

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¹⁾ ◇徳永 勝士²⁾ ◇桑野 良三³⁾

1) 九州大学生体防御医学研究所 2) 東京大学大学院医学系研究科 3) 新潟大学脳研究所

<目的>

多因子疾患や単一遺伝病に関わる原因遺伝子多型あるいは変異の同定を基盤として、疾患の発症機序を、分子・細胞・個体レベルで解明し、さらに、多因子疾患においては、コホート集団解析を通じて、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。近年の多型タイピング技術の進歩により、大規模検体を用いた症例・対照研究が、欧米を中心として急速に進展し、多くの多因子疾患において、疾患発症関連遺伝子多型研究が進行している。

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」領域と密接に連携を取り、疾患関連遺伝子多型の解明という明確なミッションのもと、本特定領域研究の研究プロジェクトを対象として、SNP タイピング、MS マーカータイピングを中心としたゲノム解析を支援する。

<2008 年度の活動方針>

高密度 SNP アレイを用いた全ゲノム関連解析による多因子疾患関連遺伝子多型探索の有効性が報告されている。本支援班では、連携研究者と密接に交流をはかりながら、応用ゲノム領域で協議され採択された疾患プロジェクトについて、全ゲノム関連解析を進める。本年度は、アルツハイマー病（新潟大学・桑野教授）および多系統委縮症（東京大学・辻教授）が支援対象である。また、心筋梗塞（愛知学院大学・横田教授）について、これまでに進めてきた、罹患同法対連鎖解析による疾患関連染色体領域の同定とそれにつづく候補領域の詳細なマッピングおよび相関の再現実験を進める。

一方、本支援班では、SNP タイピングについて、チップを用いた解析以外に、ABI7900HT (TaqMan) およびイルミナ Golden Gate SNP タイピングシステムが利用可能であり、これらを用いた、小一中規模 SNP タイピング（数個から 3000 個程度）支援を可能な範囲で適宜実施する。

具体的には、以下の方針で支援活動を進める。

1) アルツハイマー病に関する全ゲノム関連解析

（新潟大学教授・桑野良三）

症例・対照各約 1000 検体を対象とした Affymetrix SNP6.0 による全ゲノム関連解析を、新潟大学・桑野教授、東京大学・徳永教授を中心に実施する。この一次スクリーニング結果を受け、異なる症例・対照各約 1000 検体に対し、二次スクリーニングを実施する。二次スクリーニングにはイルミナ社の Golden Gate Assay システムを用い、一次スクリーニングにおいて相関を示した上位 1536 SNP のタイピングを予定する。

2) 多系統委縮症に関する全ゲノム関連解析

（東京大学教授・辻省次）

症例・対照各約 400 名を対象としたイルミナ 550K による全ゲ

ノム関連解析一次スクリーニングを実施する。

3) 心筋梗塞に関するゲノム多型解析支援

（愛知学院大学教授・横田充弘）

罹患同法対連鎖解析によって得られた候補領域に、3072SNP を選択し、症例、対照群計 960 検体について Golden Gate Assay によるタイピングを実施し、一遺伝子領域に相関を示す複数の SNP を同定した。本年度は、この陽性 SNP の代表的な 3SNP について、異なる検体セット、症例・対照群計 8000 検体（AP 症例を含む）での再現実験を実施する。また、これらの検体を対象として、これまでに、欧米人での全ゲノム関連解析によって報告された 12SNP について、日本人での再現性を検討する。

4) 2 型糖尿病に関するゲノム多型解析支援

（国立国際医療センター研究所長・春日雅人）

全ゲノム関連解析の二次スクリーニングに備え、約 2000 検体についてゲノム増幅を実施する。

<2008 年度の成果>

1) 「アルツハイマー病」

症例および対照各約 1050 検体に関して、SNP6.0 チップによる一次スクリーニング遺伝子型取得が終了した。タイピング品質チェックを実施し、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度についての相関解析を行った。二次スクリーニングに用いる Golden Gate Assay の成功率と一次スクリーニング有意差検定値を考慮し、二次スクリーニングの対象とする 1536SNP を選択した。これらの SNP に関し、症例および対照各 960 検体を対象とした二次スクリーニングが進行中である。

2) 「多系統委縮症」

一次スクリーニングの前半となる、症例 214 検体、対照 226 検体に関して、イルミナ 550K チップによるタイピングが終了した。異なる症例約 170 検体、対照約 210 検体が準備されており、これらを用いた一次スクリーニング後半のタイピングが進行中である。

3) 「心筋梗塞」

連鎖解析候補領域より得た 3 候補 SNP に関し、段階的にタイピングを実施している。中間的に、若年 AMI 症例 1071 検体、対照 2983 検体について相関解析を行い、対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度の比較において、 $p=10^{-5}$ 前後の関連を認めた。現在、AP を含めた症例（計 3200 検体）および対照計約 6500 検体のタイピングと統計解析を進めている。また、候補 12SNP について、中間的に、AMI 患者 1700 検体、対照 2000 検体について相関解析を行い、対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度の比較において、 $p=10^{-8}$ 前後の関連を 9 番染色体の SNP に、また $p=10^{-3}$ 程度の関連を 10 番染色体の SNP に認めた。これらも検体を追加し統計解析が進行中である。最終的な解析では、臨床疫学的リスク因子を加味した統合的な解析を実施する。

4) 「2 型糖尿病」

2000 検体のゲノム増幅を実施し、一部の検体を用いた予備実験により、SNP 解析に利用可能であることを確認した。