してタイピングを行った。患者群サンプルは BBJ で収集されたサンプルの他に、東京大学医学部附属病院、東京医科大学病院及び関連病院で収集されたサンプルを解析した。対照群サンプルのタイピングはイルミナ社 HumanHap610-Quad ビーズチップを使用して行い、患者群サンプルのタイピングは全てインベーター法を使用して行った。インベーター法によるタイピングは明瞭な結果が行われるまで繰り返し行われ、曖昧な call を

示した SNPs は除外して目視により解析した。取得したジェノタイプデータの統計学的解析は Mantel-Haenszel 検定を使用して行った。

対照群サンプルのタイピングとジェノタイプデータの解析は理化学研究所 統合生命医学センター 医科学数理研究グループ及び統計解析研究グループで行った。インバーダー法による ASO 患者群サンプルの解析と関連解析は、私が理化学研究所 統合生命医学センター 循環器疾患研究グループの指導下に行った。

GWAS とフォローアップ解析で使用したプラットフォーム及びインバーダー法のタイピング精度を確認するため、ASO 患者群サンプルと対照群サンプルの中から 400 サンプルをランダムに選択して、rs9584669 を対象に HumanHap550v3 及び HumanHap610-Quad ビーズチップのタイピング結果とインバーダー法でタイピングした結果を比較した。結果的にタイピング方法によるジェノタイプデータの違いは認めなかった。

使用したソフトウェアについて

一般的な統計解析は R statistical environment version 2.10.0. (R software, <http://www.r-project.org/>;)及び JMP pro ver.9 (SAS Institute Inc, North Carolina)もしくは PLINK1.05 (PLINK 1.05, <http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>.)[24]を使用して行った。

連鎖不平衡地図作成には Haploview software [25]を使用した。Regional map は Locus zoom software (LocusZoom, <http://csg.sph.umich.edu/locuszoom/>)を使用して作成した。

上記を使用した解析は全て私が理化学研究所 統合生命医科学センター 循環器疾患研究グループの指導下に行った。

(結果)

Cochran-Armitage 検定による解析の結果、ボンフェローニ補正後にゲノムワイド有意性 ($p < 1.2 \times 10^{-7}$)を満たす水準に達した SNP は存在しなかった (Fig. 1a)。 $\lambda_{\text{genomic control}} (\lambda_{\text{gc}})$ は 1.04 でありタイピング精度は問題ないことが示された (Fig. 1b)。疾患に関係する SNP を更に精査するため、GWAS の結果で p 値が低い順に 500 SNPs を選択して連鎖不平衡解析にて 355 SNPs に絞り追加でタイピングを施行した。患者サンプル ($n=1,150$)と健常者サンプル ($n=16,752$)によるタイピングの結果、13 SNPs が $p < 1.0 \times 10^{-4}$ に達した (S6 Table)。これら 13 SNPs を対象に更に患者群サンプル ($n=1,229$)を追加して、総計 3,164 名の患者サンプルを使用して関連解析した (S3 Table)。各段階のタイピング結果を統合してゲノムワイド有意性を認める SNPs を絞り込み、最終的に第 13 染色体の *IPO5/RAP2A* 遺伝子間と第 4 染色体上の *EDNRA* 遺伝子上 及び第 7 染色体上の *HDAC9* 遺伝子上に疾患関連 SNPs を検出

した (Table 2)。各 SNP について染色体上の領域図 (regional map) を作成した (Fig. 3)。更に検出された SNPs に対して交絡因子の可能性を確認するため年齢、性別、及び古典的な危険因子である、糖尿病、高血圧、喫煙歴、脂血代謝異常症との関係を one-way ANOVA 及び χ^2 検定で解析した (S4 Table)。結果として 3 SNPs 全てに関連因子と有意な関連を認めなかった。以上より今回同定した 3 SNPs は従来リスクファクターに依存しない ASO 独自の遺伝的因子であると判断した

(小括)

GWAS 及び Replication study の結果、第 4、7、13 各染色体上に疾患に有意に関連する SNP を検出した。3 SNPs はいずれも併存疾患と関連を認めなかったため、ASO に固有の疾患関連領域と考えられた。

Table 2. Summary of Association with the Risk of ASO

dbSNP ID	Chr.	Gene	Phase	Number		MAF		OR	95%CI	<i>P</i> -value
				Cases	Controls	Cases	Controls			
rs9584669	13	<i>IPO5/RAP2A</i>	GWAS	785	3383	0.04	0.06	0.60	0.45-0.79	2.76 x 10 ⁻⁴
			Replication	2379	16751	0.03	0.05	0.57	0.48-0.66	2.10 x 10 ⁻¹¹
			Combined*	3164	20134	0.03	0.05	0.58	0.50-0.66	6.78 x 10 ⁻¹⁴
rs6842241	4	<i>EDNRA</i>	GWAS	785	3372	0.36	0.30	0.76	0.68-0.85	2.36 x 10 ⁻⁶
			Replication	2342	16750	0.33	0.30	0.88	0.83-0.93	9.09 x 10 ⁻⁵
			Combined*	3127	20122	0.34	0.30	0.85	0.80-0.90	5.32 x 10 ⁻⁹
rs2074633	7	<i>HDAC9</i>	GWAS	785	3382	0.43	0.38	1.24	1.11-1.38	1.41 x 10 ⁻⁴
			Replication	2363	16751	0.41	0.38	1.13	1.06-1.20	7.63 x 10 ⁻⁵
			Combined*	3148	20133	0.41	0.38	1.16	1.10-1.22	8.43x 10 ⁻⁸

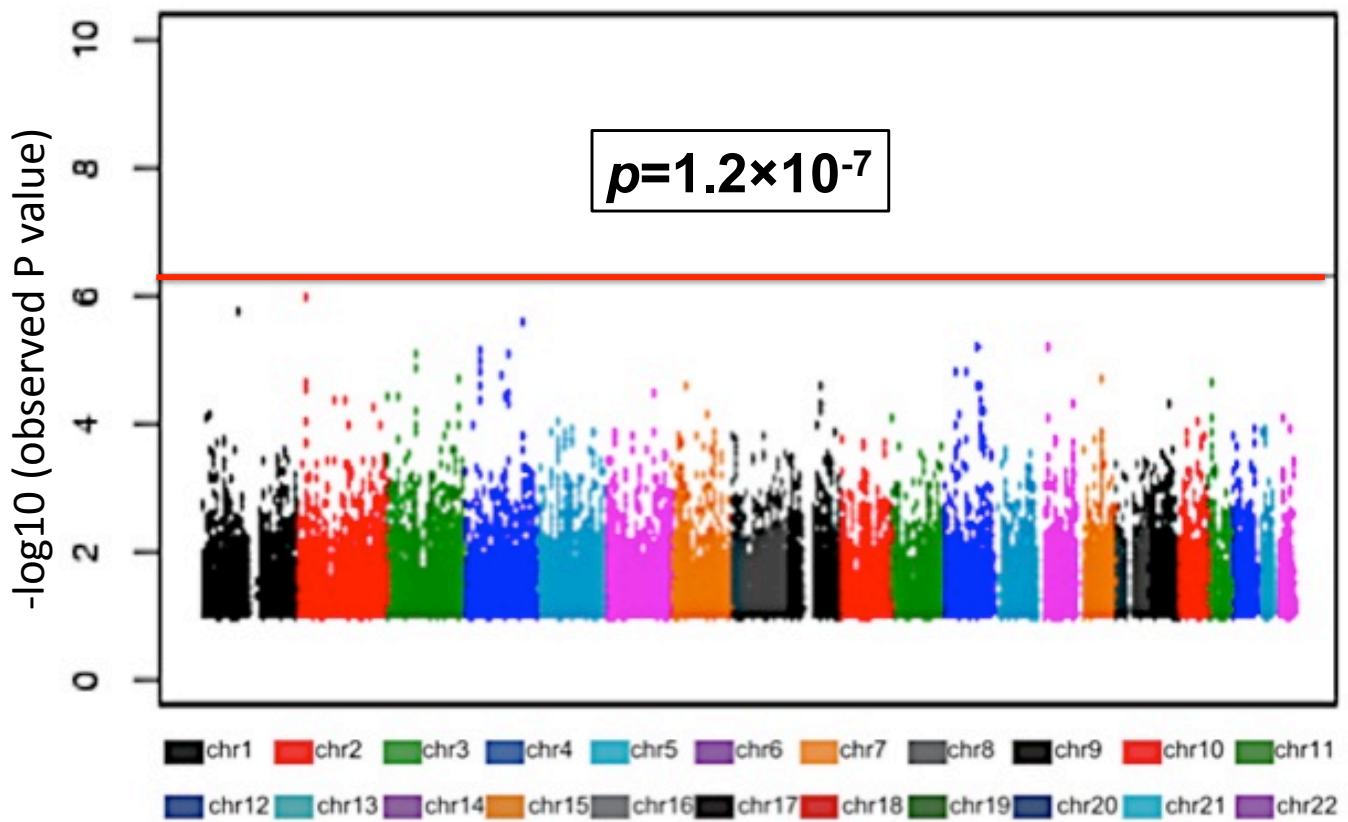
ID; identifier, Chr.; chromosome, Number; number of samples, MAF; minor allele frequency, OR; odds ratio, CI; confidence interval. *; *P*-value was calculated by Mantel-Haenszel test.

注 : Case、controls 共にタイピングできなかつたサンプルは除外して表示している

Figure. 2. GWAS で得られた (a) Manhattan plot 及び (b) quantile-quantile plot

431,666 SNPs 解析結果を示した Manhattan plot ではゲノムワイド水準を満たす SNP は検出されなかった。quantile-quantile plot の $\lambda_{\text{genomic control}} (\lambda_{\text{gc}})$ は 1.04 であった。

(a)



(b)

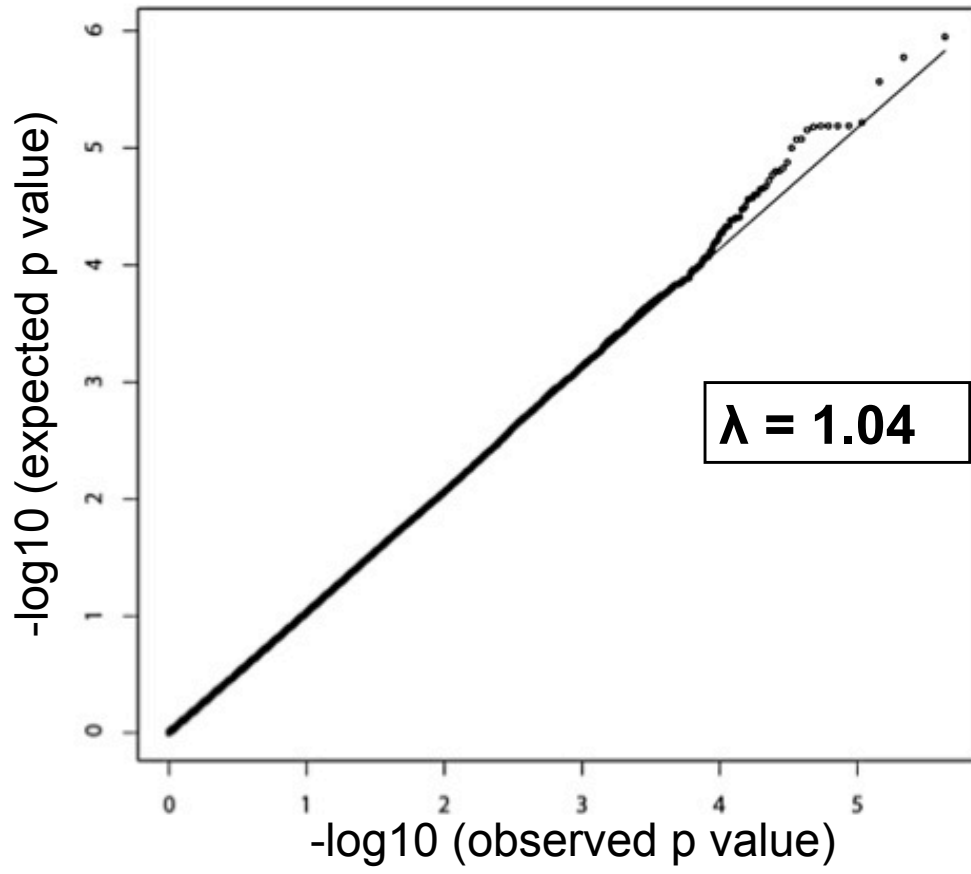
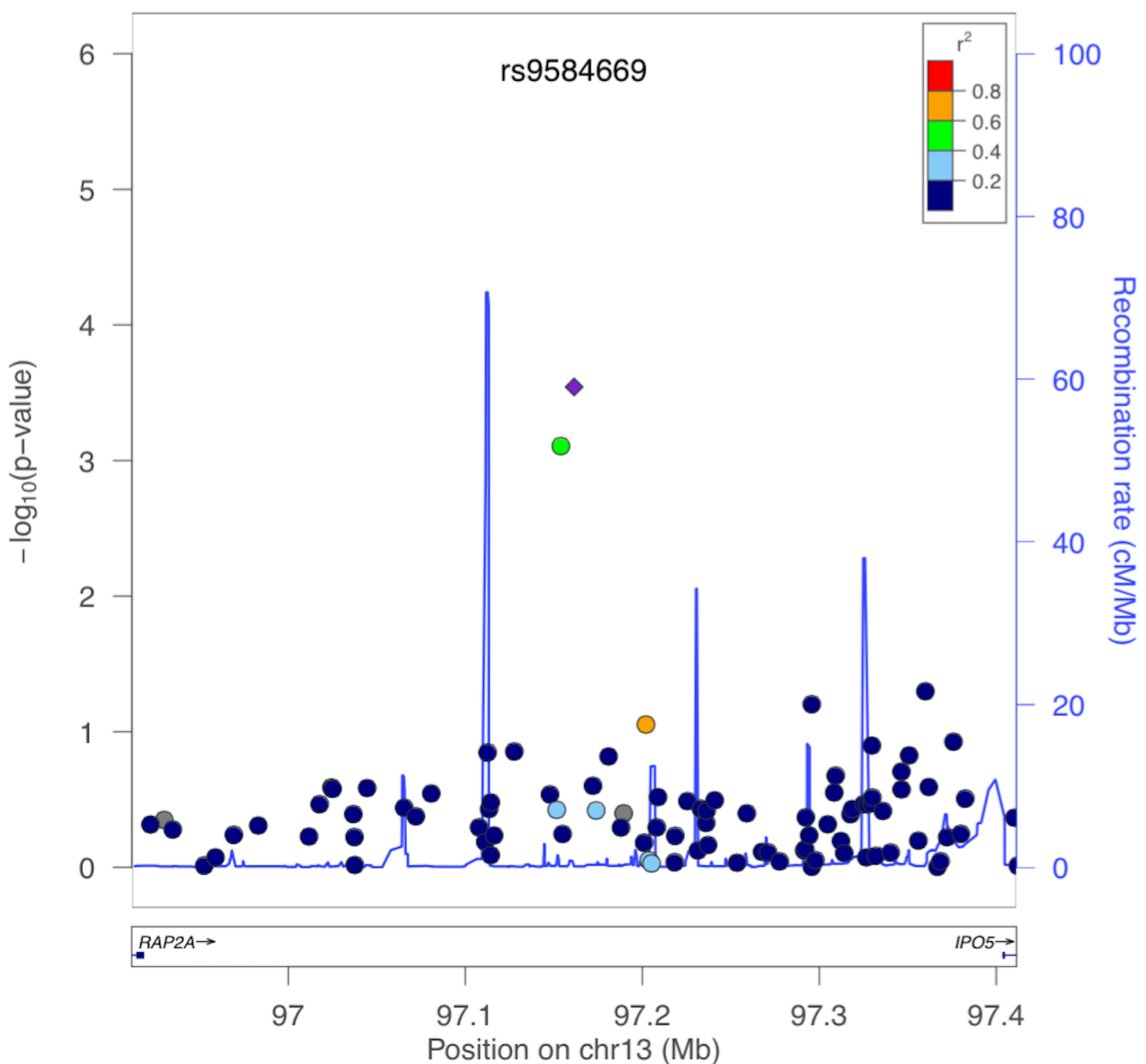


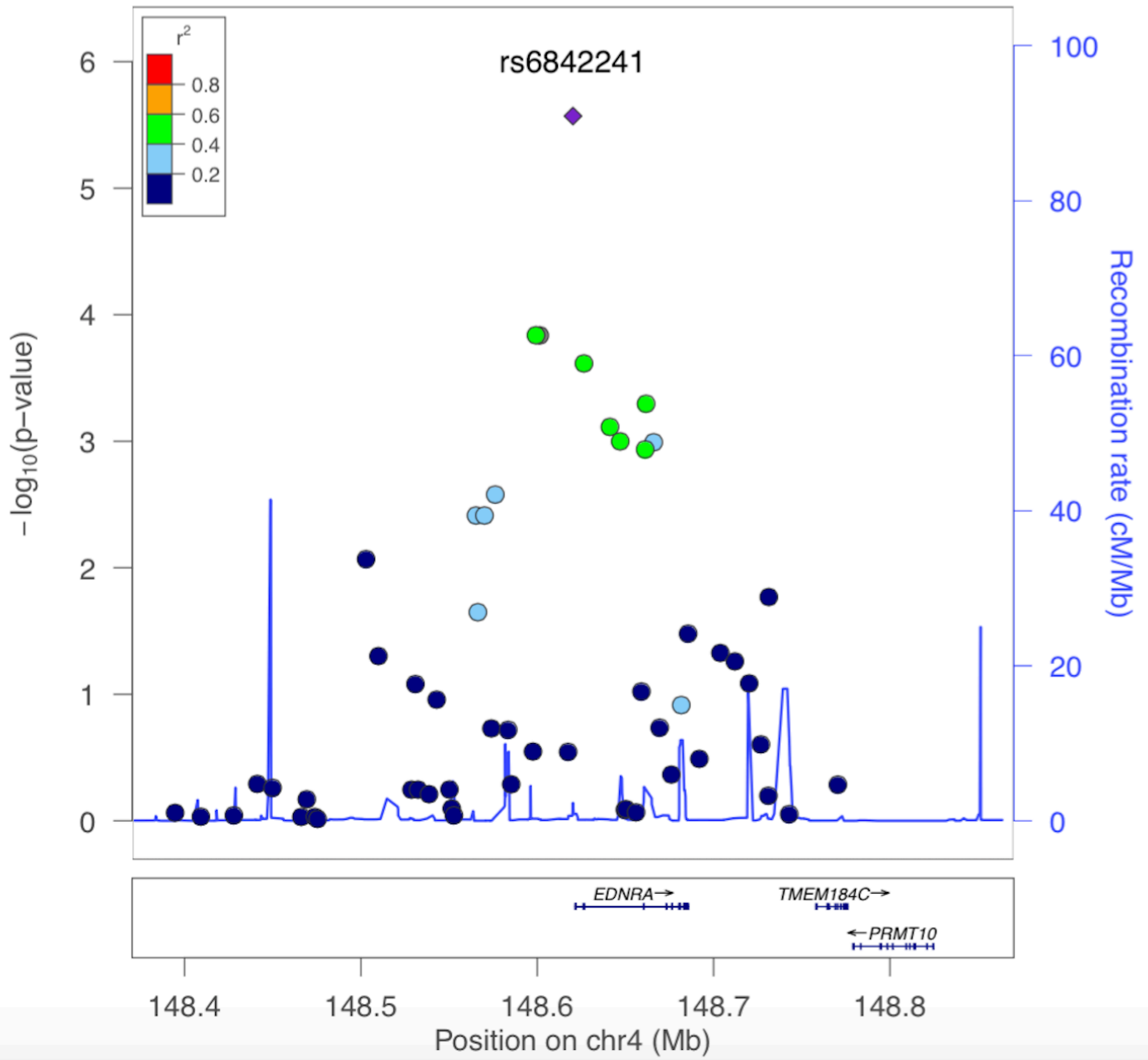
Figure. 3. 13q32.2 (a)、 4q31.2 (b) 及び 7p21.1 (c) 疾患関連領域の regional plot

HapMap project の日本人ゲノム情報を使用して算出した対象領域の連鎖不平衡関係が青線で示されている。また UCSC Genome Browser により同定された遺伝子が示されている。SNPs は tag SNP を基に算出された連鎖不平衡関係により色分けされている。各々の領域で統計学的に最も疾患に有意に関係する SNP を菱形で示している。

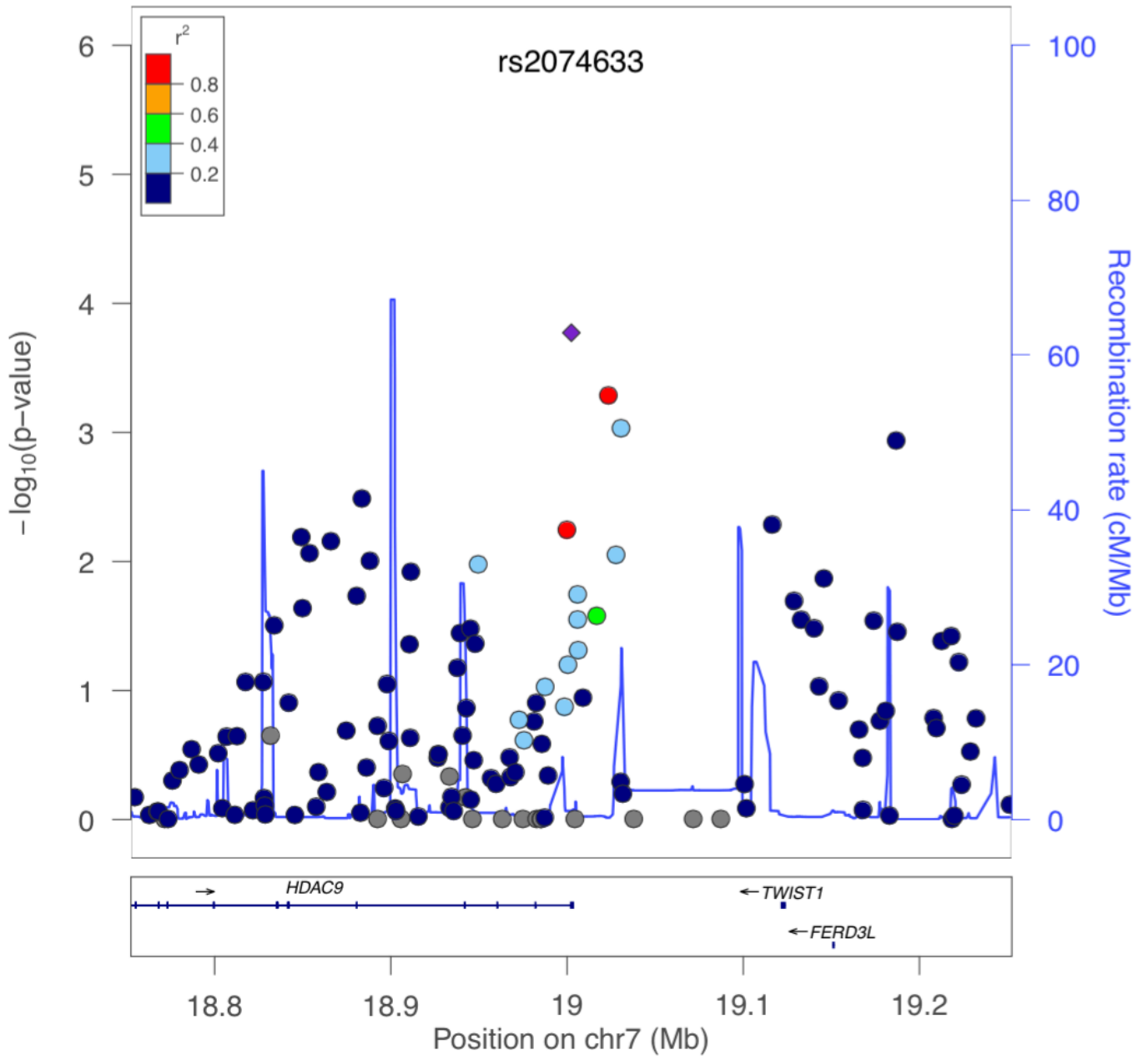
(a)



(b)



(c)



第4章 疾患関連遺伝子多型の機能解析

最も統計学的に有意であった第13染色体上のSNPは *IPO5/RAP2* の遺伝子間領域に位置しており、詳細なSNP地図作成と *in vitro* の機能解析で隣接する遺伝子のどちらに影響を及ぼしているかを精査する方針とした。

SNP地図作成及びインベーター法によるタイピング、ルシフェラーゼアッセイによる機能解析は私が理化学研究所 統合生命医科学センター 循環器疾患研究グループの指導下に行った。最初のBBJサンプル48名を対象としたSNP地図作成は同グループが行った。

第1節 13q32.2 染色体領域のSNP地図作成とtag SNPs タイピング

SNP地図作成について

IPO5/RAP2A 間の13q32.2染色体領域を絞り込む目的で、階層化等のバイアスを避けるためGWASに使用したASO患者サンプルから48名ランダムに選択して使用した。

rs9584669前後の100kbの領域を対象にサンガーシーケンスを施行して (chromosome position (NCBI build 38); 97,658,003-97,758,002)、得られた塩基配列を全て確認し総計249

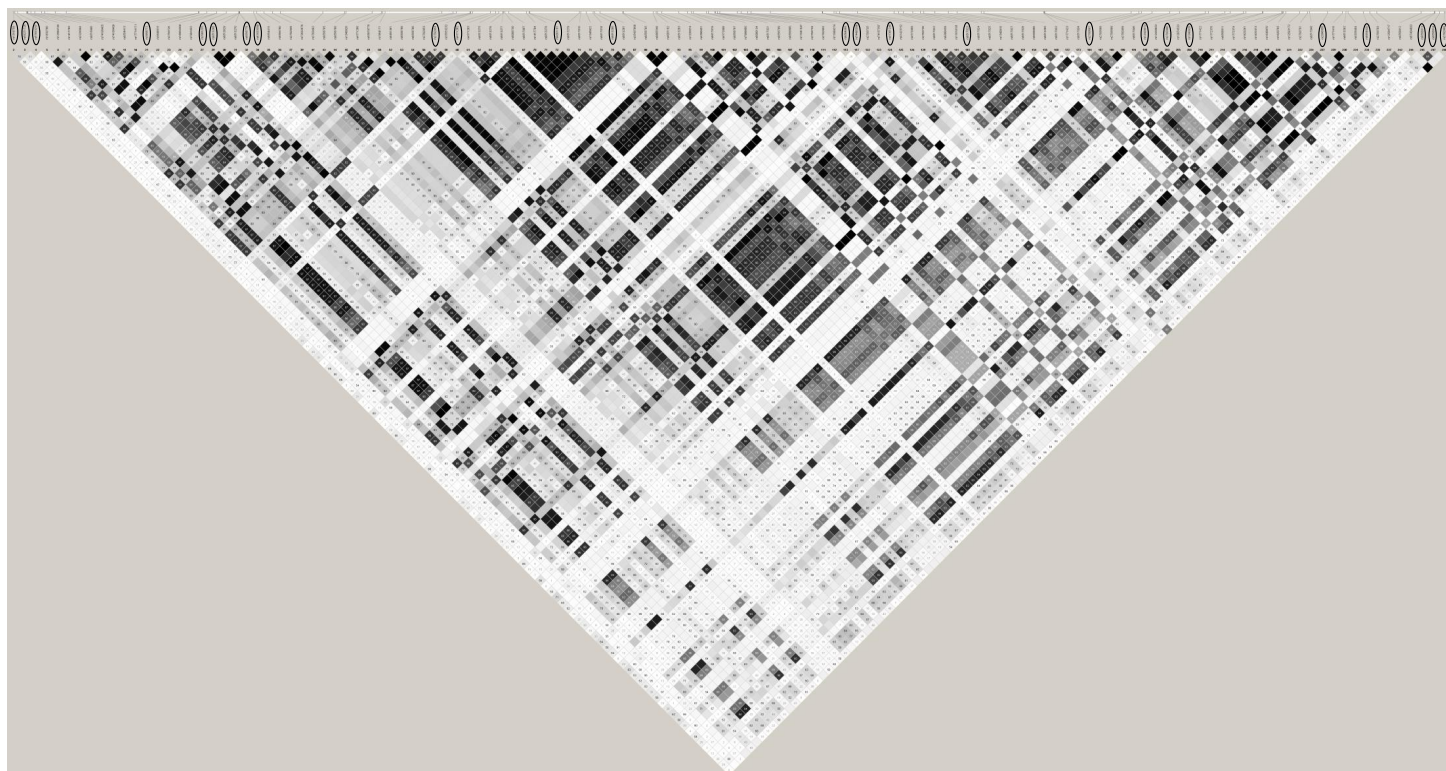
SNPs を検出した。更に東京大学医学部附属病院で収集された ASO 患者サンプル 48 名をランダムに選択して再度シーケンスを行い、得られた SNPs のアレル頻度を確認した。(S5 Table)。Haploview software を使用した連鎖不平衡解析を行い今回検出した 249 SNPs の相関関係を把握する目的で、LD ブロックを作成して tag SNPs を検出した (Fig. 4)。

tag SNP のタイピングについて

MAF ≥ 0.05 を満たす 25 tag SNPs を選択して GWAS で使用した患者サンプル (n=750) と健常者サンプル (n=2,418) を用いてインバーダー法にてタイピングを行い、Mantel-Haenszel 検定で解析した。タイピングの結果から rs9584669 が最も統計学的に有意な tag SNP であることが明らかになった (S2 Table)。以上より rs9584669 と連鎖不平衡関係にある rs9556806, rs9805548, rs9556797, rs9556705, rs4001162, rs9556799 の 7 SNPs が 13q32.2 領域で疾患と最も有意な関連があることが示された。

Figure 4. 染色体13q32.2 領域の連鎖不平衡ブロック

染色体13q32.2領域の連鎖不平衡構築を示している。rs9584669を含む100kb内の全てのSNPを連鎖不平衡解析してプロットしている(chromosome position (NCBI build 38); 97,658,003-97,758,002)。MAF ≥ 0.05 を満たす25 tag SNPsは丸で囲んで識別している。



第2節 ルシフェラーゼアッセイによるレポーター遺伝子解析

(方法)

ルシフェラーゼアッセイの概要

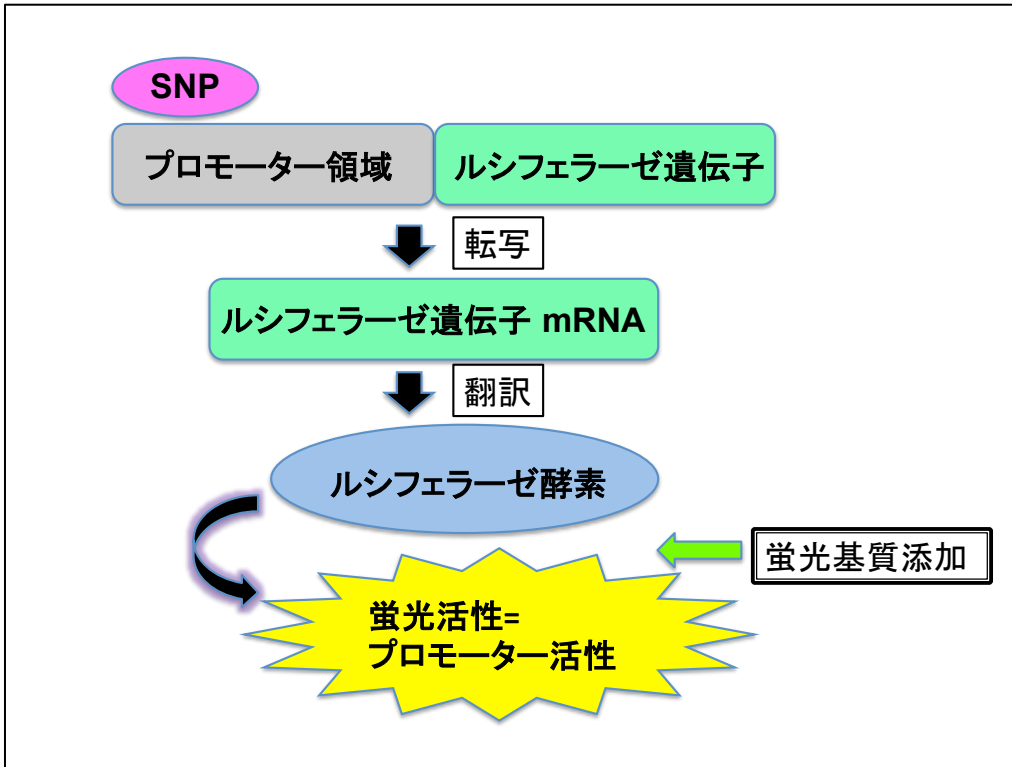
13q32.2 染色体領域の7 SNPs はいずれもタンパク質のアミノ酸配列の変化に関わらないため、隣接する *IPO5/RAP2* の遺伝子発現に対する影響を精査する目的で、ヒト大動脈平滑筋細胞を使用したリポーター遺伝子解析を施行した。SNPs の機能解析として施行したルシフェラーゼアッセイ (Luciferase Assay; LA) に関して詳述する[26]。LA は蛍光に主要な役割を果たすルシフェリンの分解酵素であるルシフェラーゼを利用して SNPs の遺伝子発現に与える影響を調べる方法である。LA ではベクターに組み込んだ遺伝子の転写活性が蛍光活性として反映される。実験手順としては、あらかじめルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだベクターに、精査する遺伝子の H3K27Ac 配列をクローニングしてルシフェラーゼ遺伝子と連結する。次に解析対象となる SNPs のリスクアレルもしくは非リスクアレルを含んだオリゴを、ベクター内のクローニングサイトに挿入して標的細胞にトランスフェクションする。一定時間細胞を培養してルシフェラーゼ遺伝子を発現させた後、ルミノメーターを使用して細胞を破碎して発光基質を追加して発光量を測定する。発光量はルシフェラーゼ活性値として算出され、独立した複数回の実験系で SNP のアレル間のルシフェラー

ゼ活性値に統計学的有意差を認めた場合、該当 SNP が **construct** として組み込んだ遺伝子の転写活性に影響を与える可能性があることが示唆される。

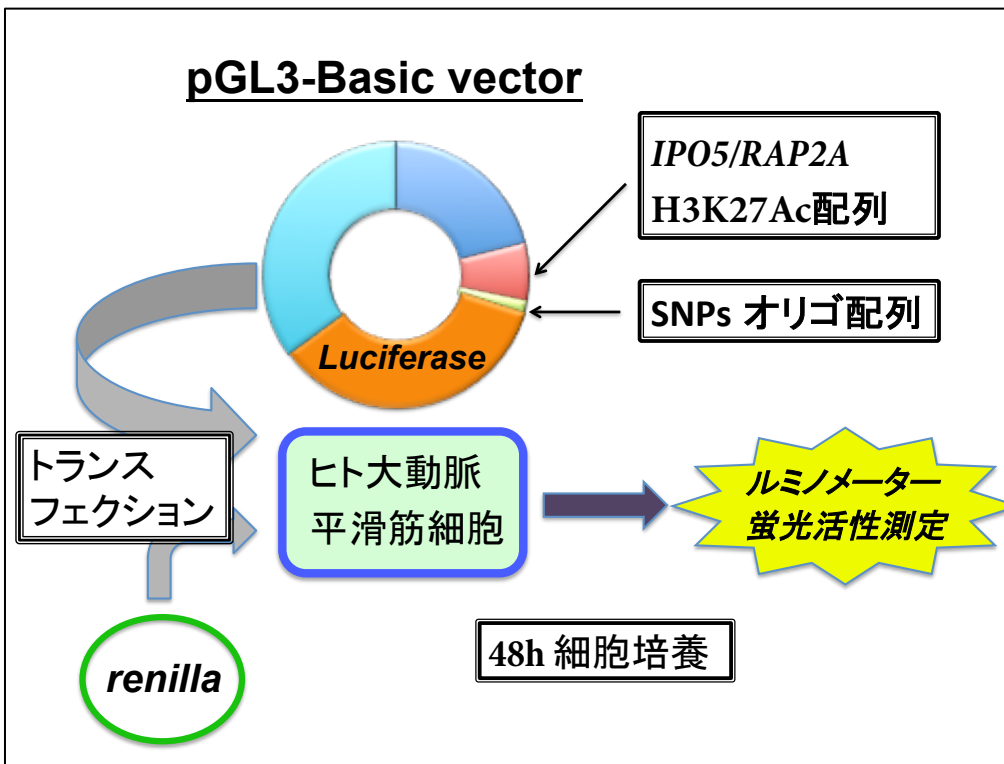
デュアルレポータールシフェラーゼアッセイについて

本研究で採用したデュアルレポータールシフェラーゼアッセイ (Dual Reporter Luciferase Assay; DRLA) はホタルルシフェラーゼ遺伝子 (*firefly*) を組み込んだベクターと同時にウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子 (*renilla*) を組み込んだベクターを標的細胞にトランスフェクションする。両者の発光波長は異なり (ホタルルシフェラーゼ: 556nm、ウミホタルルシフェラーゼ: 480nm) ウミホタルルシフェラーゼの発光強度はホタルルシフェラーゼより弱い。そのため実験コントロールとして使用することができる。本手法の利点として得られたホタルルシフェラーゼ活性値を、ウミシイタケルシフェラーゼ活性値で標準化することで培養細胞数やトランスフェクション効率、および細胞溶解の効率に違いで生じるレポーター遺伝子発現のばらつきが低減される点が挙げられる。

(参考) 《ルシフェラーゼアッセイ概要図》



《DRLA 実験デザイン》



リアルタイム PCR について

解析に使用する細胞を決定する目的で各臓器細胞を対象に、SYBR® Green I (Takara)を使用したリアルタイム PCR を施行した。プライマーは *RAP2A/IPO5* 両遺伝子に特異的に設計して、59°C 45cycle の条件で PCR を行った。スタンダードサンプルは各遺伝子をクローニングしたプラスミドの希釈系列を使用した。解析に使用した各組織の cDNA はクロンテック社から購入した mRNA より合成使用した。解析機器はライトサイクラー480 (ロッシュ社) を使用した。PCR 結果から *IPO5* と *RAP2A* の両遺伝子の mRNA が血管平滑筋細胞を含む各組織で発現していることが確認できた (Fig. 5)。

ヒト大動脈平滑筋細胞について

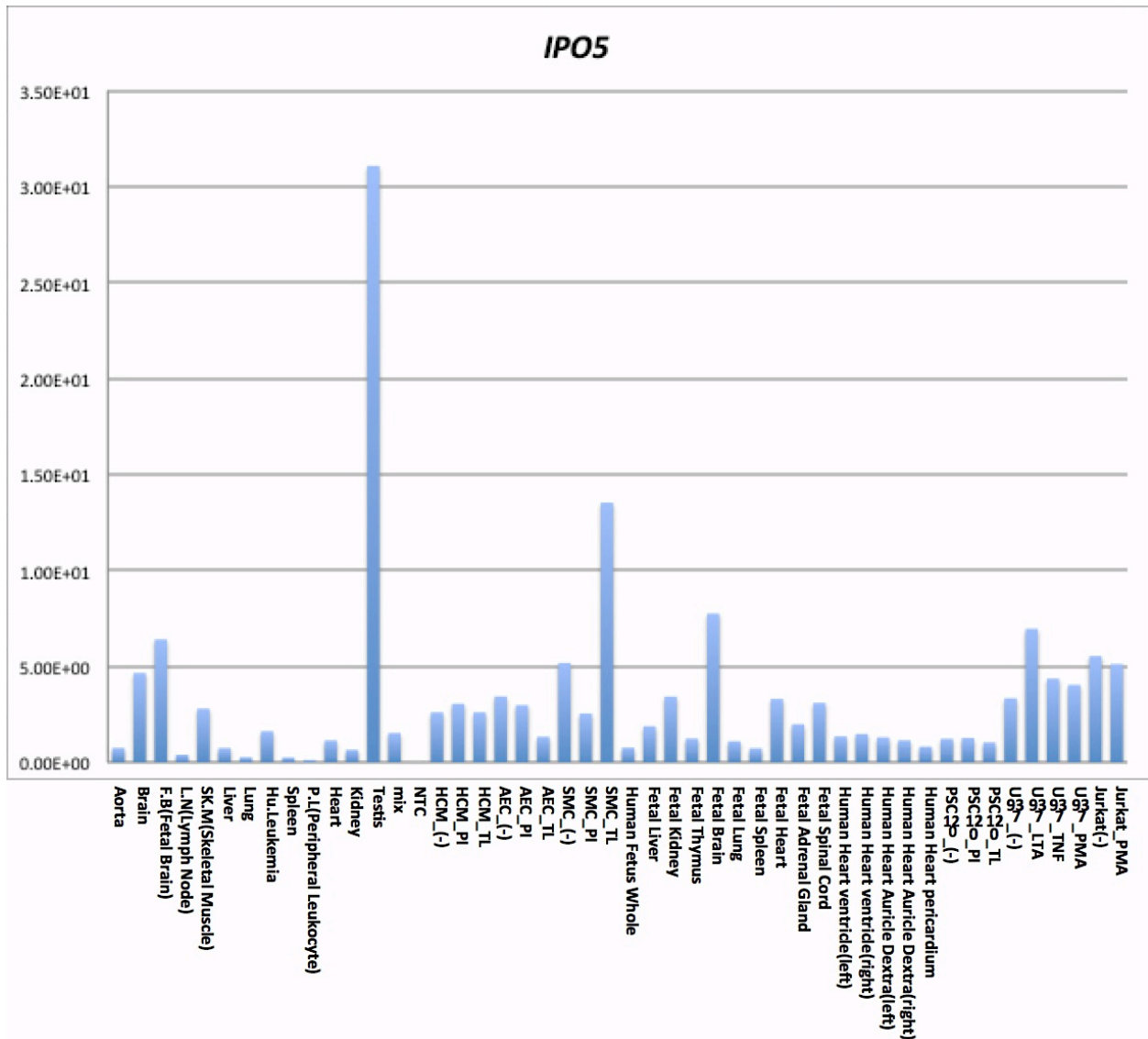
DRLA には市販されていた外国人由来の、ヒト大動脈平滑筋細胞 (Human aortic smooth muscle cells; HASMC, Gibco® Invitrogen cell culture) を使用した。細胞の passage は第二世代で超低温フリーザーに分注保存した同一ロットの細胞を使用した。細胞はトランスフェクション前に Smooth Muscle Cell Medium (SMCM, ScienCell research laboratories) で 5 日間培養してサブコンフルエントの状態ですべてトランスフェクションに使用した。SMCM はウシ胎児血清を 2%、smooth muscle cell growth supplement を 1%、penicillin/streptomycin 混合液を 1%

加えたものを使用した。継体培養及びトランスフェクションに際しては Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (funakoshi)で細胞を洗浄し、トリプシン溶液を加え剥離した。細胞は 5%CO₂、庫内温度 37 度の環境下にて培養した。トランスフェクション後も同様の環境で 48 時間培養して解析を行った。

Figure 5. 各組織細胞での(a) *IPO5* 及び (b) *RAP2A* のmRNA発現

リアルタイムPCRで*IPO5*、*RAP2A*共に全ての組織で発現していることが確認された

(a)



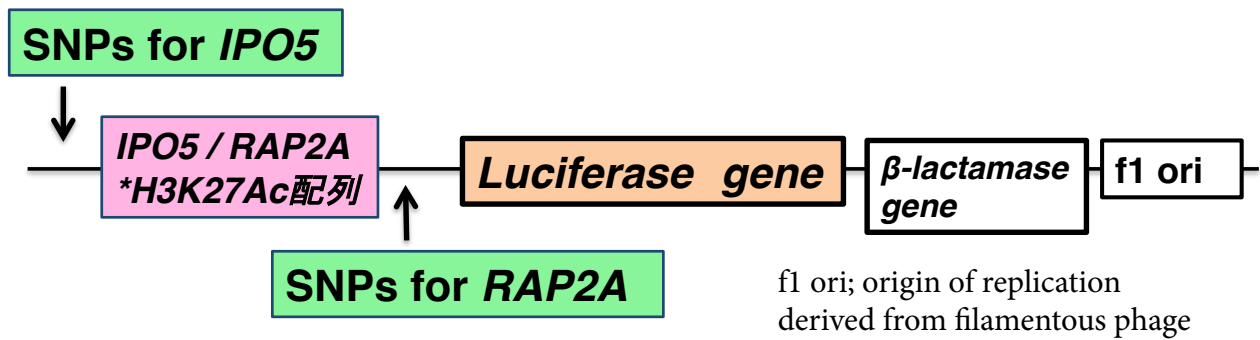
HCM; human coronary artery smooth muscle cell, AEC; abdominal epidermal cell, NTC; no template control, SMC; human Aortic smooth muscle cell, LTA; lymphotoxin alpha, TNF; tumor necrose factor, PMA; phorbol 12-myristate 13-acetate

pGL3 basic vector について

ルシフェラーゼアッセイによるリポーター遺伝子解析を行うために、精査する遺伝子領域のプロモーター領域を pGL3 basic vector (Promega) にクローニングする必要があった。公共データベース (UCSC genome browser; <http://genome.ucsc.edu>) で染色体 13q32.2 領域の H3K27Ac 配列を確認して、*IPO5/RAP2A* 両遺伝子の強エンハンサー領域を特定した。同領域の塩基配列 (chromosome position (NCBI build 38); 97,980,373-97,980,941 for *IPO5* and 97,428,261-97,428,846 for *RAP2A*) を pGL3 basic vector に挿入した。続いて解析対象となる 7 SNPs (rs9584669, rs9556806, rs9805548, rs9556797, rs9556705, rs4001162, rs9556799) のリスクアレルと非リスクアレルの配列を含む 25 塩基対のオリゴを作成して (S1 Table)、*IPO5/RAP2A* の H3K27Ac 配列を挿入したベクターのマルチプルクローニングサイトにクローニングした。ベクター内にオリゴ配列が組み込まれていることを確認した後に、ヒートショック法で *E.coli* JM109 Competent Cells (タカラバイオ) を形質転換して振盪培養した。専用キット (NucleoBond® Xtra Midi) を使用して増幅されたベクターを精製した。

(参考) DRLA で使用したベクターの構造図

pGL3-Basic vector construct



*Chromosome position (NCBI build 38);
IPO5 : 97,980,373-97,980,941
RAP2A: 97,428,261-97,428,846

ルシフェラーゼ活性値測定について

作成したベクターは nucleofector™ system (Amaxa) を使用して HASMC にトランスフェクションした。同時に内因性コントロールとして、ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだベクターもトランスフェクションした。各 SNP のリスクアレルと非リスクアレルを含んだ HASMC は各 4 ウェルずつ等量になるよう注入して培養した。4 ウェルの内 2 ウェルは蛍光活性値の測定前にイオノマイシンとパラメトキシアンフェタミン (PMA) で 6 時間刺激した。48 時間後に培養液を除去してプレートを凍結させ、各ウェルの細胞を溶解した。ルシフェラーゼ活性測定に際しては dual- luciferase reporter assay system™ (Promega Corporation, Wisconsin, USA) を用いてウェル毎にルミノメーター (Centro LB960®, BERTHOLD TECHNOLOGIES GmbH & Co. KG) を使用してホタルルシフェラーゼ活性値とウミシイタケルシフェラーゼ活性値を測定した。解析に際しては内在コントロール活性値と比較した (*firefly/Renilla*) ルシフェラーゼ活性値を、同一実験内で *IPO5/RAP2A* の H3K27Ac 配列のみをクローニングしたベクターの活性値で標準化した数値を解析した。陰性コントロールとして空の pGL3-basic vector 活性値を使用した。実験結果のばらつきを考慮して計 8 回独立して実験を行い、各 SNP のアレル間の活性値傾向がほぼ同一であったため、振れ幅が少ない 3 回の実験結果を選択した。スチューデント t 検定を使用してリスク

アレルと非リスクアレルのルシフェラーゼ活性値の差を解析した。

(結果)

遺伝子 *IPO5* の H3K27Ac 配列を組み込んだ construct では rs9584669 のみ非リスクアレルがリスクアレルと比較して 1.5 倍の転写活性を示した。遺伝子 *RAP2A* の H3K27Ac 配列を組み込んだ construct では 7 SNPs でリスクアレルと非リスクアレルで有意な蛍光活性値の差を認めなかった。以上より rs9584669 の領域が何らかの形で物理的に *IPO5* 遺伝子のエンハンサーもしくはリプレッサー領域に干渉して、転写抑制因子として作用する可能性があるかと判断した (Fig. 6, 7)。

Figure 6. rs9584669-*IPO5* H3K27Ac 配列のルシフェラーゼアッセイ結果

rs9584669 の非リスクアレルを *IPO5* H3K27Ac 配列の 5'末端側にクローニングしたヒト大動脈平滑筋細胞は、リスクアレルをクローニングした細胞と比較して約 1.5 倍の転写活性を示した (スチューデント t 検定)。NR 及び R は各々非リスクアレルとリスクアレルを示している。(+)はイオノマイシンとパラメトキシアンフェタミン (PMA)で 6 時間刺激した結果を示している。

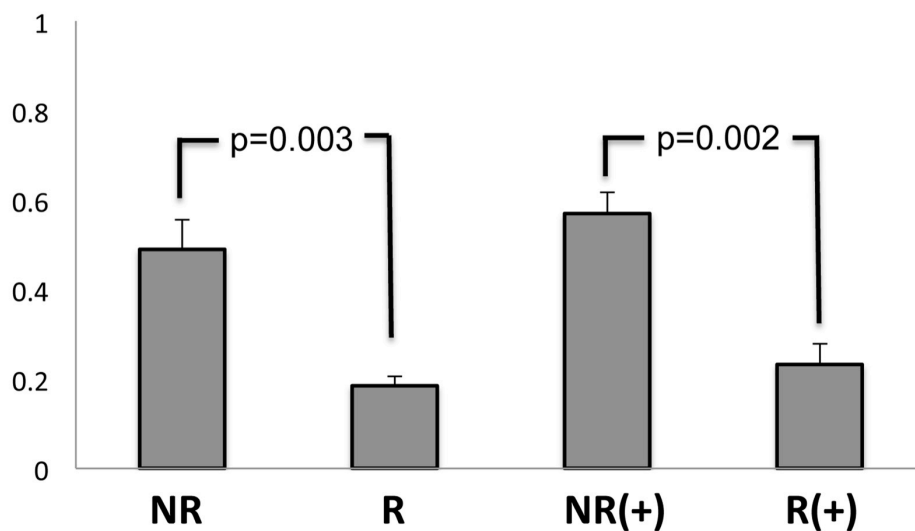
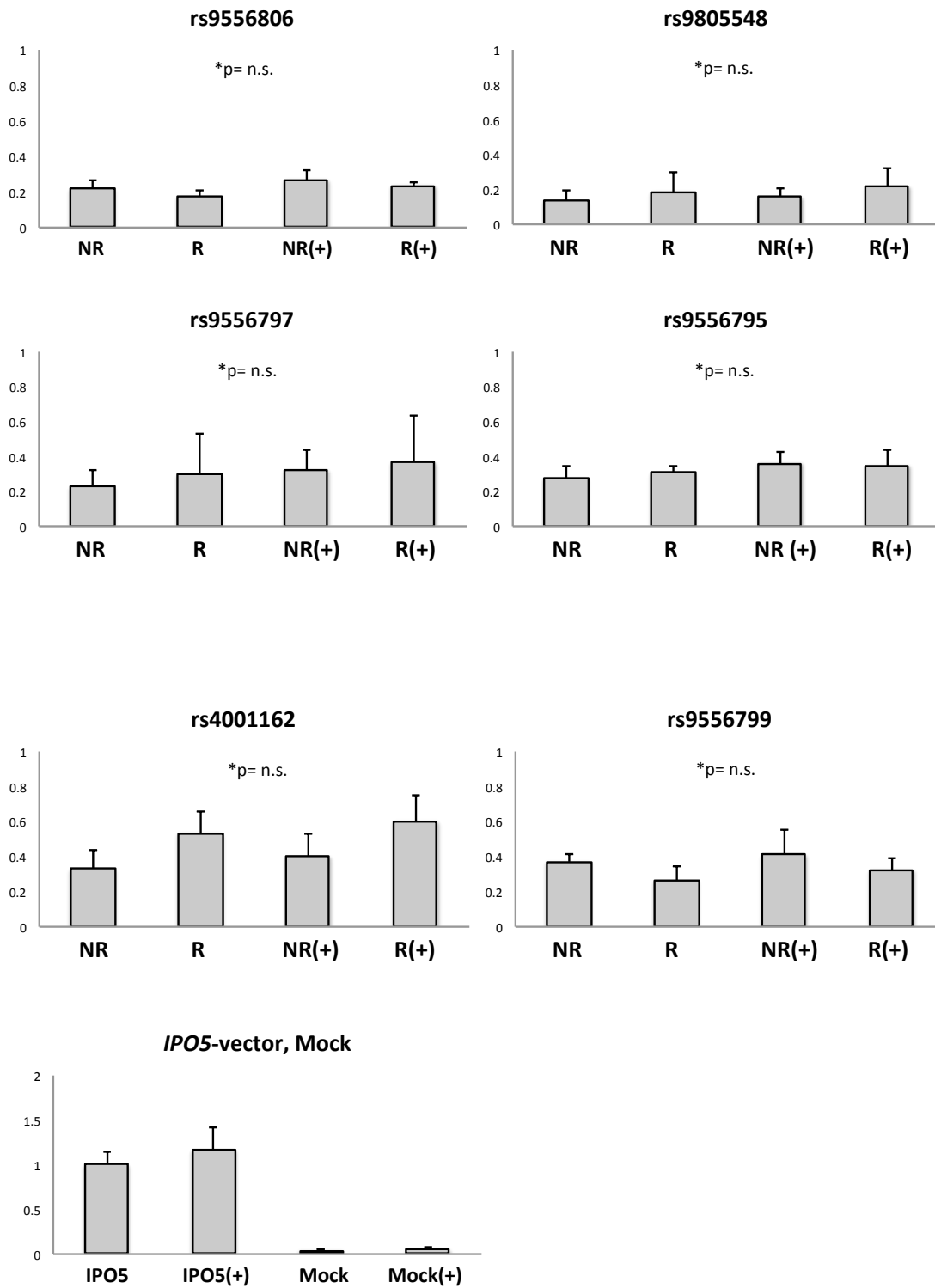


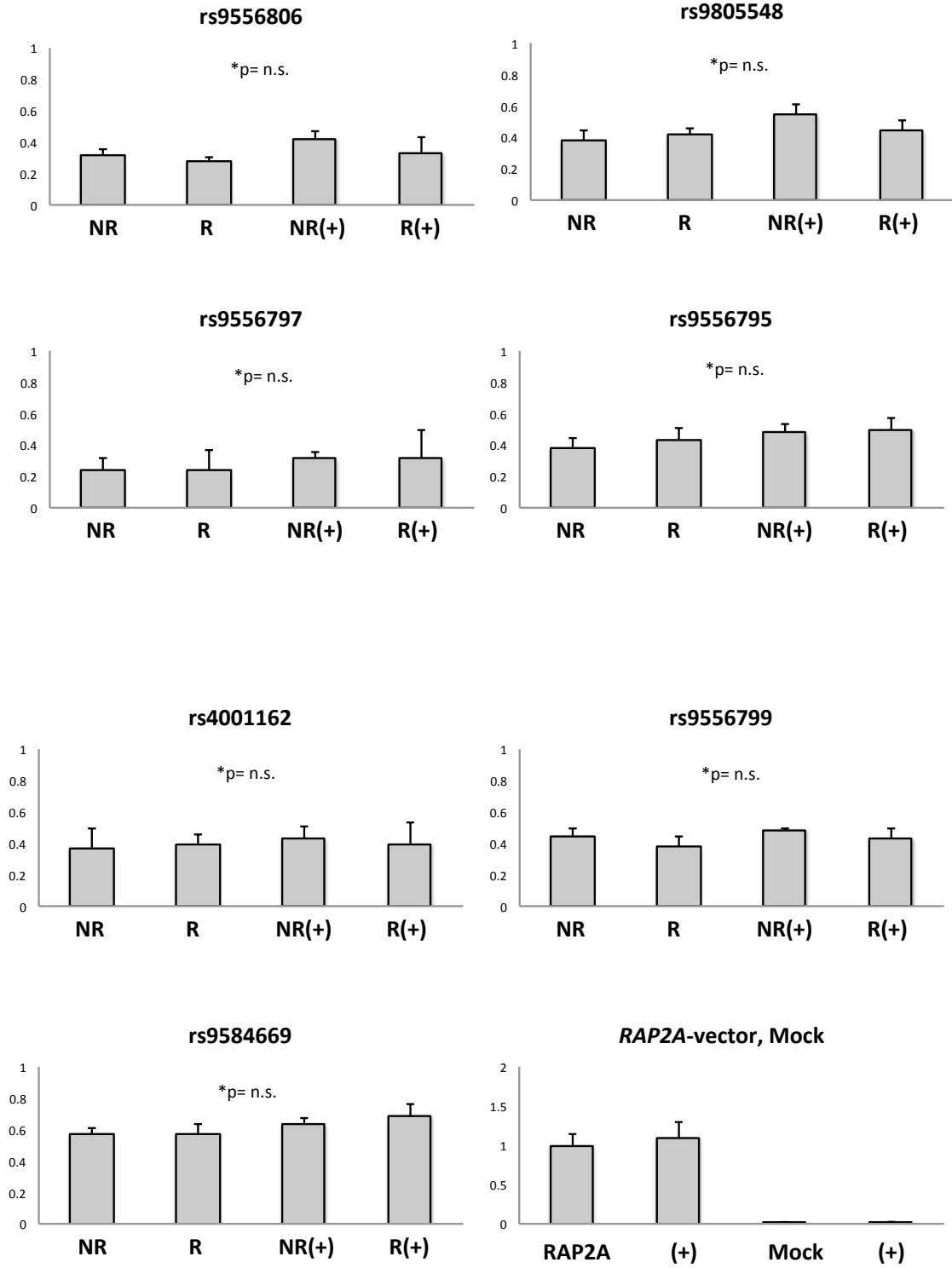
Figure 7. *IPO5* (a) 及び *RAP2A* (b) の 7 SNPs ルシフェラーゼアッセイ結果

rs9584669 及び連鎖不平衡関係にあった rs9556806, rs9805548, rs9556797, rs9556705, rs4001162, rs9556799 のリスクアレル、非リスクアレルをクローニングしたベクターをヒト大動脈平滑筋細胞に transfection してルシフェラーゼ活性値を測定した。計 13 SNPs に対するアレル間で転写活性に差を認めなかった。

a



b



(小括)

IPO5/RAP2 の遺伝子間領域に位置していた第 13 染色体領域の SNP について詳細な SNP 地図作成を行い、検出した 249 SNPs を対象に連鎖不平衡解析とタイピングを行った。その結果 rs9584669 と高い連鎖不平衡解析にある計 7 SNPs が同領域で疾患と最も有意に関連することが示された。この 7 SNPs に対して隣接する遺伝子 *IPO5* もしくは *RAP2A* に与える影響を精査する目的で DLRA によるリポーター遺伝子解析を行った。DLRA では、rs9584669 の非リスクアレルはリスクアレルと比較して 1.5 倍の転写活性を示したため、rs9584669 の領域が何らかの形で物理的に *IPO5* 遺伝子のエンハンサーもしくはリプレッサー領域に干渉して、転写抑制因子として作用する可能性があることが示唆された。

第5章 考察

閉塞性動脈硬化症は動脈の慢性動脈硬化性変化を主体とする病変であり、発症に関する危険因子として人種（非白人種）[27,28]、性別（男性）[28]、加齢[28-30]、喫煙歴[28,31,33]、糖尿病[28,32,33]、高血圧[28,33]、脂質代謝異常症[28,33]の他に炎症反応高値[34]、凝固能亢進状態[35,36]、高ホモシスチン血症[37,38]、慢性腎不全[28,39]といった因子も報告されており非常に多様な患者背景を有する。本研究の日本人 ASO 患者は control と比較して平均年齢が約 70 歳と高齢であり、男性の比率が 80%を占めており、喫煙歴、高血圧、冠動脈疾患、糖尿病の保有率が有意に高く欧米の報告と合致していた (Table 1)。Body Mass Index に関しては両群間で差を認めなかった。GWAS のみでゲノムワイド有意性を満たす SNP が検出できなかったのは、1 人の患者が複数の併存疾患を有するという ASO の特徴を反映したものと考えられた。また ASO 患者は頸動脈疾患、頸動脈疾患の合併を高率に認める特徴があり、欧米人を中心とした 67,888 名の心血管病変を有する患者を対象とした解析では 65%の PAD 患者が他の動脈硬化性疾患を合併していた[2]。本研究でも冠動脈疾患を 44%の患者に、脳血管病変を 18%の患者に認めており (S3 Table)、日本人でも ASO 患者は複数の動脈硬化関連疾患を有することが示された。対照群で高血圧、喫煙歴、糖尿病、

冠動脈疾患といった ASO 罹患の危険因子を有するサンプルが含まれており、厳密に”健常者サンプル”を使用した場合と比較して検出力が低下している可能性は否定できないが、理論上は患者群と対照群でアレル頻度の差が縮小することが想定されるため、関連解析で SNPs が偽陽性となる確率は低いと考えられた。

研究手法として GWAS でアレル頻度が低くかつ相対危険度の低い領域を検出するためには非常に多数のサンプルが必要となる。サンプル数が研究精度に直結するため、単施設では実現が極めて難しい研究であるといえる。本研究は BBJ の一部門として行われたため、研究開始に必要な患者群サンプル及び対照群サンプルは確保可能であったが、Replication study に必要となる患者群サンプルは別に収集する必要があった。東京大学 血管外科外来で約 350 名のサンプルを収集した他に東京医大及び関連病院の諸先生にご尽力頂き、4 年間で計 500 名を越す患者サンプル収集することができ GWAS の検証実験を行うことができた。この点が本研究を遂行できた要点と考えられた。

本研究では GWAS 単独でゲノムワイド有意性を満たす SNPs を検出できなかったため、Replication study として GWAS で得られた p 値を基準に、500 SNPs を選択して追加解析を行った。統計学的なパワーを考慮すると更に多くの SNPs についてフォローアップするべきだが、時間とコストを勘案して 500 SNPs に限定した。Replication study に際しては対照

群として高血圧、喫煙歴以外の動脈硬化危険因子となる併存疾患がないサンプルを、可能な限り多数リクルートして段階的に解析することで、疾患関連性が偽陽性となるリスクを最小限に抑えた。更に患者群で各 SNP のハプロタイプと併存疾患罹患の有無を検定して、今回同定した SNPs のハプロタイプが高血圧に依存しないことを確認した (S4 Table)。最終的にゲノムワイド有意性を満たした SNPs の存在する *IPO5/RAP2A*、*EDNRA* 及び *HDAC9* 遺伝子領域は新規の疾患関連領域であり、本来であれば各 SNP の遺伝子領域への作用機序を詳細に解析することが望ましかったが、*EDNRA* 及び *HDAC9* 遺伝子領域に関しては多数の動脈硬化関連疾患で報告があり、その中には今回検出された SNPs も含まれていたため、今回は rs9584669 が位置する *IPO5/RAP2* 遺伝子領域に絞って *in vitro* で解析する方針とした。公共データベースでは rs9584669 は両遺伝子のほぼ中間に位置しており、周辺領域にはデータベースにも登録されていない多数の SNPs が存在することが予想された。そこで我々は厳密に疾患と最も有意に関係する SNPs を精査する目的で、rs9584669 近傍の詳細な SNP 地図を作成し連鎖不平衡解析で tag SNPs を決定した上で、タイピングによる関連解析を行い機能解析対象となる疾患関連 SNPs を特定した。SNP 地図作成のためには多数の患者サンプルを直接シーケンスして、対象領域に含まれる SNPs をカウントする必要がある、非常に煩雑な作業を要する。諸家の報告でも GWAS 結果に基づく領域図の作成はされてい

るが、SNP 地図作成の報告は稀である。各 SNP の MAF の算定に際して解析対象者は多いほうが好ましいが、時間とコストを考慮して今回の研究では ASO 患者サンプルからランダムに選択した 96 名を解析対象とした。SNP 地図作成の結果得られた tag SNPs のタイピングはアレル頻度に関係なく全ての SNPs で行った。データとして提示した tag SNPs は $MAF \geq 0.05$ に限定した 25 SNPs だが、実際は MAF が 0.05 を下回る SNPs も解析しており 100 を超える tag SNPs をタイピングして疾患と有意な関係がないことを確認した。また構造変異についても可能な限りシーケンスによる解析を行い、疾患と統計学的に有意な関係がないことを確認した。

In vitro の SNPs の機能解析には Electrophoresis Mobility Shift Assay や Chromosome Conformation Capture Assay を含めて様々な手法があるが、我々は特異度の高い DRLA によるレポーター遺伝子解析を採用した。この研究手法の限界はゲノム高次構造を反映していないため単なる指標であることだが、これまでも多くの事例でルシフェラーゼアッセイの結果と実際の生体内での遺伝子発現量の差が相関することが知られている。解析には日本人由来の SMC を使用するのが望ましかったが、入手するのが困難であったため市販されているヒト由来 HASMC を使用した。DRLA の注意点としてトランスフェクション効率とルシフェラーゼ活性値が細胞数に影響されるため、第二世代 HASMC 細胞に限定して培養

時間を厳密に 5 日間と規定した上で、顕微鏡でサブコンフルエント状態であることを確認してトランスフェクションを行った。トランスフェクションは専用キットを使用して、遺伝子導入効率と細胞生存率を高めるように留意して行った。本研究では細胞刺激物質を加えても *firefly/renilla* 蛍光活性値の発現上昇は軽度であった。別の実験系で同一試薬を使用して血管内皮細胞から炎症性接着分子群 (E-selectin 等) の発現が強力に誘導されることを確認していたため (data not shown)、今回の刺激は construct に使用した H3K27Ac 配列には殆ど作用しないと考えられた。DRLA の結果から推察される機序としては、rs9584669 のリスクアレルが何らかの転写因子に作用して、遺伝子 *IPO5* のエンハンサー領域もしくはリプレッサー領域に対する結合能に影響を与える可能性が考えられた。

遺伝子 *IPO5* の代謝産物である Importin-5 (*IPO5*) は importin beta family の一つであり [40]、細胞質の特に核膜孔に主として局在している。*IPO5* は核局在シグナルを含んだ輸送体を核三リン酸と GTP 結合タンパク質 Ran 存在下の条件で、細胞質から核内に輸送する役割を果たしている [41]。*IPO5* の重要な役割の一つとして、タンパク分泌のエンハンサーとして機能することが報告されており [42]、動脈硬化関連物質としては HEK293 cells を使用して遺伝子 *IPO5* の発現量とアポリポプロテイン A-1 (apo A-1) の細胞内及び、培養液の濃度の相関を調べた実験が報告されている [43]。この実験で *IPO5* の発現量と培養液の apo a-1 濃度

は正の相関を示したが、細胞内の apo A-1 濃度は *IPO5* の発現量に関わらず一定であったため、詳細な機序は不明だが遺伝子 *IPO5* は apo A-1 の分泌経路の調整に関与していると考えられた。

apo A-1 は高比重リポタンパク (HDL)の主要な構成成分であり、末梢組織から肝臓へのコレステロール輸送を担っている (reverse cholesterol transport pathway)。apo A-1 はコレステロール輸送タンパクを介する経路とスカベンジャーB1 受容体を介する経路で、HDL 粒子内のコレステロール量を調整している。上記過程により HDL は血管内膜のプラーク蓄積を抑制している[44]。末梢動脈の動脈硬化性変化が ASO の本態であり、HDL 機能は病態進展に重要な役割を果たしていると考えられる。この観点で *IPO5* は疾患と重要な関連を持つことが想定された。rs9584669 と疾患機序との関連を精査するためには、同 SNP のハプロタイプと apo A-1 の発現量に関しても検討する必要があると考えられた。

第 4 染色体で検出された rs6842241 は遺伝子 *EDNRA* 上に位置していた。*EDNRA* はエンドセリン-1 に対する受容体である A 型エンドセリン受容体遺伝子をコードしている[45]。エンドセリン-1 は長時間持続する血管収縮[45]と炎症誘発作用[46]を有するペプチドであり、血管平滑筋細胞の活性化を仲介すると共に特に動脈硬化部位で発現上昇を認める[46-49]。このためエンドセリン-1 は動脈硬化に伴う慢性炎症のメカニズムに関係している

と考えられている。rs6842241 のリスクアレルは EDNRA の機能的変異を起こすことが冠動脈疾患[50]、脳動脈瘤[51]、虚血性脳疾患[52]といった他の動脈硬化関連疾患で示されている。

第7染色体で検出された rs2074663 が位置する遺伝子 *HDAC9* はヒストンデアセチラーゼ-9 (*HDAC9*) をコードする遺伝子である。*HDAC* は転写で生じる反応を修飾する複合タンパク体であり、転写過程の制御と細胞周期の進行に非常に重要な役割を果たしている[53]。

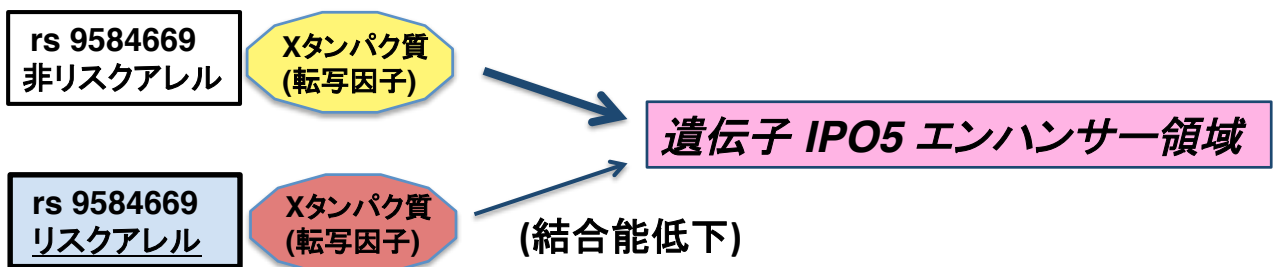
HDAC9 の遺伝子変異は虚血性脳疾患、頸動脈の硬化性変化、冠動脈疾患と関連があることが報告されている[52, 54, 55]。以上より今回検出された新規疾患関連領域は、いずれも動脈硬化進展メカニズムに関係する遺伝子と関連があることが示唆された。また SNP 間に相互作用を認める場合があること (SNP-SNP interaction) が報告されており[56]、上記3 SNPs に関して試験的に PLINK1.05 を使用して、互いに相互作用するかを検討したが、3 SNPs はいずれも独立した関係である結果を得た (data not shown)。

日本人を対象とした心血管病変の GWAS の報告は少ないが、冠動脈疾患に関して疾患関連遺伝子として *LTA*、*LGALS2*、*PSMA6*、*BRAP* が報告されている[57]。しかし今回の解析ではいずれも *ASO* との関連は認めなかった。日本人以外の多人種を対象とした心筋梗塞、腹部大動脈瘤、脳動脈瘤患者の GWAS では 9p21 領域の SNP (rs10757278、rs10811161)

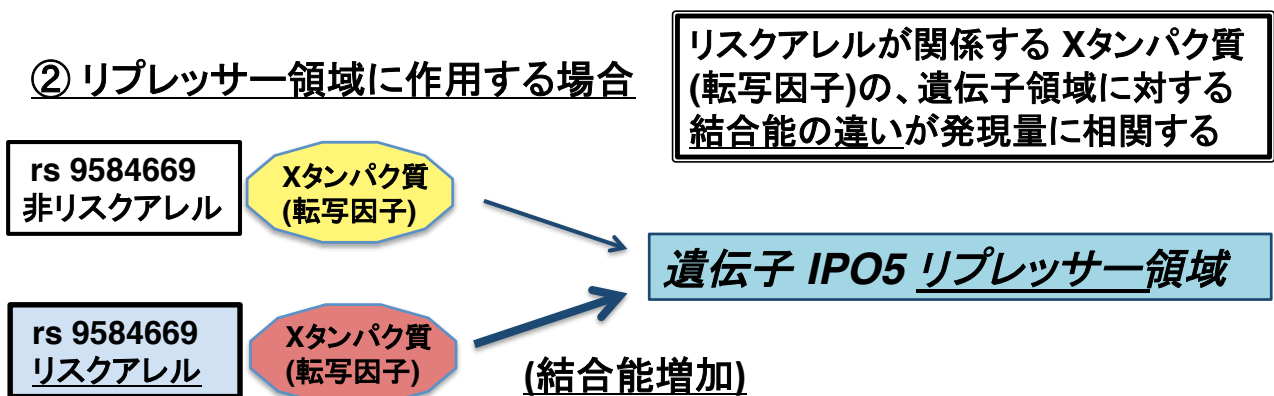
が疾患に有意に関連する[58]と報告されているが、本研究で同染色体領域はゲノムワイド有意性を満たさなかった。また 41,692 名のヨーロッパ人を対象とした GWAS で同領域の rs10757269 が ABI 低下に関係すると報告されている[59]が、本研究では同 SNP は疾患に有意な関連を認めなかった。

(参考) DRLA 結果から予想される SNP 機能

① エンハンサー領域に作用する場合



② リプレッサー領域に作用する場合



本研究の限界

本研究は日本人サンプルを主体に行われており人種間の遺伝的多様性を考慮すると、日本人以外の人種で我々の研究結果を検証する必要がある。研究デザインとして本研究は比較的少数のサンプル数で GWAS を施行したため、疾患に関係しているアレル頻度の高い SNP を見逃している可能性がある。他にボンフェローニ補正に基づきゲノムワイド有意水準を規定したため、偽陰性となった SNPs が存在する可能性は否定できない点、replication cohort として BBJ サンプルを使用しているため、independent cohort ではない点が限界として挙げられる。またアレル頻度の低い SNPs や構造多型に関する検討は不十分である。

今回解析した ASO 患者群サンプルは間欠性跛行から重症虚血肢まで様々な病期の患者が含まれており、病期に応じて遺伝学的危険因子が若干異なる可能性はあったが、検出力の関係で解析結果を病期で分類することは行わなかった。

今後の展開

今回明らかになった遺伝学的リスク因子と関連分子カスケードの知見は ASO の病態解明と早期発見に貢献すると考えられるが、疾患発症メカニズムの解明のためにはより頻度の低い変異を解析する必要があると考えられた。急速な技術進歩を示している分野であり、研究開始時には約 50 万 SNPs を精査するプラットフォームが採用されていたが、現在は 100 万 SNPs を解析対象とするイルミナ社のプラットフォーム が使用可能であり、これにより今回の GWAS で検出されなかった領域が明らかになる可能性が有る。更にコントロール群として高血圧、糖尿病、冠動脈疾患といった動脈硬化危険因子を厳密に除外した、“健常者群サンプル”と ASO 患者群サンプルで解析することで、より正確に疾患関連 SNPs を検索することが可能になると考えられた。

疾患背景の多様性を考慮すると GWAS に固執せず、全エクソーム解析を行い疾患関連遺伝子の検索を更に進めると共に、miRNA 解析といったエピジェネティックな観点からも疾患発症に関わる因子の解析を進める必要があり、研究を進めている。

第6章 総括

閉塞性動脈硬化症の疾患関連遺伝子領域を精査するために、日本人 DNA サンプルを使用して GWAS を行った。

GWAS はバイオバンクジャパン計画で収集された ASO 患者群サンプル (n=785) と対照群サンプル (n=3,383) を使用して、約 50 万 SNPs をタイピングしてジェノタイプデータから患者-対照群間で頻度の差がある SNP を精査した。次に GWAS と異なる患者群サンプル (n=2,379) と対照群サンプル (n=16,752) を使用して GWAS 結果の検証実験を行い、GWAS と Replication study の結果を統合して第 13 番染色体上の *IPO5/RAP2A* 遺伝子間、第 4 番染色体上の *EDNRA* 遺伝子領域 及び 第 7 番染色体上の *HDAC9* 遺伝子領域の計 3 ヶ所に ASO 疾患関連領域を同定した。

第 13 染色体領域の詳細な SNP 地図作成を行った結果、rs9584669 と高い連鎖不平衡解析にある計 7 SNPs が同領域で疾患と最も有意に関連することが示された。この 7 SNPs を対象に DLRA によるリポーター遺伝子解析を行った結果、rs9584669 の非リスクアレルはリスクアレルと比較して 1.5 倍の転写活性を示した。rs9584669 のリスクアレルが何らかの形で物理的に *IPO5* 遺伝子のエンハンサーもしくはリプレッサー領域に干渉して、転写抑制

因子として作用する可能性があることが示唆された。

第4染色体の *EDNRA* と第7染色体の *HDAC9* 上に位置する SNPs はいずれも動脈硬化関連疾患と関係している報告があり、今回検出された疾患関連遺伝子領域はいずれも動脈硬化の進展機構と関連があることが示された。

謝辞

本研究を遂行する機会及びご指導、ご鞭撻を賜りました東京大学大学院医学系研究科外科学先行腫瘍外科・血管外科 渡邊聡明教授に深謝致します。

本研究を開始する機会を頂戴し、プロジェクトリーダーとしてご指導賜りました元東京大学大学院医学系研究科外科学先行血管外科、現 山王メディカルセンター血管病センター長・国際医療福祉大学教授 宮田哲郎先生、現 国際医療福祉大学三田病院血管外科・国際医療福祉大学教授 重松邦広先生に深謝致します。また本研究の計画及び遂行にあたりご指導、ご助言を賜りました東京医科大学 八王子医療センター心臓血管外科 進藤俊哉教授、関西医科大学附属滝井病院末梢血管外科 駒井宏好教授、山王メディカルセンター 血管外科統括部長・国際医療福祉大学教授 重松宏先生に深謝致します。併せて本研究の遂行に尽力して頂いた元東京大学大学院医学系研究科外科学先行血管外科、現間中病院外科 木村秀生先生と現多摩総合医療センター外科 保坂晃弘先生に深謝致します。

本研究実現に際しては理化学研究所 統合生命医科学センター 循環器疾患研究グループの尾崎浩一先生、尾内善広先生と田中敏博先生に並々ならぬご尽力を賜りました。昼夜を分かたず研究の基礎的手技から論文作成までご指導頂き、非常に有意義な研鑽の機会を

与えて頂きましたことに心より感謝申し上げます。また同グループのテクニカルスタッフの方々には実験機器の使用法の指導から、試薬の手配まで快くご協力を賜りました。皆様のご協力なくして本研究は到底遂行できませんでした、心より御礼申し上げます。

本研究の端緒となりましたバイオバンクジャパン計画の総責任者である久保充明先生及び解析データを提供して頂いた理化学研究所 統合生命医科学センター 医科学数理研究グループの角田達彦先生、森園 隆先生、統計解析研究チームの高橋 篤先生に厚く御礼申し上げます。

本研究で使用した ASO 患者サンプル収集に際しましては、青梅市立総合病院外科 正木幸善先生、茨城県立中央病院外科 高山 豊先生及び杏林大学医学部附属病院 心臓血管外科 布川雅雄教授にご協力頂きました。多忙な臨床業務の中で倫理委員会の承認を得て頂き、患者サンプルの収集を行って頂いたことに心より感謝申し上げます。

最後になりましたが、東京大学大学院医学系研究科外科学先行血管外科スタッフ及び大学院生一同に感謝します。非常に多数の患者サンプルを収集することができ、実験遂行の原動力となりました。

文献

1. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, et al. ACC/AHA 2005 guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): executive summary a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease) endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47: 1239-1312.
2. Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM, Hirsch AT, Ikeda Y, Mas JL, et al. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA.* 2006; 295: 180-189.

3. Bhatt DL, Eagle KA, Ohman E.M, Hirsch AT, Goto S, Mahoney EM, et al. Comparative determinants of 4-year cardiovascular event rates in stable outpatients at risk of or with atherothrombosis. *JAMA*. 2010; 304: 1350-1357.
4. Long J, Modrall JG, Parker BJ, Swann A, Welborn MB, Anthony T. Correlation between ankle-brachial index, symptoms, and health-related quality of life in patients with peripheral vascular disease. *J Vasc Surg*. 2004; 39: 723-727.
5. McDermott MM, Liu K, Greenland P, Guralnik JM, Criqui MH, Chan C, et al. Functional decline in peripheral arterial disease: associations with the ankle brachial index and leg symptoms. *JAMA*. 2004; 292: 453-461.
6. McDermott MM, Guralnik JM, Tian L, Liu K, Ferrucci L, Liao Y, et al. Associations of borderline and low normal ankle-brachial index values with functional decline at 5-year follow-up: the WALCS (Walking and Leg Circulation Study). *J Am Coll Cardiol*. 2009; 53: 1056-1062.
7. Fowkes FG, Rudan D, Rudan I, Aboyans V, Denenberg JO, McDermott MM, Norman PE, Sampson UK, Williams LJ, Mensah GA, et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and

analysis. *Lancet*. 2013; 382: 1329-1340.

8. MEMBERS WG, MEMBERS WC, MEMBERS AATF. 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guideline for the Management of patients with peripheral artery disease (Updating the 2005 Guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*. 2011; 124: 2020-2045.
9. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg*. 2007; 45: S5-67.
10. Tendera M, Aboyans V, Bartelink ML, Baumgartner I, Clément D, Collet JP, et al. ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: the Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2011; 32: 2851-2906.
11. Wahlgren CM, Magnusson PK. Genetic influences on peripheral arterial disease in a twin population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 678-682.
12. Carmelli D, Fabsitz RR, Swan GE, Reed T, Miller B, Wolf PA. Contribution of genetic and

- environmental influences to ankle-brachial blood pressure index in the NHLBI Twin Study. National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am J Epidemiol.* 2000; 151: 452-458.
13. Kullo IJ, Turner ST, Kardia SL, Mosley TH, Boerwinkle E, de Andrade M. A genome-wide linkage scan for ankle-brachial index in African American and non-Hispanic white subjects participating in the GENOA study. *Atherosclerosis.* 2006; 187: 433-438.
 14. Murabito JM, Guo CY, Fox CS, D'Agostino RB, Heritability of the ankle-brachial index: the Framingham Offspring study. *Am J Epidemiol.* 2006; 164: 963-968.
 15. Leeper NJ, Kullo IJ, Cooke JP. Genetics of peripheral artery disease. *Circulation.* 2012; 125: 3220-3228.
 16. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. *PLoS Comput Biol.* 2012; 8: e1002822.
 17. The International Hapmap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 2007; 449: 851-861.
 18. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genome.* 2003; 164: 1567-1587.
 19. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal

components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet.*

2006; 38: 904-909.

20. Montgomery S. Linkage disequilibrium-understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nat Rev Genet.* 2008; 9: 477-485.

21. Ohnishi Y, Tanaka T, Ozaki K, Yamada R, Suzuki H, Nakamura Y. A high-throughput SNP typing system for genome-wide association studies. *J Hum Genet.* 2001; 46: 471-477.

22. Nakamura, Y. The BioBank Japan Project. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2007; 5: 696-697.

23. Freedman ML, Reich D, Penney KL, McDonald GJ, Mignault AA, Patterson N, et al. Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. *Nat Genet.* 2004; 36: 388-393.

24. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet.* 2007; 81: 559-575.

25. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005; 21: 263-265.

26. De Wet JR, Wood KV, Deluca M, Helinski DR, Subramani S. Firefly luciferase gene: structure and expression in mammalian cells. *Mol Cell Biol.* 1987; 7: 725-737.
27. Kullo IJ, Bailey KR, Kardia SL, Mosley TH Jr, Boerwinkle E, Turner ST. Ethnic differences in peripheral arterial disease in the NHLBI Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy (GENOA) study. *Vasc Med.* 2003; 8: 237-242.
28. Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors of peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Circulation.* 2004; 110: 738-743.
29. Criqui MH, Fronek A, Barrett-Connor E, Klauber MR, Gabriel S, Goodman D. The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation.* 1985; 71: 510-551.
30. Hiatt WR, Hoag S, Hamman RF. Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral arterial disease. The San Luis Valley Diabetes Study. *Circulation.* 1995; 91: 1472-1479.
31. Fowkes FG, Housley E, Cawood EH, Macintyre CC, Ruckley CV, Prescott RJ. Edinburgh Artery Study: prevalence of asymptomatic and symptomatic peripheral arterial disease in the general population. *Int J Epidemiol.* 1991; 20: 384-392.

32. Preis SR, Hwang SJ, Coady S, Pencina MJ, D'Agostino RB Sr, et al. Trends in all-cause and cardiovascular disease mortality among woman and man with and without diabetes mellitus in the Framingham Heart Study, 1950 to 2005. *Circulation*. 2009; 119: 1728-1735.
33. Fowkes FG, Housley E, Riemersma RA, Macintyre CC, Cawood EH, et al. Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral atherosclerosis compared with ischemic heart disease in the Edinburgh Artery Study. *Am J Epidemiol*. 1992; 135: 331-340.
34. Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. C-reactive protein, interleukin-6, and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population: Edinburgh Artery Study. *Circulation*. 2005; 112: 976-983.
35. Ray SA, Rowley MR, Loh A, Talbot SA, Bevan DH, et al. Hypercoagulable states in patients with leg ischemia. *Br J Surg*. 1994; 81:811-814.
36. Sartori M, Fevaretto E, Legnani C, Cini M, Conti E, et al. Thrombophilic risk factors and peripheral arterial disease severity. *Thromb Haemost*. 2010; 104: 71-77.
37. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma

homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA*. 1995; 274:1049-1057.

38. Khandanpour N, Loke YK, Meyer FJ, Jennings B, Armon MP. Homocysteine and peripheral arterial disease: systematic review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009; 38:316-322.
39. O'Hare AM, Vittinghoff E, Hsia J, Shlipak MG. Renal insufficiency and the risk of lower extremity peripheral arterial disease: results from the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS). *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:1046-51.
40. Yaseen NR, Blobel G. Cloning and characterization of human karyopherin beta3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94: 4451-4456.
41. Deane R, Schäfer W, Zimmermann HP, Mueller L, Görlich D, Prehn S, et al. Ran-binding protein 5 (RanBP5) is related to the nuclear transport factor importin-beta but interacts differently with RanBP1. *Mol Cell Biol*. 1997; 17: 5087-5096.
42. Chung KM, Lee J, Kim JE, Song OK, Cho S, Lim J, et al. Nonstructural protein 5A of hepatitis C virus inhibits the function of karyopherin beta3. *J. Virol*. 2000; 74: 5233-5241.
43. Chung KM, Cha SS, Jang SK. A novel function of karyopherin beta3 associated with apolipoprotein A-I secretion. *Mol Cells*. 2008; 26: 291-298.

44. Leman LJ, Maryanoff BE, Ghadiri MR. Molecules that mimic apolipoprotein A-I: potential agents for treating atherosclerosis. *J Med Chem.* 2014; 57: 2169-2196.
45. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Goto K, Masaki T. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *J Hypertens Suppl.* 1998; 6: S188-191.
46. Böhm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2007; 76: 8-18.
47. Iwasa S, Fan J, Shimokama T, Nagata M, Watanabe T. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis. *Atherosclerosis.* 1999; 146: 93-100.
48. Ramzy D, Rao V, Tumiati LC, Xu N, Sheshgiri R, Miriuka S, et al. Elevated endothelin-1 levels impair nitric oxide homeostasis through a PKC-dependent pathway. *Circulation.* 2006; 114: 1319-1326.
49. Browatzki M, Schmidt J, Kübler W, Kranzhöfer R. Endothelin-1 induces interleukin-6 release via activation of the transcription factor NF-kappaB in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol.* 2000; 95: 98-105.

50. Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, Farrall M, Assimes TL, Thompson JR. et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2013; 45: 25-33.
51. Low SK, Takahashi A, Cha PC, Zembutsu H, Kamatani N, Kubo M, et al. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA. *Hum Mol Genet.* 2012; 21: 2102-2110.
52. Dichgans M, Malik R, König IR, Rosand J, Clarke R, Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Mitchell B.D., Assimes T.L., Levi C. et al. Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome-wide analysis of common variants. *Stroke.* 2014; 45: 24-36.
53. Joshi P, Greco TM, Guise AJ, Luo Y, Yu F, Nesvizhskii AI, et al. The functional interactome landscape of the human histone deacetylase family. *Mol Syst Biol.* 2013; 9: 672.
54. Bellenguez C, Bevan S, Gschwendtner A, Spencer CC, Burgess AI, Pirinen M, et al. Genome-wide association study identifies a variant in HDAC9 associated with large vessel ischemic stroke. *Nat Genet.* 2012; 44: 328-333.
55. Markus HS, Mäkelä KM, Bevan S, Raitoharju E, Oksala N, Bis JC, et al. Evidence HDAC9

genetic variant associated with ischemic stroke increases risk via promoting carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2013; 44: 1220-1225.

56. Herold C, Steffans M, Brockschmidt FF, Baur MP, Becker T. INTERSNP: genome-wide interaction analysis guided by a prior information. *Bioinformatics*. 2009; 25: 3275-3281.

57. Ozaki K, Tanaka T. Molecular genetics of coronary artery disease. *J Hum Genet*. 2015 [Epub ahead of print]

58. Helgadottir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, Grétarsdottir S, Steinthorsdottir V, et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Net Genet*. 2008; 40: 217-224.

59. Cluett C, McDermott MM, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, et al. The 9p21 myocardial infarction risk allele increases risk of peripheral artery disease in older people. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009; 2: 347-353.

補足資料

S1 Table. DRLA で使用したオリゴ配列

各 SNP で 25 塩基対のオリゴ配列を作成してベクターにクローニングした。

Gene/SNP ID	Sense*	Antisense*
<i>IPO5</i>		
rs9556806	GATCCACTTCACGTCCTKCCATCCAATCAAG	TCGACTTGATTGGATGGMAGGACGTGAAGTG
rs9805548	GATCCAAAACACAATGAWTTTTTTAGGTATG	TCGACATACCTAAAAAWTCATTGTGTTTTG
rs9556797	GATCCCAGGAGGCATCAMAAGAACTATTCCG	TCGACGGAATAGTTCTTKTGATGCCTCCTGG
rs9556795	GATCCAAATAAACCTGMAAGTGACCAGGAG	TCGACTCCTGGTCACTTKCAGGTTTTATTTG
rs4001162	GATCCCTGCTTTCTTTGWGTATTTGTTTTGG	TCGACCAAACAATAACWCAAAGAAAGCAGG
rs9556799	GATCCATATAAAGACTGYGTTTGATGGGCTG	TCGACAGCCCATCAAACRCAGTCTTTATATG
rs9584669	GATCCTATAGCAACAAAYGACGGGAAAAACG	TCGACGTTTTTCCCGTCRTTTGTTGCTATAG
<i>RAP2A</i>		
rs9556806	GATCCACTTCACGTCCTKCCATCCAATCAAG	TCGACTTGATTGGATGGMAGGACGTGAAGTG
rs9805548	GATCCAAAACACAATGAWTTTTTTAGGTATG	TCGACATACCTAAAAAWTCATTGTGTTTTG
rs9556797	GATCCCAGGAGGCATCAMAAGAACTATTCCG	TCGACGGAATAGTTCTTKTGATGCCTCCTGG
rs9556795	GATCCAAATAAACCTGMAAGTGACCAGGAG	TCGACTCCTGGTCACTTKCAGGTTTTATTTG
rs4001162	GATCCCTGCTTTCTTTGWGTATTTGTTTTGG	TCGACCAAACAATAACWCAAAGAAAGCAGG
rs9556799	GATCCATATAAAGACTGYGTTTGATGGGCTG	TCGACAGCCCATCAAACRCAGTCTTTATATG
rs9584669	GATCCTATAGCAACAAAYGACGGGAAAAACG	TCGACGTTTTTCCCGTCRTTTGTTGCTATAG

ID; identifier, *; Each sequence includes restriction enzyme site of XhoI and HindIII for IPO5, BamHI and SalI for RAP2A.

S2 Table. 染色体 13q32.2 領域で検出された Tag SNP のタイピング結果

rs9584669前後の100kbの領域を direct sequencingして得られた25 tag SNPsをASO患者サンプル (n=750)と健常人サンプル (n=2,418)をタイピングした結果、rs9584669が最も統計学的に有意なSNPであることが明らかになった

dbSNP ID	Cases							Controls							MAF	OR	P*
	11	%	12	%	22	%	SUM	11	%	12	%	22	%	SUM			
rs1318759	346	50.5	275	40.1	64	9.3	685	1087	50.7	843	39.3	214	10.0	2144	0.29	1.01	8.74 x 10 ⁻¹
rs56271725	7	1.0	148	21.2	542	77.8	697	22	1.1	342	17.6	1577	81.2	1941	0.10	1.19	7.82 x 10 ⁻²
rs57653257	0	0.0	84	12.0	618	88.0	702	7	0.3	229	10.9	1869	88.8	2105	0.05	1.04	7.70 x 10 ⁻¹
rs3858772	378	54.1	265	37.9	56	8.0	699	1245	56.4	826	37.4	137	6.2	2208	0.25	1.11	1.23 x 10 ⁻¹
rs2066235	227	32.4	323	46.1	150	21.4	700	667	31.2	1044	48.8	430	20.1	2141	0.44	1.00	9.82 x 10 ⁻¹
rs9513268	234	32.4	334	46.3	154	21.3	722	753	32.7	1126	48.9	426	18.5	2305	0.43	0.94	2.99 x 10 ⁻¹
rs9556779	73	9.9	293	39.6	373	50.5	739	232	9.9	1036	44.3	1068	45.7	2336	0.31	0.89	8.30 x 10 ⁻²
rs61633390	31	4.4	216	30.9	452	64.7	668	113	4.8	727	30.7	1526	64.5	2253	0.20	0.98	8.35 x 10 ⁻¹
rs2792954	135	20.0	305	45.2	235	34.8	675	399	17.3	1100	47.7	807	35.0	2306	0.41	1.06	3.45 x 10 ⁻¹
rs4771282	154	21.5	328	45.7	235	32.8	717	414	20.3	974	47.8	650	31.9	2038	0.44	1.01	9.26 x 10 ⁻¹
rs4001161	48	6.9	269	38.8	376	54.3	693	125	6.1	754	36.8	1168	57.1	2047	0.25	1.10	1.78 x 10 ⁻¹
rs9513280	322	48.5	287	43.2	55	8.3	664	1053	50.2	853	40.7	192	9.2	2098	0.29	0.98	7.73 x 10 ⁻¹
rs9584669	659	92.4	54	7.6	0	0.0	713	2118	88.8	256	10.7	11	0.5	2385	0.05	1.57	2.67 x 10 ⁻³
rs74495396	660	93.8	41	5.8	3	0.4	704	2022	92.9	154	7.1	1	0.0	2177	0.03	1.08	6.65 x 10 ⁻¹
rs41361245	5	0.7	90	12.3	579	87.6	674	3	0.1	261	12.3	1866	87.6	2130	0.06	1.20	1.36 x 10 ⁻¹
rs9517023	45	6.2	266	36.6	415	57.2	726	144	6.0	840	34.9	1421	59.1	2405	0.23	1.06	4.02 x 10 ⁻¹
rs2793697	618	84.5	107	14.6	6	0.8	731	1978	82.9	394	16.5	15	0.6	2387	0.08	1.10	3.78 x 10 ⁻¹
rs12429372	282	39.7	339	47.7	89	12.5	710	884	40.8	971	44.8	310	14.3	2165	0.36	1.01	8.20 x 10 ⁻¹
rs2792966	43	5.7	278	37.1	429	57.2	750	132	5.5	834	34.8	1433	59.7	2399	0.23	1.08	2.68 x 10 ⁻¹
rs1340928	5	0.7	140	19.0	591	80.3	736	36	1.5	484	20.5	1846	78.0	2366	0.11	0.85	9.99 x 10 ⁻²
rs2096050	76	10.4	314	43.1	338	46.4	728	266	12.8	931	44.9	875	42.2	2072	0.34	0.86	8.63 x 10 ⁻¹
rs9554420	564	76.9	163	22.2	6	0.8	733	1910	79.0	473	19.6	35	1.4	2418	0.11	0.93	4.54 x 10 ⁻¹
rs9556813	229	31.0	366	49.5	144	19.5	739	641	28.4	1148	50.8	469	20.8	2258	0.45	1.08	1.93 x 10 ⁻¹
rs9556814	163	24.3	336	50.1	171	25.5	670	533	26.7	914	45.8	548	27.5	1995	0.49	0.99	8.89 x 10 ⁻¹
rs2792969	600	82.4	118	16.2	10	1.4	728	1858	85.5	298	13.7	16	0.7	2172	0.08	0.79	2.25 x 10 ⁻²

ID; identifier, MAF; minor allele frequency, OR; odds ratio, *; *P* value was calculated by Cochran-Armitage trend test.

注：Case、controls 共にタイピングできなかつたサンプルは除外して表示している

S3 Table. 13 SNPs の follow up study 結果

GWAS で得られた *p* 値を基準に 500 SNPs を選択して連鎖不平衡解析にて 355 SNPs に絞り追加でタイピングを施行した。患者サンプル (n=1150) と健常者サンプル (n=16,752) によるタイピングの結果、13 SNPs が $p < 0.0001$ に達したため、これらの SNP に対して更に患者サンプル (n=1229) をタイピングした。GWAS とフォローアップ解析で総計 3,164 名の患者サンプルを使用した。

SNP ID	Chr.	Stage	Cases				Controls				A 1	A 2	OR	95% CI	<i>P</i>	Risk
			1 1	1 2	2 2	Total	1 1	1 2	2 2	Total						
rs17320299 <i>CNTNAP5</i>	2	GWAS	51	319	415	785	153	1185	2045	3383	A	G	0.77	0.68-0.87	4.96 x 10 ⁻⁵	A
		Replication	130	873	1324	2327	885	5933	9934	16752			0.93	0.86-1.00	4.03 x 10 ⁻²	A
		Combined				3112				20135			0.89	0.83-0.94	1.98 x 10 ⁻⁴	A
rs2378357 <i>LPP</i>	3	GWAS	404	312	69	785	1976	1197	210	3383	T	C	1.28	1.13-1.45	8.22 x 10 ⁻⁵	C
		Replication	1241	871	140	2252	9381	6289	1081	16751			1.02	0.95-1.09	6.33 x 10 ⁻¹	C
		Combined				3037				20134			1.07	1.01-1.14	2.33 x 10 ⁻²	C
rs6842241 <i>EDNRA</i>	4	GWAS	100	373	312	785	323	1401	1648	3372	A	C	0.76	0.68-0.85	2.36 x 10 ⁻⁶	A
		Replication	247	1053	1042	2342	1587	6948	8215	16750			0.88	0.83-0.93	9.09 x 10 ⁻⁶	A
		Combined				3127				20122			0.85	0.80-0.90	5.32 x 10 ⁻⁹	A
rs4835405 <i>EDNRA</i>	4	GWAS	197	399	189	785	1058	1659	665	3382	T	C	1.24	1.10-1.38	1.44 x 10 ⁻⁴	C
		Replication	670	1139	493	2302	5205	8234	3312	16751			1.08	1.01-1.14	2.08 x 10 ⁻²	C
		Combined				3087				20133			1.11	1.05-1.17	7.97 x 10 ⁻⁵	C
rs4835412 <i>EDNRA</i>	4	GWAS	71	321	393	785	227	1249	1906	3382	A	G	0.81	0.71-0.91	4.47 x 10 ⁻⁴	A
		Replication	165	905	1271	2341	1099	6168	9482	16749			0.93	0.87-0.99	3.82 x 10 ⁻²	A
		Combined				3126				20131			0.89	0.84-0.95	2.73 x 10 ⁻⁴	A
rs1369169 <i>GRID2</i>	4	GWAS	194	376	215	785	986	1646	751	3383	T	G	1.21	1.08-1.35	5.83 x 10 ⁻⁴	G
		Replication	630	1129	554	2313	4628	8390	3734	16752			1.04	0.98-1.10	1.90 x 10 ⁻¹	G

		Combined				3098				20135			1.08	1.02-1.14	4.93 x 10 ⁻³	G
rs2074633	7	GWAS	258	382	145	785	1319	1582	481	3382	T	C	1.24	1.11-1.38	1.41 x 10 ⁻⁴	C
<i>HDAC9</i>		Replication	821	1161	381	2363	6520	7830	2401	16751			1.13	1.06-1.20	7.63 x 10 ⁻⁵	C
		Combined				3148				20133			1.16	1.10-1.22	8.43 x 10 ⁻⁸	C
rs12677056	8	GWAS	7	110	668	785	12	356	3015	3383	T	C	0.69	0.56-0.85	6.32 x 10 ⁻⁴	T
<i>CSMD3</i>		Replication	11	310	2021	2342	54	1842	14856	16752			0.81	0.71-0.91	6.07 x 10 ⁻⁴	T
		Combined				3127				20135			0.78	0.70-0.86	3.04 x 10 ⁻⁶	T
rs2740479	9	GWAS	101	352	332	785	324	1428	1631	3383	A	G	0.82	0.73-0.92	7.39 x 10 ⁻⁴	A
<i>ABCA1</i>		Replication	241	986	1056	2283	1681	7158	7911	16750			0.97	0.90-1.03	3.08 x 10 ⁻¹	A
		Combined				3068				20133			0.93	0.87-0.98	8.66 x 10 ⁻³	A
rs2651364	12	GWAS	30	237	518	785	76	830	2477	3383	T	C	0.73	0.63-0.84	1.29 x 10 ⁻⁵	C
<i>FGD4</i>		Replication	62	613	1624	2299	371	4279	12101	16751			0.92	0.85-1.00	6.44 x 10 ⁻²	C
		Combined				3084				20134			0.87	0.81-0.93	1.53 x 10 ⁻⁴	C
rs11836463	12	GWAS	19	133	633	785	22	464	2895	3381	A	C	0.66	0.55-0.79	1.04 x 10 ⁻⁵	C
<i>IRAK3</i>		Replication	20	357	1946	2323	116	2464	14162	16742			0.94	0.84-1.04	2.48 x 10 ⁻¹	C
		Combined				3108				20123			0.86	0.78-0.94	1.57 x 10 ⁻³	C
rs9584669	13	GWAS	725	60	0	785	2979	389	15	3383	T	C	0.60	0.45-0.79	2.76 x 10 ⁻⁴	T
<i>IPO5/RAP2A</i>		Replication	2231	142	6	2379	14939	1763	49	16751			0.57	0.48-0.66	2.10 x 10 ⁻¹¹	T
		Combined				3164				20134			0.58	0.50-0.66	6.78 x 10 ⁻¹⁴	T
rs7209800	17	GWAS	195	424	166	785	1081	1683	618	3382	A	G	1.22	1.10-1.36	3.27 x 10 ⁻⁴	G
<i>KCNJ2</i>		Replication	697	1109	516	2322	5305	8117	3330	16752			1.08	1.02-1.15	1.02 x 10 ⁻²	G
		Combined				3107				20134			1.12	1.06-1.18	7.78 x 10 ⁻⁵	G

Chr; chromosome, A1; allele 1, A 2; allele2, OR; odds ratio, CI; confidence interval,

Risk; Risk allele

注 : Case、controls 共にタイピングできなかつたサンプルは除外して表示している

S4 Table. rs9584669, rs6842241 及び rs2074663 と疾患関連因子の解析

ゲノムワイド有意性を満たした 3 SNPs と交絡因子の可能性を確認するため年齢、性別、及び古典的な危険因子である、糖尿病、高血圧、喫煙歴、脂質代謝異常症との関係を one-way ANOVA 及び χ^2 検定で解析した。結果として 3 SNPs 全てに統計学的に有意な相関を認めなかった。

dbSNP ID	Variable	Genotype				SUM	%	P		
		11	%	12	%				22	%
rs9584669	total	2956	93.4	202	6.4	6	0.2	3164	100.0	
	age*	70.7±0.17		70.7±0.65		69.5±3.64			9.43 x 10 ⁻¹	
	gender (male)	2306	93.6	154	6.3	4	0.2	2464	77.9	6.44 x 10 ⁻¹
	smoking	1732	92.8	129	6.9	6	0.3	1867	59.0	4.48 x 10 ⁻¹
	HT	1965	93.1	140	6.6	5	0.2	2110	66.7	4.65 x 10 ⁻¹
	DM	1186	94.1	73	5.8	2	0.2	1261	39.9	5.31 x 10 ⁻¹
	DL	958	93.0	72	7.0	0	0.0	1030	32.6	1.33 x 10 ⁻¹
	BI	541	93.3	37	6.4	2	0.3	580	18.3	6.57 x 10 ⁻¹
	CAD	1311	93.4	89	6.3	3	0.2	1403	44.3	9.75 x 10 ⁻¹
rs6842241	total	347	11.1	1426	45.6	1356	43.3	3129	100.0	
	age*	70.7±0.19		70.7±0.18		70.7±0.17			5.23 x 10 ⁻¹	
	gender (male)	315	12.9	1106	45.4	1017	41.7	2438	77.9	4.02 x 10 ⁻¹
	smoking	228	12.4	838	45.5	775	42.1	1841	58.8	4.40 x 10 ⁻²
	HT	251	12.0	991	47.6	842	40.4	2084	66.6	4.71 x 10 ⁻²
	DM	154	12.3	597	47.5	505	40.2	1256	40.1	3.30 x 10 ⁻¹
	DL	131	12.8	489	47.8	404	39.5	1024	32.7	2.59 x 10 ⁻¹
	BI	63	11.0	275	47.9	236	41.1	574	18.3	3.35 x 10 ⁻¹
	CAD	188	13.5	644	46.2	563	40.4	1395	44.6	3.41 x 10 ⁻¹
rs2074633	total	1079	34.3	1543	49.0	526	16.7	3148	100.0	
	age*	70.7±0.17		70.7±0.18		70.7±0.19			5.73 x 10 ⁻¹	
	gender (male)	698	28.5	1191	48.7	558	22.8	2448	77.8	1.15 x 10 ⁻¹
	smoking	491	26.7	890	48.3	460	25.0	1842	58.5	7.42 x 10 ⁻²
	HT	606	29.1	1017	48.8	463	22.2	2086	66.3	7.45 x 10 ⁻¹
	DM	364	28.9	606	48.2	288	22.9	1258	40.0	7.03 x 10 ⁻¹

DL	278	27.2	497	48.6	248	24.2	1023	32.5	6.12×10^{-2}
BI	170	29.4	293	50.6	116	20.0	579	18.4	3.52×10^{-1}
CAD	381	27.4	693	49.9	314	22.6	1388	44.1	1.12×10^{-1}

HT; hypertension, DM; diabetes mellitus, DL; dyslipidemia, BI; brain infarction, CAD; coronary artery diseases, * one-way ANOVA test

S5 Table. 染色体13q32 領域のSNP地図

96名のASO患者検体を使用してrs9584669 前後100kbをサンガーシーケンスして249 SNPsを検出した。(chromosome position (NCBI build 38); 97,658,003-97,758,002)

	rs_ID	アレル頻度					Location	MAF
		1_1	1_2	2_2	NG	total		
G/A	rs7981825	91	5	0	0	96	97661570	0.05
T/C	rs1318759	53	36	7	0	96	97662078	0.45
G/A	rs56271725	87	17	1	1	96	97662163	0.19
G/A	rs57653257	84	12	0	0	96	97662332	0.13
C/A	rs1832790	28	49	16	3	96	97662925	0.68
A/G	rs12584740	45	38	10	3	96	97663003	0.50
C/T	rs1417785	29	46	18	3	96	97663027	0.67
C/T	rs2226064	55	34	3	4	96	97663232	0.39
C/G	rs9516996	52	39	4	1	96	97663510	0.45
C/T	rs74106405	46	34	14	2	96	97663930	0.50
C/T	rs74106408	81	8	1	5	96	97664140	0.09
T/G	rs74106409	45	34	14	3	96	97664154	0.50
C/A	rs1771417	84	8	1	3	96	97664285	0.09
G/T	rs9554413	44	39	12	1	96	97664869	0.53
T/C	rs117336624	90	5	0	1	96	97664887	0.05
G/C	rs1771417	32	50	14	0	96	97665576	0.67
G/A	rs9584657	85	9	0	2	96	97665858	0.09
G/A	rs3858771	93	2	1	0	96	97674160	0.03
C/T	rs117163565	92	3	0	1	96	97674201	0.03

G/C	rs9300437	85	8	0	3	96	97674382	0.08
A/T	rs3858772	48	37	9	2	96	97674394	0.48
C/G	rs3848015	52	36	4	4	96	97674422	0.42
C/T	rs2793726	26	45	23	2	96	97674964	0.71
C/T	rs16954300	45	38	10	3	96	97675611	0.50
G/A	rs7991832	52	37	4	3	96	97675616	0.43
G/C	rs9556778	83	10	0	3	96	97676138	0.10
T/G	rs2066235	32	47	17	0	96	97676256	0.67
T/C	rs788178	86	7	0	3	96	97676305	0.07
T/C	rs9513268	22	46	24	4	96	97677079	0.73
T/C	rs9513629	22	46	24	4	96	97677119	0.73
C/T	rs9513270	22	46	24	4	96	97677129	0.73
C/T	rs9556779	41	42	9	4	96	97677133	0.53
G/A	97677385	83	8	0	5	96	97677385	0.08
G/C	rs61633390	55	33	6	2	96	97678094	0.41
A/G	rs9554415	49	35	10	2	96	97678301	0.47
C/T	rs9556780	42	37	13	3	96	97678788	0.52
A/T	rs2792949	34	46	16	0	96	97679348	0.65
C/T	rs72632675	64	25	7	0	96	97679562	0.33
A/T	rs72632676	43	41	12	0	96	97679850	0.55
C/T	rs76495612	92	3	0	1	96	97681971	0.03
C/T	rs2783482	32	47	17	0	96	97682683	0.67
A/C	rs74974832	87	5	1	3	96	97684133	0.06
G/A	rs9556785	41	39	12	4	96	97684152	0.53
G/T	rs9556786	44	39	12	1	96	97684228	0.53
T/C	rs1340926	46	45	4	1	96	97685966	0.51
G/A	rs9634446	71	20	4	1	96	97686141	0.25
T/C	rs78306195	93	3	0	0	96	97686501	0.03
C/G	rs4771280	41	38	4	3	96	97686601	0.44
G/A	rs55879778	44	43	8	1	96	97686696	0.53
A/G	rs1954171	41	38	4	3	96	97686837	0.44
G/A	rs9556788	75	6	10	5	96	97687491	0.17

T/C	rs6491361	32	48	16	0	96	97690617	0.67
A/G	rs9556789	51	38	3	4	96	97691374	0.43
A/G	rs9556790	31	45	16	4	96	97691569	0.64
C/T	rs9556791	88	7	0	1	96	97691869	0.07
T/C	rs2792953	34	45	17	0	96	97692527	0.65
C/T	rs2792954	33	55	8	0	96	97692559	0.66
A/G	rs35553232	24	58	13	1	96	97692667	0.74
T/C	rs4771282	25	50	21	0	96	97693867	0.74
C/G	rs4771283	53	39	3	1	96	97694206	0.44
G/A	rs9513275	52	39	4	1	96	97694419	0.45
G/T	rs147627167	93	3	0	0	96	97694654	0.03
C/T	rs9513276	47	39	7	3	96	97694677	0.48
G/A	rs9513277	52	41	3	0	96	97694727	0.46
A/G	rs8000730	24	49	23	0	96	97694846	0.75
C/T	rs9517007	49	40	7	0	96	97695099	0.49
G/A	97693784	85	6	2	3	96	97693784	0.08
G/A	97695902	95	1	0	0	96	97695902	0.01
T/A	rs79428276	93	3	0	0	96	97696048	0.03
C/A	rs1417784	51	41	3	1	96	97696267	0.46
T/C	rs9513278	49	41	3	3	96	97696459	0.46
G/A	rs4001161	50	40	3	3	96	97696478	0.45
C/T	rs9513279	50	41	3	2	96	97699799	0.46
T/C	rs9517016	50	42	3	1	96	97699889	0.47
C/A	rs1340922	44	45	6	1	96	97700254	0.53
A/G	rs9517018	41	40	2	3	96	97700716	0.44
G/A	rs9556794	84	9	0	3	96	97700723	0.09
A/C	rs9513280	45	44	6	1	96	97700836	0.52
T/C	rs9513281	41	46	5	4	96	97701194	0.53
A/G	97701266	75	21	0	0	96	97701266	0.22
T/G	rs9513282	49	23	24	0	96	97701709	0.49
C/A	rs9634504	88	8	0	0	96	97702024	0.08
T/A	rs75848732	90	6	0	0	96	97702229	0.06

T/C	rs149231290	93	2	0	1	96	97702450	0.02
C/T	rs16954372	88	3	0	5	96	97702595	0.03
A/G	rs10492663	89	2	0	5	96	97702637	0.02
T/C	rs35437866	42	35	4	5	96	97702708	0.41
A/C	rs9556795	85	10	0	1	96	97702725	0.10
T/C	97704042	95	1	0	0	96	97704042	0.01
T/A	rs9805548	86	10	0	0	96	97704712	0.10
A/T	rs117956076	58	34	0	4	96	97704736	0.35
T/A	rs4001162	86	10	0	0	96	97704907	0.10
G/A	rs9513283	52	40	3	1	96	97705006	0.45
C/A	97705107	95	1	0	0	96	97705107	0.01
A/G	rs1335674	32	45	16	3	96	97705293	0.64
G/T	97705591	95	1	0	0	96	97705591	0.01
C/T	rs73550014	76	14	0	6	96	97706016	0.15
G/T	rs76891935	91	5	0	0	96	97706072	0.05
C/T	rs4390451	44	46	6	0	96	97706431	0.54
C/A	rs9517019	51	39	4	2	96	97706987	0.45
A/G	rs4772008	48	39	4	5	96	97707255	0.45
C/A	rs9556797	84	11	0	1	96	97707395	0.11
T/C	rs7999800	52	38	4	2	96	97708252	0.44
T/C	rs8000134	53	39	4	0	96	97708397	0.45
A/G	rs9517021	47	44	5	0	96	97708836	0.51
C/T	rs9556799	86	10	0	0	96	97708855	0.10
T/A	rs9556800	49	40	4	3	96	97709003	0.46
G/A	rs11841047	53	39	3	1	96	97709162	0.44
G/A	rs370060236	94	1	0	1	96	97709169	0.01
A/G	rs2793734	33	41	19	3	96	97710332	0.63
G/C	rs2792955	33	43	19	1	96	97710583	0.65
C/G	rs11069274	54	36	3	3	96	97711000	0.41
T/C	rs9584669	84	9	0	3	96	97711228	0.09
C/T	rs60431837	87	6	0	3	96	97711231	0.06
G/A	rs193037394	92	4	0	0	96	97711260	0.04

T/G	97712395	95	1	0	0	96	97712395	0.01
T/G	rs74495396	85	11	0	0	96	97712527	0.11
G/A	rs75422594	88	8	0	0	96	97713210	0.08
T/C	rs116542862	92	3	0	1	96	97713789	0.03
G/C	97714013	95	1	0	0	96	97714013	0.01
G/A	97714930	95	1	0	0	96	97714930	0.01
G/A	rs2793735	35	45	15	1	96	97715995	0.63
G/C	rs74107397	47	39	9	1	96	97716027	0.50
C/T	rs41361245	87	8	1	0	96	97716770	0.09
C/T	rs41423152	49	35	10	2	96	97716910	0.47
T/G	rs4772009	44	46	6	0	96	97717146	0.54
G/T	97717804	94	1	0	1	96	97717804	0.01
T/G	rs140429030	86	7	0	3	96	97718264	0.07
A/C	rs2793736	34	44	16	2	96	97718316	0.63
A/G	rs79825818	93	3	0	0	96	97718495	0.03
C/A	rs375037224	94	2	0	0	96	97718804	0.02
T/C	rs6491362	92	3	0	1	96	97719570	0.03
A/C	rs77715206	87	8	0	1	96	97719719	0.08
G/C	rs7328072	94	2	0	0	96	97719997	0.02
G/A	rs7333002	94	2	0	0	96	97720139	0.02
C/T	rs180741732	95	1	0	0	96	97720206	0.01
G/C	97720394	94	1	0	1	96	97720394	0.01
T/C	rs76414258	84	8	0	4	96	97720719	0.08
A/G	rs9517022	51	38	3	4	96	97720766	0.43
T/G	rs9300439	44	42	6	4	96	97721078	0.50
A/T	rs11618191	54	36	4	2	96	97721397	0.42
G/A	rs9554417	86	8	0	2	96	97721668	0.08
C/A	97721779	92	4	0	0	96	97721779	0.04
G/A	rs9517023	57	35	4	0	96	97722018	0.41
T/C	rs9517024	49	42	5	0	96	97722531	0.49
T/G	rs9517025	51	39	6	0	96	97722765	0.47
T/C	97723204	94	1	0	1	96	97723204	0.01

C/T	rs1340916	35	42	15	4	96	97723493	0.59
T/C	rs9556805	90	6	0	0	96	97723871	0.06
G/A	rs9517027	56	38	2	0	96	97724393	0.42
G/A	rs9517028	54	37	3	2	96	97724986	0.42
A/C	rs17547248	83	9	0	4	96	97725461	0.09
C/T	rs141705219	93	3	0	0	96	97725703	0.03
T/G	rs9556806	86	10	0	0	96	97726577	0.10
C/T	rs9513285	48	44	3	1	96	97726777	0.49
T/C	rs73550060	91	3	0	2	96	97726916	0.03
G/T	rs79185963	91	3	0	2	96	97727314	0.03
C/T	rs144898837	93	3	0	0	96	97727902	0.03
G/A	rs9556807	85	8	0	3	96	97728496	0.08
C/T	rs73550061	89	3	0	4	96	97728850	0.03
G/A	97729310	91	5	0	0	96	97729310	0.05
A/C	rs9300440	88	8	0	0	96	97729358	0.08
G/A	rs78186825	89	7	0	0	96	97729527	0.07
G/A	rs1771428	88	8	0	0	96	97729559	0.08
G/A	rs76144690	88	8	0	0	96	97730174	0.08
C/T	97730774	93	2	0	1	96	97730774	0.02
C/T	97730777	86	9	0	1	96	97730777	0.09
G/A	rs113158156	86	9	0	1	96	97730731	0.09
G/A	rs111587991	93	2	0	1	96	97730734	0.02
G/A	rs9517032	53	38	3	2	96	97730765	0.43
C/T	rs145754033	89	4	0	3	96	97730782	0.04
C/G	rs1771423	84	19	0	3	96	97730814	0.20
G/A	rs9517034	53	38	2	3	96	97730825	0.42
C/T	97730831	87	6	0	3	96	97730831	0.06
G/C	rs1772372	84	10	0	2	96	97730896	0.10
C/G	rs78812522	36	16	41	3	96	97735749	0.59
G/A	rs9517045	36	10	47	3	96	97735756	0.59
T/C	97735934	94	1	0	1	96	97735934	0.01
T/C	97736143	90	4	0	2	96	97736143	0.04

G/T	rs188093252	91	2	0	3	96	97736278	0.02
A/G	rs9554418	87	9	0	0	96	97736310	0.09
G/T	rs150251753	89	5	0	2	96	97736551	0.05
G/T	rs9554419	81	13	0	2	96	97736557	0.14
A/G	rs2793697	83	12	0	1	96	97736590	0.13
C/T	rs17450204	86	8	0	2	96	97736705	0.08
C/A	rs116467134	88	6	0	2	96	97736839	0.06
A/G	rs2793698	70	23	0	3	96	97737103	0.24
G/A	rs2793699	84	11	0	1	96	97737273	0.11
T/A	rs17547381	84	8	0	4	96	97737734	0.08
C/A	rs2792959	83	10	0	3	96	97737984	0.10
G/T	97738350	94	2	0	0	96	97738350	0.02
C/T	rs2792961	85	8	0	3	96	97738635	0.08
A/T	rs75358164	88	6	0	2	96	97738782	0.06
G/A	rs9517046	52	35	9	0	96	97739162	0.46
T/C	97739281	95	1	0	0	96	97739281	0.01
G/T	97739728	95	1	0	0	96	97739728	0.01
T/C	rs2792962	88	8	0	0	96	97739777	0.08
A/G	rs12429372	42	43	11	0	96	97739806	0.56
T/C	rs57307026	93	3	0	0	96	97739831	0.03
A/T	97739845	95	1	0	0	96	97739845	0.01
G/A	rs2792963	88	8	0	0	96	97739935	0.08
C/T	rs12430953	39	46	6	5	96	97741526	0.54
C/A	rs2792966	43	43	5	5	96	97741755	0.50
C/T	97742729	95	1	0	0	96	97742729	0.01
T/C	rs12874533	40	49	7	0	96	97742824	0.58
C/G	rs1340928	77	19	0	0	96	97743165	0.20
C/T	rs1340927	88	8	0	0	96	97743359	0.08
T/C	rs9556810	86	10	0	0	96	97743424	0.10
C/A	rs2793700	83	11	0	2	96	97743487	0.11
C/T	rs1771422	78	16	0	2	96	97744079	0.17
G/A	rs1772376	78	15	0	3	96	97744225	0.16

A/T	97744486	95	1	0	0	96	97744486	0.01
T/C	rs73553904	86	5	0	5	96	97745248	0.05
A/G	rs9556811	29	37	26	4	96	97745317	0.66
G/T	rs1772374	72	24	0	0	96	97745372	0.25
G/A	rs1623261	75	19	0	2	96	97746617	0.20
G/A	97746668	89	1	0	6	96	97746668	0.01
A/G	rs1631073	75	15	0	6	96	97746677	0.16
C/T	rs1630970	76	15	0	5	96	97746715	0.16
G/A	rs1620765	76	15	0	5	96	97746884	0.16
T/C	rs12583172	35	53	8	0	96	97747828	0.64
C/A	rs2793701	74	17	0	5	96	97748352	0.18
T/C	rs144467531	86	8	0	2	96	97748411	0.08
G/T	rs9517048	54	37	3	2	96	97748487	0.42
G/A	97748488	92	2	0	2	96	97748488	0.02
G/A	rs148005237	90	4	0	2	96	97748508	0.04
G/A	rs2096050	39	49	8	0	96	97749686	0.59
G/A	rs875609	90	6	0	0	96	97749784	0.06
C/T	rs1771416	76	18	0	2	96	97750656	0.19
C/A	rs9513292	75	17	0	4	96	97750903	0.18
G/A	rs4325404	41	42	10	3	96	97751038	0.54
T/A	rs75655055	94	2	0	0	96	97751500	0.02
C/T	rs188831865	94	2	0	0	96	97751888	0.02
G/C	rs9554420	72	22	0	2	96	97752058	0.23
G/A	rs2793703	73	16	0	7	96	97752500	0.17
G/A	rs144806599	93	3	0	0	96	97752792	0.03
C/A	rs12584717	43	41	10	2	96	97752965	0.53
G/A	rs80239572	88	8	0	0	96	97753472	0.08
A/G	97753880	95	1	0	0	96	97753880	0.01
C/T	rs74242939	88	8	0	0	96	97755546	0.08
C/T	97755628	95	1	0	0	96	97755628	0.01
C/A	rs9556812	53	38	4	1	96	97755898	0.44
G/A	rs193132170	95	1	0	0	96	97756292	0.01

A/C	rs67404893	84	11	1	0	96	97756796	0.13
T/C	rs9556813	23	55	18	0	96	97756830	0.76
C/G	97756961	95	1	0	0	96	97756961	0.01
T/C	rs9556814	24	47	25	0	96	97757148	0.75
T/G	rs2792969	80	7	0	2	96	97757465	0.07
A/C	97757657	94	1	0	1	96	97757657	0.01

MAF; minor allele frequency

S6 Table. 355 SNPs のフォローアップ解析結果

GWAS で得られた p 値を基準に 500 SNPs を選択して連鎖不平衡解析にて 355 SNPs に絞りこみ、患者サンプル (n=1,150) と健常者サンプル (n=16,752) 使用してタイピングした。

SNP_ID	Chr.	Stage	Case 11	Case 12	Case 22	Con 11	Con 12	Con 22	a 1	a 2	OR	P-value	R
rs575367	1	GWAS	1	39	745	1	69	3313	T	G	0.40	1.68E-06	T
		2nd	0	40	1092	7	492	16253			0.85	3.38E-01	T
		Combined									0.64	2.84E-04	T
rs6661767	1	GWAS	342	351	92	1701	1400	281	T	G	1.27	7.73E-05	G
		2nd	562	498	97	8559	6766	1397			1.07	1.76E-01	G
		Combined									1.14	4.72E-04	G
rs16853788	1	GWAS	725	60	0	2962	398	19	A	C	0.58	8.48E-05	A
		2nd	929	120	4	14828	1861	63			1.03	7.82E-01	C
		Combined									0.84	2.34E-02	A
rs197644	1	GWAS	137	383	265	776	1638	969	T	C	1.23	1.77E-04	C
		2nd	229	550	346	3590	8355	4807			1.07	1.48E-01	C
		Combined									1.13	5.22E-04	C
rs11210273	1	GWAS	3	64	718	1	178	3190	A	G	0.59	1.92E-04	A
		2nd	2	59	1094	26	1050	15675			1.21	1.44E-01	G
		Combined									0.91	3.01E-01	A
rs1192617	1	GWAS	266	351	168	905	1640	837	A	G	0.82	2.49E-04	A
		2nd	325	576	255	4747	8299	3704			1.00	9.36E-01	G
		Combined									0.93	2.67E-02	A
rs12564396	1	GWAS	52	319	414	366	1415	1602	A	G	1.25	2.55E-04	G

		2nd	120	467	565	1627	7161	7961			1.02	6.85E-01	A
		Combined									1.10	9.98E-03	G
rs12755597	1	GWAS	47	309	429	167	1113	2103	A	G	0.79	2.56E-04	A
		2nd	51	397	713	822	5720	10209			1.03	5.81E-01	G
		Combined									0.93	7.11E-02	A
rs2486674	1	GWAS	530	227	28	2053	1154	175	A	G	0.77	2.82E-04	A
		2nd	712	390	49	10334	5614	802			0.98	6.96E-01	A
		Combined									0.90	1.10E-02	A
rs4462122	1	GWAS	643	134	8	2569	758	55	A	C	0.72	3.57E-04	A
		2nd	892	241	12	13110	3394	246			1.00	9.68E-01	A
		Combined									0.88	2.48E-02	A
rs386978	1	GWAS	4	123	658	56	666	2661	T	C	1.42	3.61E-04	C
		2nd	20	260	876	251	3542	12955			0.92	1.99E-01	T
		Combined									1.06	2.72E-01	C
rs884518	1	GWAS	95	379	309	554	1677	1152	A	G	1.23	3.76E-04	G
		2nd	211	631	538	2627	7882	6243			1.05	2.78E-01	G
		Combined									1.10	3.48E-03	G
rs3021094	1	GWAS	266	366	153	1291	1606	485	T	G	1.22	5.72E-04	G
		2nd	438	543	177	6204	7939	2605			0.98	6.18E-01	T
		Combined									1.06	8.85E-02	G
rs4655463	1	GWAS	112	357	316	373	1447	1563	T	G	0.82	5.89E-04	T
		2nd	125	500	528	1809	7313	7628			1.00	9.17E-01	T
		Combined									0.93	4.09E-02	T
rs9645433	1	GWAS	729	52	4	3228	155	0	A	G	1.68	6.10E-04	G
		2nd	1100	48	0	15838	892	21			0.74	4.96E-02	A
		Combined									1.05	6.32E-01	G
rs17672688	1	GWAS	10	144	631	68	791	2524	A	G	1.36	6.24E-04	G
		2nd	18	260	866	290	3629	12833			0.97	6.04E-01	A
		Combined									1.09	8.63E-02	G
rs4925776	1	GWAS	329	352	104	1216	1600	565	A	G	0.82	6.70E-04	A
		2nd	391	568	181	6330	7899	2519			1.09	4.02E-02	G
		Combined									0.98	6.31E-01	A

rs7546131	1	GWAS	160	366	257	509	1630	1244	T	C	0.82	6.87E-04	T
		2nd	191	571	394	2768	7951	6033			0.96	3.63E-01	T
		Combined									0.91	5.23E-03	T
rs12033655	1	GWAS	129	405	251	751	1671	961	T	C	1.21	6.87E-04	C
		2nd	267	558	333	3683	8322	4744			0.99	7.68E-01	T
		Combined									1.06	7.23E-02	C
rs1317558	1	GWAS	4	81	700	4	248	3131	T	C	0.66	7.53E-04	T
		2nd	6	86	1063	39	1301	15412			0.97	7.70E-01	T
		Combined									0.83	2.18E-02	T
rs10865262	2	GWAS	600	169	15	2277	1008	97	T	C	0.67	1.12E-06	T
		2nd	764	321	40	11444	4751	531			1.03	5.92E-01	C
		Combined									0.89	1.17E-02	T
rs11125535	2	GWAS	20	210	555	140	1117	2126	T	C	1.38	2.20E-05	C
		2nd	64	362	728	704	5334	10714			0.93	2.03E-01	T
		Combined									1.07	1.22E-01	C
rs13032879	2	GWAS	163	395	227	561	1600	1222	A	G	0.79	4.12E-05	A
		2nd	185	547	401	2935	8085	5730			1.05	2.68E-01	G
		Combined									0.94	9.94E-02	A
rs17320299	2	GWAS	51	319	415	153	1185	2045	A	G	0.77	4.14E-05	A
		2nd	70	432	658	885	5933	9934			0.91	6.59E-02	A
		Combined									0.86	8.67E-05	A
rs1526070	2	GWAS	538	226	21	2079	1144	160	A	G	0.75	5.94E-05	A
		2nd	742	350	55	10538	5504	710			0.96	4.82E-01	A
		Combined									0.88	2.59E-03	A
rs6754391	2	GWAS	13	177	595	94	959	2329	T	C	1.38	9.24E-05	C
		2nd	41	317	785	469	4598	11685			0.94	2.49E-01	T
		Combined									0.15	1.07E-00	C
rs9646859	2	GWAS	360	338	87	1299	1605	478	A	G	0.79	1.01E-04	A
		2nd	426	569	136	6717	7771	2263			1.02	6.50E-01	G
		Combined									0.93	4.30E-02	A
rs17783590	2	GWAS	5	133	647	16	398	2967	T	C	0.68	1.10E-04	T
		2nd	6	148	996	86	2180	14485			1.01	9.08E-01	C

		Combined									0.86	2.39E-02	T
rs2080727	2	GWAS	668	109	8	2668	674	41	T	C	0.69	2.01E-04	T
		2nd	900	224	13	13267	3248	222			1.00	9.58E-01	T
		Combined									0.88	2.16E-02	T
rs1561324	2	GWAS	5	141	639	19	434	2930	A	G	0.70	3.42E-04	A
		2nd	5	159	997	87	2278	14387			1.01	9.42E-01	G
		Combined									0.87	3.26E-02	A
rs12472249	2	GWAS	12	104	669	14	358	3011	T	C	0.69	3.73E-04	T
		2nd	7	142	1010	79	2003	14669			0.96	5.98E-01	T
		Combined									0.84	9.25E-03	T
rs7557757	2	GWAS	0	43	742	2	94	3287	T	C	0.53	3.83E-04	T
		2nd	0	35	1122	8	508	16235			1.03	8.48E-01	T
		Combined									0.77	3.78E-02	T
rs1816208	2	GWAS	579	187	19	2675	654	48	T	C	1.33	4.00E-04	C
		2nd		NG		12888	3597	252					
		Combined											
rs935840	2	GWAS	30	269	486	100	954	2307	T	G	0.78	4.10E-04	T
		2nd	31	342	776	486	4948	11300			1.01	8.95E-01	G
		Combined									0.91	4.01E-02	T
rs17418194	2	GWAS	2	67	716	4	181	3198	T	C	0.61	4.27E-04	T
		2nd	2	81	1075	14	978	15759			0.81	7.05E-02	T
		Combined									0.73	3.13E-04	T
rs2581081	2	GWAS	213	393	179	1111	1640	632	A	G	1.22	4.35E-04	G
		2nd	367	558	229	5187	8266	3299			0.99	7.48E-01	A
		Combined									1.07	5.79E-02	G
rs16830502	2	GWAS	7	163	615	32	507	2844	A	G	0.73	4.44E-04	A
		2nd	12	184	962	138	2743	13871			1.00	9.61E-01	G
		Combined									0.89	3.45E-02	A
rs16827136	2	GWAS	75	318	392	234	1254	1894	A	C	0.81	4.97E-04	A
		2nd		NG		1260	6476	9016			-	-	
		Combined									-	-	
rs12619798	2	GWAS	33	257	495	94	956	2332	T	C	0.78	5.90E-04	T

		2nd	47	341	770	523	5041	11188			0.96	4.57E-01	T
		Combined									0.89	7.79E-03	T
rs2114808	2	GWAS	216	412	157	1161	1636	586	A	G	1.21	5.94E-04	G
		2nd	376	574	205	5633	8092	3026			1.02	7.22E-01	G
		Combined									1.08	1.78E-02	G
rs2376187	2	GWAS	18	181	586	38	652	2691	T	C	0.75	6.05E-04	T
		2nd	19	234	906	183	3202	13367			0.90	1.02E-01	T
		Combined									0.84	6.52E-04	T
rs10173794	2	GWAS	121	361	303	621	1676	1085	A	G	1.22	6.20E-04	G
		2nd	178	577	397	3095	8036	5620			1.08	6.63E-02	G
		Combined									1.13	3.84E-04	G
rs10172922	2	GWAS	249	390	146	905	1694	783	T	C	0.82	6.59E-04	T
		2nd	245	499	249	4559	8394	3799			1.10	3.19E-02	C
		Combined									0.98	6.10E-01	T
rs4972281	2	GWAS	354	345	86	1730	1373	280	T	C	1.23	6.62E-04	C
		2nd	604	472	80	8299	6945	1507			0.89	1.51E-02	T
		Combined									1.01	8.85E-01	C
rs16827148	2	GWAS	392	318	74	1897	1249	237	T	G	1.23	6.76E-04	G
		2nd	636	438	79	9015	6472	1261			0.95	2.95E-01	T
		Combined									1.05	2.10E-01	G
rs10183733	2	GWAS	12	166	607	33	562	2786	A	G	0.75	7.96E-04	A
		2nd	13	193	953	168	3034	13549			1.07	3.43E-01	G
		Combined									0.93	1.98E-01	A
rs16834591	2	GWAS	147	383	255	509	1582	1292	A	G	0.82	6.51E-04	A
		2nd	169	547	422	2500	7874	6377			0.98	6.66E-01	A
		Combined									0.92	1.45E-02	A
rs12713280	2	GWAS	3	75	707	20	474	2888	T	C	1.51	7.48E-04	C
		2nd	6	159	983	72	2102	14576			0.89	1.69E-01	T
		Combined									1.07	3.08E-01	C
rs17762788	3	GWAS	238	387	160	1259	1615	509	T	G	1.29	8.37E-06	G
		2nd	387	569	176	5939	8026	2786			1.00	9.32E-01	G
		Combined									1.10	5.20E-03	G

rs7615745	3	GWAS	88	351	346	274	1346	1763	T	C	0.77	1.32E-05	T
		2nd	93	481	557	1554	6922	8271			1.02	6.47E-01	C
		Combined									0.92	2.11E-02	T
rs7630843	3	GWAS	374	329	82	1841	1308	234	T	C	1.28	3.89E-05	C
		2nd	648	426	75	8955	6547	1248			0.90	4.45E-02	T
		Combined									1.04	3.52E-01	C
rs11129176	3	GWAS	24	220	541	57	771	2553	A	G	0.73	3.94E-05	A
		2nd	19	302	814	376	4148	12228			0.97	6.46E-01	A
		Combined									0.87	4.38E-03	A
rs4686912	3	GWAS	331	350	104	1662	1396	325	A	G	1.26	5.50E-05	G
		2nd	497	537	106	7801	7192	1743			1.04	3.48E-01	G
		Combined									1.12	1.22E-03	G
rs2378357	3	GWAS	404	312	69	1976	1197	210	T	C	1.27	1.04E-04	C
		2nd	599	470	75	9381	6289	1081			1.10	4.66E-02	C
		Combined									1.16	7.02E-05	C
rs16822383	3	GWAS	641	137	7	2940	427	16	A	G	1.46	1.05E-04	G
		2nd	983	162	4	14364	2278	107			0.99	9.42E-01	A
		Combined									1.16	2.14E-02	G
rs1440626	3	GWAS	76	346	363	258	1299	1826	A	C	0.79	1.08E-04	A
		2nd	77	478	580	1438	6694	8620			1.04	4.64E-01	C
		Combined									0.93	7.33E-02	A
rs13072365	3	GWAS	306	368	111	1529	1506	348	A	G	1.25	1.31E-04	G
		2nd	477	543	128	7225	7539	1988			1.02	6.74E-01	G
		Combined									1.10	8.11E-03	G
rs9875090	3	GWAS	205	404	176	1130	1606	647	T	G	1.23	1.65E-04	G
		2nd	358	563	220	5337	8214	3199			1.01	7.55E-01	G
		Combined									1.09	1.00E-02	G
rs6549876	3	GWAS	217	391	177	1144	1621	617	T	C	1.23	1.78E-04	C
		2nd	403	528	219	5623	8138	2966			1.00	9.57E-01	T
		Combined									1.08	2.34E-02	C
rs2199351	3	GWAS	37	275	473	246	1316	1821	A	G	1.27	2.60E-04	G
		2nd	79	455	620	1106	6313	9331			0.94	2.37E-01	A

		Combined									1.05	1.94E-01	G
rs11920832	3	GWAS	297	377	111	1498	1515	370	A	C	1.24	2.69E-04	C
		2nd	449	563	139	7137	7582	2032			1.08	8.43E-02	C
		Combined									1.14	3.49E-04	C
rs575242	3	GWAS	357	329	99	1279	1600	504	A	G	0.81	2.69E-04	A
		2nd	479	491	187	6521	7775	2456			0.98	6.44E-01	A
		Combined									0.91	9.27E-03	A
rs9825725	3	GWAS	459	277	49	2180	1062	137	T	C	1.27	3.08E-04	C
		2nd	733	370	48	10764	5291	695			1.02	7.29E-01	C
		Combined									1.11	1.22E-02	C
rs6768035	3	GWAS	268	375	142	1351	1557	475	A	G	1.23	3.30E-04	G
		2nd	489	508	152	6657	7802	2292			0.93	1.16E-01	A
		Combined									1.03	3.30E-01	G
rs4974067	3	GWAS	258	390	137	954	1659	770	T	C	0.82	3.86E-04	T
		2nd	358	553	241	4701	8299	3752			0.91	3.74E-02	T
		Combined									0.88	1.27E-04	T
rs445658	3	GWAS	317	354	114	1540	1495	348	A	G	1.23	3.86E-04	G
		2nd	535	486	125	7661	7261	1829			0.98	6.37E-01	A
		Combined									1.07	7.19E-02	G
rs331855	3	GWAS	178	376	231	919	1657	807	A	G	1.22	3.87E-04	G
		2nd	340	542	263	4489	8322	3938			0.93	1.13E-01	A
		Combined									1.03	3.50E-01	G
rs4686507		GWAS	236	366	183	805	1661	917	A	G	0.82	3.94E-04	A
		2nd	348	693	354	4114	8368	4270			0.99	7.99E-01	A
		Combined									0.93	2.29E-02	A
rs10512830	3	GWAS	449	295	41	1746	1350	287	T	C	0.80	4.48E-04	T
		2nd	570	454	81	8921	6587	1238			1.04	4.05E-01	C
		Combined									0.94	1.25E-01	T
rs17735715	3	GWAS	53	315	417	358	1407	1618	T	C	1.24	4.80E-04	C
		2nd	107	488	559	1553	6977	8221			0.98	7.48E-01	T
		Combined									1.07	5.70E-02	C
rs6779973	3	GWAS	58	319	408	346	1486	1551	A	G	1.24	5.40E-04	G

		2nd	132	481	547	1784	7116	7852			0.99	8.25E-01	A
		Combined									1.07	5.55E-02	G
rs1584576	3	GWAS	202	375	208	1020	1647	715	T	G	1.21	5.43E-04	G
		2nd		NG		4744	8373	3626			-	-	
		Combined									-	-	
rs1995191		GWAS	91	332	362	491	1552	1340	T	C	1.22	5.62E-04	C
		2nd	168	564	415	2189	7794	6769			0.88	5.05E-03	T
		Combined									1.00	9.36E-01	C
rs2121671	3	GWAS	183	389	213	635	1661	1087	T	C	0.83	6.20E-04	T
		2nd	225	578	354	3396	8234	5122			1.02	6.93E-01	C
		Combined									0.94	7.66E-02	T
rs2049339	3	GWAS	649	128	8	2940	432	11	T	G	1.41	6.25E-04	G
		2nd	974	170	6	14266	2359	127			1.02	8.45E-01	G
		Combined									1.15	2.89E-02	G
rs11917814	3	GWAS	236	387	162	839	1701	843	T	C	0.83	6.47E-04	T
		2nd	296	570	292	4245	8283	4223			1.00	9.21E-01	T
		Combined									0.93	3.13E-02	T
rs11713137	3	GWAS	23	221	541	160	1091	2132	A	G	1.28	6.99E-04	G
		2nd		NG		657	5286	10808			-	-	
		Combined									-	-	
rs12489066		GWAS	523	231	31	2441	858	84	A	C	1.28	7.01E-04	C
		2nd	803	320	33	11692	4583	476			1.01	8.28E-01	C
		Combined									1.11	2.55E-02	C
rs9838562	3	GWAS	89	367	329	321	1409	1653	A	C	0.82	7.23E-04	A
		2nd	101	494	563	1676	7282	7794			1.08	9.06E-02	C
		Combined									0.97	4.74E-01	A
rs17755786	3	GWAS	2	76	707	19	471	2893	T	C	1.52	7.25E-04	C
		2nd	5	151	989	78	2146	14523			0.98	7.73E-01	T
		Combined									1.14	6.39E-02	C
rs1547589	3	GWAS	48	291	446	141	1126	2116	T	C	0.80	8.25E-04	T
		2nd	46	367	705	787	5536	10429			1.04	4.39E-01	C
		Combined									0.94	1.48E-01	T

rs4389469	3	GWAS	134	378	273	457	1562	1363	T	C	0.83	8.44E-04	T
		2nd	174	516	436	2469	7747	6536			0.98	6.36E-01	T
		Combined									0.92	1.51E-02	T
rs4234688		GWAS	31	247	507	196	1206	1979	T	C	1.26	8.49E-04	C
		2nd	52	386	717	894	5826	10032			1.09	9.42E-02	C
		Combined									1.15	7.22E-04	C
rs6549882	3	GWAS	582	188	15	2301	991	91	T	G	0.77	8.59E-04	T
		2nd		NG		11477	4776	498			-	-	
		Combined									-	-	
rs6842241	4	GWAS	100	373	312	323	1401	1648	A	C	0.76	2.70E-06	A
		2nd	119	502	503	1587	6948	8215			0.88	7.41E-03	A
		Combined									0.83	4.74E-07	A
rs2925947	4	GWAS	332	345	108	1661	1418	301	A	G	1.30	7.03E-06	G
		2nd	525	489	102	7844	7250	1655			0.98	6.39E-01	A
		Combined									1.09	1.64E-02	G
rs9996626	4	GWAS	112	349	319	616	1671	1096	T	C	1.29	8.49E-06	C
		2nd	182	573	394	2802	8035	5844			1.00	9.19E-01	C
		Combined									1.10	5.10E-03	C
rs2995917	4	GWAS	399	317	69	1975	1216	191	T	C	1.32	1.00E-05	C
		2nd	632	441	76	9254	6392	1106			1.01	8.95E-01	C
		Combined									1.11	5.30E-03	C
rs11939513	4	GWAS	426	296	63	2076	1140	166	T	C	1.32	1.58E-05	C
		2nd	660	412	60	9712	6079	961			0.98	6.80E-01	T
		Combined									1.10	2.07E-02	C
rs10007831	4	GWAS	9	130	646	72	769	2540	T	C	1.49	1.70E-05	C
		2nd	20	241	883	281	3728	12743			1.05	4.69E-01	C
		Combined									1.19	1.21E-03	C
rs2016740	4	GWAS	275	365	145	921	1708	753	T	C	0.79	3.35E-05	T
		2nd	232	412	155	4999	8286	3450			0.99	8.81E-01	T
		Combined									0.90	3.59E-03	T
rs2866217	4	GWAS	193	392	200	658	1647	1078	A	G	0.79	3.93E-05	A
		2nd	213	564	354	3214	8252	5285			1.00	9.62E-01	G

		Combined									0.92	1.24E-02	A
rs11730156	4	GWAS	457	278	50	2193	1050	139	A	C	1.29	1.01E-04	C
		2nd	736	373	36	10605	5426	719			0.94	2.25E-01	A
		Combined									1.06	1.50E-01	C
rs4835405	4	GWAS	197	399	189	1058	1659	665	T	C	1.24	1.47E-04	C
		2nd	312	567	249	5205	8234	3312			1.12	8.32E-03	C
		Combined									1.16	9.85E-06	C
rs7678991	4	GWAS	28	252	504	175	1258	1950	T	C	1.28	4.04E-04	C
		2nd	53	417	686	882	5786	10083			1.00	9.25E-01	T
		Combined									1.09	3.92E-02	C
rs9291493	4	GWAS	122	397	266	428	1589	1365	T	C	0.82	4.68E-04	T
		2nd	146	507	500	2248	7864	6637			1.10	2.98E-02	C
		Combined									0.99	6.94E-01	T
rs1980391	4	GWAS	332	361	92	1264	1563	556	T	C	0.82	4.84E-04	T
		2nd	453	538	153	6381	7831	2540			0.93	1.19E-01	T
		Combined									0.89	6.70E-04	T
rs4835412	4	GWAS	71	321	393	227	1249	1906	A	G	0.81	5.12E-04	A
		2nd	85	455	612	1099	6168	9482			0.89	2.23E-02	A
		Combined									0.86	7.08E-05	A
rs1459506	4	GWAS	145	401	239	808	1688	887	A	G	1.22	5.59E-04	G
		2nd	241	605	313	3938	8298	4515			1.06	1.98E-01	G
		Combined									1.11	1.82E-03	G
rs13114034	4	GWAS	669	108	8	3019	351	13	A	G	1.44	5.61E-04	G
		2nd	1028	128	3	14675	1882	157			0.87	1.52E-01	A
		Combined									1.06	3.80E-01	G
rs2995919	4	GWAS	126	361	298	401	1523	1452	T	C	0.82	6.09E-04	T
		2nd	136	517	478	2165	7660	6926			1.04	3.84E-01	C
		Combined									0.95	1.57E-01	T
rs6600814	4	GWAS	323	354	108	1570	1472	339	T	G	1.22	6.09E-04	G
		2nd	501	511	143	7568	7265	1916			1.06	1.79E-01	G
		Combined									1.12	1.56E-03	G
rs13110178	4	GWAS	78	317	390	394	1555	1434	A	G	1.23	6.64E-04	G

		2nd	123	505	518	1869	7369	7511			1.02	7.01E-01	G
		Combined									1.09	1.71E-02	G
rs7691894	4	GWAS	287	381	117	1438	1538	400	A	G	1.22	6.68E-04	G
		2nd	499	508	150	7187	7604	1955			1.02	5.97E-01	G
		Combined									1.09	1.27E-02	G
rs6844506	4	GWAS	19	212	554	130	1067	2179	T	C	1.29	6.80E-04	C
		2nd	39	383	733	635	5216	10898			0.96	4.85E-01	T
		Combined									1.07	1.33E-01	C
rs1369169	4	GWAS	194	376	215	986	1646	751	T	G	1.21	6.91E-04	G
		2nd	283	585	289	4628	8390	3734			1.12	6.26E-03	G
		Combined									1.16	2.07E-05	G
rs12501488	4	GWAS	398	316	71	1509	1465	406	A	G	0.82	7.31E-04	A
		2nd	506	526	121	7501	7374	1876			1.00	9.26E-01	G
		Combined									0.93	4.43E-02	A
rs2029635	4	GWAS	24	256	505	93	886	2403	A	G	0.79	7.56E-04	A
		2nd		NG		489	4644	11616			-	-	
		Combined									-	-	
rs10024834	4	GWAS	228	397	160	1177	1636	570	A	G	1.21	7.80E-04	G
		2nd	253	398	141	5883	8034	2833			1.09	1.09E-01	G
		Combined									1.14	5.46E-04	G
rs1113272	4	GWAS	58	314	413	353	1442	1587	T	C	1.23	8.09E-04	C
		2nd		NG		1631	7093	8024			-	-	
		Combined									-	-	
rs7735526	5	GWAS	522	241	22	2489	823	71	T	G	1.33	9.94E-05	G
		2nd	839	284	25	12281	4153	317			1.02	7.31E-01	G
		Combined									1.13	7.56E-03	G
rs263350	5	GWAS	573	193	19	2659	688	36	A	G	1.37	1.15E-04	G
		2nd	900	241	15	13017	3470	259			0.98	7.91E-01	A
		Combined									1.12	3.36E-02	G
rs1469684	5	GWAS	26	183	576	138	1023	2222	A	G	1.34	1.29E-04	G
		2nd	59	356	732	607	5044	11101			0.88	1.93E-02	A
		Combined									1.02	6.20E-01	G

rs818121	5	GWAS	335	365	85	1264	1580	539	T	C	0.80	1.45E-04	T
		2nd	427	532	177	6590	7700	2455			1.06	2.06E-01	C
		Combined									0.95	1.82E-01	T
rs379439	5	GWAS	217	407	161	1172	1622	580	A	C	1.24	1.69E-04	C
		2nd	393	541	194	5834	8058	2857			1.00	9.51E-01	C
		Combined									1.09	1.82E-02	C
rs10473985	5	GWAS	1	83	701	4	223	3156	A	G	0.61	1.77E-04	A
		2nd	3	71	1083	24	1116	15612			1.05	7.10E-01	G
		Combined									0.84	4.07E-02	A
rs6874435	5	GWAS	586	185	14	2720	629	34	A	G	1.37	1.80E-04	G
		2nd	639	142	13	13526	3040	183			1.05	5.98E-01	G
		Combined									1.19	3.15E-03	G
rs10940593	5	GWAS	75	361	349	266	1354	1762	A	C	0.80	2.28E-04	A
		2nd	105	577	705	1395	7003	8354			1.04	3.36E-01	C
		Combined									0.95	1.83E-01	A
rs155783	5	GWAS	152	405	228	547	1616	1216	T	C	0.81	2.38E-04	T
		2nd	186	545	417	2766	7982	6004			1.02	7.09E-01	C
		Combined									0.93	5.16E-02	T
rs1821263	5	GWAS	39	308	437	149	1084	2150	T	C	0.79	2.56E-04	T
		2nd	57	364	725	747	5500	10502			1.00	9.79E-01	T
		Combined									0.91	2.65E-02	T
rs153445	5	GWAS	42	265	478	233	1338	1812	A	G	1.27	2.92E-04	G
		2nd	83	466	608	1140	6362	9250			0.93	1.08E-01	A
		Combined									1.04	3.57E-01	G
rs6882257	5	GWAS	8	125	652	51	722	2610	T	C	1.40	3.79E-04	C
		2nd	13	227	912	216	3290	13241			1.01	8.46E-01	C
		Combined									1.14	1.87E-02	C
rs1065018	5	GWAS	477	264	44	1809	1339	235	A	G	0.79	4.35E-04	A
		2nd	601	463	80	9212	6393	1146			1.07	1.69E-01	G
		Combined									0.96	2.91E-01	A
rs11749475	5	GWAS	54	324	407	356	1454	1568	T	C	1.24	4.81E-04	C
		2nd		NG		1494	7138	8119			-	-	

		Combined									-	-	
rs700917	5	GWAS	249	405	131	939	1686	756	A	G	0.82	5.44E-04	A
		2nd		NG			NG				-	-	
		Combined									-	-	
rs1038143	5	GWAS	15	165	605	28	588	2767	A	G	0.74	5.83E-04	A
		2nd	8	216	932	202	3263	13272			1.10	1.69E-01	G
		Combined									0.95	3.44E-01	A
rs7726288	5	GWAS	461	276	48	2196	1038	149	T	C	1.25	5.89E-04	C
		2nd	728	361	66	10509	5478	760			1.03	6.11E-01	C
		Combined									1.11	1.16E-02	C
rs17749734	5	GWAS	12	160	613	66	887	2429	A	G	1.34	6.10E-04	G
		2nd	26	317	814	364	4244	12143			0.92	1.48E-01	A
		Combined									1.04	3.68E-01	G
rs1995777	5	GWAS	107	379	299	627	1622	1134	T	C	1.22	6.52E-04	C
		2nd	192	547	420	2838	8094	5820			1.04	3.77E-01	C
		Combined									1.10	5.24E-03	C
rs4429843	5	GWAS	399	327	59	1526	1496	359	A	G	0.81	7.27E-04	A
repeat		2nd		NG		7782	7238	1730			-	-	
		Combined									-	-	
rs2591454	5	GWAS	673	108	4	2730	617	36	A	G	0.70	7.46E-04	A
		2nd	937	201	19	13527	3064	161			1.02	7.32E-01	G
		Combined									0.90	7.93E-02	A
rs6863273	5	GWAS	100	349	336	335	1394	1651	T	C	0.82	7.66E-04	T
		2nd	130	506	519	1661	7195	7894			0.92	7.77E-02	T
		Combined									0.88	5.04E-04	T
rs6894230	5	GWAS	72	364	349	458	1577	1347	A	G	1.22	7.68E-04	G
		2nd	143	496	457	2128	7466	7156			0.97	5.20E-01	A
		Combined									1.06	1.17E-01	G
rs1777220	6	GWAS	28	255	502	85	879	2419	T	G	0.74	3.31E-05	T
		2nd	26	328	805	513	4721	11518			1.06	3.49E-01	G
		Combined									0.92	8.02E-02	T
rs9295475	6	GWAS	233	375	177	1169	1644	569	A	G	1.24	1.33E-04	G

		2nd	391	531	217	5864	8102	2786			1.07	1.46E-01	G
		Combined									1.13	4.65E-04	G
rs9398785	6	GWAS	97	389	297	355	1470	1557	T	C	0.80	1.45E-04	T
		2nd	127	513	482	2046	7510	7193			1.02	6.62E-01	C
		Combined									0.93	4.98E-02	T
rs4712523	6	GWAS	223	366	196	1091	1671	618	A	G	1.24	1.57E-04	G
		2nd	362	552	231	5458	8222	3067			1.06	1.85E-01	G
		Combined									1.12	7.51E-04	G
rs9346223	6	GWAS	559	209	17	2632	694	57	T	G	1.34	1.63E-04	G
		2nd	879	255	17	12718	3763	271			0.97	6.82E-01	G
		Combined									1.10	4.75E-02	G
rs518347	6	GWAS	461	289	35	1797	1316	270	T	C	0.79	2.48E-04	T
		2nd	625	430	88	9075	6496	1179			1.00	9.34E-01	T
		Combined									0.92	2.85E-02	T
rs11966261	6	GWAS	140	383	262	761	1682	940	T	C	1.23	2.51E-04	C
		2nd	261	542	350	3570	8330	4851			1.00	9.73E-01	C
		Combined									1.08	2.37E-02	C
rs3734806	6	GWAS	37	270	478	219	1340	1824	A	G	1.28	3.05E-04	G
		2nd	96	413	633	1053	6253	9446			0.92	1.02E-01	A
		Combined									1.04	3.70E-01	G
rs852003	6	GWAS	70	318	397	390	1513	1480	T	C	1.24	3.57E-04	C
		2nd	137	480	528	1774	7280	7692			0.97	5.57E-01	T
		Combined									1.07	8.40E-02	C
rs7743714	6	GWAS	80	351	354	460	1605	1318	A	C	1.24	3.67E-04	C
		2nd	157	521	465	2252	7700	6798			1.00	9.26E-01	C
		Combined									1.08	3.68E-02	C
rs6908117	6	GWAS	65	309	411	383	1442	1555	T	C	1.24	3.85E-04	C
		2nd	118	506	530	1639	7004	8109			0.93	1.45E-01	T
		Combined									1.04	2.96E-01	C
rs6915344	6	GWAS	316	363	106	1150	1660	573	T	C	0.81	4.07E-04	T
		2nd	410	544	192	5990	8050	2711			1.01	7.94E-01	C
		Combined									0.93	5.16E-02	T

rs6907099	6	GWAS	558	206	21	2585	749	49	A	G	1.31	5.20E-04	G
		2nd		NG		12710	3749	293			-	-	
		Combined									-	-	
rs7452170	6	GWAS	103	355	327	585	1570	1223	A	G	1.22	5.37E-04	G
		2nd	186	537	424	2680	7934	6136			1.00	9.56E-01	G
		Combined									1.08	2.84E-02	G
rs2328529	6	GWAS	138	364	283	440	1558	1378	A	C	0.82	6.11E-04	A
		2nd	175	492	486	2120	7629	6982			0.96	3.13E-01	A
		Combined									0.90	3.63E-03	A
rs10485151	6	GWAS	0	43	742	7	303	3073	A	G	1.75	6.14E-04	G
		2nd	3	97	1055	33	1503	15216			1.05	6.21E-01	G
		Combined									1.24	1.51E-02	G
rs1038304	6	GWAS	305	366	114	1123	1639	621	A	G	0.82	6.31E-04	A
		2nd	393	558	200	5891	8043	2815			1.03	4.52E-01	G
		Combined									0.95	1.33E-01	A
rs12527371	6	GWAS	7	110	668	39	652	2692	T	C	1.41	6.91E-04	C
		2nd	15	217	926	205	3125	13422			0.99	8.64E-01	T
		Combined									1.12	5.53E-02	C
rs9464252	6	GWAS	156	379	250	821	1660	902	T	C	1.21	8.09E-04	C
		2nd	270	557	328	3744	8315	4689			0.99	7.73E-01	T
		Combined									1.07	6.34E-02	C
rs9460540	6	GWAS	362	340	83	1352	1574	455	A	G	0.80	8.50E-04	A
		2nd	482	527	143	6779	7774	2199			0.96	3.13E-01	A
		Combined									0.90	4.51E-03	A
rs7453429	6	GWAS	488	263	34	1885	1301	197	A	G	0.80	3.05E-04	A
		2nd	685	394	74	9736	6088	928			0.99	8.21E-01	A
		Combined									0.91	2.77E-02	A
rs1946120	7	GWAS	32	227	526	67	834	2482	A	G	0.74	2.68E-05	A
		2nd	13	205	579	363	4247	12141			1.03	6.99E-01	G
		Combined									0.88	1.01E-02	A
rs41541	7	GWAS	43	262	480	98	1012	2271	T	C	0.76	7.73E-05	T
		2nd	35	379	732	674	5240	10838			1.00	9.32E-01	C

		Combined									0.91	2.11E-02	T
rs3111453	7	GWAS	628	148	9	2882	484	17	A	G	1.43	1.41E-04	G
		2nd	1004	146	9	14404	2244	104			0.96	6.65E-01	A
		Combined									1.14	4.06E-02	G
rs2074633	7	GWAS	258	382	145	1319	1582	481	T	C	1.24	1.47E-04	C
		2nd	397	567	174	6520	7830	2401			1.11	1.76E-02	C
		Combined									1.16	2.54E-05	C
rs7787246	7	GWAS	0	22	763	2	209	3172	A	G	2.31	1.51E-04	G
		2nd	2	45	750	14	820	15916			0.82	1.82E-01	A
		Combined									1.22	1.01E-01	G
rs9638622	7	GWAS	652	128	5	2613	713	56	A	G	0.70	1.57E-04	A
		2nd	902	207	21	13262	3245	245			0.99	8.51E-01	A
		Combined									1.22	1.01E-01	A
rs7788668	7	GWAS	8	162	615	30	504	2849	A	C	0.71	1.88E-04	A
		2nd	9	215	931	148	2841	13763			0.92	2.49E-01	A
		Combined									0.84	1.48E-03	A
rs6947394	7	GWAS	101	302	382	253	1345	1785	A	G	0.80	2.03E-04	A
		2nd	68	327	397	1440	6775	8537			0.98	7.25E-01	A
		Combined									0.89	5.16E-03	A
rs10486458	7	GWAS	668	112	5	3031	341	10	T	C	1.49	2.08E-04	C
		2nd	1045	106	5	14954	1732	65			0.90	2.75E-01	T
		Combined									1.11	1.53E-01	C
rs4730401	7	GWAS	101	302	382	254	1342	1784	A	G	0.80	2.12E-04	A
		2nd	102	469	578	1440	6775	8537			0.98	6.34E-01	A
		Combined									0.91	7.77E-03	A
rs4141039	7	GWAS	597	173	15	2346	941	96	T	C	0.74	2.16E-04	T
		2nd	795	328	26	11827	4458	465			1.03	5.70E-01	C
		Combined									0.92	7.05E-02	T
rs12532410	7	GWAS	575	188	21	2664	672	46	T	C	1.34	2.33E-04	C
		2nd	914	218	26	12911	3614	216			0.96	5.41E-01	T
		Combined									1.10	7.70E-02	C
rs41825	7	GWAS	401	324	60	1957	1237	189	A	G	1.26	2.49E-04	G

		2nd	616	469	61	9338	6304	1110			1.02	7.15E-01	G
		Combined									1.10	1.22E-02	G
rs3778810	7	GWAS	165	401	219	883	1724	776	A	G	1.23	2.94E-04	G
		2nd	328	546	281	4525	8334	3886			0.99	9.07E-01	A
		Combined									1.07	3.65E-02	G
rs324662	7	GWAS	42	282	461	129	1045	2202	A	G	0.79	3.60E-04	A
		2nd	53	353	750	650	5270	10831			0.98	7.77E-01	A
		Combined									0.90	1.58E-02	A
rs3128421	7	GWAS	722	61	2	3214	168	1	T	G	1.68	4.40E-04	G
		2nd	1089	60	1	15919	823	8			1.08	5.70E-01	G
		Combined									1.30	7.96E-03	G
rs895709	7	GWAS	13	138	634	21	480	2881	A	G	0.72	4.46E-04	A
		2nd	4	184	969	121	2435	14196			0.96	6.00E-01	A
		Combined									0.86	9.60E-03	A
rs17150487	7	GWAS	5	128	652	10	409	2962	T	C	0.70	4.75E-04	T
		2nd	6	133	1015	96	2051	14605			1.07	4.47E-01	C
		Combined									0.90	1.29E-01	T
rs2302340	7	GWAS	136	396	253	480	1602	1299	A	G	0.82	6.02E-04	A
		2nd	163	543	448	2403	7890	6446			1.01	7.95E-01	G
		Combined									0.94	6.02E-02	A
rs3778812	7	GWAS	121	397	267	701	1671	1009	A	G	1.22	6.38E-04	G
		2nd	255	545	355	3458	8337	4956			0.99	8.94E-01	A
		Combined									1.07	4.92E-02	G
rs797636	7	GWAS	592	178	15	2725	618	38	T	C	1.33	6.46E-04	C
		2nd	922	211	19	13329	3245	178			1.01	9.29E-01	C
		Combined									1.12	3.04E-02	C
rs12672414	7	GWAS	136	359	290	678	1685	1020	T	C	1.21	6.51E-04	C
		2nd	201	592	350	3237	8223	5285			1.02	7.07E-01	C
		Combined									1.09	1.70E-02	C
rs4383872	7	GWAS	42	277	465	124	1052	2207	A	G	0.80	6.72E-04	A
		2nd	38	388	727	669	5202	10852			0.96	5.08E-01	A
		Combined									0.90	9.15E-03	A

rs11563973	7	GWAS	322	380	83	1258	1585	539	T	G	0.82	7.74E-04	T
		2nd	458	514	180	6193	8036	2520			0.95	2.93E-01	T
		Combined									0.90	3.94E-03	T
rs169642	7	GWAS	470	274	41	2207	1062	111	A	G	1.26	8.75E-04	G
		2nd	730	382	40	10809	5291	652			1.02	6.67E-01	G
		Combined									1.10	1.86E-02	G
rs10046782	8	GWAS	48	263	474	123	1013	2245	T	G	0.78	1.49E-04	T
		2nd	50	432	904	628	5179	10945			1.00	9.85E-01	G
		Combined									0.92	2.78E-02	T
rs1524838	8	GWAS	27	211	547	142	1145	2092	A	G	1.32	1.50E-04	G
		2nd	32	388	728	709	5421	10620			1.05	4.02E-01	G
		Combined									1.14	2.96E-03	G
rs17663618	8	GWAS	744	40	1	3291	92	0	A	G	2.00	1.87E-04	G
		2nd	1108	50	0	16139	600	13			1.16	3.25E-01	G
		Combined									1.41	2.98E-03	G
rs11778879	8	GWAS	489	255	41	1849	1318	216	T	C	0.78	2.78E-04	T
		2nd	659	442	57	9540	6158	1052			0.97	4.80E-01	T
		Combined									0.89	5.52E-03	T
rs1159873	8	GWAS	52	351	382	219	1223	1941	A	C	0.80	2.85E-04	A
		2nd	64	425	658	1044	6240	9467			1.04	4.20E-01	C
		Combined									0.94	1.11E-01	A
rs4840480	8	GWAS	625	149	11	2855	511	17	T	C	1.40	2.85E-04	C
		2nd	938	188	11	14032	2609	109			1.10	1.86E-01	C
		Combined									1.21	1.12E-03	C
rs11786561	8	GWAS	7	116	662	47	679	2654	A	G	1.43	3.19E-04	G
		2nd	14	202	922	163	3065	13523			1.00	9.80E-01	G
		Combined									1.14	2.28E-02	G
rs3815868	8	GWAS	723	62	0	2968	404	11	T	C	0.61	3.25E-04	T
		2nd	1041	110	5	14851	1836	65			0.88	1.80E-01	T
		Combined									0.77	1.18E-03	T
rs4407910	8	GWAS	434	292	59	1624	1442	317	A	G	0.80	3.80E-04	A
		2nd	586	461	102	8227	7010	1514			0.95	3.01E-01	A

		Combined									0.89	2.74E-03	A
rs17077621	8	GWAS	4	98	683	41	562	2779	T	C	1.44	6.78E-04	C
		2nd	11	229	1144	119	2698	13934			0.96	5.86E-01	T
		Combined									1.10	1.18E-01	C
rs12677056	8	GWAS	7	110	668	12	356	3015	T	C	0.70	6.98E-04	T
		2nd	7	168	979	54	1842	14856			0.72	4.88E-05	T
		Combined									0.71	1.16E-07	T
rs4871749	8	GWAS	126	335	324	363	1501	1518	T	C	0.82	8.25E-04	T
		2nd	122	519	509	1858	7515	7378			1.02	7.30E-01	C
		Combined									0.94	7.42E-02	T
rs10087780	8	GWAS	78	369	338	297	1378	1708	T	C	0.82	8.26E-04	T
		2nd	102	485	561	1601	6891	8259			1.01	9.06E-01	C
		Combined									0.93	5.18E-02	T
rs1470777	8	GWAS	202	380	203	1000	1694	689	T	C	1.21	8.46E-04	C
		2nd	341	551	257	4938	8215	3598			1.01	7.50E-01	C
		Combined									1.08	2.21E-02	C
rs1885783	9	GWAS	339	374	72	1782	1331	270	T	G	1.29	2.48E-05	G
		2nd	549	487	108	8363	6922	1464			1.06	1.81E-01	G
		Combined									1.14	2.88E-04	G
rs1327377	9	GWAS	50	338	397	172	1234	1977	T	G	0.78	1.09E-04	T
		2nd	60	436	647	1079	6125	9548			1.02	6.70E-01	G
		Combined									0.93	4.78E-02	T
rs7025486	9	GWAS	60	300	424	179	1145	2059	A	G	0.78	1.30E-04	A
		2nd	61	419	656	828	5859	10063			0.93	1.27E-01	A
		Combined									0.87	3.41E-04	A
rs2297409	9	GWAS	99	335	351	497	1634	1252	A	G	1.24	3.12E-04	G
		2nd	146	562	444	2500	7838	6413			1.05	2.32E-01	G
		Combined									1.12	1.68E-03	G
rs10810131	9	GWAS	558	203	23	2168	1080	130	T	C	0.76	3.37E-04	T
		2nd	762	353	39	10983	5152	616			0.98	6.52E-01	T
		Combined									0.89	1.09E-02	T
rs4979042	9	GWAS	12	151	622	29	502	2851	A	C	0.73	3.66E-04	A

		2nd	8	193	959	165	2590	13996			0.96	6.33E-01	A
		Combined									0.86	9.76E-03	A
rs10988495	9	GWAS	284	371	130	1397	1575	411	A	G	1.23	3.82E-04	G
		2nd	459	533	166	6561	7803	2387			0.99	8.54E-01	A
		Combined									1.07	4.60E-02	G
rs10123951	9	GWAS	493	264	27	2367	915	101	A	G	1.28	3.84E-04	G
		2nd	804	315	34	11250	4936	565			0.90	7.12E-02	A
		Combined									1.03	4.83E-01	A
rs4743473	9	GWAS	312	374	99	1578	1457	347	A	G	1.23	4.27E-04	G
		2nd	515	496	133	7559	7339	1851			1.02	7.36E-01	G
		Combined									1.09	1.56E-02	G
rs10759367	9	GWAS	327	370	88	1229	1632	522	A	G	0.81	4.29E-04	A
		2nd	426	553	173	6374	7813	2562			1.02	7.06E-01	G
		Combined									0.94	6.70E-02	A
rs2740479	9	GWAS	101	352	332	324	1428	1631	A	G	0.81	4.38E-04	A
		2nd	121	519	492	1681	7158	7911			0.90	2.90E-02	A
		Combined									0.87	9.72E-05	A
rs1322291	9	GWAS	368	330	86	1351	1579	453	T	C	0.81	4.67E-04	T
		2nd	469	543	142	6839	7701	2211			0.98	7.32E-01	C
		Combined									0.92	1.62E-02	T
rs11138872	9	GWAS	58	307	420	168	1211	2001	A	C	0.80	6.16E-04	A
		2nd	61	385	697	933	5930	9888			1.06	2.34E-01	C
		Combined									0.95	2.52E-01	A
rs4268201	9	GWAS	46	288	451	144	1084	2153	T	G	0.80	6.41E-04	T
		2nd	46	383	688	751	5511	10490			0.98	7.11E-01	T
		Combined									0.91	1.63E-02	T
rs1330209	9	GWAS	760	24	1	3163	219	1	T	G	0.49	6.42E-04	T
		2nd	1061	68	4	15740	996	15			1.10	4.38E-01	G
		Combined									0.86	1.52E-01	T
rs2104535	9	GWAS	210	357	217	1002	1673	707	A	C	1.21	6.66E-04	C
		2nd	328	578	233	4778	8279	3695			0.96	3.87E-01	A
		Combined									1.05	1.57E-01	C

rs3008682	9	GWAS	743	41	1	3283	99	1	T	C	1.85	6.85E-04	C
		2nd	1103	37	0	16120	624	8			0.85	3.31E-01	T
		Combined									1.17	2.13E-01	C
rs1887438	9	GWAS	106	367	312	351	1492	1540	A	G	0.82	7.24E-04	A
		2nd	135	511	490	1830	7463	7459			0.95	2.49E-01	A
		Combined									0.90	2.93E-03	A
rs9411446	9	GWAS	173	372	240	586	1603	1194	A	G	0.83	7.55E-04	A
		2nd	194	570	378	2940	8076	5735			0.99	7.89E-01	A
		Combined									0.92	2.15E-02	A
rs1570304	9	GWAS	706	76	3	3156	222	5	T	C	1.54	8.37E-04	C
		2nd	1068	78	3	15540	1176	35			0.98	8.77E-01	T
		Combined									1.18	5.28E-02	C
rs3750396	9	GWAS	25	225	535	141	1157	2085	A	G	1.28	8.41E-04	G
		2nd	63	380	694	724	5434	10590			0.90	5.28E-02	A
		Combined									1.02	6.26E-01	G
rs1411606	9	GWAS	53	319	413	161	1244	1978	T	C	0.81	8.43E-04	T
		2nd	75	375	683	933	6012	9806			1.02	7.07E-01	C
		Combined									0.93	8.49E-02	T
rs11138889	9	GWAS	35	264	486	100	996	2287	A	G	0.79	8.64E-04	A
		2nd	37	327	766	561	4903	11286			1.02	7.73E-01	G
		Combined									0.92	6.94E-02	A
rs2892380	10	GWAS	469	270	46	2242	1007	133	T	C	1.28	1.73E-04	C
		2nd	763	340	50	10874	5221	657			0.97	6.20E-01	T
		Combined									1.09	5.36E-02	C
rs9420082	10	GWAS	599	175	11	2373	915	95	A	G	0.74	2.11E-04	A
		2nd	864	257	30	12179	4205	368			0.92	2.01E-01	A
		Combined									0.85	9.33E-04	A
rs11004401	10	GWAS	8	120	656	14	383	2983	T	C	0.69	2.11E-04	T
		2nd	2	160	964	67	1995	14689			0.86	8.13E-02	T
		Combined									0.79	2.38E-04	T
rs1937411	10	GWAS	634	140	11	2897	464	21	A	G	1.41	2.17E-04	G
		2nd	961	192	3	14221	2424	107			1.10	2.34E-01	G

		Combined									1.21	1.28E-03	G
rs3107448	10	GWAS	429	308	48	2102	1097	184	T	C	1.25	5.84E-04	C
		2nd	703	358	58	10120	5831	801			0.94	2.66E-01	T
		Combined									1.05	2.01E-01	C
rs2764986	10	GWAS	60	338	387	206	1279	1898	A	G	0.81	5.95E-04	A
		2nd	78	460	599	1130	6260	9360			0.92	8.15E-02	A
		Combined									0.88	5.10E-04	A
rs875861	10	GWAS	348	354	83	1301	1612	470	A	G	0.82	6.16E-04	A
		2nd	442	526	161	6596	7810	2333			1.01	7.84E-01	G
		Combined									0.94	6.22E-02	A
rs4948383	10	GWAS	81	351	353	492	1538	1353	T	G	1.22	7.35E-04	G
		2nd	144	521	471	2346	7550	6855			1.04	3.77E-01	G
		Combined									1.11	5.18E-03	G
rs780664	10	GWAS	277	372	136	1362	1575	446	T	C	1.21	7.77E-04	C
		2nd	450	506	195	6607	7748	2395			1.07	1.55E-01	C
		Combined									1.12	1.44E-03	C
rs7946354	11	GWAS	355	343	86	1306	1563	510	T	G	0.79	8.54E-05	T
		2nd	291	393	107	6715	7591	2350			1.06	2.40E-01	G
		Combined									0.93	6.99E-02	T
rs1670644	11	GWAS	114	379	292	683	1601	1098	T	G	1.23	2.18E-04	G
		2nd	192	575	389	2962	8166	5624			1.02	5.87E-01	G
		Combined									1.10	6.57E-03	G
rs7105145	11	GWAS	121	364	300	378	1524	1481	A	C	0.81	2.35E-04	A
		2nd	133	460	560	1989	7408	7355			1.12	1.50E-02	C
		Combined									0.99	7.60E-01	A
rs4945143	11	GWAS	126	380	279	411	1556	1393	A	C	0.81	2.85E-04	A
		2nd	137	501	510	2177	7658	6899			1.10	3.95E-02	C
		Combined									0.98	5.68E-01	A
rs582631	11	GWAS	234	399	152	1242	1586	555	T	C	1.22	3.76E-04	C
		2nd	407	568	166	5962	8055	2735			0.96	3.81E-01	T
		Combined									1.05	1.34E-01	C
rs10502234	11	GWAS	0	47	738	9	326	3048	A	G	1.74	4.14E-04	G

		2nd	1	99	1056	41	1515	15196			1.10	3.84E-01	G
		Combined									1.28	4.59E-03	G
rs502566	11	GWAS	511	248	26	1981	1236	164	T	G	0.78	4.85E-04	T
		2nd	717	392	44		NG				-	-	
		Combined									-	-	
rs10501667	11	GWAS	133	394	258	755	1662	966	A	G	1.22	5.47E-04	G
		2nd	239	569	341	3582	8289	4880			1.02	6.00E-01	G
		Combined									1.09	1.13E-02	G
rs1176713	11	GWAS	492	257	36	1903	1265	215	A	G	0.79	6.78E-04	A
		2nd	663	421	65	9685	5997	1068			0.98	7.48E-01	A
		Combined									0.91	1.94E-02	A
rs575042	11	GWAS	0	64	721	16	393	2974	A	G	1.57	8.46E-04	G
		2nd	29	91	1015	78	1961	14689			0.96	6.60E-01	A
		Combined									1.13	9.98E-02	G
rs669834	11	GWAS	121	381	283	650	1696	1037	A	G	1.21	8.51E-04	G
		2nd	215	574	360	3114	8158	5480			0.97	4.82E-01	A
		Combined									1.05	1.43E-01	G
rs4254148	12	GWAS	1	69	715	1	163	3219	T	C	0.52	6.47E-06	C
		2nd	1	46	752	17	957	15778			0.98	9.16E-01	C
		Combined									0.73	2.15E-03	C
rs2651364	12	GWAS	30	237	518	76	830	2477	T	C	0.73	1.49E-05	C
		2nd	30	322	793	371	4279	12101			0.88	2.82E-02	C
		Combined									0.82	1.06E-05	C
rs11836463	12	GWAS	19	133	633	22	464	2895	A	C	0.68	1.58E-05	C
		2nd	14	188	947	116	2464	14162			0.84	2.28E-02	C
		Combined									0.77	6.76E-06	C
rs11107078	12	GWAS	495	250	39	1853	1294	235	A	G	0.75	2.50E-05	A
		2nd	651	423	77	9495	6197	1051			1.02	7.63E-01	G
		Combined									0.91	1.85E-02	A
rs10860364	12	GWAS	54	307	424	158	1140	2085	T	C	0.76	2.69E-05	T
		2nd	63	413	674	892	6034	9824			0.99	9.15E-01	T
		Combined									0.90	8.62E-03	T

rs201395	12	GWAS	121	371	293	373	1527	1483	A	G	0.79	4.11E-05	A
		2nd	131	524	498	2122	7618	7010			1.06	1.99E-01	G
		Combined									0.95	1.44E-01	A
rs886125	12	GWAS	283	379	123	1016	1662	705	A	G	0.80	6.24E-05	A
		2nd	249	383	154	5321	8257	3173			1.02	7.73E-01	G
		Combined									0.91	1.19E-02	A
rs12582594	12	GWAS	0	82	703	17	516	2850	A	G	1.62	7.31E-05	G
		2nd	7	164	983	115	2397	14240			1.02	8.25E-01	G
		Combined									1.19	1.10E-02	G
rs7963401	12	GWAS	348	349	88	1283	1579	521	T	C	0.80	1.08E-04	T
		2nd	469	538	148	6634	7740	2378			0.95	2.54E-01	T
		Combined									0.89	1.00E-03	T
rs2036225	12	GWAS	380	325	80	1854	1294	234	T	C	1.27	1.10E-04	C
		2nd	589	476	93	8853	6644	1254			1.06	1.87E-01	C
		Combined									1.14	6.43E-04	C
rs10784514	12	GWAS	568	189	28	2625	701	57	T	C	1.34	1.82E-04	C
		2nd	898	232	19	12918	3563	271			0.95	4.79E-01	C
		Combined									1.10	7.33E-02	C
rs3919447	12	GWAS	148	369	268	783	1657	943	T	C	1.23	1.89E-04	C
		2nd	261	558	335	3596	8298	4858			0.98	6.02E-01	T
		Combined									1.07	5.91E-02	C
rs4397895	12	GWAS	0	91	694	19	544	2820	A	G	1.55	1.95E-04	G
		2nd	7	176	973	128	2526	14098			1.01	8.86E-01	G
		Combined									1.16	1.95E-02	G
rs11108793	12	GWAS	660	115	10	2991	377	15	A	G	1.45	2.27E-04	G
		2nd	995	155	9	14651	2014	87			1.15	8.25E-02	G
		Combined									1.26	2.53E-04	G
rs325437	12	GWAS	467	271	47	2217	1034	131	T	C	1.27	2.96E-04	C
		2nd	721	397	40	10944	5195	612			1.09	8.94E-02	C
		Combined									1.16	3.44E-04	C
rs7971054	12	GWAS	741	44	0	3282	96	2	T	C	1.91	3.13E-04	C
		2nd	1352	46	0		NG			-	-		

		Combined									-	-	
rs11612661	12	GWAS	540	223	22	2116	1116	151	A	G	0.77	4.57E-04	A
		2nd	698	400	54	10697	5375	678			1.12	2.37E-02	G
		Combined									0.99	7.28E-01	G
rs11047765	12	GWAS	7	123	655	54	693	2636	A	G	1.40	4.99E-04	G
		2nd	14	213	924	191	3223	13328			1.03	6.56E-01	G
		Combined									1.15	1.17E-02	G
rs10734783	12	GWAS	19	170	596	92	951	2339	T	C	1.32	6.26E-04	C
		2nd	28	324	798	469	4648	11634			1.01	8.50E-01	C
		Combined									1.11	2.62E-02	C
rs1948034	12	GWAS	527	226	32	2042	1167	174	A	G	0.79	7.46E-04	A
		2nd	708	390	53	10124	5774	853			0.96	3.85E-01	A
		Combined									0.89	5.95E-03	A
rs4943026	13	GWAS	439	298	46	2170	1032	181	T	C	1.26	2.66E-04	C
		2nd					NG				-	-	
		Combined									-	-	
rs9584669	13	GWAS	725	60	0	2979	389	15	T	C	0.60	2.87E-04	T
		2nd	1071	78	5	14939	1763	49			0.67	3.62E-04	T
		Combined									0.65	4.33E-07	T
rs9568711	13	GWAS	135	373	276	444	1553	1381	T	C	0.81	2.66E-04	C
		2nd	146	544	464	2195	7840	6709			1.01	7.72E-01	C
		Combined									0.93	4.89E-02	C
rs11149485	13	GWAS	452	288	45	2165	1063	145	T	C	1.26	2.66E-04	C
		2nd	711	393	53	10655	5365	730			1.07	1.72E-01	C
		Combined									1.14	1.17E-03	C
rs7989935	13	GWAS	62	314	409	188	1227	1968	T	C	0.80	2.66E-04	T
		2nd	73	412	665	957	5987	9806			0.96	4.63E-01	T
		Combined									0.90	6.37E-03	T
rs1415736	13	GWAS	150	391	244	537	1579	1267	T	C	0.82	2.66E-04	T
		2nd	170	571	408	2869	7920	5963			1.05	2.94E-01	C
		Combined									0.96	1.97E-01	T
rs16954372	13	GWAS	0	24	761	5	199	3177	T	C	2.04	2.66E-04	C

		2nd	2	59	1088	28	791	15929			0.92	5.39E-01	T
		Combined									1.20	1.02E-01	C
rs4365170	13	GWAS	7	131	647	14	433	2936	T	C	0.72	2.66E-04	T
		2nd		NG		90	2272	14390			-	-	
		Combined									-	-	
rs2333484	14	GWAS	67	337	381	206	1243	1933	T	C	0.76	6.05E-06	T
		2nd	43	305	437	1130	6206	9414			1.02	7.45E-01	C
		Combined									0.89	4.58E-03	T
rs1380214	14	GWAS	572	187	26	2189	1054	140	A	G	0.74	5.26E-05	A
		2nd	738	366	42	11017	5138	596			1.05	3.82E-01	G
		Combined									0.92	7.06E-02	A
rs1956228	14	GWAS	303	367	115	1540	1468	375	T	C	1.25	8.60E-05	C
		2nd	498	511	132	7391	7417	1941			1.01	8.22E-01	T
		Combined									1.10	9.37E-03	C
rs12434073	14	GWAS	6	95	684	36	598	2748	A	G	1.50	1.68E-04	G
		2nd	4	109	685	114	2560	14078			1.15	1.60E-01	G
		Combined									1.30	2.68E-04	G
rs1807200	14	GWAS	247	382	156	860	1702	821	A	G	0.81	1.92E-04	A
		2nd	215	405	170	4700	8180	3871			0.99	7.73E-01	A
		Combined									0.90	6.19E-03	A
rs1824343	14	GWAS	49	303	433	310	1420	1653	T	G	1.26	3.04E-04	G
		2nd	83	480	586	1432	6850	8469			1.04	3.67E-01	G
		Combined									1.12	3.44E-03	G
rs12895753	14	GWAS	687	93	5	2778	568	36	T	G	0.68	3.28E-04	T
		2nd	941	201	9	13882	2722	146			1.06	4.04E-01	G
		Combined									0.91	1.23E-01	T
rs17114642	14	GWAS	110	357	318	592	1638	1153	A	G	1.23	3.38E-04	G
		2nd	193	557	383	2775	7991	5986			0.95	2.62E-01	A
		Combined									1.05	1.88E-01	G
rs1380210	14	GWAS	663	117	4	2683	654	46	T	C	0.70	3.99E-04	T
		2nd	925	215	12	13583	2972	193			1.04	5.94E-01	C
		Combined									0.90	7.67E-02	T

rs1998207	14	GWAS	86	351	348	486	1589	1296	T	G	1.23	5.56E-04	G
		2nd	170	530	449	2264	7898	6587			0.97	4.61E-01	T
		Combined									1.06	1.28E-01	G
rs6574721	14	GWAS	598	179	8	2396	893	91	A	G	0.75	5.60E-04	A
		2nd	835	285	27	12006	4299	445			0.95	3.66E-01	A
		Combined									0.87	4.69E-03	A
rs225986	14	GWAS	629	149	7	2535	772	76	T	C	0.74	6.10E-04	T
		2nd	847	280	23	12476	3944	332			1.04	5.73E-01	C
		Combined									0.92	1.02E-01	T
rs1870435	14	GWAS	7	109	669	40	646	2696	A	G	1.41	6.64E-04	G
		2nd	10	225	920	179	3159	13414			0.99	8.69E-01	A
		Combined									1.12	5.31E-02	G
rs179249	14	GWAS	436	301	47	2070	1181	131	T	C	1.25	7.31E-04	C
		2nd		NG			NG				-	-	
		Combined									-	-	
rs2236241	14	GWAS	438	293	54	1670	1406	307	A	G	0.81	7.43E-04	A
		2nd	582	466	105	8339	6984	1427			1.00	9.57E-01	A
		Combined									0.92	3.53E-02	A
rs593647	15	GWAS	100	380	305	321	1484	1578	A	G	0.78	2.13E-05	A
		2nd	116	493	543	1765	7330	7650			1.05	3.41E-01	G
		Combined									0.94	7.01E-02	A
rs2572209	15	GWAS	291	388	105	1514	1483	373	T	C	1.25	1.34E-04	C
		2nd	520	495	137	7426	7407	1918			0.99	8.58E-01	T
		Combined									1.08	2.88E-02	C
rs16973930	15	GWAS	36	224	525	83	847	2452	T	C	0.76	1.78E-04	T
		2nd	36	311	808	416	4494	11842			0.95	3.85E-01	T
		Combined									0.87	2.72E-03	T
rs3812924	15	GWAS	522	234	29	2006	1203	170	A	G	0.77	2.59E-04	A
		2nd	697	396	54	10376	5618	755			1.04	4.34E-01	G
		Combined									0.93	1.04E-01	A
rs736923	15	GWAS	130	389	266	442	1584	1357	A	G	0.81	3.11E-04	A
		2nd	163	468	475	2300	7880	6568			1.06	1.99E-01	G

		Combined									0.96	2.29E-01	A
rs6494537	15	GWAS	382	330	73	1854	1305	222	T	C	1.25	3.22E-04	C
		2nd	624	445	79	9111	6468	1173			1.00	9.63E-01	T
		Combined									1.09	3.06E-02	C
rs9920189	15	GWAS	169	372	244	892	1616	875	A	C	1.21	4.48E-04	C
		2nd	265	601	287	4102	8311	4337			1.01	8.15E-01	C
		Combined									1.08	1.76E-02	C
rs2413998	15	GWAS	702	80	3	2859	503	21	A	G	0.66	5.07E-04	A
		2nd	984	161	7	14411	2244	94			1.05	5.50E-01	G
		Combined									0.89	9.46E-02	A
rs2289045	15	GWAS	269	387	129	1367	1560	448	T	G	1.22	5.23E-04	G
		2nd	461	538	153	6704	7761	2284			0.99	8.68E-01	T
		Combined									1.07	4.72E-02	G
rs6494825	15	GWAS	215	398	172	1116	1653	611	A	G	1.21	6.48E-04	G
		2nd	367	554	232	5375	8174	3203			1.03	5.58E-01	G
		Combined									1.09	1.10E-02	G
rs1470982	15	GWAS	1	31	753	0	71	3310	T	C	0.50	7.51E-04	T
		2nd	1	39	1110	5	461	16271			0.79	1.44E-01	T
		Combined									0.67	1.55E-03	T
rs304985	15	GWAS	284	388	113	1467	1492	423	T	C	1.21	7.60E-04	C
		2nd	458	532	161	6911	7626	2213			1.05	2.81E-01	C
		Combined									1.11	3.47E-03	C
rs2006902	16	GWAS	342	356	87	1262	1636	485	T	G	0.81	4.03E-04	T
		2nd	479	505	166	6797	7712	2236			1.00	9.92E-01	T
		Combined									0.93	3.24E-02	T
rs614230	16	GWAS	165	398	222	900	1667	810	T	C	1.22	4.17E-04	C
		2nd	292	557	301	4332	8260	4157			1.04	4.00E-01	C
		Combined									1.10	4.62E-03	C
rs2035591	16	GWAS	99	374	312	596	1603	1184	A	G	1.22	4.30E-04	G
		2nd	192	525	434	2673	8115	5961			1.03	5.08E-01	G
		Combined									1.10	7.21E-03	G
rs321460	16	GWAS	116	353	316	370	1472	1541	A	G	0.82	6.20E-04	A

		2nd	149	509	492	1964	7337	7429			0.94	1.68E-01	A
		Combined									0.89	1.33E-03	A
rs8058456	16	GWAS	5	115	665	12	359	3007	T	C	0.70	6.55E-04	T
		2nd	6	138	1007	60	1824	14868			0.88	1.59E-01	T
		Combined									0.80	1.28E-03	T
rs6498053	16	GWAS	29	205	551	59	791	2533	T	C	0.77	7.07E-04	T
		2nd	15	282	855	285	3997	12470			1.01	9.03E-01	C
		Combined									0.91	4.58E-02	T
rs12929706	16	GWAS	673	108	4	2728	608	41	T	C	0.70	7.13E-04	T
		2nd	942	191	9	13701	2883	163			0.95	5.00E-01	T
		Combined									0.85	8.60E-03	T
rs2960064	17	GWAS	7	149	629	11	476	2895	T	G	0.68	5.27E-05	T
		2nd	6	173	976	117	2526	14109			1.03	6.98E-01	G
		Combined									0.88	3.62E-02	T
rs7209800	17	GWAS	195	424	166	1081	1683	618	A	G	1.23	2.73E-04	G
		2nd	346	541	271	5305	8117	3330			1.11	1.37E-02	G
		Combined									1.15	3.16E-05	G
rs11870415	17	GWAS	489	261	35	2329	945	108	T	C	1.28	2.94E-04	C
		2nd	759	344	47	11310	4924	517			1.09	1.27E-01	C
		Combined									1.16	5.94E-04	C
rs10852939	17	GWAS	23	202	560	137	1066	2180	T	C	1.31	2.96E-04	C
		2nd	41	382	720	630	5229	10892			0.94	2.77E-01	T
		Combined									1.06	1.76E-01	C
rs11079928	17	GWAS	376	342	67	1845	1320	218	T	C	1.25	3.87E-04	C
		2nd	600	459	85	8893	6597	1259			1.01	7.71E-01	C
		Combined									1.09	1.76E-02	C
rs11654885	17	GWAS	391	331	63	1892	1289	194	A	G	1.25	4.29E-04	G
		2nd	635	436	83	9255	6354	1139			1.02	7.41E-01	G
		Combined									1.10	1.71E-02	G
rs2960060	17	GWAS	10	178	597	28	595	2748	A	G	0.74	4.53E-04	A
		2nd	12	208	919	187	3259	13306			1.07	3.25E-01	G
		Combined									0.93	1.89E-01	A

rs8066062	17	GWAS	707	74	4	3161	217	5	A	G	1.57	4.82E-04	G
		2nd	1073	80	3	15535	1191	22			1.01	9.36E-01	A
		Combined									1.21	2.67E-02	G
rs4459609	17	GWAS	272	384	128	1394	1533	456	A	C	1.22	5.93E-04	C
		2nd	429	545	168	6748	7794	2210			1.09	4.17E-02	C
		Combined									1.14	1.97E-04	C
rs1292035	17	GWAS	178	409	198	656	1662	1065	A	G	0.82	6.00E-04	A
		2nd	221	560	360	3355	8118	5275			1.01	7.40E-01	G
		Combined									0.94	6.72E-02	A
rs2051985	17	GWAS	228	398	159	842	1669	870	T	C	0.83	6.26E-04	T
		2nd	303	564	262	4433	8351	3966			0.98	6.98E-01	T
		Combined									0.92	1.59E-02	T
rs2529378	17	GWAS	12	184	589	48	597	2738	A	G	0.75	6.54E-04	A
		2nd	13	237	875	237	3324	13147			0.97	6.42E-01	A
		Combined									0.88	1.38E-02	A
rs7210298	17	GWAS	115	360	310	607	1647	1129	A	G	1.22	6.81E-04	G
		2nd	206	552	377	2891	8110	5751			0.96	3.49E-01	A
		Combined									1.05	1.79E-01	G
rs7217007	17	GWAS	500	253	32	1941	1242	198	T	C	0.79	6.87E-04	T
		2nd	676	406	52	9850	5977	924			0.95	3.43E-01	T
		Combined									0.89	4.62E-03	T
rs8073799	17	GWAS	114	340	331	359	1422	1598	A	G	0.82	7.31E-04	A
		2nd	140	502	493	1862	7547	7342			0.96	4.30E-01	A
		Combined									0.91	6.59E-03	A
rs10775410	17	GWAS	1	31	753	0	71	3312	T	C	0.50	7.43E-04	T
		2nd	0	13	1113	1	313	16438			1.63	7.99E-02	C
		Combined									0.85	3.30E-01	T
rs1420803	17	GWAS	661	118	6	2673	662	48	T	C	0.72	7.98E-04	T
		2nd	900	221	10	13073	3425	254			0.90	1.22E-01	T
		Combined									0.83	1.08E-03	T
rs12605132	18	GWAS	271	372	142	1384	1534	465	A	G	1.25	9.16E-05	G
		2nd	439	559	159	6503	7833	2412			1.00	9.14E-01	G

		Combined									1.09	1.27E-02	G
rs1504133	18	GWAS	317	354	114	1117	1667	599	T	C	0.80	1.32E-04	T
		2nd	410	558	186	5701	8084	2967			0.94	1.47E-01	T
		Combined									0.89	4.97E-04	T
rs8094904	18	GWAS	361	356	67	1383	1543	457	A	G	0.80	1.61E-04	A
		2nd	481	532	148	6974	7709	2067			1.01	7.64E-01	G
		Combined									0.93	3.94E-02	A
rs2174568	18	GWAS	162	394	229	535	1667	1167	A	G	0.81	1.84E-04	A
		2nd	202	552	393	2973	8146	5623			1.02	6.99E-01	G
		Combined									0.93	5.12E-02	A
rs7241212	18	GWAS	145	392	248	481	1624	1260	T	C	0.81	2.21E-04	T
		2nd	165	476	425	2523	7971	6252			1.05	3.30E-01	C
		Combined									0.95	1.27E-01	T
rs7506986	18	GWAS	301	364	120	1100	1629	654	A	G	0.82	4.20E-04	A
		2nd	381	561	201	5429	8231	3092			0.96	4.00E-01	A
		Combined									0.91	4.49E-03	A
rs11081935	18	GWAS	164	373	248	836	1678	869	T	C	1.21	5.67E-04	C
		2nd	249	572	319	4044	8328	4379			1.09	5.62E-02	C
		Combined									1.13	2.75E-04	C
rs1035270	18	GWAS	304	376	105	1537	1473	371	A	G	1.22	5.78E-04	G
		2nd	484	530	143	7109	7622	2019			1.02	6.55E-01	G
		Combined									1.09	1.45E-02	G
rs16963829	18	GWAS	9	107	669	5	375	3003	A	G	0.70	6.88E-04	A
		2nd	3	118	1037	54	1941	14755			1.15	1.35E-01	G
		Combined									0.94	3.75E-01	A
rs400839	18	GWAS	333	355	97	1233	1623	524	T	C	0.82	8.61E-04	T
		2nd	408	579	172	6240	7921	2591			1.03	4.99E-01	C
		Combined									0.95	1.37E-01	T
rs4804570	19	GWAS	324	346	115	1109	1668	605	T	C	0.78	2.26E-05	T
		2nd	391	556	208	5522	8165	3065			0.98	5.81E-01	T
		Combined									0.90	2.53E-03	T
rs348362	19	GWAS	591	184	10	2763	582	35	A	G	1.40	8.47E-05	G

		2nd	915	215	16	13627	2950	175			1.11	1.53E-01	G
		Combined									1.21	3.73E-04	G
rs1433099	19	GWAS	48	296	441	292	1432	1659	T	C	1.28	1.34E-04	C
		2nd	85	470	602	1471	6954	8315			1.10	5.26E-02	C
		Combined									1.16	1.19E-04	C
rs4804147	19	GWAS	513	244	28	2423	878	82	A	G	1.30	3.25E-04	G
		2nd	805	319	25	11960	4398	393			1.04	4.53E-01	G
		Combined									1.14	5.01E-03	G
rs7254300	19	GWAS	52	293	440	313	1387	1683	T	C	1.25	4.98E-04	C
		2nd	97	489	570	1428	6922	8402			0.98	7.15E-01	T
		Combined									1.07	6.48E-02	C
rs10417646	19	GWAS	2	49	734	3	125	3255	T	C	0.58	5.79E-04	T
		2nd	1	59	1099	3	685	16064			0.78	6.31E-02	T
		Combined									0.69	3.01E-04	T
rs197198	19	GWAS	288	370	126	1051	1660	670	T	C	0.83	7.63E-04	T
		2nd	350	576	231	5307	8184	3260			1.04	3.66E-01	C
		Combined									0.96	1.82E-01	T
rs1467704	20	GWAS	253	355	177	1240	1593	550	A	G	1.24	1.29E-04	G
		2nd	427	534	188	6072	8015	2664			0.99	8.29E-01	A
		Combined									1.08	2.72E-02	G
rs523453	20	GWAS	630	145	10	2881	488	14	T	C	1.43	1.57E-04	C
		2nd	963	187	9	13986	2655	110			1.03	6.62E-01	C
		Combined									1.17	9.29E-03	C
rs6104550	20	GWAS	210	398	177	1117	1638	628	T	C	1.23	2.39E-04	C
		2nd	335	589	227	5304	8101	3347			1.05	2.87E-01	C
		Combined									1.11	1.94E-03	C
rs6055513	20	GWAS	612	161	12	2426	881	76	A	G	0.74	4.25E-04	A
		2nd	865	276	17	12275	4108	368			0.91	1.56E-01	A
		Combined									0.85	1.04E-03	A
rs6123013	20	GWAS	387	321	77	1438	1524	421	T	C	0.81	4.25E-04	T
		2nd	484	511	158	6915	7672	2162			1.00	9.60E-01	T
		Combined									0.93	3.50E-02	T

rs602209	20	GWAS	322	354	109	1164	1646	573	T	G	0.82	4.48E-04	T
		2nd	396	581	173	5893	7980	2878			0.97	5.14E-01	G
		Combined									0.91	7.77E-03	T
rs6130940	20	GWAS	525	239	21	2477	837	69	T	G	1.30	4.74E-04	G
		2nd	813	315	29	11960	4366	425			1.04	4.82E-01	G
		Combined									1.13	7.77E-03	G
rs11698167	20	GWAS	440	289	56	2086	1135	159	T	C	1.25	5.57E-04	
		dataあり 2nd	720	373	62	10098	5748	905			0.94	2.49E-01	
		Combined									1.05	2.36E-01	
rs944895	20	GWAS	385	327	72	1866	1288	227	A	G	1.24	5.75E-04	G
		2nd	599	433	77	8939	6536	1247			0.97	5.84E-01	A
		Combined									1.07	9.14E-02	G
rs6061928	20	GWAS	103	356	326	332	1460	1591	A	G	0.82	7.81E-04	A
		2nd	130	498	513	1800	7422	7530			0.99	7.53E-01	A
		Combined									0.92	2.16E-02	A
rs6142901	20	GWAS	197	396	192	699	1690	994	T	C	0.83	7.86E-04	T
		2nd		NG		3780	8507	4903			-	-	
		Combined									-	-	
rs709004	20	GWAS	1	42	742	6	307	3070	A	G	1.72	7.99E-04	G
		2nd	3	98	1055	43	1449	15259			1.02	8.53E-01	A
		Combined									1.21	3.12E-02	G
rs6033079	20	GWAS	123	375	287	426	1518	1439	A	G	0.83	8.18E-04	A
		2nd	157	513	480	2119	7646	6985			0.98	6.41E-01	A
		Combined									0.92	1.52E-02	A
rs2830331	21	GWAS	423	310	52	2069	1148	165	T	C	1.28	1.21E-04	C
		2nd	674	421	61	10063	5840	849			1.06	2.72E-01	C
		Combined									1.14	1.29E-03	C
rs2824707	21	GWAS	660	119	6	3002	372	9	T	C	1.49	1.37E-04	C
		2nd	1027	128	5	14819	1870	61			1.00	9.97E-01	C
		Combined									1.17	1.87E-02	C
rs9979383	21	GWAS	215	397	173	787	1670	923	T	C	0.83	8.53E-04	T
		2nd	254	566	335	3959	8340	4447			1.09	5.71E-02	C

		Combined									0.98	5.98E-01	T
rs2301497	22	GWAS	457	286	42	1735	1368	280	A	G	0.77	8.69E-05	A
		2nd	628	426	86	8791	6661	1291			0.93	1.56E-01	A
		Combined									0.94	2.47E-01	A
rs5765247	22	GWAS	49	277	459	138	1042	2201	A	G	0.78	1.16E-04	A
		2nd	39	371	744	648	5238	10866			1.00	9.55E-01	A
		Combined									0.95	3.87E-01	A
rs9616854	22	GWAS	2	134	649	53	702	2628	A	G	1.41	3.98E-04	G
		2nd	18	240	896	212	3402	13138			0.95	4.31E-01	A
		Combined									1.09	1.26E-01	G
rs12485161	22	GWAS	692	87	6	2788	576	17	T	C	0.67	4.44E-04	T
		2nd	956	192	8	14079	2546	125			1.09	2.77E-01	C
		Combined									0.92	2.08E-01	T
rs4822768	22	GWAS	501	249	35	2349	941	93	T	C	1.27	5.73E-04	C
		2nd	788	327	38	11273	4925	553			0.96	5.26E-01	T
		Combined									1.07	1.15E-01	C
rs2285196	22	GWAS	164	390	231	839	1738	806	T	C	1.22	6.01E-04	C
		2nd	303	563	290	4185	8306	4261			0.97	4.65E-01	T
		Combined									1.05	1.38E-01	C
rs8138593	22	GWAS	700	82	3	2846	519	15	A	G	0.67	6.35E-04	A
		2nd	977	171	6	14321	2323	106			1.05	5.27E-01	G
		Combined									0.90	1.19E-01	A

Chr; Chromosome, Con; Control, a 1; allele 1, a 2; allele2, OR; Odds ratio, R; Risk allele

注 : Case、controls 共にタイピングできなかつたサンプルは除外して表示している