

SNP解析支援体制の確立と疾患関連遺伝子の同定

●徳永 勝士¹⁾ ◆大橋 順²⁾ ◆宮寺 浩子¹⁾ ◆本多 真³⁾ ◆慶長 直人⁴⁾

1) 東京大学医学系研究科 2) 筑波大学人間総合科学研究科 3) 東京都精神医学総合研究所 4) 国立国際医療センター研究所

<研究の目的と進め方>

本研究は2つの主要な目的を持つ。第一に、「基盤ゲノム・ヒト SNP タイピングセンター」として、ハイスループットかつ低コストの SNP 解析システムを確立し、「応用ゲノム」班員が目指す各種疾患の発症や病態に関わる遺伝子多型の探索研究を支援する。このため、数十万種以上の SNP を用いるゲノムワイド関連分析 (GWAS) システムを導入し、多数の疾患遺伝子候補領域を検出する。また、新たな高成功率・低コストの SNP 解析システムを開発して、GWAS 段階で観察された関連の再現性検討や候補領域の高密度関連分析を効率化する。

第二は個別的研究であり、免疫学的機序が発症に関与すると考えられる睡眠障害 (特に過眠症) や感染症の感受性遺伝子を多数同定し、病態機序への理解を深め、新しい治療法や予防法の開発に貢献する。このためヒトナルコレプシーについて、ゲノムワイド関連分析および網羅的遺伝子発現解析を実施することにより複数の過眠症関連遺伝子を同定する。さらに、その機能を検討することにより病態機序の解明に迫る。またマラリアの臨床重症型に関して、候補遺伝子アプローチを行い、重症化と関連する複数の感受性遺伝子多型を検出する。結核についても、ゲノムワイド連鎖分析、伝達不平衡検定などを用いて複数の感受性候補領域および感受性遺伝子を同定し、その機能的意義を探索する。

<研究開始時の研究計画>

SNP解析支援： 従来のSNP解析システムの手間およびコストを削減して、候補遺伝子の関連分析や候補領域の絞り込みの効率を上げるとともに、SNPによるゲノムワイド関連分析 (GWAS) システムを導入し、信頼度の高い解析結果を得るための基準を作成し、あわせて数百人から千人規模の健康者データを作成する。これらを活用して「応用ゲノム」班員が目指す2型糖尿病、パニック障害、多系統萎縮症などの疾患感受性遺伝子の探索研究を支援する。

さらに、新しいマルチプレックス SNP 解析技術 (DigiTag2) を開発・実用化して、高い成功率と大幅なコストダウンを実現する。またこの技術を用いて、各種疾患関連の再現性検証や候補領域の高密度関連分析 (絞り込み) のための SNP 解析を行う。

個別的研究： ナルコレプシーについて、アジア最大規模である400例の患者試料を収集し、マイクロサテライトマーカーあるいはSNPを用いたGWASを実施して新たな感受性遺伝子を同定する。また、網羅的遺伝子発現解析で発現変動が見出された遺伝子について、脳視床下部、神経細胞等の発現分布と機能解析を進める。

マラリアについては、3つの臨床重症型のタイ人患者試料を500例収集し、候補遺伝子アプローチによる重症化関連遺伝子の同定を進める。特に注目される染色体5q31領域については、マイクロサテライトマーカーとSNPをともに用いて第一義的な多型を特定する。

結核については、ベトナム、タイより収集した300名の患者、500名の対照者、患者・両親の140組、罹患同胞対100組の試料に関して、新たな感受性遺伝子の探索研究を行う。ベトナム人試料について候補遺伝子の関連分析を開始するとともに、タイ人試料について罹患同胞対法によるゲノムワイド連鎖分析および候補遺伝子の伝達不平衡試験を実施する。

<研究期間の成果>

SNP解析支援： ゲノムワイドな50万種～90万種のSNPタイピングシステムを導入し、その精度管理のため、種々のパラメーターやその閾値を検討した。多系統萎縮症、パニック障害については50万SNP arrayを用いたGWASを完了し、複数の候補領域を検出した後、再現性検討のSNP解析を行った。引き続き、パニック障害については新しい90万SNP arrayを用いた世界最大規模 (患者600人、健康者600人) のGWASを行った。これまでに、再現性検討のための候補SNPの選出を終えている。また同じく90万SNP arrayを用いて、アルツハイマー病のGWAS (患者1000人、健康者1000人) の一部を担当した。さらに、規模を拡大したパニック障害のゲノムワイド関連分析も完了した。また、500Kおよび900K SNP chipによる健康者集団試料のタイピングデータから日本人一般集団におけるCNV (copy number variation) の種類と頻度を明らかにするため、いくつかのアルゴリズムを用いて比較解析した。

さらに、候補領域絞り込み用の新規マルチプレックス SNP 解析技術 (DigiTag2) の開発を進め、約9割という高い成功率、高い精度 (sequencing 結果と100%一致)、低いコストで96種のSNPsを同時タイピングできる条件を確立した。2007年2月からは、従来使用してきた一分子蛍光検出法に代わってDigiTag2法を「ヒトSNPタイピングセンター」におけるSNPタイピング法として採用している。

この方法を用いて、2型糖尿病については、疾患グループが進める3次スクリーニングのSNP解析を担当した。7個の感受性領域が同定され、引き続き、絞り込みのためのSNP解析を担当した結果、新たな感受性遺伝子 *KCNQ1* が同定された。ヨーロッパ系集団で報告された約20種の感受性遺伝子が日本人にも共通するかどうかの検討にも貢献した。さらに、2型糖尿病の連鎖分析から検出された候補領域のひとつについて、プール試料を用いた第一次スクリーニング、個別試料を用いた第二次の関連分析、再現性の確認を経て、新規感受性遺伝子を見出した。この遺伝子多型はヤセ型 (BMI < 24) 糖尿病患者により強い関連を示し、オッズ比は2.5に達した。この多型はmRNAレベルやインスリン分泌能とも関連した。このほか、アトピー性喘息の新規感受性遺伝子の同定、高血圧、1型糖尿病などと関連する多数のSNPsの検出、さらに、C型肝炎のインターフェロンα療法への応答性に強く関連する遺伝子 *IL28B* のGWASによる発見にも貢献した。

一方、耳垢型決定する遺伝子 *ABCC11* や毛髪の太さに強く関連する遺伝子 *EDAR* の同定にも貢献したほか、アジアの73集団 (約2000人) についてゲノムワイドな5万SNPを解析したPan-Asian SNP Consortiumに参加して、アジア諸集団の形成や疾患関連遺伝子の研究に有用な基盤情報を得た。

個別的研究： ナルコレプシーに関しては、マイクロサテライト多型を用いたGWASによって検出された11カ所の候補領域のひとつ (21番染色体上) についてマイクロサテライト多型およびSNPを用いた絞り込みを行い、新規抵抗性遺伝子 *NLC1A* を同定した。さらに、50万SNP arrayを用いたGWAS、再現性確認、絞り込みを経て1つのSNPとLDブロック内にある2つの新規疾患関連遺伝子 *CPT1B*、*CHKB* を同定し、その遺伝子発現量がSNP型特異的発現変化を示すこと、さらに疾患特異的な発現変化も示すことを見出した。CPT1Bは脂肪酸β酸化の律速酵素である。血清

中のアシルカルニチンがナルコレプシー症例の21%で異常低値を示すこと(対照群は0%)、低値はSNP型によらないことを見出し、過眠症の病態に脂肪酸代謝経路の異常が関わることを発見した。またこのSNPについて韓国人試料でも有意な関連を確認し、ヨーロッパ系およびアフリカ系集団においても頻度は低いが同様の傾向を観察した。

本年にはスタンフォード大グループとの国際共同GWASにより、ヨーロッパ系集団とアジア系集団に共通して、TCRA (T細胞リセプター α) 遺伝子内の複数のSNPがナルコレプシーと関連することを見出した。この結果とすでに知られているHLA-DQA1/DQBIとの強い関連から、過眠症の発症に自己免疫機序も関与していることが推定された。

一方、ナルコレプシーと極めて強く関連する主要なHLA-DQA1, DQBI間の二量体形成能を測定し、各二量体の発現時における安定性を、測定・比較した。これは、HLAクラスIIの安定性を、主要なすべてのアレル間で定量的に比較した初めての成果であり、ナルコレプシー感受性・抵抗性の機構の理解が一步進んだ。

また、ナルコレプシー患者死後脳の網羅的遺伝子発現解析に基づいて、新規関連遺伝子IGFBP3を同定しin vitroレポーターアッセイ系、in vivoの過剰発現マウス系でともにオレキシンを減少させることを見出し、さらに行動レベルで覚醒が減少することを証明した。

マラリアに関しては、染色体5q31領域の高密度解析から、重症マラリアと関連する第一義的多型がIL13のプロモーター領域を含む連鎖不平衡ブロック内に存在することを見出した。また、TIM1遺伝子プロモーター領域多型が遺伝子発現レベルと脳性マラリアに関連すること、CR1遺伝子プロモーター多型が脳性マラリア抵抗性と関連するとともに、赤血球表面上のCR1分子の発現量とも関連することを見出した。

結核については、タイ罹患同胞対連鎖解析により第5染色体長腕上に連鎖を示唆する候補領域を検出した。引き続き、高密度関連マッピングを行い、サイトカイン遺伝子クラスターから有意な関連を見出した。また若年発症例では、第17番と20番に新たな連鎖領域を見出した。さらにヒト気道上皮のパネルにより、抗酸菌感染に関連するCFTR遺伝子の多型が、エクソン9のスプライシング効率と関連することを明らかにした。アジア系とアフリカ系では結核の遺伝要因に違いがあり、若年患者には成人患者とは異なる遺伝要因が関与すると考えられた。

<国内外での成果の位置づけ>

SNP解析支援: まず、ゲノムワイド連鎖分析から検出されていた候補領域における高密度SNP関連分析によって、アトピー性喘息や2型糖尿病の新たな疾患感受性遺伝子が同定された。特にアジアで特徴的な“やせ型”糖尿病に強く関連する新規感受性遺伝子を見出した意義は大きい (Am. J. Hum. Genet.印刷中)。

また、日本で発見されたヒトのメンデル形質、耳垢型を決定する遺伝子の発見にも貢献した (Nature Genetics 2006)。また、東アジア集団に特徴的な毛髪の太さに強く関連する遺伝子の発見にも貢献した (Hum. Mol. Genet. 2008)。これらの成果は新聞ほかマスコミでも取り上げられた。

2型糖尿病については、10万種のSNPを用いたGWASによって検出された候補領域の再現性検証と絞り込みに貢献し、アジア系集団の新規感受性遺伝子が特定され、国際的にも注目された (Nature Genetics 2008)。さらに、90万SNPを用いたGWASによってC型肝炎患者のインターフェロン療法への応答性に強く関連する遺伝子を特定したことは、臨床に直結する成果として国内外で大きな話題となっている (Nature Genetics 2009)。これらの成果は新聞ほかマスコミでも取り上げられた。

また、我々が50-100万種のSNPsを用いてGWASに貢献した多系統萎縮症グループおよびパニック障害グループは国内および世界で最大規模の試料収集を実現しており、その成果は世界をリードしている。

さらにPan-Asian SNP Consortiumに参加し、アジア73集団

についての空前の大規模SNP解析に貢献した (Science 2009)。この成果は国際的にも注目され、マスコミにも取り上げられた。

個別的な研究: ナルコレプシーについては、国内最大、世界でも有数の試料を収集し、世界に先駆けてSNPsを用いたGWASを実施して新しい疾患感受性領域を同定した。これまで睡眠との関連についてほとんど研究されていなかった脂肪酸代謝経路の変異が見出されたことにより、睡眠制御機構の本質、および過眠症の病態への関与についてあらたな研究分野を拓くものとなった (Nature Genetics 2008)。この成果は国内外の新聞ほかマスコミでも取り上げられた。さらに本年はスタンフォード大グループとの共同研究によりナルコレプシーに自己免疫機序も関与することを指示する結果も得た (Nature Genetics 2009)。CPT1B、IGFBP3、HLA-DQA1/DQBI等の遺伝子機能解析も進んでおり、病態解明に向けて目に見える進展があった。

これまでマラリア重症化におけるヒトの遺伝要因の研究はアフリカ集団を対象に行われてきた。本研究ではタイ人を対象としていくつかの感受性遺伝子を同定しており、アフリカ系集団とアジア系集団との共通性と異質性を明らかにするために、これらの成果は高い注目を受けている。

結核の疾患感受性遺伝子研究についても、まだ研究報告が少なく、その結果が一定していない。我々は日本をはじめアジアにおいて最大規模の試料収集および研究ネットワークを実現しつつあり、すでにゲノムワイドな探索からアジア集団に特徴的な遺伝要因の存在を支持する成果を見出している。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

SNP解析支援: 計画に添ってほぼ順調に進行しており、予想外の困難もなかった。ただし、数十万種のSNPsを用いるGWASは本特定ゲノム領域が発足したときに存在しなかったため、当初予想できなかった技術的検証作業やタイピング作業のための人員と予算を必要とした。

個別的な研究: おおむね計画に従って順調に進行した。ただし、ナルコレプシーについては見出した疾患関連遺伝子の機能解析にまで進展しており、そのための組織や細胞の取得が容易ではなかった。

<今後の課題、展望>

SNP解析支援: ゲノムワイド連鎖分析および関連分析のためのSNPタイピングは順調に進行している。今後も常に最新のシステムを取り入れて効率よくタイピングを実施することが重要である。一方、産生される膨大なデータから有意な関連を検出する方法の改良、開発が重要である。特に、GWASタイピング結果からCNVを推定するソフトウェアを吟味したうえで、日本人におけるCNVの種類と頻度分布を明らかにし、疾患との関連解析を実現することが求められている。また、再現性検証、絞り込みのためのSNP解析技術についても、一層の簡便・低コスト・自動化が期待される。

個別的な研究: ナルコレプシーについては、過眠症での脂肪酸代謝異常について、各種の臨床指標等を測定して病態との関連を明らかにし、生物学的分子指標として過眠症の臨床へ応用することを目指す。またHLAとTCRが関わる自己免疫機序についても機能的解析が期待される。マラリアの臨床重症型に関するGWASを実施することにより、これまでの候補遺伝子アプローチでは困難であった新規のマラリア感受性・抵抗性変異が発見されると期待される。結核についてもGWASを行い、豊富な試料を用いた比較関連分析によって、アジア系集団における結核の病態に関わる遺伝子の探索を進める。

<研究期間の全成果公表リスト>

1) 論文

1. 0912050233

Okamoto K, Iwasaki N, Nishimura C, Doi K, Noiri E, Nakamura S, Takizawa M, Ogata M, Fujimaki R, Grarup N, Pisinger C,

- Borch-Johnsen K, Lauritzen T, Sandbaek A, Hansen T, Yasuda K, Osawa H, Nanjo K, Kadowaki T, Kasuga M, Pedersen, O, Fujita T, Kamatani N, Iwamoto Y, and Tokunaga K: Identification of KCNJ15 as a susceptibility gene in Asian patients with type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Hum. Genet.* (in press)
2. 0912050223
The HUGO Pan-Asian SNP Consortium: Mapping Human Genetic Diversity in Asia. *Science* (Epub on December 11, 2009)
3. 0912050210
Kawabata Y, Ikegami H, Awata T, Imagawa A, Maruyama T, Kawasaki E, Tanaka S, Shimada A, Osawa H, Kobayashi T, Hanafusa T, Tokunaga K, and Makino H: Differential association of HLA with three subtypes of type 1 diabetes: fulminant, slowly-progressive and acute-onset type 1 diabetes. *Diabetologia* (Epub on October 8, 2009)
4. 0912050203
Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y, and Tokunaga K: Polymorphism located in TCRA locus confers susceptibility to essential hypersomnia with HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 haplotype. *J. Hum. Genet.* (Epub on November 20, 2009)
5. 0912050157
Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, and Mizokami M: Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat. Genet.* 41(10): 1105-1109, 2009.
6. 0912050152
Hallmayer J, Faraco J, Ling L, Hesselson S, Winkelmann J, Kawashima M, Mayer G, Plazzi G, Nevsimalova S, Bourgin P, Hong S, Honda Y, Honda M, Hogl B, Longstreth WT, Montplaisir J, Kemlink D, Einen M, Chen J, Musone SL, Akana M, Miyagawa T, Duan J, Desautels A, Erthardt C, Hsela PE, Poli F, Frauscher B, Jeong J-H, Lee S-P, Ton TGN, Kvale M, Kolesar L, Dobrovolna M, Nepom GT, Salomon D, Wichmann HE, Rouleau GA, Gieger C, Levinson DF, Gejman PV, Meitinger T, Young T, Peppard P, Tokunaga K, Kwok P-Y, Risch N, and Mignot E: Narcolepsy is strongly associated with the TCR alpha locus. *Nat. Genet.* 41: 708-711, 2009.
7. 0903021624
Miyake K, Yang W, Hara K, Yasuda K, Horikawa Y, Osawa H, Furuta H, Ng MCY, Hirota Y, Mori H, Ido K, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Wang H, Tanahashi T, Nakamura N, Takeda J, Maeda E, Yamamoto K, Tokunaga K, Ma RCW, So W, Chan JCN, Kamatani N, Makino H, Nanjo K, Kadowaki T, and Kasuga M: Construction of a prediction model for type 2 diabetes mellitus in the Japanese population based on eleven genes with strong evidence of the association. *J. Hum. Genet.* 54: 236-241, 2009.
8. 0902231951
Otowa T, Yoshida E, Sugaya N, Yasuda S, Nishimura Y, Inoue K, Tochigi M, Umekage T, Miyagawa T, Nishida N, Tokunaga K, Tani H, Sasaki T, Kaiya H, and Okazaki Y: Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* 54: 122-126, 2009.
9. 0912050127
Lien LT, Hang NTL, Kobayashi N, Yanai H, Toyota E, Sakurada S, Thuong PH, Cuong VC, Nanri A, Mizoue T, Matsushita I, Harada N, Higuchi K, Tuan LA, and Keicho N. Prevalence and risk factors for tuberculosis infection among hospital workers in Hanoi, Viet Nam. *PLoS ONE* 4 (8): e6798, 2009.
10. 0912050121
Keicho N, Itoyama S, Kashiwase K, Phi NC, Long HT, Ha LD, Ban VV, Hoa BK, Hang NTL, Hijikata M, Sakurada S, Satake M, Tokunaga K, Sasazuki T, and Quy T. Association of HLA-class II alleles with SARS in the Vietnamese population. *Hum. Immunol.* 70: 527-531, 2009.
11. 0912050107
Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y, and Tokunaga K. Polymorphism located between *CPT1B* and *CHKB*, and *HLA-DRB1*1501-DQB1*0602* haplotype independently confer susceptibility to CNS hypersomnias (Essential Hyhypersomnia). *PLoS ONE* 4:e5394, 2009.
12. 0903121427
Honda M, Eriksson K, Zhang S, Tanaka S, Lin L, Salehi A, Hsela PE, Maehlen J, Gaus SE, Yanagisawa M, Sakurai T, Taheri S, Tsuchiya K, Honda Y, Mignot E. IGF3BP3 colocalizes with and regulates hypocretin(orexin). *PLoS ONE* 4:e4254, 2009.
13. 0910281851
Naka I, Nishida N, Patarapotikul J, Nuchnoi P, Tokunaga K, Hananantachai H, Tsuchiya N, Ohashi J: Identification of a haplotype block in the 5q31 cytokine gene cluster associated with the susceptibility to severe malaria. *Malaria Journal* 8: e232, 2009.
14. 0912050132
Vollstedt S, Yuliwulandari R, Okamoto K, Lien LT, Keicho N, Rochani JT, Wikaningrum R, and Tokunaga K. No evidence for association between the interferon regulatory factor 1 (IRF1) gene and clinical tuberculosis. *Tuberculosis* 89: 71-76, 2009.
15. 0910281819
Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Tokunaga K, Tsuchiya N, Ohashi J: IFNGR1 polymorphisms in Thai malaria patients. *Infect. Genet. Evol.* 9: 1406-1409, 2009.
16. 091161256
Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, Ridruechai C, Matsushita I, Ohashi J, Summanapan S, Yamada N, Moolphate S, Chuchotaworn C, Chaprasert A, Manosuthi W, Kantipong P, Kantiwattaya S, Sura T, Khushmith S, Tokunaga K, Sawanpanyaleert P, and Kicho N: Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun.* 10: 77-83, 2009.
17. 0811191105
Teeranaipong P, Ohashi J, Patarapotikul J, Kimura R, Nuchnoi P, Hananantachai H, Naka I, Putaporntip C, Jongwutiwes S, and Tokunaga K. A Functional SNP in the CR1 Promoter Region Contributes to Protection against Cerebral Malaria. *J. Infect.*

- Dis. 198(12): 1880-1891, 2008.
18. 0901161212
Shiota S, Tochigi M, Ohashi J, Kasai K, Kato N, Tokunaga K, and Sasaki T: Association and interaction analyses of NRH1 and FRBB4 genes with schizophrenia in a Japanese population. *J. Hum. Genet.* 53: 929-935, 2008.
19. 0806201546
Nuchnoi P, Ohashi J, Naka I, Nacapunchai D, Tokunaga K, Nishida N, Patarapotikul J: Linkage Disequilibrium Structure of the 5q31-33 Region in a Thai Population, *J. Hum. Genet.* 53: 850-856, 2008.
20. 0901161250
Teeranaipong P, Ohashi J, Patarapotikul J, Kimura R, Nuchnoi P, Hananantachai H, Naka I, Putapornitip C, Jongwutiwes S, and Tokunaga K: A functional SNP in the CRI promoter region contributes to protection against cerebral Malaria. *J. Infect Dis.* 198(12): 1880-1891, 2008.
21. 0901161248
Miyagawa T, Kawashima M, Nishida N, Ohashi J, Kimura R, Fujimoto A, Shimada M, Morishita S, Shigeta T, Lin L, Hong SC, Faraco J, Shin YK, Jeong JH, Okazaki Y, Tsuji S, Honda M, Honda Y, Mignot E, and Tokunaga K: Variant between CPT1B and CHKB associated with susceptibility to narcolepsy. *Nat. Genet.* 40(11): 1324-1328, 2008.
22. 0901161231
Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, Hara K, Osawa H, Furuta H, Hirota Y, Mori H, Jonsson A, Sato Y, Yamagata K, Hinokio Y, Wang HY, Tanahashi T, Nakamura N, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Takeda J, Maeda E, Shin HD, Cho YM, Park KS, Lee HK, Ng MCY, Ma RCW, So WY, Chan JCN, Lyssenko V, Tuomi T, Nilsson P, Groop L, Kamatani N, Sekine A, Nakamura Y, Yamamoto K, Yoshida T, Tokunaga K, Itakura M, Makino H, Nanjo K, Kadowaki T, and Kasuga M: Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* 40(9): 1092-1097, 2008.
23. 0901161235
Nishida N, Koike A, Tajima A, Ogasawara Y, Ishibashi Y, Uehara Y, Inoue I, and Tokunaga K: Evaluating the performance of Affymetrix SNP Array 6.0 platform with 400 Japanese individuals. *BMC Genomics* 9: e431, 2008.
24. 0806161926
Horikawa Y, Miyake K, Yasuda K, Enya M, Hirota Y, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Yamamoto K, Tokunaga K, Takeda J, and Kasuga M: Replication of genome-wide association studies of type 2 diabetes susceptibility in Japan. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93: 3136-3141, 2008.
25. 0901161203
Miyagawa T, Nishida N, Kimura R, Fujimoto A, Kawashima M, Sasaki T, Tani H, Otowa T, Momose Y, Nakahara Y, Okazaki Y, Tsuji S, and Tokunaga K: Appropriate data cleaning method for genome-wide association study. *J. Hum. Genet.* 53: 886-893, 2008.
26. 0801281640
Fujimoto A, Kimura R, Ohashi J, Omi K, Yuliwulandari R, Batubara L, Mustofa MS, Samakkarn U, Settheetham-Ishida W, Ishida T, Morishita Y, Furusawa T, Nakazawa M, Ohtsuka R, Tokunaga K: A scan for genetic determinants of human hair morphology: EDAR is associated with Asian hair thickness. *Hum. Mol. Genet.* 17: 835-843, 2008.
27. 0801280630
Tanaka S, Honda Y, Honda M: MX2 gene expression tends to be down-regulated in subjects with HLA-DQB1*0602. *Sleep* 31: 749-751, 2008.
28. 0806161857
Nuchnoi P, Ohashi J, Kimura R, Hananantachai H, Naka I, Krudsood S, Looareesuwan S, Tokunaga K, Patarapotikul J. Significant association between TIM1 promoter polymorphisms and protection against cerebral malaria in Thailand. *Ann. Hum. Genet.* 72, 327-336, 2008.
29. 0801281545
Hoa BK, Hang NTL, Kashiwase K, Ohashi J, Lien LT, Horie T, Shojima J, Hijikata M, Sakurada S, Satake M, Tokunaga K, Sasazuki T, Keicho N: HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes in the Kinh population in Vietnam. *Tissue Antigens* 71: 127-34, 2008.
30. 0801281607
Miyake K, Horikawa Y, Hara K, Yasuda K, Osawa H, Furuta H, Hirota Y, Yamagata K, Hinokio Y, Oka Y, Iwasaki N, Iwamoto Y, Yamada Y, Seino Y, Maegawa H, Kashiwagi A, Yamamoto K, Tokunaga K, Takeda J, Makino H, Nanjo K, Kadowaki T, Kasuga M: Association of TCF7L2 polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4,087 Japanese subjects. *J. Hum. Genet.* 53: 174-180, 2008.
31. 0801281624
Kohara K, Tabara Y, Nakura J, Imai Y, Ohkubo T, Hata A, Soma M, Nakayama T, Umemura S, Hirawa N, Ueshima H, Kita Y, Ogihara T, Katsuya T, Takahashi N, Tokunaga K, Miki T: Systemic multiple candidate gene approach for identification of susceptible genes and susceptible pathways for hypertension: a millennium genome project for hypertension. *Hypertension Res.* 31: 203-212, 2008.
32. 0705071534
Tanaka S, Honda Y, and Honda M: Identification of differentially expressed genes in narcolepsy blood cells. *Sleep* 30:974-979, 2007.
33. 0702141146
Hananantachai H, Patarapotikul J, Ohashi J, Naka I, Krudsood S, Looareesuwan S, and Tokunaga K. Significant association between TNF-a (TNF) promoter allele (-1031C, -863C, and -857C) and cerebral malaria in Thailand. *Tissue Ant.* 69: 277-280, 2007.
34. 0702141206
Horie T, Luu LT, Le TA, Le TP, Sakurada S, Yanai H, Keicho N, and Nakata K. A survey of tuberculosis prevalence in Hanoi, Vietnam. *Int. J. Tuberc. Lung D.* 11: 562-566, 2007.
35. 0702141227
Nishida N, Tanabe T, Takasu M, Suyama A, Tokunaga K: Further

- development of multiplex SNP typing method, DigiTag2 assay. *Anal. Biochem.* 364: 78-85, 2007.
36. 0705042021
Naka I, Ohashi J, Patarapotikul J, Hananantachai H, Wilairatana P, Looareesuwan S, Tokunaga K: The genotypes of GYPA and GYPB carrying the MNSs antigens are not associated with cerebral malaria. *J. Hum. Genet.* 52: 476-479, 2007.
37. 0801281514
Mai HN, Hijikata M, Inoue Y, Suzuki K, Sakatani M, Okada M, Kimura K, Kobayashi N, Toyota E, Kudo K, Nagai H, Kurashima A, Kajiki A, Oketani N, Hayakawa H, Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Sakurada S, Tokunaga K, Keicho N: Pulmonary Mycobacterium avium complex infection associated with the IVS8-T5 of the CFTR gene. *Int. J. Tuberc. Lung D* 11: 808-813, 2007.
38. 0801281526
Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Nagai H, Kurashima A, Nakata K, Toyota E, Kobayashi N, Kudo K, Keicho N. Pulmonary Mycobacterium avium complex infection: Association with NRAMP1 polymorphisms. *Eur. Respir. J.* 30: 1376-1382, 2007.
39. 0605311451
Kawashima M, Tamiya G, Oka A, Hohjoh H, Juji T, Ebisawa T, Honda Y, Inoko H, and Tokunaga K: Genome-wide association analysis of human narcolepsy and a new resistance gene. *Am. J. Hum. Genet.* 79: 252-263. 2006.
40. 0605311429
Noguchi E, Ohtsuki Y, Tokunaga K, Yamaoka-Sageshima M, Ichikawa K, Aoki T, Shibasaki M, and Arinami T: ADAM33 polymorphisms are associated with asthma susceptibility in a Japanese population. *Clin. Exp. Allergy* 36: 602-608, 2006.
41. 0605311410
Hara K, Horikoshi M, Kitazato H, Ito C, Noda M, Ohashi J, Froguel P, Tokunaga K, Tobe K, Nagai R, and Kadowaki T: Hepatocyte nuclear factor-4[alpha] P2 promoter haplotypes are associated with type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 55: 1260-1264, 2006.
42. 0601302037
Y Yoshiura K, Kinoshita A, Ishida T, Ninokata A, Ishikawa T, Kaname T, Bannai M, Tokunaga K, Sonoda S, Komaki R, Ihara M, Saenko V, Alipov G, Sekine I, Komatsu K, Takahashi H, Nakashima M, Sosonkina N, Mapendano C, Ghandami M, Nomura M, Liang DS, Miwa N, Kim DK, Garidkhuu A, Natsume N, Ohta T, Tomita H, Kaneko A, Kikuchi M, Russomando G, Hirayama K, Ishibashi M, Takahashi A, Saitou N, Murray J, Saito S, Nakamura Y, and Niikawa N: A SNP in the ABCC11 gene is the determinant of human earwax type. *Nature Genet.* 38: 324-330, 2006.
43. 0605311316
Horikoshi M, Hara K, Ohashi J, Miyake K, Tokunaga K, Ito C, Kasuga M, Nagai R, and Kadowaki T: A polymorphism in the AMPK α 2 subunit gene is associated with insulin resistance and type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 55: 919-923, 2006.
44. 0601302020
Tanaka S, Honda Y, Inoue Y, Honda M: Detection of autoantibodies against hypocretin, hcrt1, and hcrt2 in narcolepsy: anti-Hcrt system antibody in narcolepsy. *Sleep* 29: 633-638, 2006.
45. 0702041637
Dechkum N, Hananantachai H, Patarapotikul J, Ohashi J, Krudsood S, Looareesuwan S, Tokunaga K: Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) Gene Polymorphism Is Not Associated with Severe and Cerebral Malaria in Thailand. *Jpn. J. Infect. Dis.* 59: 239-244, 2006.
46. 0701192016
Tochigi M, Zhang X, Ohashi J, Hibino H, Otowa T, Rogers M, Kato T, Okazaki Y, Kato N, Tokunaga K, and Sasaki T: Association study of the dysbindin (DTNBP1) gene in schizophrenia from the Japanese population. *Neurosci. Res.* 56: 154-158, 2006.
47. 0601301905
Hara K, Horikoshi M, Kitazato H, Yamauchi T, Ito C, Noda M, Ohashi J, Froguel P, Tokunaga K, Nagai R, and Kadowaki T: Absence of an association between the polymorphisms in the genes encoding adiponectin receptors and type 2 diabetes. *Diabetologia* 48: 1307-1314, 2005.
48. 0601301924
Kono H, Kyogoku C, Suzuki T, Tsuchiya N, Honda H, Yamamoto K, Tokunaga K, and Honda Z: Fc γ RIIB 11e232Thr transmembrane polymorphism associated with human systemic lupus erythematosus decreased affinity to lipid rafts and attenuates inhibitory effects on B cell receptor signaling. *Hum. Mol. Genet.* 14: 2881-2892, 2005.
49. 0601301838
Kuroki K, Tsuchiya N, Shiroishi M, Rasubala L, Yamashita Y, Matsuta K, Fukazawa T, Kusaoi M, Murakami Y, Takiguchi M, Juji T, Hashimoto H, Kohda D, Maenaka K, and Tokunaga K: Extensive polymorphisms of LILRB1 (ILT2, LIR1) and their association with HLA-DRB1 shared epitope negative rheumatoid arthritis. *Hum. Mol. Genet.* 14: 2469-2480, 2005.
50. 0601301853
Crocker A, Espana RA, Papadopoulou M, Saper CB, Faraco J, Sakurai T, Honda M, Mignot E, Scammell TE (2005) Concomitant loss of dynorphin, NARP, and orexin in narcolepsy. *Neurology* 65: 1184-1188.
51. 0601301814
Nam MH, Hijikata M, Tuan LA, Lien LT, Shojima J, Horie T, Nakata K, Matsushita I, Ohashi J, Tokunaga K, and Keicho N: Variations of the CFTR gene in the Hanoi-Vietnamese. *Am. J. Med Genet A.* 136: 249-253, 2005.
52. 0601301935
Nishida N, Tanabe T, Hashido K, Hirayasu K, Takasu M, Suyama A and Tokunaga K: DigiTag assay for multiplex SNP typing with high success rate. *Anal. Biochem.* 346: 281-288, 2005.
53. 0601301310
Noguchi E, Yokouchi Y, Zhang J, Shibuya K, Shibuya A, Bannai M, Tokunaga K, Doi H, Tamari M, Shimizu M, Shirakawa T, Shibasaki M, Ichikawa K, and Arinami T: Positional identification

of an asthma susceptibility gene on human chromosome 5q33. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 172: 183-188, 2005.

54. 0601301959

Zhang X, Tochigi M, Ohashi J, Maeda K, Kato T, Okazaki Y, Kato N, Tokunaga K, Sawa A, and Sasaki T: Association study of the DISC1/TRAX locus with schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr. Res.* 79: 175-180, 2005.

55. 0601301948

Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Tangpukdee N, Looareesuwan S, Tokunaga K: A functional polymorphism in the IL1B gene promoter, IL1B -31C>T, is not associated with cerebral malaria in Thailand. *Malaria J.* 4: e38, 2005.

56. 0601301826

Hananantachai H, Patarapotikul J, Ohashi J, Naka I, Looareesuwan S, Tokunaga K (2005) Polymorphisms of HLA-B and HLA-DRB1 genes in Thai malaria patients. *Jpn. J. Infect. Dis.* 58: 25-28.

57. 0702041605

Ohashi J, Naka I, Patarapotikul J, Hananantachai H, Brittenham G, Looareesuwan S, Clark AG, Tokunaga K: Strong linkage disequilibrium of a HbE variant with the (AT)₉(T)₅ repeat in the BP1 binding site upstream of the b-globin gene in Thai population. *J. Hum. Genet.* 50: 7-11, 2005.

2) 学会発表
省略

3) 図書
(おもなもののみ記載)

1. 徳永勝士：ヒトゲノムの多様性：ゲノムワイド多型研究のインパクト、*実験医学* (増刊)、羊土社 27(12): 1917-1922, 2009.

2. 西田奈央、徳永勝士：ゲノムワイド関連分析による多因子疾患遺伝子の探索、*肝疾患Review*2008-2009：85-91, 2008.

3. 宮川 卓、徳永勝士：疾患感受性遺伝子の探査の実際：ゲノムワイド関連解析を中心として、「臨床遺伝子学'07」最新医学9月増刊号、菅野純夫 (編)、最新医学社 62: 151-157, 2007.

4. 徳永勝士：「人類遺伝学ノート」(徳永勝士編著) 南山堂、(総ページ数115), 2007.

5. 徳永勝士：遺伝子・ゲノム多型解析法の進展。「臨床ゲノム科学入門」永井良三 (監) 徳永勝士、山崎 力、大木秀一 (編)、杏林図書、208-220、2007.

6. 西田奈央、徳永勝士：大規模SNPタイピングによる多因子疾患遺伝子の探索。「ゲノム情報と生命現象の統合的理解2007」榊 佳之、伊藤隆司、辻 省次、小原雄治 (編)、*実験医学増刊* 羊土社25(2)：62-68, 2007.

7. 徳永勝士：疾患感受性遺伝子探査の理論と実際。「ゲノム医学NOW」文部科学省特定領域研究「ゲノム」4領域 (編)、クバプロ、19-33、2006.

8. 徳永勝士：疾患の遺伝学。「臨床生命情報学入門」永井良三 (監) 山崎力、小山博史、小野木雄三 (編)、杏林図書、84-97, 2006.

9. 徳永勝士：膠原病関連遺伝子の探索と東京大学ヒトSNPタイピングセンターの成果。「多因子病のゲノム解析」文部科学省特定領域研究「ゲノム」4領域ゲノム医学 (編)、クバプロ、57-67、2005.

10. Bannai M, and Tokunaga K: Single nucleotide polymorphism typing using degenerate-oligonucleotide-primed PCR- amplified products. In: *Whole Genome Amplification.* (Ed. S. Hughes and R. Lasken) Scion Publishing : 11-21, 2005.

4) データベース/ソフトウェア
該当なし

5) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

1.

発明の名称「睡眠障害の治療及び診断方法」

出願番号：特願2008-49530

出願日：2008年2月29日

2.

発明の名称「糖尿病発症及び/又は進展リスクの判定方法」

出願番号：特願2008-316595

出願日：2008年12月12日

6) 新聞等での発表

1. アジア73集団のゲノムワイドSNP解析による多様性の研究
2009年12月11日

2. C型肝炎治療効果に関わる遺伝子の発見
2009年9月14日、朝日新聞など

3. 日中の眠気に関わる (ナルコレプシー感受性) 遺伝子の発見
2008年9月28日、読売新聞など

4. 2型糖尿病に関わる遺伝子の発見
2008年8月25日、朝日新聞など

5. 緑の黒髪 (毛髪の太さに関わる) 遺伝子の発見
2007年11月20日、朝日新聞など

6. 耳垢型を決定する遺伝子の発見
2006年1月30日、毎日新聞など