

ヒトゲノム多型解析による疾患発症関連遺伝子解明のための研究支援

●山本 健

九州大学生体防御医学研究所

<目的>

多因子疾患や単一遺伝病の原因遺伝子多型あるいは変異を同定して、分子レベルや個体レベルで疾患の発症機序を解明し、最終的に、個々人のゲノム情報に基づいた新しい予防法や診断法・治療法を開発するためには、家系や集団を対象としたゲノム多型解析が必須である。これまで、いくつかの疾患に関しては、原因遺伝子が位置する染色体領域が同定され、それに続く詳細な SNP 解析、塩基配列解析によって、原因遺伝子の一部が同定されるに至ったが、多くの疾患については未だ解析の途上であり、その同定が待たれている。

多因子疾患におけるゲノム多型解析では、検出力を上げるために、一定規模以上の検体について、SNP や MS を始めとする多数の遺伝マーカーを解析することが要求される。本支援班は、これまでの特定領域研究「ゲノム医科学」によって整備されたヒト多型タイピングセンターの設備と技術を活用し、さらに、従来の体制の見直しと新しい技術の導入によって、より高効率な多型タイピング体制を構築しつつ、「応用ゲノム」領域との密接な連携のもと、本特定領域研究の研究プロジェクトを対象として、疾患関連遺伝子解明のためのゲノム解析を支援する。

<2007 年度の活動方針>

患者およびコントロール集団を対象とした相関解析を支援する。遺伝マーカーとして MS マーカーおよび SNP マーカーが本支援班で利用可能である。数個の機能 SNP や MS を対象としたタイピングから数千個の SNP マーカータイピングまで、プロジェクトの内容に応じ適宜タイピング支援を行う。本特定領域によって導入した ABI7900HT (TaqMan) およびイルミナ SNP タイピングシステムが利用可能である。2007 度は、前年度より進めてきた以下のプロジェクトについて、引き続きタイピング支援を行う。

1) 「全ゲノム罹患同胞対連鎖解析および候補遺伝子関連解析による心筋梗塞感受性遺伝子の同定」(愛知学院大学・横田充弘)

これまで、心筋梗塞を含む冠状動脈疾患罹患同胞対約 200 組について、MS マーカーを用いた全ゲノム連鎖解析を、追加マーカーでの連鎖の確認も含め、東海大学・井ノ上逸朗教授らと共同で実施し、有力な候補染色体領域を 2 箇所にて得ている。本年度は、このうちの 1 領域を対象として、高密度 SNP マーカーによる相関解析を実施する。約 20Mb の候補染色体領域に CHB+JPT のアレル頻度情報から、Golden Gate Assay が可能で、かつ、MAF > 0.1 の SNP を約 3,000 個選択する。これらについて、罹患同胞対解析に用いた心筋梗塞患者および孤発症例計 460 検体とコントロール群約 500 検体をタイピングし、SNP を用いた連鎖解析および罹患同胞対発端者、孤発症例、コントロール群を対象とした相関解析を実施する。

2) 「ローカスおよびゲノムワイド関連解析による統合失調症の分子基盤の解明」(九州大学・服巻保幸)

東海大学猪子教授らと共同で、MS マーカー・プールの DNA 法による 3 次スクリーニングを終了し、374 陽性マーカーを最終的に同定した。これらについて、優先的に解析を進める約 50 個の

MS マーカーを選択し、MS マーカーの前後約 100Kb 領域を対象として、Golden Gate Assay が可能で、かつ、CHB + JPT のアレル頻度情報から MAF > 0.1、 $r^2 = 0.8$ の条件で TagSNP を約 1500 個設定する。スクリーニングに用いた患者+コントロール約 1000 検体について、これらをタイピングし、相関の確認を実施する。

3) 「糖尿病疾患関連遺伝子の同定と医療への応用」(神戸大学・春日雅人)

これまで進めてきた全ゲノム相関解析によって陽性となった SNP や諸外国によって報告された有力関連遺伝子多型のうち、TaqMan 法によるタイピングが必要な約 20SNP について、症例約 1600 例、対照約 1600 例のタイピングを実施し、糖尿病との相関の確認および日本人での再現性を検討する。

<2007 年度の成果>

1) 「全ゲノム罹患同胞対連鎖解析および候補遺伝子関連解析による心筋梗塞感受性遺伝子の同定」(愛知学院大学・横田充弘)

3072SNP を選択し、症例、対照群合わせて 960 検体について Golden Gate Assay によるタイピングを実施した。QC チェックを、Sample Call Rate > 0.95、SNP Call Rate > 0.95、Maf > 0.01、HWE_p > 10E-6 の基準で行い、最終的に採択された 931 検体と 2978SNP を対象として相関解析を行った。相関解析はアレルテスト、トレンドテスト、遺伝子型優性モデル、劣性モデルにて実施した。対照 480 名と罹患同胞発端者 110 名の 2 群間の解析にて、何れかのテストで P 値 < 0.05 を示す SNP を 295 個同定した。さらに孤発症例 142 名を対象とした相関解析において、89SNP に再現性を認めた。89SNP は複数の LD ブロックを形成しており、代表的な SNP について、異なる検体セット、対照 1500 例、症例 1500 例での Replication Study を予定している。

2) 「ローカスおよびゲノムワイド関連解析による統合失調症の分子基盤の解明」(九州大学・服巻保幸)

1536SNP を選択し、症例、対照群合わせて 960 検体について Golden Gate Assay によるタイピングを実施した。中間的に 768 検体について解析を行った。QC チェックを上記と同様に実施し、X 染色体上の SNP を除き、計 1393SNP を相関解析の対象とした。これまでに、アレルテスト、トレンドテスト、遺伝子型優性モデル、劣性モデルの何れかで有意差を認める SNP を計 150 個同定しており、最終的な 960 検体での解析によって、相関を示す複数の SNP の同定が期待される。

3) 「糖尿病疾患関連遺伝子の同定と医療への応用」(神戸大学・春日雅人)

JSNP を用いた全ゲノム相関解析 3 次スクリーニング SNP と欧米から相関が報告されている DM 関連遺伝子多型計 22SNP について、前者は症例 1000 名、対照 1000 名、後者は症例 1600 名、対照 1600 名の SNP タイピングを TaqMan 法により実施した。その結果、10SNP において明らかな相関を認め、3 次スクリーニング陽性 SNP、日本人における相関の再現性が確認された。