

# 免疫担当細胞を用いた免疫疾患特異的なゲノムでの転写活性化領域マッピングの試み

●山本 一彦 ◆土肥 眞 ◆田中 良一

東京大学医学部附属病院

## 〈研究の目的と進め方〉

SNPなどのゲノム情報が急速に蓄積されており、これらが疾患発症や病態形成にどのように関与しているかを解明していくことが重要な課題となっている。しかし、すべての疾患について全ゲノムのタイピングを行うことは不可能であり、集中的に解析すべきゲノム上の領域を設定することは有用と考えられる。

ほ乳類では、インプリンティング、X染色体不活化などの遺伝子不活化がCpG島のメチル化によって調節されている。さらに、メチル化あるいは脱メチル化されている遺伝子はクラスターを形成していることが知られており、おそらくゲノム上の領域ごとに制御されていると考えられている。従って、メチル化を受けている領域に存在するSNPは疾患に関与している可能性は低く、転写活性化領域に存在するSNPは疾患の成立や病態の進展に関与している可能性が高いと考えられる。そこで、本研究では、比較的採取しやすい免疫疾患におけるリンパ球を対象にして、健常人と各疾患罹患の患者で、脱メチル化している領域を解析するシステムを確立することを目的とした。

## 〈研究開始時の研究計画〉

方法は、健常人と患者から末梢血リンパ球を採取し、DNAを抽出し、メチル化感受性4塩基切断酵素にて切断できた領域以外の脱メチル化領域を優先的に増幅したライブラリーをそれぞれまず構築を試みた。これには、suppression PCRの原理を用い、分子内アニーリングとその内側の配列へのプライマーアニーリングとを競合させて、両端に同じ配列をもった分子の増幅を阻害する方法を用いた。次に健常人と患者間での比較で、疾患特異的に脱メチル化される領域を濃縮するライブラリーを構築出来るシステムの開発を試みた。この遺伝子配列情報を用いると、疾患特異的な脱メチル化領域がゲノム上にマッピング出来ると考えた。

## 〈研究期間の成果〉

健常人と患者から末梢血リンパ球を採取し、DNAを抽出し、メチル化感受性4塩基切断酵素にて切断できた領域以外の脱メチル化領域を優先的に増幅したライブラリーをそれぞれまず構築した。次に健常人と患者間での比較で、疾患特異的に脱メチル化される領域を濃縮するライブラリーを構築出来るシステムの開発を試みたが、満足のいく成果を得ることが出来なかった。

## 〈国内外での成果の位置づけ〉

発現解析によるクラスター分類などにより、転写活性化領域のマッピングが試みられているが、今後とも方法論を含めた展開が必要なテーマである。

## 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

技術的な問題と思われるが、その原因を見出すことは出来なかった。

## 〈今後の課題〉

全ゲノムのSNP関連解析、DNAチープによる発現解析などを用いて、より実現性の高い方向を推し進めるべきであると考えられる。

## 〈研究期間の全成果公表リスト〉

特になし