

「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術」
平成14年度採択研究代表者

加藤 規弘

(国立国際医療センター研究所 部長)

「高血圧関連疾患に関する多面的なゲノム疫学研究」

1. 研究実施の概要

【研究のねらい】

血圧という量的形質に対して、個々の遺伝子は“マイルドな”遺伝効果しか持たず、食事などの環境要因によって大きく影響されると推定されている。従って、遺伝と環境の相互作用という視点から双方の要因を同定し、さらに中間的形質 (intermediate phenotype) を指標としながら作用機序を詳細に検証していく必要がある。そのために、(1) 基盤的研究資源の開発と整備、(2) 病因・病態メカニズムの解明を目指した多段階的なコホート研究体制の構築、(3) ゲノム情報に基づく高血圧関連疾患の予防と薬剤感受性 (有効性と副作用) の個人差の解明、そしてこれらの成果に基づいた、(4) 高血圧関連疾患のテーラーメイド医療戦略の策定、を行うことが本研究の目的である。

2. 研究実施内容

本研究は、①解析対象とする遺伝子座とSNPsの選出に関する部分と、②コホート研究体制及びゲノム疫学研究のデザインに関する部分とに大別される。

I. 研究目的および方法、進捗状況

【解析対象とする遺伝子座とSNPsの選出】

(1) 高血圧ラット由来のコンジェニック・ラット作成

ヒト高血圧のモデルとして幅広い分野の研究に用いられてきたSHR系統から、特定の染色体断片のみを組み換えたモデル動物—コンジェニック・ラット—を14系統作成してきた。うち11系統は既に完成し、残り3系統についても最終段階に差しかかっている。こうして多因子疾患の“単一遺伝性疾患化”を実現して、遺伝子本体の解明、さらにヒトsyntenyの検索を試みる。完成した11系統のうち、特に染色体1番由来のコンジェニック・ラットについては、組み換えた染色体断片をさらに分断化したサブコンジェニック・ラットを12系統作成し、責任遺伝子の同定に向けたpositional cloningを進めている。

(2) 日本人における「疾患ベース」のマーカー・スタンダードの整備

既知の (あるいは高血圧ラットの研究を通じて新たに発見された) 生理的機序の候補

遺伝子に関して、ゲノム解析を効率的かつ網羅的に推進するために「高血圧関連SNPsデータベース」を構築する。151の候補遺伝子に関してdirect sequencingを行い、すでに合計1995個（うち45%は新規に登録されたSNPs）を日本人にて同定した。これらより効率的に多型情報を抽出するためのtag SNP選出アルゴリズムを開発し、また人種比較という視点も含めてSNP情報をデータベース化したうえで公開した（<http://www.jmdbase.jp>）。

(3) 薬剤感受性の個人差の解明に向けたSNPsデータベースの構築

高血圧関連疾患の罹患者に対して、今後、処方率の増加が予想される、2種類の薬剤—アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（ARB）とスタチン系薬剤—に関して、pharmacogenomicsのためのSNPsデータベースを構築する。SHRSP（脳卒中易発症SHR）とWKYを用いて、両薬剤による遺伝子発現をDNAマイクロアレイ法で解析し、脳、心臓、肝臓、腎臓、脂肪の5臓器で顕著な発現変化を示すクローンを選出する。発現変化については、DNAマイクロアレイ法にてスクリーニングした後、定量PCR（real-time PCR）にて確認検証している。

(4) ゲノム規模での転写調節因子結合配列の同定とrSNPsの網羅的探索

酵母one-hybrid systemをベースとした転写調節因子結合配列の系統的クローニング法、及びmicroarray-binding assay法等を用いて、重要な転写調節因子（HNF4やグルココルチコイド受容体、PPAR γ など）に関して、その標的遺伝子の同定後にrSNPsの探索を進めている。

【コホート研究】

(1) 第一のコホート：代表的な都市化した地域集団（尼崎研究）

年間2万人を超える尼崎市検診センターの協力を得て、平成14年度より地域開業医及び検診センターの受診者のなかから無作為に被験者を選出して大規模なゲノム疫学研究を行ってきた。約12,000人の非血縁者を連続的にエントリーし、一般検診項目に加え、食習慣、運動歴（習慣）、身体活動度などの環境要因を被験者情報として細かに収集した。うち5,800人の受診者からはインフォームドコンセントを取得してSNP解析を行っている。

(2) 第二のコホート：無症候性脳硬塞及びラクナ硬塞のコホート研究（島根研究）

脳卒中のなかでも、高血圧の影響が強い臓器合併症として無症候性脳硬塞(SBI)及びラクナ梗塞に注目してゲノム疫学研究を行う。島根大学で施行している脳ドック受診者（年間約300人、平均年齢57.5才）よりSBI及びコントロールの被験者を収集する。さらに高齢者脳検診でのsuper-normal群と、SBIから有症候性脳硬塞を発症したものを前向きに解析対象とする。まず、SBI320名を含む合計1000名に関してインフォームドコンセントを取得後、収集したDNAを用いて脳卒中の130候補遺伝子の検討を進めている。1次スクリーニングを終えた時点で9遺伝子座のSNPに対して有意な傾向を認めた。

II. 結論

当初平成16年度に予定した研究計画はほぼ達成できたものと思われる。すなわち、前年

度に引き続き『解析対象とする遺伝子座とSNPsの選出』部分に関する基盤研究を推進するとともに、『コホート研究』の体制整備、サンプルおよびデータ収集にポイントを置きつつ既収集済みサンプルを用いたSNP解析を実施した。基盤研究として位置付けたラットの遺伝子解析についても、ほぼ全てのコンジェニック系統が完成し、責任遺伝子座の探索へと展開している。また収集した被験者サンプルに対するSNP解析の結果に基づいて、次年度には、標的とする遺伝子における機能的意義の探究をさらに推進する予定である。

3. 研究実施体制

コンジェニックラット解析グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：高血圧ラット由来のコンジェニックラット作成、機能解析、ヒト syntenyの検索

SNPsデータベース構築グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：日本人における「疾患ベース」のマーカー・スタンダードの整備、薬剤感受性の個人差解明に向けたSNPsデータベースの構築

転写調節因子解析グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：ゲノム規模での転写調節因子結合配列の同定とrSNPsの網羅的探索

尼崎研究グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：代表的な都市化した地域集団でのコホート研究

島根研究グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：無症候性脳硬塞及びラクナ硬塞のコホート研究

専門医療機関におけるゲノム疫学研究グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤規弘（国立国際医療センター 研究所、部長）
- ② 研究項目：高血圧関連疾患罹患者を対象としたコホート研究

4. 主な研究成果の発表

(1) 論文発表

- Takeuchi F, Yanai K, Morii T, Ishinaga Y, Taniguchi-Yanai K, Nagano S, Kato

N. Linkage disequilibrium grouping of SNPs reflecting haplotype phylogeny for efficient selection of tag SNPs. *Genetics*. 2005 Feb 16; [Epub ahead of print].

- Watanabe T, Iizuka Y, Liang Y-Q, Inomata H, Gotoda T, Yanai K, Isobe M, Kato N. Evaluation of insulin resistance linkage to rat chromosome 4 in SHR of a Japanese colony *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 329: 879-87.