

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「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」  
研究課題「sub-common disease の感受性遺伝子  
同定と個人型易罹患性診断への応用」

## 研究終了報告書

研究期間 平成15年10月～平成21年3月

研究代表者:井ノ上 逸朗  
(東海大学総合医学研究所、所長・教授)

## § 1 研究実施の概要

個々人に合った医療、テーラーメイド医療、を実現するためには、個人における病気の原因を確実に突き止め、それに伴う病態を理解把握し、個々人の違いに基づいた治療法、予防法をおこなう必要がある。病気に強弱はあれ遺伝要因が関与することはよく認識されている。またヒトゲノムに存在する遺伝子多型は個々人を規定しているといっている。すなわち個人の遺伝子多型と病気を繋げるにより、個々人の異なる病態まで検討できることとなる。本研究ではありふれた疾患の原因となりうる感受性遺伝子同定を目指す。当初より多因子疾患においてひとつの遺伝要因の効果は小さいと予測でき、複数の遺伝要因がどのように疾患発症に関与するか、遺伝子間相互作用かつ遺伝子/環境要因相互作用を検出する手法を開発する。

ゲノムサイエンスの進展の恩恵で、単一遺伝病において、十分な家系さえ収集できると、連鎖解析での遺伝子座の特定、ポジショナル・クローニングによる疾患原因遺伝子同定は比較的容易な時代となっている。また単一遺伝病において修飾要因の存在は知られているものの、個人の罹患、経過予測はある程度確実にできる。一方、多因子疾患は多くの遺伝要因と環境要因が複雑に相互作用しつつ疾患に到ると考えられ、疾患感受性遺伝子同定は困難を極めるし、環境要因との相互作用の検出はさらに困難と考えられていた。そのため多因子疾患の遺伝子同定はその重要性とは裏腹に進んでいなかった経緯がある。そのような困難さが予想されたので、研究開始時には、多因子疾患の中で、高血圧や糖尿病ほど頻度は高くはないものの比較的遺伝背景が強い疾患、sub-common disease、を研究対象とした。本研究で対象とする疾患は脳動脈瘤、男性不妊症、家族性甲状腺癌である。それぞれに疾患の特徴や研究環境状況を考慮しつつ、疾患遺伝子多型同定を目指した。また個々人の罹患予測や健康保持のための、遺伝要因と生活習慣を組み合わせた予測プログラム作成も試みる。特に脳動脈瘤においては、破裂すればくも膜下出血という致死性の疾患をきたすものの、破裂しないと症状もなくほとんど問題なく過ごすことができる。すなわちどのような脳動脈瘤が破裂するかの見極めが重要となる。その目的のために手術時に脳動脈瘤組織を採取し、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により、破裂脳動脈瘤に特徴的な発現プロファイルと未破裂脳動脈瘤の中に破裂脳動脈瘤と類似した発現プロファイルを有する症例を見だし、将来破裂する可能性についても検討している。男性不妊症では、重症型である非閉塞性無精子症を対象とし、精巣組織での網羅的遺伝子発現プロファイルから特徴的なクラス分類ができ、そこで発現変化している遺伝子群から病態を知ることができれば、遺伝子発現プロファイルからの病型の分子解剖的分類も可能となる。また疾患感受性遺伝子は組織において発現変化をきたしていると予想できるので、発現変化している遺伝子群を候補遺伝子としてアソシエーション・スタディをおこなった。

研究開始当時はまだゲノム全域を網羅する高密度 SNP をタイピングする手法は確立しておらず、罹患同胞対連鎖解析による遺伝子座の特定と遺伝子座におけるポジショナル・クローニングでの疾患感受性遺伝子同定を試みた。連鎖不平衡やハプロタイプを利用した効率的な解析を目指していたが、全ゲノムを超高密度に網羅する SNP タイピングプラットフォームが開発され、そのような状況に合わせ研究計画を変更しつつ疾患遺伝子研究を進めた。

### 脳動脈瘤感受性遺伝子同定

本研究ではくも膜下出血の原因である脳動脈瘤の発症に関連する遺伝子同定を目指す。くも膜下出血はそのほとんどが脳動脈瘤の破裂を原因としており、致死率が高く、働き盛りを襲うので社会的損失の大きい疾患である。脳動脈瘤は高頻度に存在しており（50歳以上の3-6%に存在）、無症状であるものの、破裂に伴って50%程度が死に至る重篤な疾患であり、同時に遺伝背景が強い疾患といわれているので、予防法開発や易罹患性遺伝子診断の対象として最適な疾患と言えるだろう。喫煙習慣がリスクとなることは知られているので、相互作用も重要である。疾患関連遺伝子が同定されれば、脳動脈瘤発生メカニズムの全容解明につながり、予防法や治療法の開発へ向けた大きな前進が期待できる。脳動脈瘤発生に関するメカニズムの全容解明のためには、従来の手法に加えて、ゲノム全域から感受性遺伝子を検出する新たなアプローチを採用し、戦略を立てることが重要である。

これまで主にゲノム全域連鎖解析で特定できた遺伝子座においてスクリーニングをおこなってき

たが、家系収集は順調とは言えず解析そのものも検定力は強いとはいえなかった。そのような中ゲノム全域 SNP タイピングプラットフォームが整備されてきたので、Illumina HumanHap300 BeadChip を用いたゲノム全域アソシエーション・スタディへと解析手法を転換した。SNP データについては厳格、厳密な品質管理をおこない、タイピング精度の管理は当然として、日本人の不均一性を見いだしメジャーな集団から遊離している検体は排除した。日本人脳動脈瘤患者 300 例、対照 200 例でアソシエーション・スタディをおこない日本人で有意となる SNP は同定できた。さらに Yale 大学 Gunel 教授との共同研究で、フィンランド、オランダ検体において(患者 2,200 例、対照 8,000 例)、集団の階層化を排除したうえでアソシエーション・スタディをおこない、3カ所、2、8、9番染色体の SNP において P 値で $10^{-9}$ を超える有意差を認め、脳動脈瘤感受性遺伝子領域を特定できた(Nat Genet in press)。有意差を認めた SNP 近傍に存在する遺伝子は SOX17、CDKN2A で今後病態との関連を精査する必要がある。

### 男性不妊症(非閉塞性無精子症)のゲノム解析

少子化対策には政治経済を含めた社会的インフラの改善が求められる。また産婦人科医の減少に伴う医療現場の混乱改善等も喫緊の課題であろう。我々は医学研究者の立場から少子化対策を考えてみたい。不妊は挙児を望むカップルの15%程度に観察され、社会的に大変インパクトのある疾患である。その中で男性側のみ原因があるのは25%程度とされている。男性不妊症の臨床型はさまざま、50%程度は乏精子症、20%程度は無精子症(半分は閉塞性無精子症、半分は非閉塞性無精子症)、20%は精子無力症、そして残りの10%は精子奇形症などである。多くは特発性とされるが、環境要因に加え、性染色体の微小変異など遺伝要因が複雑に絡んでいると考えられている。

本研究では精子形成過程に異常をきたしている非閉塞性無精子症を主な研究対象とした。非閉塞性無精子症においてこれまでY染色体の欠失などが報告されているもののほとんどは特発性であり原因不明である。非閉塞性無精子症といっても臨床型は単一でなく、精子形成の段階ごとに異常が知られ、セトリ細胞の有無、精祖細胞、精母細胞、精子細胞、精子といった分化過程の段階における異常など病的に分類されている(Johnsen score)。我々は精巣組織の遺伝発現プロファイルから非閉塞性無精子症の分子解剖的分類を試みた。また病的な分類がなされているものを、教師なし情報で非負値行列因数分解法にて分類を試みたところ、Johnsen scoreの低い重症型がふたつに分類され、そのサブグループは血中LH、FSHレベルに差があった。これら分類を特徴づける遺伝子を候補としてアソシエーション・スタディをおこなったところ、ART3遺伝子SNPにおいて有意な関連を認めた(PLoS Genetics 2008)。ART3はADP-ribosyl transferaseのファミリー遺伝子で標的タンパク質のADPリボシル化により機能不活化に関連する。現在のところART3の酵素活性は確認できておらず、非閉塞性無精子症への機能的関与も不明なので、今後の検討課題である。

### 家族性甲状腺癌の解析

甲状腺乳頭癌は、最も高頻度で発生する内分泌系の悪性腫瘍である。全甲状腺癌の約80%を占め、男性と比較して女性の発症率が高い、という特徴を持つ。女性における癌発症率は、他のあらゆる種類の悪性腫瘍と比べて急激に増加しており、韓国の2005年の統計によると、女性の発症率は乳癌を抜いて甲状腺癌が1番高かった。

人口の5-10%に一生の間に臨床的に問題となる甲状腺腫瘍が発生するため、良性腫瘍と悪性腫瘍の判別は非常に重要である。しかしながら、現在使用可能な診断ツールは必ずしも信頼性が高くない。近年、甲状腺乳頭癌は固形腫瘍の分子病因学において重要な研究対象となり、MAPK パスウェイの異常活性化などが明らかにされてきたが、発症原因については、特殊なタイプの甲状腺癌家系(oncocytoma)を用いた連鎖解析の報告があるものの、一般的な甲状腺癌での感受性遺伝子は同定されていない。

本研究では、家族性甲状腺乳頭癌のゲノム全域罹患同胞対連鎖解析により、8番染色体に連鎖領域を認めた。この領域については、今後、次世代シーケンサーを用いたターゲット領域リシーケンシングにより効率的なスクリーニングを目指したい。また、候補遺伝子変異スクリーニング解析により、甲状腺癌患者でミスセンス変異が集積するMAPK パスウェイ上の遺伝子を同定した。DNAマイクロアレイを用いた全ゲノムコピー数変異解析では、患者ゲノムに特有のコピー数変異を同定している。

### 因子間相互作用解析の検出手法の開発および疾患予測に向けた取り組み

Sub-common disease の多くは多因子疾患であり、その名が示す通り、複数の遺伝性、非遺伝性因子が相互作用などを通じて複雑な病態構造を形成し、その中で易罹患性(リスク)が決定されるものと考えられる。SNP を用いたこれまでの遺伝疫学研究では、そのような因子間の相互作用はほとんど触れられていない。また、主に集団での易罹患性に重点が置かれ、個人がどの程度病気に罹りやすいかについてもほとんどアプローチされていなかった。本研究では以上の問題を踏まえ、SNP のほか、臨床検査データなどの情報を幅広く取り込み、それらの関連構造を詳細に反映した発症モデルの推定を目的として、新たな数理統計学的解析手法の開発について検討を進めてきた。さらに、本格的なテーラーメイド医療時代の到来を想定した試みとして、将来における個人レベルでの疾患発症を予測するためのアルゴリズムの開発にも着手した。

グラフィカルモデリングは、多変量の関連構造をネットワークグラフによって表す手法であり、本研究ではまずその一種である PC (path consistency) アルゴリズムを実装、ソフトウェア化した。また、アルツハイマー病の症例・対照データ(新潟大学脳研究所の研究グループより供与)を二次利用し、従来の関連解析で得られている結果を再現しており、その有効性も検証された。これにより、従来の手法ではとらえることが困難であった、SNP 間、および SNP-疾患間の複雑な関連構造を、ネットワークグラフの形で分かりやすく視覚化することが可能となった。この手法は、大規模なデータにも対応が可能であり、今後、ゲノムワイドの超高密度 SNP を対象とした解析により、疾患と関連する SNP の網羅的な抽出が期待される。

さらに、臨床検査データや生活習慣などの情報をもとに、MCMC(マルコフ連鎖モンテカルロ)を用いたベイズ法により、疾患モデルの推定、および個人レベルでの疾患発症予測を行う未来型診断システムを提案し、プログラムの開発を行った。特に、個人の易罹患性は連続的な変数を示すという量的形質であり、それがある閾値を超えたとき発症するという閾値モデルの理論の導入は、連続変数と離散変数という異なるタイプのデータを同時、かつ有効に利用する上で重要な点であり、本研究において開発されたプログラムは、より信頼度の高いモデルの推定、および発症予測への第一歩と位置付けられる。

### テーラーメイド健康予測システムの開発

現在、わが国では地域、職域、学校などで、それぞれ老人保健法、労働安全衛生法、学校保健法に基づき、健康診断がひろく行われている。これらの保健事業の当初の目的は、がんの早期発見などの二次予防であったが、現在では健康寿命の延伸などを目標とする「健康日本 21」を推進するための個々人の実践を促す事が主要な目的となってきた。重点的に取り組む疾患は、がん、脳卒中、心臓病及び糖尿病とされている。しかし、受診者の側から見た場合、現状では健康診断後の検査データを受け取っても、軽度の異常であった場合、ほとんどそれが以後の生活習慣改善などに活かされることが無く、脳卒中、心筋梗塞などの発症予防につながりにくいのが現実である。例えば将来の重大な健康障害につながる事が疫学的に明らかなメタボリックシンドロームは内臓肥満を基礎として、軽度高血圧、軽度高脂血症、軽度高血糖などで診断されるが、これまでほとんど放置されてきた。これに対する処方箋の一つとして、個々人の将来健康リスクがどの程度で、リスクを回避するためにはどのような手段があるかをわかりやすく受診者に伝え、それに基づき個々人の健康増進を支援する、いわゆる「テーラーメイド健康管理システム」の構築が必須である。また、これまでの疫学調査は集団を対象としており、個人を対象とはしてこなかった。疾患感受性 SNP 同定に伴い、個々人の違いと易罹患性との関連が重要となるだろうし、テーラーメイド医療が話題となる所以である。羽田グループは、このシステムの中核となる、個々人の将来の健康予測をする、テーラーメイド健康予測システム開発を目指した。

## § 2 研究構想及び実施体制

### (1) 研究構想

研究開始時に目指した目標は、疾患感受性遺伝子を同定し、そこから疾患メカニズム解明、そして生活習慣を組み合わせる罹患者予測をおこなうアルゴリズム開発であった。本質的に目標にはなんら変更はないものの、ゲノムサイエンスの技術革新は目覚ましく、それに伴い解析手法にも当然変更が必要となった。

研究開始時に Illumina 社もしくは Affymetrix 社から現在提供されているゲノム全域高密度 SNP タイピングプラットフォームは存在しておらず、ゲノム全域アソシエーション・スタディはほぼ不可能で、連鎖解析によるマッピングが主流であった。当初計画では、sub-common disease の家系収集をおこない、連鎖解析により遺伝子座をマッピングし、その座位から疾患感受性遺伝子を同定する戦略を立案していた。多因子疾患においては遺伝形式を決める事はできず、浸透度も低いと予想される。そのような場合、アソシエーション・スタディの方が連鎖解析より検定力が高いことがすでに示されていた。しかしながらゲノム全域を網羅して安価にタイピングする手法がなかったため、従来型の手法に頼っていた。

ゲノムサイエンスの進展に伴う技術革新があり、そのような局面に伴い主にふたつのゲノムアプローチ手法で研究を推進した。ひとつはゲノム全域を高密度に網羅する SNP プラットフォームを用いたアソシエーション・スタディであり、もうひとつは、患者組織での網羅的遺伝子発現プロファイリングによる病態の理解と候補遺伝子の抽出である。脳動脈瘤においてはゲノム全域アソシエーション・スタディの手法で疾患遺伝子同定を進めた。非閉塞性無精子症においては感受性遺伝子多型はその遺伝子発現に影響を与えることが予測できたので、患者精巣組織で発現変化する遺伝子を候補としてアソシエーション・スタディをおこなった。非閉塞性無精子症精巣組織での遺伝子発現プロファイルにより、ユニークな病型分類ができ、候補遺伝子も同定できた。家族性甲状腺癌においてはすでに家系収集に力点を置いており、十分数の家系収集(104 家系、215 名)ができていた。本研究では従来型のマイクロサテライトではなく高密度 SNP アレイを用いた連鎖解析による遺伝子座の特定を試みた。アソシエーション・スタディには少ない数であったことも事実であるが、十分な家系数を有し、高密度 SNP プラットフォームで連鎖解析をおこなったため、比較的検出力の高い解析となった。個々人の将来を予測するプログラム作成については、当初予期していた以上の困難さと必要データ数不足があり、遅滞としていたところはあるものの、グラフィカルモデルによる相互作用解析、より理論的な多変量分散成分閾値モデルを用いた解析など、着実に基礎を固めることができた。また健康予測についても、典型的な例についてはある程度可能となり、今後の成果が見込まれる状況となっている。

### (2) 実施体制

グループ名	研究代表者又は主たる共同研究者氏名	所属機関・部署・役職名	研究題目
井ノ上グループ	井ノ上 逸朗	東海大学・総合医学研究所・所長・教授	脳動脈瘤感受性遺伝子同定 非閉塞性無精子症感受性遺伝子同定 因子間相互作用解析の検出手法の開発および疾患予測に向けた取り組み

羽田グループ	羽田 明	千葉大学・大学院医学研究院 公衆衛生学・教授	テラーメイド健康予測シ ステムの開発
小島グループ	小島俊男	理化学研究所・基幹研究所先 端計算科学研究領域・チーム リーダー	家族性甲状腺癌の解析

## § 3 研究実施内容及び成果

### 3. 1 ゲノム全域からの疾患感受性遺伝子同定(東海大学井ノ上グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### 脳動脈瘤ゲノム全域アソシエーション・スタディ (GWAS)

加齢性黄斑変性症の原因遺伝子が補体因子Hであることがゲノム全域アソシエーション・スタディで同定されたことを皮きりに、この2-3年で多因子疾患の感受性遺伝子同定の報告が数多くなされている。それらのほとんどが、Affymetrix社もしくはIllumina社から提供されているゲノム全域を高密度に網羅するSNPタイピングプラットフォームを用いたアソシエーション・スタディによるものである。本研究では脳動脈瘤の感受性遺伝子同定を目的とし、Illumina Sentrix HumanHap 300 Genotyping BeadChipを用い、ゲノム網羅率を向上させた症例対照関連研究を試みた。家族歴を有する症例を中心に脳動脈瘤患者300例と対照200例を1次スクリーニングに用いる。2次スクリーニングには、Illumina GoldenGate Genotyping Assayを用い、脳動脈瘤患者と対照それぞれ450例の遺伝子型を2,304個のSNPにわたって決定する。

Illumina HumanHap300 BeadChip を用いた計 500 例のジェノタイピングが完了した。BeadChip のバージョン更新に伴い、300 例は HumanHap300 v1、残りの 200 例は HumanHap300-Duo (v2-2) を用いた (2 つのチップに共通の SNP は 312,712 個)。全体のコール率は 99.5%を超えるものであった。タイピングデータに関して、まずは厳格なクオリティコントロール (QC)が必要と考えた。サンプル除外基準を次のように設定し、サンプルの QC を行った (括弧内は除外対象となったサンプル数) : (i) コール率 97% 未満 (2 例)、(ii) サンプルの重複 (2 例)、(iii) 未報告の血縁者対 (2 例)、(iv) 異なる祖先集団由来 (12 例)。項目 (iv) の結果は、日本人サンプルにおいても階層化が生じうることを考慮する必要性を示唆している。実際、祖先集団の明らかな HapMap CHB (中国人) や韓国人サンプルのなすクラスターとは異なるルートでの日本列島への流入の可能性を示唆している。QC 基準を満たしたサンプルは症例 288 例、対照 194 例であった。また、SNP の QC については、実験的なタイピングエラーの他にコピー数変異やプローブ上に局在する SNP が影響を及ぼすため、その効果を調査した。その結果、コール率の低下、Hardy-Weinberg 平衡 (HWE) からホモ接合過剰な配位への有意なシフトが生じる傾向を見出した。その上で除外基準をコール率、対照サンプルにおける HWE からのずれの度合 (正確検定の  $p$ -値) およびその向き (ホモ接合超過度) という 3 つの指標を用いて設定し、計 512 個の SNP を関連解析から除外した。関連検出の検出力を考慮し、サンプル全体でのマイナーアレル頻度の下限を 5%に設定した。最終的に 250,570 個の常染色体上の SNP を関連解析に供した。X 染色体上の SNP に関しては独立な解析が必要であり、X 染色体の不活化をモデルに適切に取り込む必要があるが、これに対する共通認識が得られていない状況である。そのため、常染色体上の SNP に限定した。

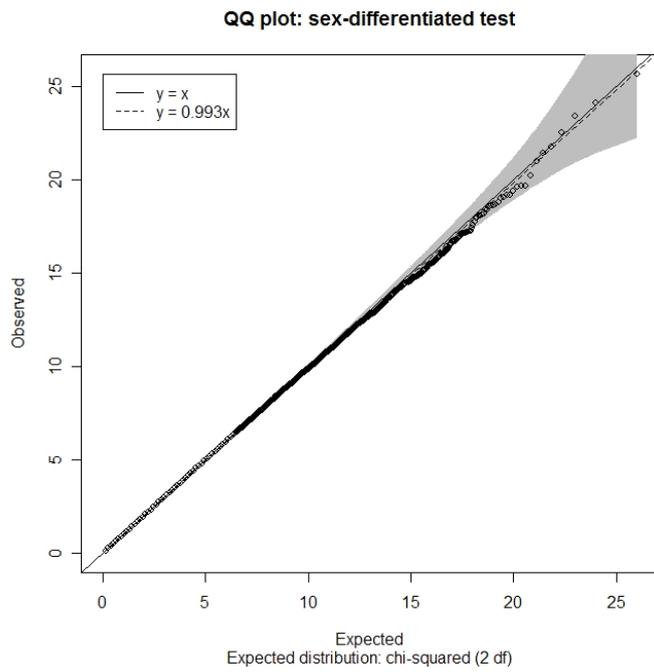


図1 性別層化検定の分位数、および分位数プロット

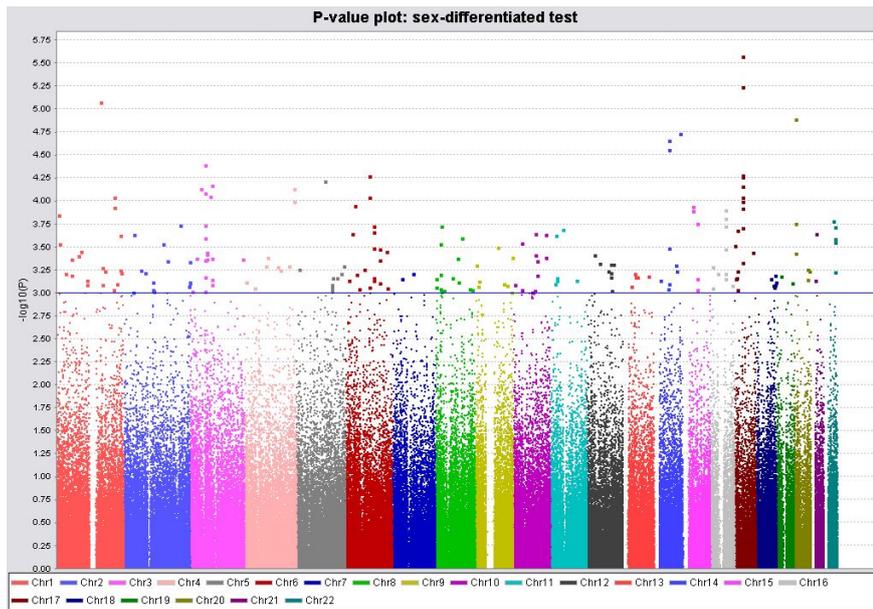


図2 日本人におけるゲノム全域アソシエーション・スタディの結果

関連検定に際して、脳動脈瘤の既知の危険因子の一つである性別（女性が男性の1.5から2倍のリスクをもつ）による脳動脈瘤と SNP の関連への効果の修飾および交絡の可能性が考えられた。そこで、サンプルを性別で層別化し、各層での Cochran-Armitage 傾向性検定 (C-A 検定) のカイ 2 乗値の和を基本統計量とした (性別層化検定と呼ぶ)。効果の修飾が有意でない SNP に関しては、男女間の効果の均質性を仮定できる Mantel 拡張検定も考慮することとした (交絡の可能性も示唆されない場合には単純な C-A 検定も参照した)。性別層化検定の分位点-分位点プロットを図 1 に示す。Bonferroni の補正を考慮した有意水準  $2.0 \times 10^{-7}$  を下回る SNP は存在しなかった。本研究の規模では、多因子性疾患で一番尤もらしいと予想されるオッズ比の範囲 (1.3-1.6) では SNP の検定  $p$ -値は 0.001 以上になる。したがって、図 1 は (1) データ QC の結果、階層化は除去された ; (2) HumanHap300 チップにアッセイされた SNP でタグづけされている範囲には、非常に強い効果を示す脳動脈瘤感受性変異は存在しない、ということを示唆している。ゲノム全体での  $p$ -値の分布を図 2 に示す。

単一 SNP ではそれほど有意性が強くなくても連鎖不平衡にある複数の SNP の組み合わせとして強い関連を示す場合が考えられる。GWAS 規模ではハプロタイプ解析は実質困難であるため、相を推定しない解析法を採用した。単純に領域内の複数 SNP に対する Hotelling の  $T^2$  統計量を用いた関連検定はあまり良い性能を示さなかった。この理由としては、多自由度の負荷が大きく、かつ、強い SNP 間連鎖不平衡による冗長性を調整できないことが考えられる。そこで、Gauderman et al. (2007) による、初めに主成分分析を行って自由度を落とした上でロジスティック回帰分析を行うという 2 段階アプローチを採用した。検定は提案された尤度比統計量ではなく、スコア統計量を用いた。これは実践的な計算効率の問題の改善だけではなく、尤度比統計量では反保守的な結果を生み出す傾向が見られたためである。性別などの共変量の取り扱いやデータの sparseness の影響の分析が完全ではないが、下記の 2 次スクリーニング候補 SNP を用いた解析では、3 番染色体と 17 番染色体に  $10^{-8}$  のオーダー (単一座位検定よりも有意性が 100 から 1,000 倍) の比較的強い関連が見出された。

1 次スクリーニングの解析プロセスにおいて、C-A 検定で最小の  $p$ -値を示した 21 個の SNP に対して TaqMan アッセイを用い、脳動脈瘤患者と対照各 196 例に対して追加タイピングを行った。これは、Parkinson 病の GWAS を一例として、一般の多因子性疾患では数 100 サンプル規模の 1 次スクリーニングでは「トップ 10」戦略がうまく機能しない可能性が高いことが示唆されているが、脳動脈瘤の遺伝様式が不明確であるため検証実験を試みたものである。この結果は、示唆されている通りのものであった。対照サンプルを RIKEN JSNP550 のサンプル (934 例) と拡大して得られた有意性の上位 21 個の SNP に対しても同様の結果が得られた。したがって、脳動脈瘤感受性変異同定のためには、包括的な 2 次スクリーニングが必要不可欠であることが明確になった。包括的な 2 次スクリーニングのための SNP 選抜には、単一座位関連検定の結果を用いた。まず、 $p$ -値が 0.008 以下の SNP を抽出し、この集合から SNP 対の遺伝子型の相関係数を用いたクラスター分析 (最長距離法) により tagSNP を選定し、GoldenGate アッセイ可能な SNP 2,304 個を 2 次スクリーニングに供した。

以上、日本人での解析結果であるが、研究費規模に既定され検体数を増やすことができない状況があった。ゲノム全域アソシエーション・スタディに関しては検定力が足りないことは認識しており、その後の 2 次スクリーニングも成功率の高いものとはいえない。そこで、大規模タイピングをおこなっている Yale 大学 (Murat Gunel 教授、Richard Lifton 教授) と国際共同研究を進め、フィンランド、オランダ白人でのゲノム全域データと日本人データを組み合わせ、脳動脈瘤感受性遺伝子同定を試みた。

本研究グループは米国・エール大学との国際多施設共同研究によって、ヨーロッパ白人および日本人による多数の検体で脳動脈瘤患者・対照関連解析を行い、人種の集団を超えて疾患と関連する遺伝子同定を目指した。エール大学チームが遺伝子型タイピングを担当し、膨大な情報の統計遺伝解析を本研究グループ (JST 研究員安野) が担当した。

具体的にはフィンランド白人、オランダ白人、日本人での 2,200 例の脳動脈瘤患者と 8,000 例の対照に対して Illumina Hap300 で 30 万 SNP タイピングによる大規模ゲノム全域関連解析を行った。検体および遺伝子多型データについて先述と同様厳格な選定基

準のもと、詳細にわたる統計遺伝学的解析により、ゲノム全域で4カ所に患者・対照間の強い有意差を認め、日本人検体を含めた解析で2、8、9番染色体の3カ所に遺伝子領域を絞ることができた(図3)。それぞれの多型の関与の強さはオッズ比(実際には遺伝子型相対リスク)で1.4-1.6であり、それほど強いものではなかった(表1)。3カ所の遺伝子領域にはSOX17とCDKN2A遺伝子が存在しており、血管組織の再構成に関与する可能性が示唆された。尚、2番染色体多型の近傍には遺伝子は存在していない。

また3カ所の多型について相乗的相互作用を検討したところ、日本人患者においてリスク遺伝子をすべて有する(6個)もしくは5個有する頻度は10%で、オッズ比は6.0となり、強い危険要因となりうることが示された(表2)。

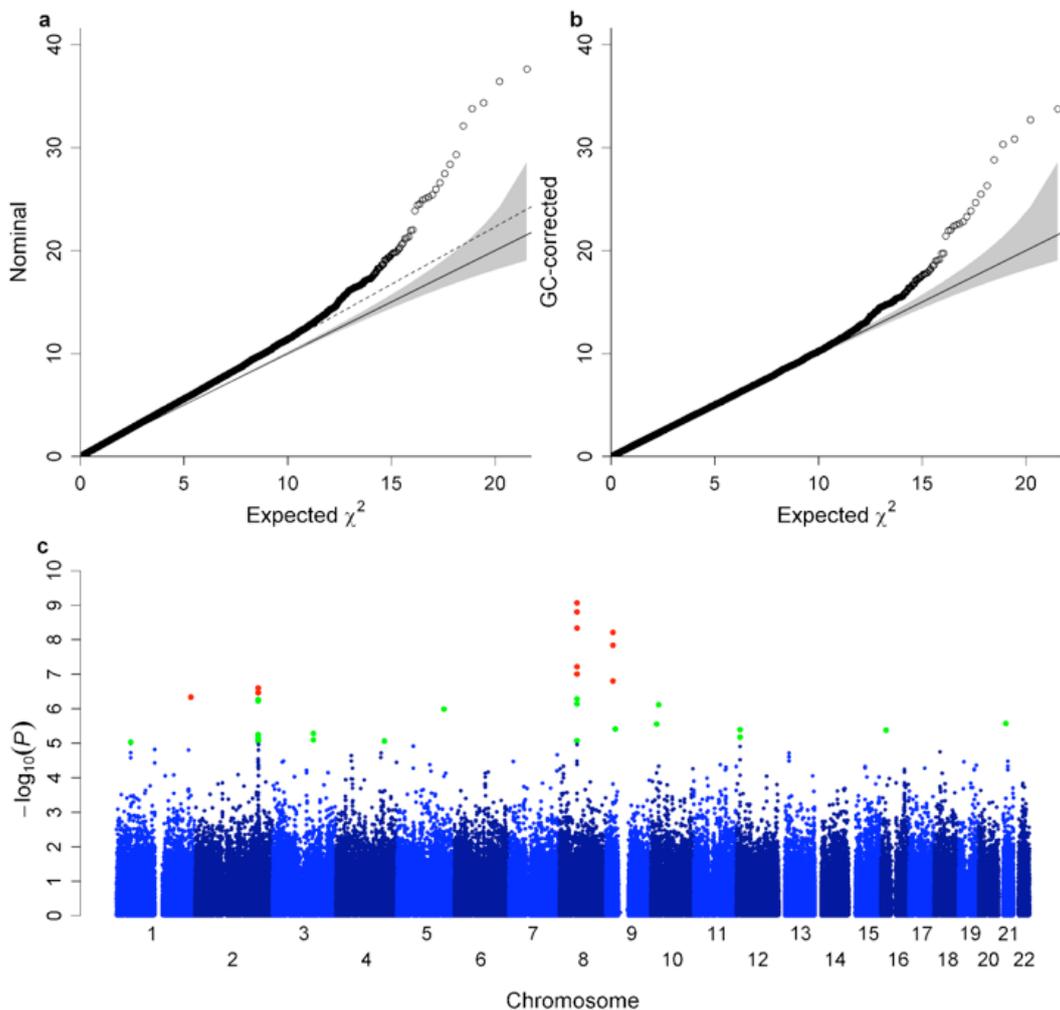


図3 ゲノム全域アソシエーション・スタディ

a,b: 得られた有意差(P値)と予想される有意差との比較。傾きは集団背景の一致度を示し、一致した場合1.0となる。補正後の傾きは1.04と遺伝背景はほぼ一致していると考えられる。

c: 全ゲノムを網羅する30万カ所の遺伝子多型を用いたアソシエーション・スタディの結果。多くの検定をおこなうので補正が必要で、多重検定の補正後でも有意差を認めたのは4カ所であった(赤の点)。

Chr	Dataset	RAF (Ctrl/Case)	P-value	Per-allele Odds Ratio (95%CI)	Population attributable fraction (%)	Sibling recurrence risk
2	Finland	0.39/0.44	5.6x10 <sup>-03</sup>	1.21 (1.06-1.39)	14.1	1.009
	Netherlands	0.35/0.40	5.0x10 <sup>-04</sup>	1.23 (1.09-1.38)	14.1	1.010
	Europe	-	8.9x10 <sup>-06</sup>	1.22 (1.12-1.33)	-	-
	Japan	0.46/0.54	0.0011	1.30 (1.11-1.53)	14.8	1.023
	All	-	4.4x10 <sup>-08</sup>	1.24 (1.15-1.34)	-	-
8	Finland	0.18/0.22	1.4x10 <sup>-03</sup>	1.31 (1.11-1.55)	11.7	1.013
	Netherlands	0.15/0.20	1.4x10 <sup>-07</sup>	1.46 (1.27-1.68)	12.1	1.024
	Europe	-	1.6x10 <sup>-09</sup>	1.39 (1.25-1.55)	-	-
	Japan	0.25/0.30	0.016	1.26 (1.04-1.51)	10.9	1.012
	All	-	1.4x10 <sup>-10</sup>	1.36 (1.24-1.49)	-	-
9	Finland	0.47/0.52	2.8x10 <sup>-03</sup>	1.22 (1.07-1.40)	18.5	1.010
	Netherlands	0.55/0.62	9.5x10 <sup>-07</sup>	1.33 (1.19-1.50)	30.2	1.020
	Europe	-	1.5x10 <sup>-08</sup>	1.29 (1.18-1.40)	-	-
	Japan	0.65/0.72	0.0024	1.32 (1.10-1.58)	29.3	1.016
	All	-	1.4x10 <sup>-10</sup>	1.29 (1.19-1.40)	-	-

表1 ゲノム全域でのアソシエーション・スタディの結果得られた遺伝子多型  
フィンランド、オランダ、日本人でのアソシエーション・スタディの結果を2, 8, 9番染色体の遺伝子多型について示している。有意差はアーミテージ傾向テストにより、アレルでのオッズ比を算出している。

Number of Risk Alleles	Combined OR (95% CI)	Japan		Netherlands		Finland	
		Frequency (Control/Case)	OR (95% CI)	Frequency (Control/Case)	OR (95% CI)	Frequency (Control/Case)	OR (95% CI)
0	1	0.0227/0.0069	1	0.0576/0.0376	1	0.0585/0.0421	1
1	1.07 (0.78-1.46)	0.1167/0.0762	2.14 (0.58-7.95)	0.2409/0.1751	1.11 (0.71-1.73)	0.2579/0.1696	0.91 (0.57-1.46)
2	1.35 (1.00-1.81)	0.2788/0.2148	2.52 (0.71-9.00)	0.3563/0.2865	1.23 (0.80-1.89)	0.3413/0.3357	1.37 (0.87-2.15)
3	1.92 (1.42-2.59)	0.3274/0.3187	3.19 (0.90-11.30)	0.2467/0.3300	2.05 (1.34-3.13)	0.2449/0.2982	1.69 (1.07-2.68)
4	2.67 (1.94-3.67)	0.1945/0.2794	4.71 (1.32-16.79)	0.0831/0.1418	2.61 (1.65-4.13)	0.0704/0.1333	2.63 (1.56-4.43)
5	2.35 (1.54-3.58)	0.0502/0.0831	5.42 (1.42-20.62)	0.0149/0.0275	2.83 (1.49-5.38)	0.0260/0.0211	1.13 (0.54-2.36)
6	3.33 (1.27-8.69)	0.0097/0.0208	7.00 (1.39-35.34)	0.0006/0.0014	3.82 (0.38-38.05)	0.0011/0.0000	0.00 (0.00-Inf)
Trend Test P-value	2.0x10 <sup>-26</sup>	4.0x10 <sup>-7</sup>		5.6x10 <sup>-15</sup>		1.3x10 <sup>-7</sup>	

表2 3か所の感受性遺伝子多型間での相乗的相互作用の解析  
2番、8番、9番染色体多型で有意差の強い3か所において、リスクアレルを有する数(0から6)でのオッズ比を算出しており、有意差検定はマンテル・エクステンション法を用いている。

## (2)研究成果の今後期待される効果

脳動脈瘤との関連を認め、オッズ比が 1.4-1.6 程度と弱いながらヨーロッパ系と日本人に共通して関連する SNP が同定できたことで、当然原因遺伝子同定から病態解明へと研究の軸足をシフトする必要がある。8番染色体で有意差を認めた SNP は SOX17 に隣接しており、血管内皮細胞構成との関連が示唆された。しかしながら、現在のところ、感受性遺伝子同定までは至っておらず、連鎖不平衡にある周辺遺伝子多型の再検索、機能的解析まで含めた検討などを加える必要がある。また、これまではヨーロッパ人、日本人で共通しつつも最も強い有意差を認めた SNP を特定しており、集団に特異的な遺伝子多型等の検索は今後の課題である。今後、日本人やアジア集団に特徴的な感受性遺伝子多型の同定も求められる。また、脳動脈瘤発生には喫煙習慣がリスクとなっていることはよく知られている。今後は喫煙習慣などでサブグループ化しての解析も求められる。そのためにはさらなる検体数が必要で、今後も検体収集は継続する必要がある。

## 3. 2 脳動脈瘤組織での遺伝子発現解析から病態理解(東海大学 井ノ上グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

多因子疾患感受性遺伝子の同定においてゲノム全域関連解析 (GWAS) の有効性が示

されてきている。その一方、対象疾患の病態理解や、個別化医療を指向した疾患モデル作出のためには、患者組織などを用いた遺伝子発現解析も依然欠かすことはできない。とりわけ、脳動脈瘤はひとたび破裂するとくも膜下出血をきたし、重篤な症状が出現するため、脳動脈瘤形成・破裂に関わる遺伝要因を明らかにすることに加え、破裂の予防的診断法や、破裂後の適切な治療法の開発が必要である。また破裂に伴い、脳血管のれん縮がおこることがあり、予後を大きく左右する。1) 脳動脈瘤発症機序の解明、2) 脳動脈瘤破裂予測マーカーの探索、3) 脳出血に伴う血管れん縮機序の解明、を目的とした遺伝子発現研究を実施した。

#### 脳動脈瘤発症機序に関わる遺伝子発現解析

脳動静脈奇形 (arteriovenous malformation: AVM) 摘出術より得た AVM feeder 由来 RNA (4 例) を対照とし、Agilent Human 1A(v2) Oligo Microarray を用いて、脳動脈瘤ドーム部 (破裂動脈瘤 6 例、未破裂動脈瘤 4 例) における発現遺伝子プロファイリングを行った。対照に比し、破裂・未破裂動脈瘤で共通して発現変化を認められた遺伝子 (521 遺伝子) を統計学的に見いだした。これら遺伝子の機能アノテーションや、遺伝子間ネットワークに対する遺伝子プロファイリングから、免疫応答、なかでも抗原提示に関わる遺伝子群が脳動脈瘤と有意に関連することを明らかにした。免疫組織学的解析から、脳動脈瘤組織は MHC class II 遺伝子の発現レベルが顕著に上昇していること、抗原提示細胞陽性であることが裏付けられ、脳動脈瘤形成において抗原提示細胞が重要な役割を担っている可能性が考えられた。

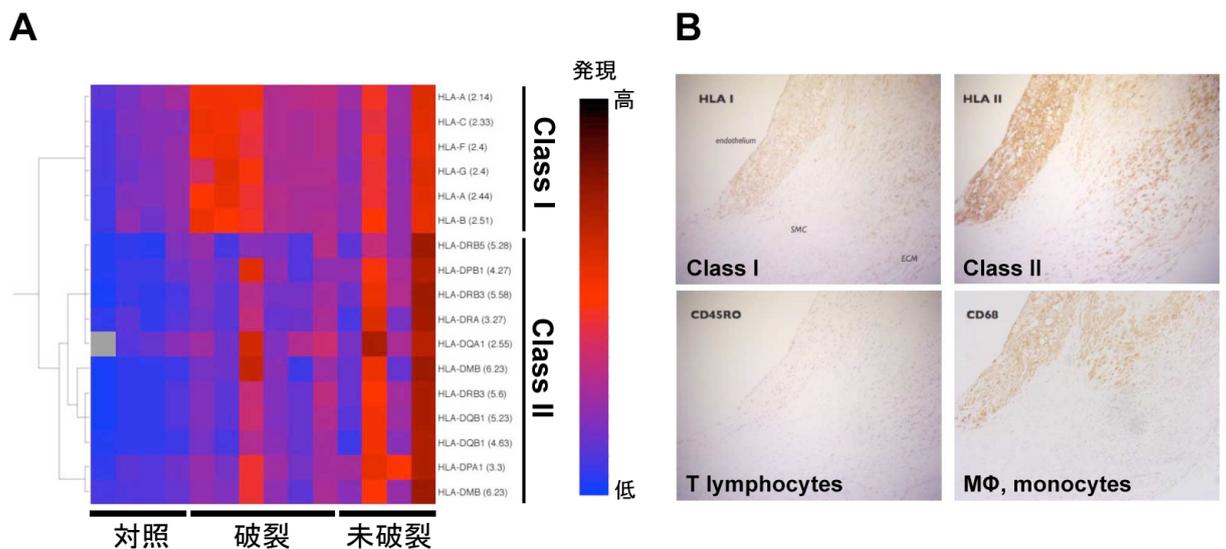


図 4 MHC 関連 17 遺伝子の発現パターン比較 (A)、脳動脈瘤組織における MHC class I/II 分子、T 細胞マーカー (CD45RO)、マクロファージ/単球マーカー (CD68) 陽性細胞の局在 (B)

#### 脳動脈瘤破裂予測マーカーの探索のための遺伝子発現解析

脳動脈瘤バイパス手術時に得た浅側頭動脈由来 RNA (5 例) を対照とし、Agilent Human 1A(v2) Oligo Microarray を用いて、脳動脈瘤血管 (12 例) における発現遺伝子プロファイリングを行った。脳動脈瘤で特徴的な発現パターンを呈する遺伝子 (1321 遺伝子) を統計的に抽出した。これらの遺伝子の発現レベルは脳動脈瘤組織間で一様ではなく、脳動脈瘤 12 例は 2 つのサブクラス (IA-1 および IA-2) に大別された。これらの 2 つのサブクラスは、脳動脈瘤サイズの違いをある程度反映していた (IA-1 平均 5.4 mm vs. IA-2 平均 8.0 mm)。脳動脈瘤破裂率と動脈瘤サイズと

の間に正の相関が認められることを考慮すると、この知見は、易破裂性に関連した疾患サブクラスや遺伝子を同定するための基盤となると考えられた。

#### 脳出血に伴う血管れん縮機序の解明を目的とした遺伝子発現解析

脳出血に伴う脳内の病態生理学的変化を明らかにすることは、脳動脈瘤破裂後の適切な対処法の開発につながる。Affymetrix GeneChip Canine Array を用いて、イヌ脳出血／血管れん縮モデルにおける出血性れん縮血管（脳底動脈）での発現遺伝子プロファイリングを行った。モデル作出7日後の脳底動脈において発現変化している遺伝子（5倍以上発現上昇 66 遺伝子、発現低下 25 遺伝子）を同定し、それらの機能アノテーションや遺伝子間ネットワークに関する統計学的解析を行ったところ、カルシウムイオン量調節に関わる遺伝子が最も有意に多く含まれることが明らかになった。この分類群に含まれる遺伝子の多数がれん縮血管で発現上昇しており、カルシウムイオンに関する細胞内外の恒常性を保つことが脳出血後の対処法のひとつとして有効である可能性が得られた。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

患者組織（脳動脈瘤）を用いた発現解析からの知見は、いずれも少数検体からのものであり、知見の一般性・重要性を今後精査する必要がある。しかしながら、本発現解析研究の計画時と比較し、脳動脈瘤に対する外科的処置法が変化（脳動脈瘤摘出手術の件数が著しく減少）したため、今後、多数の摘出脳動脈瘤組織を用いた検証実験を行うことは、実質的には不可能であろう。動物モデル（脳動脈瘤、脳出血）を遺伝子発現研究に有効活用するとともに、本研究により見いだした遺伝子パスウェイ・ネットワークに含まれる遺伝子群を候補とした患者-対照関連解析を実施し、疾患への関わりを明らかにしていく必要がある。

### 3.3 非閉塞性無精子症の遺伝子発現解析から病態解明（東海大学 井ノ上グループ）

#### (1)研究実施内容及び成果

男性不妊症は不妊症全体の 20-50%を占め、Y 染色体欠損などの染色体異常による症例を除き、その多くは原因不明である。男性不妊症の中でも、造精機能障害を伴う非閉塞性無精子症（non-obstructive azoospermia: NOA）は最も重症度が高く、高度な生殖補助医療によっても妊娠に至らない場合が多いため、精子形成不全の克服による妊孕性の向上が強く望まれている。NOA 患者精巣組織の遺伝子発現プロファイリングと患者-対照関連解析とを組み合わせた研究手法により、NOA 分子病態の解明および感受性遺伝子の同定を試みた。

精巣内精子採取のための生検精巣組織（NOA 47 例、閉塞性無精子症[造精機能正常の対象疾患] 11 例）を用いて、Agilent Human 1A(v2) Oligo Microarray による網羅的遺伝子発現解析を行った。対照に比し、NOA 群で有意に発現変化している遺伝子（2611 遺伝子）を同定した。他方、非負値行列分解法によるクラスター解析から、NOA は3つのサブクラスに分類され、なかでも、従来の病理分類では区別不能な重症型 NOA が遺伝子発現レベルで2つに細分されることを明らかにした。重症型 NOA におけるこれらの発現サブクラスは、両サブクラス間の血中ホルモン濃度（LH および FSH）の相違と有意に相関しており、疾患の分子病態を反映した NOA サブクラスを同定できたと考えられた。

NOA サブクラス間での発現変化を認めた遺伝子が疾患の感受性に関わる可能性を考え、発現変化遺伝子（53 遺伝子）を候補遺伝子とした日本人集団における患者-対

照関連解析を行った (NOA 患者 442 名、精子数正常あるいは有妊対照 475 名)。その結果、常染色体上に位置する *ART3* (ADP-ribosyltransferase 3) の複数 SNP が NOA に有意に関連することを明らかにした。加えて、ハプロタイプレベルでの関連解析において、最頻ハプロタイプ (図 5 H1 ハプロタイプ) の推定頻度が NOA 群で有意に低値を示した (NOA 群 26.6% vs. 対照群 35.3%,  $P=0.000073$ )。このハプロタイプは NOA 発症リスクを低減する方向に関与すると考えられ、H1 ハプロタイプ・ホモ接合である NOA 患者は血中テストステロン濃度が有意に高く保持されていることを見いだした。*ART3* は精巣内・精母細胞特異的タンパク質であり、NOA 患者精巣ではその発現が低下あるいは消失しており、精子形成過程への関与を介して NOA に関連すると考えられた。

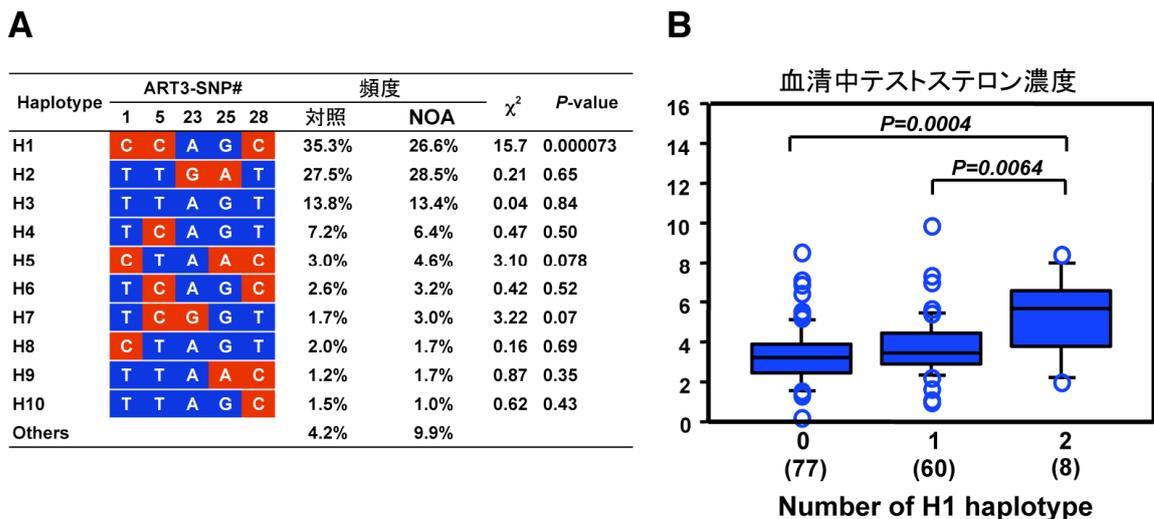


図 5 *ART3* ハプロタイプと NOA との関連 (A)、血清中テストステロン濃度とハプロタイプ H1 保有数との相関 (B)

#### 男性不妊症感受性遺伝子 *ART3* の集団遺伝学的検討

ADP-ribosyltransferase 3 (*ART3*) は、男性不妊症の一病型である非閉塞性無精子症の感受性遺伝子として同定された遺伝子である。日本人集団を対象とした患者-対照関連解析において、*ART3* 遺伝子の複数の SNP やハプロタイプが非閉塞性無精子症に有意に関連することが示されているが、日本人以外の集団での関連解析は行われていない。他集団での関連追試をどのようなアプローチで行ったら良いのか、具体的には関連追試を関連のあった SNP のみで行うのか、遺伝子領域全体で行ったら良いのかを検討したい (図 6)。

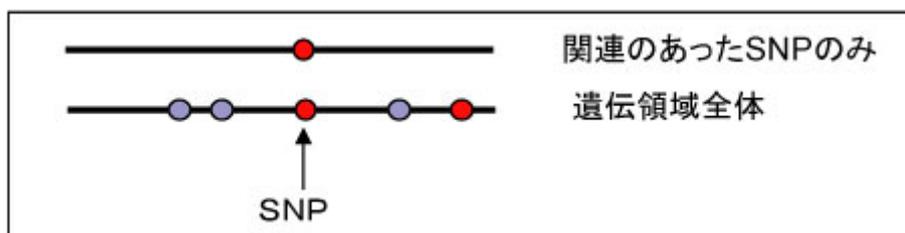


図 6 関連追試のアプローチ

本研究では、地理的多様性を明らかにし、遺伝的異質性の観点から、関連追試を関連のあった SNP のみで行うのか、関連のあった SNP の遺伝領域全てにおいて行うのか、ART3 遺伝子の人類集団における遺伝的多様性および集団構造から考察するのかを明らかにすることを目的とする。

アフリカ 3 集団 (African American 96 人、African South of Sahara 9 人、African North of Sahara 7 人)、ユーラシア 6 集団 (European American 96 人、Ashkenazi 50 人、Druze 50 人、Palestinian 50 人、Basque 9 人、Indian/Pakistani 9 人)、東アジア 2 集団 (Mongolian 96 人、Japanese 95 人) からなる合計 11 の男女混成一般集団 (567 人) を対象とし、15 個の無精子症感受性 SNP のタイピングを行った。AMOVA (Analysis of molecular variance) により、集団構造の地理的階層性を分析した。ハプロタイプの推定には、PHASE v2.1 を用いた。分析した 15 個の感受性 SNP のうち 14 個において、11 集団間における有意な遺伝的分化を認めた。地理的階層性に関する分析から、各地域集団内の遺伝的分化 ( $F_{SC}$ ) は顕著ではなく、人類集団内の集団構造は、主として、地域集団間の違い ( $F_{CT}$ ) に基づくことが明らかになった。これら 15 個の感受性 SNP で 50 人を越える 7 集団について連鎖不平衡ブロックを推定した。その結果、連鎖不平衡ブロックは同一地域集団内でも異なるパターンを示した (図 7)。

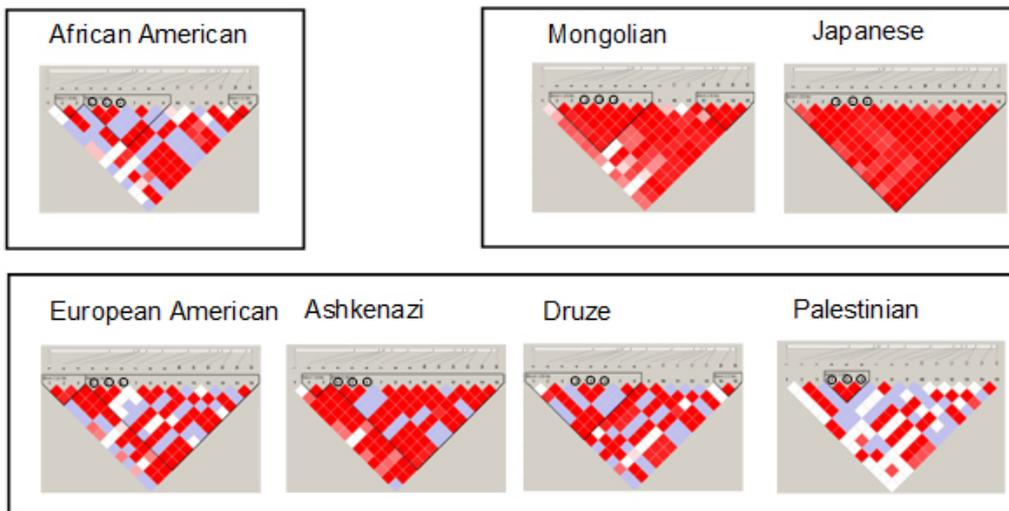


図 7 各集団における ART3 遺伝子の連鎖不平衡。

先行研究により、特定のハプロタイプが非閉塞性無精子症に強い関連があるという報告があった。そのハプロタイプの SNP を用い、50 人を越える 7 集団でハプロタイプを推定した。ハプロタイプ多様度は同程度であり、保有するハプロタイプが異なることが分かった。東アジア集団における疾患感受性ハプロタイプの頻度は 4.9% ~ 29.5% と推定されたものの、アフリカ人集団における推定頻度は 2.3% であった。

ART3 遺伝子と非閉塞性無精子症との関連追試において、東アジア集団では日本人での疾患感受性 SNP やハプロタイプを用いた関連解析が可能であるが、ユーラシアやアフリカの集団では遺伝子レベルでの追試を行う必要があることが示唆された。疾患感受性ハプロタイプについては、アフリカから離れるほど頻度が高くなる傾向にあるが、これが選択圧によるものかは分かっておらず、今後の研究課題である。

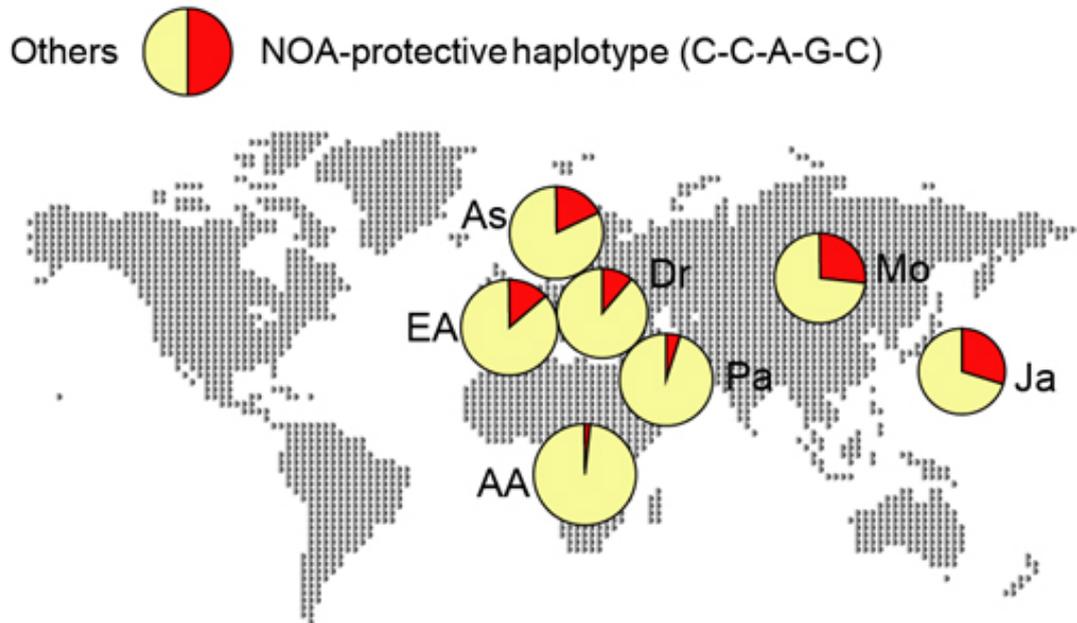


図8 NOA 抵抗性ハプロタイプ頻度の集団による違い

#### (2)研究成果の今後期待される効果

本研究で非閉塞性無精子症の精巣組織における遺伝子発現解析から、病的には分類できなかったサブグループが存在することが明らかになった。これらは Johnsen score の低い重症型内での違いであり、軽症型でも新たなサブグループが検出できる可能性がある。今後、検体数を増やして検討し、病態解明を目指したい。今回非閉塞性無精子症の感受性遺伝子として見いだした *ART3* の機能的関与は今後の課題である。日本人以外の集団での追試も重要であるが、異なる遺伝的背景を持つ人類集団においても NOA の感受性に関わるかどうかについては未検討である。他集団における関連解析を実施し、NOA 感受性遺伝子としての *ART3* の位置づけを明確にしたうえで、遺伝子補充療法などの臨床応用の可能性を探る必要がある。

### 3. 4 甲状腺癌のゲノム全域連鎖解析(理化学研究所 小島グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

人口の5-10%に一生の間に臨床的に問題となる甲状腺腫瘍が発生するため、良性腫瘍と悪性腫瘍の判別は非常に重要である。しかしながら、現在使用可能な診断ツールは必ずしも信頼度が高いものとはいえない。近年、甲状腺乳頭癌は固形腫瘍の分子病因学において重要な研究対象となり、MAPK パスウェイの異常活性化などが明らかにされてきたが、発症原因については、特殊なタイプの甲状腺癌家系 (oncocytoma) を用いた連鎖解析の報告があるものの、一般的な甲状腺癌での感受性遺伝子は同定されていない。

##### (1-1)サンプル収集

研究期間中に 104 家系、215 名の家族性甲状腺非髄様癌患者の協力を得た。内 3 名の罹患同胞家系は7、2 名の罹患同胞家系は 97 であった。これらのサンプルのうち、当初悪性腫瘍とされたものの再検の結果良性腫瘍とされたものが 3 サンプル、悪性腫瘍ではある

が病理診断がついていないものが10サンプルあった。病理診断結果の分類では、濾胞癌 7、乳頭癌 191、濾胞癌＋乳頭癌 4 であり、全悪性腫瘍 212 例の男女比は、37:175 で女性が多く、一般的な甲状腺癌罹患の男女比1:5と同程度であった。

#### (1-2)SNPs タイピング

本研究では、連鎖解析用の遺伝マーカーとして SNPs を用いた。従来、多型性の高いマイクロサテライトが連鎖解析のマーカーとして一般的であったが、近年、多型性が低いもののその密度の高さのためゲノムを網羅する SNPの方が連鎖解析として検定力が高いことが示されている。またタイピング判別が容易で、精度が高いことも大きな利点である。SNPs タイピング用 DNA マイクロアレイ(GeneChip Human Mapping Xba 50K Array (Affymetrix 社製))を用いてデータを取得し、アレイデータからの SNPs タイピングデータの取得には、Affymetrix 社から提供された Dynamic model based algorithms を用いた。このアルゴリズムで SNPs call rate が 95%未満のサンプルは、以降の解析から除外した。SNPs は、マイナーアレル頻度 10%以上、call rate 98%以上、ハーディーワインバーグ平衡 p 値 0.10 以上、マーカー間物理距離 50Kbp 以上の全ての条件を満たすものを統計パッケージ R を用いて選択し、11,838SNPs を得た。

#### (1-3) ゲノム全域罹患同胞対連鎖解析

本研究では、研究協力が得られた 215 名のうち病理診断で甲状腺乳頭癌とされ、SNPs タイピング QC を満たした 82 家系、169 サンプル、90 ペア、11,838SNPs のデータを用いてゲノム全域罹患同胞対連鎖解析を行った。連鎖解析には、Merlin (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/Merlin/>) (Multipoint nonparametric, Genetic Map; deCODE)を使用した。この解析から 8 番染色体に連鎖(Kong and Cox LOD score 2.41)を認めた(図 9)。

また、連鎖領域外も含めて遺伝子機能、発現情報などから候補遺伝子を選択し、144 家系サンプルを用いて PCR 産物の直接シーケンス法によるコード領域の変異スクリーニングを行ったところ、受容体型チロシンキナーゼ-RAS シグナル伝達系上の候補遺伝子内に家族性甲状腺癌患者検体でミスセンス変異が集積していることを見出した。同定された新規ミスセンス変異は、健常者 106 サンプルにおいて検出されず家系内で甲状腺癌との同時分離を認めるものが多く、発癌と関連する遺伝子であることが強く示唆された。

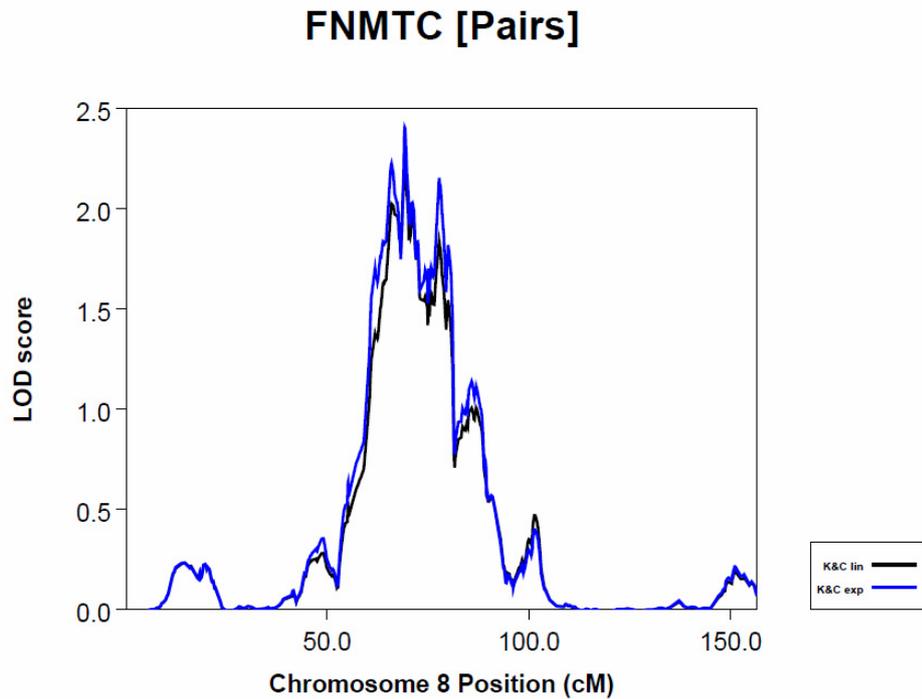


図9 ゲノム全域連鎖解析から得られた8番染色体での連鎖

(1-4) ゲノム全域 50 万 SNPs タイピング

本研究では 50 万 SNPs 解析による全ゲノム領域アソシエーション・スタディを目的としたデータ収集を行った。家族性甲状腺がん 450 サンプル、孤発例、70 サンプルの血球由来ゲノム DNA および腫瘍組織由来ゲノム DNA 70 サンプルの DNA マイクロアレイを用いた 50 万 SNPs データ取得を完了した。

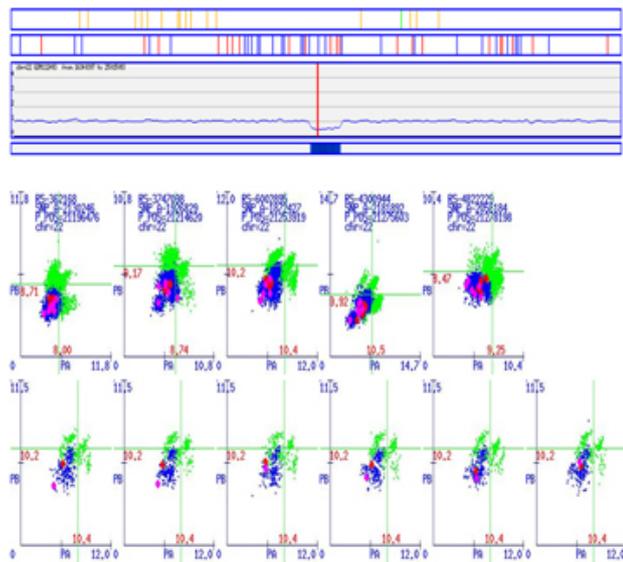


図10 VerSeach で同定された 22 番染色体のコピー数変異

また、このデータを用いて、ヒトゲノム解読完了後急速に明らかになりつつあるヒトゲノムのコピー数多型解析を行うため、理研ゲノムセンター 情報基盤チーム 小長谷明彦博士、長谷川亜樹氏と共同で独自アルゴリズムによるゲノム変異部位解析システム VarSearch を開発した。VarSearch は大規模データベースとグラフィックユーザインタフェースを備えており、数十億のスポット情報を同時に比較することでゲノム上の変異候補を解析することが可能である(図10)。VarSearch を用いて甲状腺癌患者のゲノムワイドコピー数多型スクリーニングを行い、患者ゲノムに特有のコピー数変異を同定した。

## (2)研究成果の今後期待される効果

甲状腺乳頭癌は、最も高頻度で発生する内分泌系の悪性腫瘍である。全甲状腺癌の約80%を占め、男性と比較して女性の発症率が高い、という特徴を持つ。女性におけるがん発症率は、他のあらゆる種類の悪性腫瘍と比べて急激に増加しており、韓国の2005年の統計によると、女性の発症率は乳癌を抜いて甲状腺癌が1番高かった。

人口の5-10%に一生の間に臨床的に問題となる甲状腺腫瘍が発生するため、良性腫瘍と悪性腫瘍の判別は非常に重要である。しかしながら、現在使用可能な診断ツールは必ずしも信頼性が高くない。近年、甲状腺乳頭癌は固形腫瘍の分子病因学において重要な研究対象となり、MAPK パスウェイの異常活性化などが明らかにされてきたが、発症原因については、特殊なタイプの甲状腺癌家系(oncocytoma)を用いた連鎖解析の報告があるものの、一般的な甲状腺癌での感受性遺伝子は同定されていない。

本研究では、家族性甲状腺乳頭癌のゲノム全域罹患同胞対連鎖解析により、8番染色体に連鎖領域を認めた。この領域については、今後、次世代シーケンサーを用いたターゲット領域リシーケンスにより効率的なスクリーニングを目指したい。また、候補遺伝子変異スクリーニング解析により、甲状腺癌患者でミスセンス変異が集積する MAPK パスウェイ上の遺伝子を同定した。DNA マイクロアレイを用いた全ゲノムコピー数変異解析では、患者ゲノムに特有のコピー数変異を同定している。

現在、家族性甲状腺癌450サンプル、孤発例、70サンプルの血球由来ゲノムDNA および腫瘍組織由来ゲノムDNA70サンプルのDNA マイクロアレイを用いた全ゲノム多型データを取得済みである。

今後、さらに甲状腺乳頭癌組織を対象とした癌組織特有の遺伝子・miRNA 発現プロファイルの同定など研究を継続したい。これにより甲状腺乳頭癌の分子マーカー同定を目指す。これらの研究により甲状腺癌発症機構の解明を目指している。

## 3.5 因子間相互作用の検出手法開発および疾患予測に向けた取り組み(東海大学 井ノ上グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

近年のゲノムサイエンスの目覚ましい発展により、染色体全域に存在する数十万単位の SNP (一塩基多型) をタイピングできるプラットフォームが開発された。そこから得られる膨大な情報を用いた連鎖解析や関連解析などの統計遺伝学的アプローチを通じて、様々な疾患に関与する感受性 SNP が同定され、ここ数年の間に、Science など世界屈指の科学雑誌各種に、その数、早さともに驚異的な勢いで報告がなされている。しかしながら、生活習慣病やアレルギー、自己免疫疾患のような多因子疾患については、その名が示す通り、それらの多型が単純に発症リスクに寄与しているのではなく、非遺伝性因子との相互作用を通じて、より複雑な関連構造を形成していると考えられる。

近年、個人を対象としたテーラーメイド医療についての議論が活発化しつつあるが、より信頼度の高いテーラーメイド医療体制の実現には、個々の感受性多型に関する情報だけでは不十分で、生活習慣などの非遺伝性因子などとともに、それらが示す関連構造を詳細に理解する必要がある。しかし、そのような複雑な関係を、機能解析などの実験的手法で明らかにすることは現実的とは言い難く、多因子疾患の詳細な発症メカニズムを、数理モデルの形で再現するシステムの確立に向け、統計遺伝学的手法の拡充を図ることがことさら重要な課題と言える。現在でも、複数の因子による疾患感受性への影響のモデリングに向けた動きがないわけではない。しかしその大半は、ロジスティック重回帰分析など従来の統計学的手法を用いた、極めて簡略化されたものであり、多数の因子を取り上げることや、それら因子を取り巻く複雑な関連構造の詳細を明らかにすることはほぼ不可能と言ってよい。

本研究では、遺伝性・非遺伝性因子に関する様々な情報を総合的に取り込み、それらの間の関連構造をより詳細に反映した発症モデルの推定を目的として、グラフィカルモデルや分散成分モデルなどの数理モデルを用いた、新たな解析手法について検討を重ねてきた。さらに、本格的なテーラーメイド医療時代の到来を想定した試みとして、推定されたモデルをもとに、将来における個人レベルでの発症を予測するためのアルゴリズムの開発にも着手した。

#### グラフィカルモデリングによる高次元因子解析システムの開発

グラフィカルモデリングは、多変量の関連構造をネットワークグラフによって表す手法である。本テーマにおいては、疾患と SNP の間の関連や相互作用を明らかにすべく、グラフィカルモデリングの応用に新たに着手した。今年度は、そのグラフィカルモデリングの一種である PC (path consistency) アルゴリズムを実装、ソフトウェア化した。

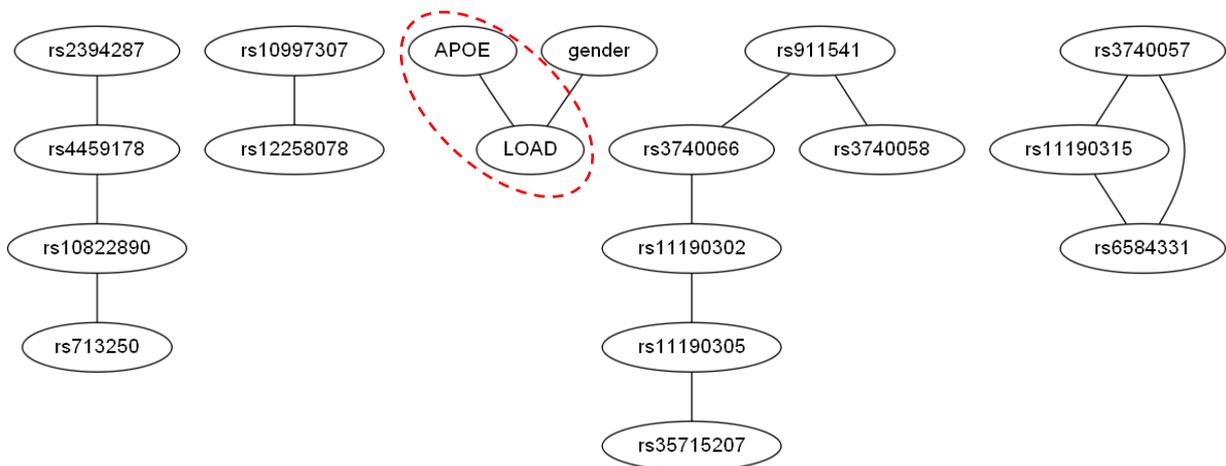
- 1:  $C$  を完全無向グラフ、 $Ad(C, X) \setminus \{Y\}$  を、 $C$  において頂点  $X$  と隣接しており、かつ  $Y$  は含まない部分集合とする。
- 2:  $n = 0$  とする。
- 3:  $C$  において、順序があり、かつ隣接している頂点对  $(X, Y)$  のうち、 $Ad(C, X) \setminus \{Y\}$  の要素の数が  $n$  以上の対を選ぶ。
- 4:  $Ad(C, X) \setminus \{Y\}$  の部分集合  $S$  のうち、要素の数が  $n$  のものを選ぶ。
- 5:  $S$  を与えたとき、 $X$  と  $Y$  が条件付独立ならば、 $X$  と  $Y$  をつなぐエッジを削除する。
- 6: 3 および 4 の条件を満たすすべての  $X$  と  $Y$  について 5 を行う。
- 7:  $n = n + 1$  として、3 に戻る。

同時に、本手法の有効性を検証するため、遅発性アルツハイマー病 (LOAD) の症例・対照データ (3,192 名、新潟大学脳研究所の研究グループより供与) を二次利用し、解析を行なった。解析の対象である遺伝子多型は、LOAD と有意な関連性を示すアポリポタンパク質 E 遺伝子 (*APOE*, 19q13.2)、および第 10 番染色体上に位置する 18SNP と、限定的なデータではあるが、図 11 に示すように、SNP の連鎖不平衡構造のほか、これらの遺伝子多型と LOAD との関連を再現することができた。この部分について、現在論文を作成中である。なお、本アルゴリズムによるデータの解析、特に SNP のような離散変数のデータの解析は、世界的にも本研究が初であり、バイオインフォマティクスの観点からも、極めて重要な意味を持つものと言える。また、ゲノム全域に存在する超高密度 SNP をマーカーとした大規模な関連解析が、近年精力的に進められていることは前述の通りであるが、次の段階として、加齢性黄斑変性症 (AMD) に関するゲノム全域 116,204SNP のデータ (146 名、米・Yale 大学の研究グループより供与) へ本アルゴリズムを適用し、相互作用も含めて、よ

り体系的な感受性 SNP の関連構造の抽出を試みた。このデータでは、関連解析により、補体 H 因子 (*CFH*, 1q32) 上の rs380390 が、感受性 SNP としてすでに同定されている (Klein ら、2005)。ただし本データのように、被験者の数に対して SNP の数が極端に大きい場合、過度にエッジが削除される傾向にあることが知られており、事前情報として、明らかに関連性が認められる変数間のエッジを固定する、もしくは関連性のない変数間のエッジをあらかじめ削除することが、偏りのある結果を回避するための有効な方法として提唱されている。本データの解析においても、AMD と rs380390 の関連を固定することにより、図 12 に示すように、*CFH*、*CFHR1*、および *CFHR4* に位置し、rs380390 と相互作用すると考えられる計 5SNP がとらえられた。

このネットワークグラフが示唆する生物学的な意味については、別途理論的および実験的検証が必要であるが、本手法により、疾患と SNP の相対的な関係性がより理解しやすい形で視覚化され、多因子疾患を支配する複雑なメカニズムの解明の一助となることが期待される。

A



B

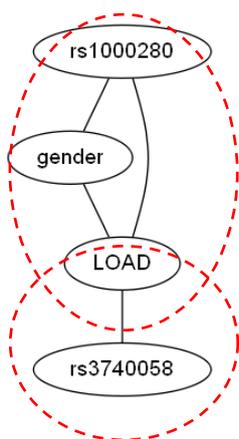


図 11 PC アルゴリズムにより作成された、LOAD と SNP の相対的な関係性を示すネットワークグラフ

A は全データを、B は *APOE* の  $\epsilon 4$  アレルを持たないグループをそれぞれ解析したものである。SNP の連鎖不平衡構造のほか、*APOE*、および第 10 番染色体上に位置する SNP と LOAD との関連 (図中の赤い破線で囲った部分) を再現することができた。

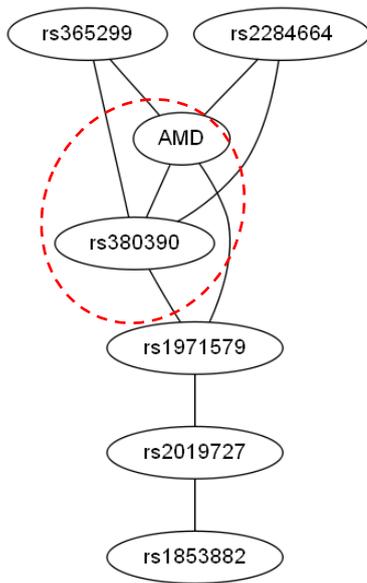


図 12 PC アルゴリズムにより作成された、AMD と SNP の相対的な関係性を示すネットワークグラフ

AMD と *CFH* 上の rs380390 の関連（図中の赤い破線で囲った部分）を固定することで、*CFH*、*CFHR1*、および *CFHR4* に位置する SNP がとらえられた。

## 多変量分散成分閾値モデリングによる高次元因子解析システムの開発

前述の通り、PC アルゴリズムは、疾患と SNP の相対的な関係性を分かりやすく視覚化し、またゲノム全域におよぶ大規模なデータにおいても、その機能を発揮し得る手法として、今後の大いなる活用が期待される。しかしながら、これは原則として質的、量的変数いずれかのみで構成されたデータにのみ適用が可能である。実際の臨床検査データにおいては、タイプの異なる変数が混在しており、そのようなデータをどのように取り扱うかもまた重要、かつ困難な課題である。連続変数の強制的なカテゴリ化も一つの策ではあるが、それに伴うかなりの情報損失は避けられない。

そこで、前述のテーマと併せて、多変量分散成分閾値モデルを用いた解析手法の検討を進め、質・量混在型のデータにおいて、変数間の分散共分散行列を推定するツールを開発した。このアルゴリズムの最も重要な点は、閾値モデルの概念に基づいて、質的変数の背後に、正規分布などの連続変数（ライアビリティ）を仮定し、元のデータを、量的な変数のみの多変量データに変換することにある。

このモデルにおける対数尤度関数は非常に複雑な構造を呈するため、最大化にあたり、偏微分による導関数を必要とするニュートン型のアルゴリズムを適用することは困難である。したがってこれらに代わり、乱数を用いた数値積分により、各パラメータの近似的な事後分布を得る、マルコフ連鎖モンテカルロ (Markov chain Monte Carlo; MCMC) を用いた。なお、対数尤度関数の最大化とは、データから「もっともらしい」疾患発症モデル（疾患の発症パターンを最もよく説明する SNP の組み合わせ、各因子の発症リスクへの寄与度、因子間の関連構造）を決定することである。MCMC は計算に要する負荷はやや大きいものの、比較的平易な計算により、最適な疾患発症モデルを推定することが可能となる（図 13、仮想データセットを表 3 に示す）。

対数尤度関数  $\ln L$  は、以下に示す式の通りである。

$$\ln L = -0.5 \times \left( \ln |R| + \sum_{i=1}^N \ln \sigma_{v_i}^2 + \ln |C| + y'R^{-1}y + r'C^{-1}r \right)$$

ここで、 $R$  は連続変数である項目間の関連構造を示す分散共分散行列、 $N$  は項目の数、 $\sigma_{v_i}^2$  は連続変数である項目-カテゴリ変数である項目間の関連を表す分散成分、 $y$  は連続変数である項目のベクトル、 $X$  は各データがどの項目に属するものかを示す計画行列、 $Z$  は各データが属する被験者が、カテゴリ変数である項目において、どの区分（男性/女性など）に属するものかを示す計画行列、そして

$$C = \begin{bmatrix} X'R^{-1}X & X'R^{-1}Z \\ Z'R^{-1}X & Z'R^{-1}Z + I\sigma_v^2 \end{bmatrix}, \quad r = \begin{bmatrix} X'R^{-1}y \\ Z'R^{-1}y \end{bmatrix}$$

である。

シミュレーション実験の結果、偏りのない推定値も得られており（図 14、および 15 参照）、本手法の応用により、SNP のみならず、タイプの異なる変数が混在した臨床検査データや、遺伝子各種の発現量の情報なども総合的に取り入れた、より信頼度の高い発症モデルの推定が可能となると考えられる。

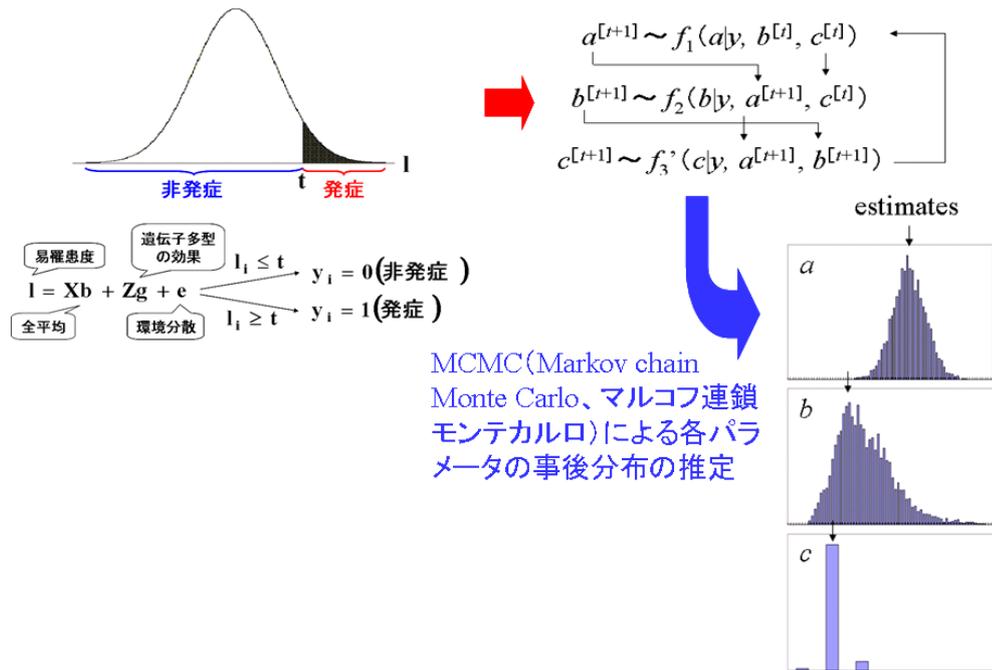


図 13 多変量分散成分閾値モデルにおける、MCMC を用いた易罹患度の予測

表 3 仮想データセット (400 名×4 変数) に関する分散共分散行列、およびシミュレーション実験に用いた仮想データセットの例

	1	2	3	4	1	1	-1.5861	90.4682	58
					2	1	-3.4820	101.7672	55
					3	1	-6.6076	101.3483	52
					4	1	2.3497	108.8924	60
					5	1	-5.5580	104.5262	57
					6	1	10.3898	104.8814	63
					7	1	5.3803	93.3656	80
					8	1	19.2591	91.5617	77
					9	1	-14.9446	91.8280	54
					10	1	-9.2602	83.5329	46
					11	2	3.7494	88.6462	65
					12	1	-1.5273	117.9918	53
					13	1	-3.5180	110.9949	50
					14	1	7.1392	96.5953	60
					15	1	2.0002	107.3250	62
					16	1	1.1298	107.7444	78
					17	1	-3.4644	96.2695	68
					18	1	-12.4522	90.2123	45
					19	2	15.4394	73.0509	69
					20	1	1.0206	122.4387	69
					21	1	-2.4419	122.6486	71
					22	1	2.5528	109.9543	58
					23	2	12.6791	96.0660	70
					24	1	-4.5684	87.8780	62
					25	1	2.8926	105.5466	73
1	1.00	7.00	-4.00	3.50					
	(1.00)	(0.70)	(-0.40)	(0.35)					
2		100.00	-28.00	50.00					
		(1.00)	(-0.28)	(0.50)					
3			100.00	-14.00					
			(1.00)	(-0.14)					
4				100.00					
				(1.00)					

※ただし、1 は上記の相関を示すライアビリティ ( $\sim N(0, 1^2)$ ) に基づくカテゴリ数 2 の離散変数であり、2、3、および 4 は正規分布にしたがう連続変数 ( $\mu_2 = 0$ 、 $\mu_3 = 100$ 、 $\mu_4 = 65$ ) である。

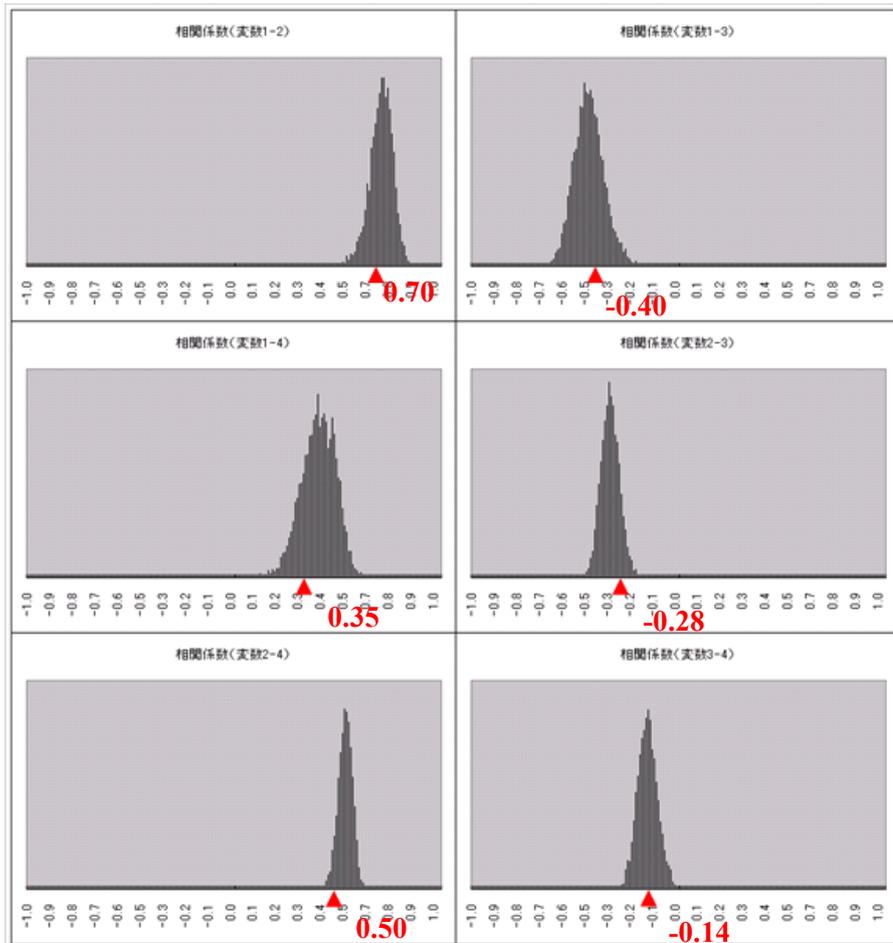


図 14 各相関係数の事後分布 (MCMC12,000 サイクル)



図 15 各相関係数の事後分布に基づくネットワークグラフ

さらに、推定された発症モデルをもとに、将来における個人レベルでの発症を予測するためのアルゴリズムの開発も行った。 $d_k$  は、ある被験者に関する各項目の観察

値のベクトルであるが、図 16、および 17 に示すように、 $d_k$  の年齢に相当する要素に、任意の年齢を標準化した値を割り当てる。これと分散共分散行列  $R$  をコレスキー分解した行列  $L$  を用いた MCMC により、将来の任意の時点における発症リスクの事後分布が推定できる。ここで重要な点は、各項目による条件付けがなされつつ、発症リスクが推定されるという点である。すなわち、従来モデルでは、時間の経過に伴う生活習慣や外的環境の変化が考慮されないのに対して、本研究での発症モデルは、その影響を適正に考慮したものである。これにより、従来アプローチと比較して、より信頼度の高い予測が可能となる。

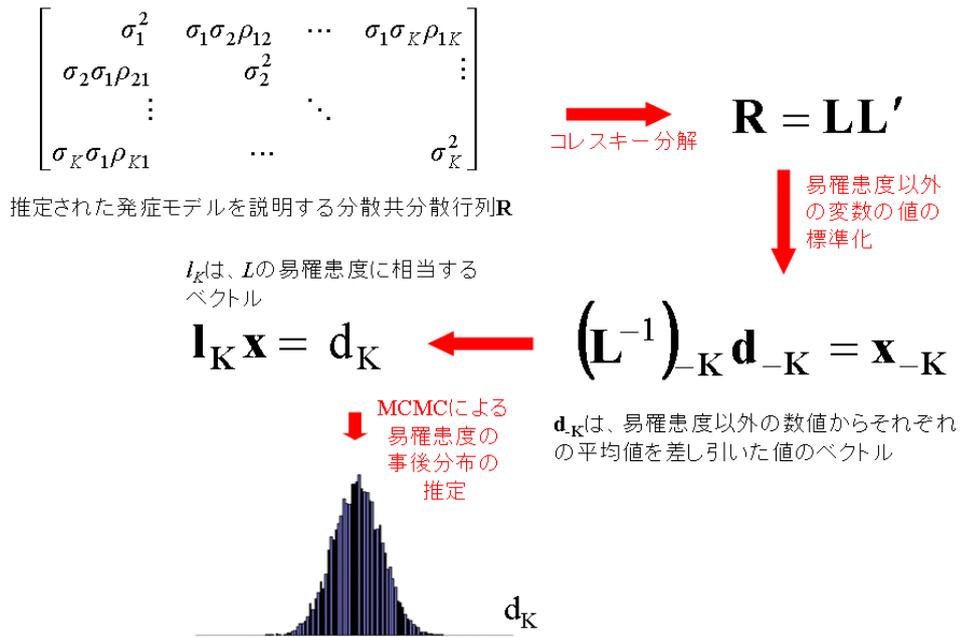


図 16 多変量分散成分閾値モデルにおける易罹患度の予測アルゴリズム

(例)

	年齢	運動量	BMI	疾患
年齢	100.00	-4.00	0.90	1.50
	(1.00)	(-0.40)	(0.03)	(0.15)
運動量		1.00	-1.50	-0.06
		(1.00)	(-0.50)	(-0.06)
BMI			9.00	0.90
	Sym.		(1.00)	(0.30)
疾患				1.00
				(1.00)

$\mu_1 = 50.00$ 、 $\mu_2 = 0.00$ 、 $\mu_3 = 22.00$ 、および  
 $\mu_4 = 0.00$ 、また有病率は5%とする。

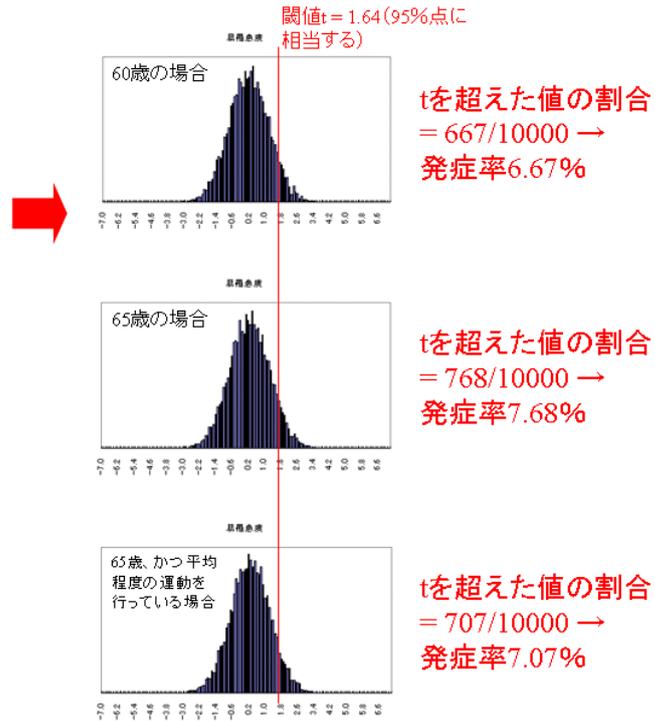


図 17 易罹患度の予測の例

## (2)研究成果の今後期待される効果

わずかな遺伝子の違いにより多因子疾患をきたし、そのわずかな違いは昨今検出できるようになった。しかしながら、その違いの相互作用がどのように疾患と関連するか、また、将来の疾患予測にどのようにつなげるか、今後の検討課題である。本研究でおこなっている、相互作用解析や将来予測に向けた取り組みは端緒にすぎず、今後の研究継続が必要である。

## 3. 6 オーダーメイド健康予測システムの開発 (千葉大学 羽田グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

#### 実施方法・内容

本研究を進めるためには、大きな集団の経時的な健診データの蓄積と健康状態に関する疫学データを得ることが必要であった。そこで、ある中核都市の住民健診データを収集し、予測プログラム開発を目指した。また大規模データが収集される以前に、その他より収集することができた小規模のデータを活用して先行解析として予測手法の検討を行った。研究は以下の手順で研究を進めた。

#### 1. 先行解析

##### 1-1 地域検診データによる先行解析

易罹患性についての推定手法を検討するため、関東中核県で収集できた地域検診データ(年齢、血圧、肥満度、コレステロール値、中性脂肪、血糖値、HbA1c、インスリン)を活用し、頸動脈内膜中膜複合体(IMT)厚による動脈硬化症の有無の推定に

取り組んだ。

一般に全データを対象に易罹患性の予測を行なう場合、多種集団のデータが混合状態となることによって、平均化された予測値となり、期待する結果が得られないことが多い。この問題を解決するため、まず外れ値処理、正規化などの処理を施した上で全検査データに対してユークリッド距離行列を作成し、ward法により階層的クラスタリング処理を行って層別化した。このクラスタごとにロジスティック回帰分析を適用することで疾患の有無を予測する手法の可能性を探った。ロジスティック回帰分析では最適な説明変数の組み合わせを探すため、AIC(Akaike's Information Criterion)を指標とした変数逐次選択法を実施した。

その結果、限られたデータ数ではあるものの、得られたクラスタごとに適用した疾患の判定予測では、比較的高い精度で予測可能であるという結果を得ることができた。ただし、このシミュレーションではある集団を特定することに限られるため、個人を診断するモデル構築を検討した。

#### 1-2 集団経時データによる先行解析

個人を診断するモデルの構築には年次推移があるデータが有用と考えられ、別の集団(男性1810名、女性385名)の経時的なデータを用いて高脂血症の解析を行った。本データは年齢、身長、体重、体脂肪率、BMI、総コレステロール(TC)、HDLコレステロール、トリグリセリド(TG)、血糖値を含み、年1回の健診データが10年間分蓄積されたデータである。ここで、TCを高脂血症と判別する(220mg/dl以上の場合有病とした)疾患要因として解析に用いた。

以前に実施した前立腺癌予測の解析では、PSA(Prostate specific antigen:前立腺特異抗原)データに加え、超音波所見、診察所見、年齢、性別などの要因を用いてロジスティック回帰モデルを構築した。ROC(Area operating characteristic)曲線下の面積を比較すると、PSA単独モデルでは67.8%であったが、上記の要因を加えたことにより81.8%と予測精度を上昇させることができた。この先行解析と同様の手法にて検討してみた。

まず、前年度の健診データから翌年度のTCを推定するロジスティックモデルを検討し、高い正答率(約80%)が得られたが、感度が25%と非常に低かった。AICによる変数逐次選択法を用いたロジスティック回帰モデルでも同様であった。

次に、最終年度のTCを疾患要因として、その前年度のデータに加えて最小二乗法により求めた過去のデータの傾きを合わせてモデルを構築した。正答率は約75%と減少し、感度は約50%に上昇したが精度は高くないままであった。変数逐次選択モデルでも同様であった。

また、遺伝的要因と臨床情報の関連解析も視野に入れ、全ての定量データを5分位数ごとに分類し、MDR(multifactor dimensionality reduction)法を実施し、10-foldクロスバリデーションにより交互妥当性の検証を実施した。結果としては、ロジスティック回帰分析の変数逐次選択モデルと類似した項目が選択され、また正答率も類似していた。

MDR法は理論が単純で高速計算に向いていることから、データ解析手法の一つとしては注目している。ただし、今回の集団経時データを用いたシミュレーションでは、特異度は高いが感度が低いモデルが構築され、全集団に対してこのモデルを適用することは不適切と判断された。そこで、将来健康リスクを推定して伝えるシステムを実現するため、個人ごとに予測モデルを構築し、推定結果を確率分布として求めて診断の補助となるようなモデル構築を検討した。

#### 1-3 個人経時データによる先行解析

個人の経時推移データを用いて疾患予測の可能性や要因の調査を実施した。1-2と同じ健診データを用い、TC・TG・血糖値をそれぞれ高コレステロール血症・トリ

グリセリド血症・糖尿病に関連する疾患判別要因としてこれらを予測する要因の検出を進めた。

まず、男女別集団データから各年度の疾患要因と健診データの相関係数を求めて10年間の平均値を算出し、個々人の10年間のデータで疾患要因と健診データの相関係数を求めて男女別に平均した値と比較した。TGと体重との相関係数は、男性集団では年度別平均は0.22、個々人年次推移データの男性平均データは0.29と若干ではあるが高値を示した(表4)。この相関係数の散らばりを累積度数分布で確認すると、全体の約55%が0.3以上(約32%が0.5以上)の正の相関を持つと判明した(図18)。その他の疾患要因でも体重やBMIとの相関係数に同様の兆候が見られた(表4)。

個人差はあるが、体重には数キログラムの日内あるいは日間変動が考えられ、誤差範囲の体重変動が疾患要因との相関係数に与える影響を観察するため、男性集団から体重変動係数(CV:SD÷平均)の高い100名とCVの低い100名を抽出してTGと体重の相関係数を比較した結果、CVの高い集団のうち85%が0.3以上(67%が0.5以上)の正の相関を持ち、負の相関係数がピークを呈するCVの低い集団とは異なる分布となった(図19)。

この個人経時推移データを用いたシミュレーションから推定結果を確率分布として求められるかを調査するため、0.8、0.5、0.3、0、-0.5付近の相関係数を持つサンプルを無作為に抽出して疾患要因とその他の項目との単回帰を行い、残差分布が正規分布に適合するかなどの解析を実施した。残差を正規確率紙上にプロットしたところ、多くの個人データにおいて相関係数にかかわらず直線(正規分布)に近似することを目視により確認した(図20)。

これらの結果、体重やBMIといった個人でも手軽に管理できる指標値により、TGやTC、血糖値の予測要因となる可能性が示唆された。ただし、経時推移データの体重変動が小さく誤差範囲となる人や、逆相関関係となる人に対してはこのシミュレーションを適用できない。そこで、A市の住民健診の大規模データを用いた研究では、予測困難な集団にも一定の推定結果を提示できる予測システムの確立を目指した。

表4 年別データと個々人経時推移データでの相関係数の比較

疾患要因	予測要因	相関係数	
		年度別平均※1	個人別平均※2
TG	体重	0.22	0.29
	BMI	0.24	0.26
TC	体重	0.14	0.23
	BMI	0.21	0.25
血糖値	体重	0.09	0.11
	BMI	0.15	0.14

男性集団の疾患要因と予測要因との相関係数を示す。※1：年度ごとに集団データの相関係数を算出し、10年間の平均値を表示。※2：個人ごとの経時推移データで相関係数を算出し、男性全体の平均値を表示。

図18 TGと体重の相関係数の分布

男性個人10年間の経時推移データでのTGと体重の相関係数についてのヒストグラムと累積確率。0.5の正の相関係数が最頻値となっており、約55%が0.3以上の正の相関係数を持つ。

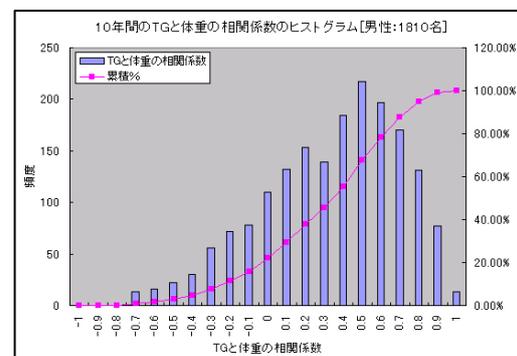
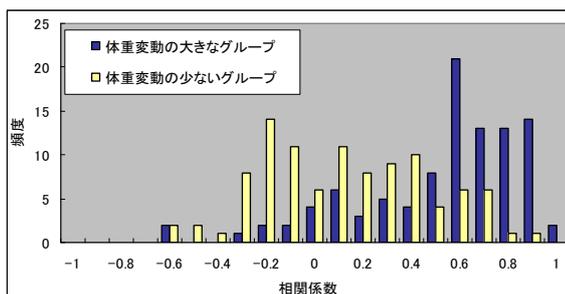


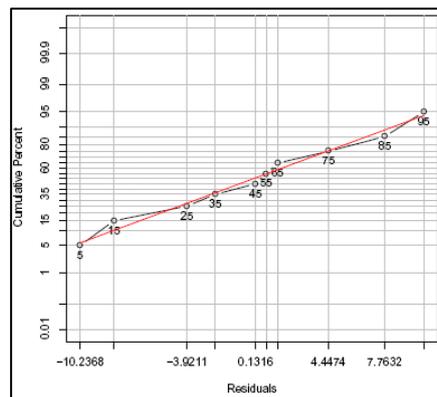
図 19 変動係数(SD/Ave) ランク別 10 年間の個人での相関係数の分布



10年間の体重変動が大きい100名(青色)と小さい100名(黄色)について10年間の個人経時推移データのTCと体重の相関係数をヒストグラムで表示した。体重変動が大きい群では相関係数が比較的高くなるのがわかる。

図 20 正規確率紙への残差あてはめ

横軸はある個人10年間経時推移データのTCと体重の単回帰分析による残差成分、縦軸には累積相対度数を表す正規確率紙へプロットしたものを示す。本紙上で直線に近似しており、正規分布に従っていることが示唆される。



## 2. 中核都市住民健診データ収集

健康診断の経時的な変化から将来の罹患リスク予測や健康状態の判別が可能となれば、健康診断の有用性はさらに高まる。そこで、匿名化された大規模健診データを利用し、高血圧、高脂血症、糖尿病の将来予測プログラム作成を目指した。

千葉大学の倫理委員会承認後、中核都市であるA市と住民健診データを市民の健康増進に役立てるツールを共同で作成することを条件に、共同研究契約を締結した。その結果、個人情報削除後のデータを得ることができた。同市の健診データの電子化が始まったのは約10年前であり、その後、約10万件のデータが蓄積されている。

## 3. 解析データ処理

まず、健診データの確認、およびデータベースへの登録を実施した。この作業中に、明らかな入力ミスと思われるものや年齢などの矛盾、別人に同一IDがある、などのデータが存在したが、いずれも数十件以内であるので今回の解析からは除外することにした。

次に、多数ある健診、および問診項目から高血圧、高脂血症、糖尿病の疾患判別要因の血圧、TG、HbA1cに加えて受診時年齢、身長、体重、BMIデータを抽出し、全健診データに対して厚生労働省により策定および公表されている『標準的な健診・保健指導プログラム』中の『データ範囲のチェック』に従って明らかなミスデータについてのフィルタリングを行った。次に、受信時年齢40歳から65歳に限定し、このうち年齢・身長・体重に欠測値を含まず、6年以上のデータを有する約35,000名を母集団として統計解析に用いた。

## 4. 高脂血症、糖尿病、高血圧予測プログラム開発

先行解析(1-3)に倣い、中性脂肪や血圧、HbA1cの推移に対するBMIとの相関関係について調査した。その結果、6年間以上の体重変動が大きくなるほど、BMIとの間に正の高い相関を持つ群が多く存在することがわかった(図21)。この群については、大きな体質の変化等が無い条件の基でBMIという個人で計測できる項目から検査項

目の変動を把握できる可能性が示唆された。そこで、BMI との間に正の相関関係をもつ人に関しては、そのまま個人の経時推移データを用いて最小二乗法による線形回帰により推定を実施した。

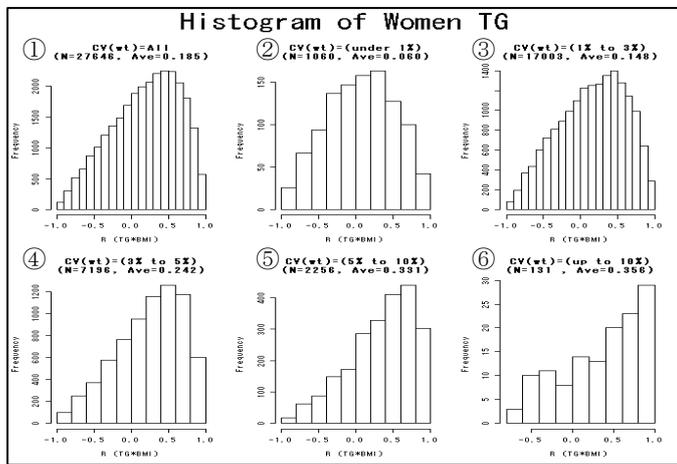
一方、データ数が少ない被験者も多数存在すると考えられる。これらの被験者に対しても予測値を確率分布として推定結果を表示するため、Markov Chain Monte Carlo(MCMC)により推定された、最小二乗法による線形回帰の係数を用いて予測を試みた。

できるだけ個人の体質にあった予測を実現するため、約 35,000 名の個人経時推移データから線形回帰の係数を算出し、年齢(4 区分)や性別、BMI(男性 4 区分、女性 5 区分)で集団の層別化された集団ごとに傾きと標準偏差の分布を求めた(ただし、HbA1c と BMI の分布については有効な集団の数を確保するため年齢の区分を用いなかった)。自身の推移データが利用できない人については、該当する集団の分布を MCMC の事前分布として適用することで、蓄積された集団データの特性を生かした推定を実施した。2 年分から 6 年分の経時推移データに対して実施したところ、4 年以上の経時データを持つ人では通常の線形回帰と結果が近似していたため、2 年、または 3 年の経時推移データを持つ人に対して MCMC による予測を実施することとした。

また、4 年以上の経時推移データを持つ人のうち体重変動が小さい人、データ数の少ない人、体重と比べて疾患判別要因の変動が大きい人、逆相関関係を持つ人など、BMI との関係から予測不能な群も存在する。これらの人に対しては、MCMC と同様に約 35,000 名の集団から求めた分布のうち、自身が該当する群の傾きに最新のデータを当てはめることで推定結果を算出する。

これらの予測プログラムの流れ(図 22)をもとに、個々人の将来を推定する予測ソフトウェアの開発に取り組んだ。

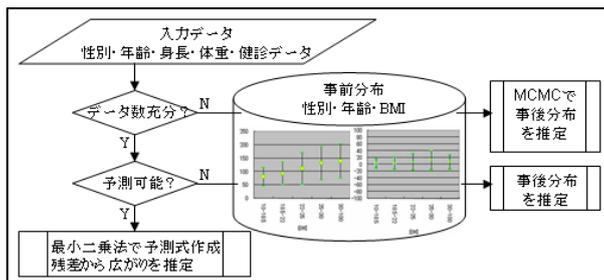
図 21 体重(wt)の変動係数別中性脂肪(TG)と BMI の相関係数分布



女性データの TG と BMI の相関係数を(1) 全集団、(2) 変動係数 1%未満の群、(3) 変動係数 1%以上 3%未満の群、(4) 変動係数 3%以上 5%未満の群、(5) 変動係数 5%以上 10%未満の群、(6) 変動係数 10%以上の群に分けてヒストグラムを描画した。変動係数の上昇に従って最頻値が 1 に近づく。

図 22 フローチャート

予測不能な群に対しては性別、年齢、BMI により層別化した集団データ分布を利用して推定結果を表示するためのアルゴリズム。



## 成果

本研究の成果物として、高血圧、高脂血症、糖尿病の将来予測プログラムを採用したソフトウェアを開発した。

これに先行して、個々人の TG、TC、血糖値、HbA1c、体重のデータに加えて疾患判別要因の基準値範囲を入力し、最小二乗法による線形回帰を実施して危険体重とその範囲を求め、各要因の基礎統計量、予測値の分布模式図、確率分布ヒストグラム、表示説明文を提示する機能を搭載したプロトタイプを開発した(図 23)。

このプロトタイプでは、過去の経時データ推移の閲覧や線形回帰で予測困難な群向けの推定に対応していないため、予測プログラム開発で検討したフローチャートに従い、データ数が少ない人や疾患判別要因が体重と逆相関関係にある人でも予測できるソフトウェアの開発に取り組んだ。加えて、ユーザーが直感的に把握しやすい表示方法を検討した。

入力された疾患要因データ(TG・血圧・HbA1c)の値は、疾患と判別する閾値を中央とした色のグラデーションで表現し、年齢ごとに 1 つの円上に配色することで、メタボリックシンドロームの進行度にも注目できるよう配慮した(図 24)。

予測要因の体重をスライダーで入力すると、入力された身長情報から BMI を算出し、最小二乗法による線形回帰、MCMC、集団データの分布のいずれかの手法により疾患要因データを推定し、その予測値と範囲を表示する(図 24)。

また、BMI を基準(横軸)として、各疾患要因データ(中性脂肪・HbA1c・最高血圧・最低血圧)との関係をグラフ上に表示した(図 25)。

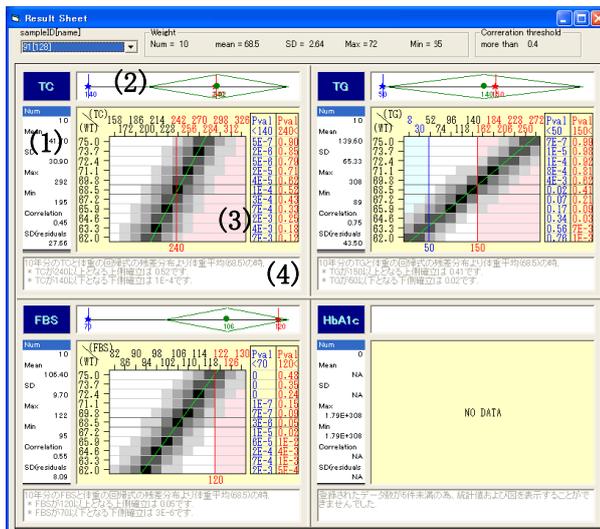


図 23 ソフトウェアプロトタイプ  
各疾患要因別に(1)基礎統計量、(2)予測値の分布模式図、(3)予測値の確率分布のヒストグラム、(4)文章による説明を配置した。(3)のヒストグラムでは、残差から求めた各個人の推定値のばらつきの程度を左右方向にグラデーションで表示した。

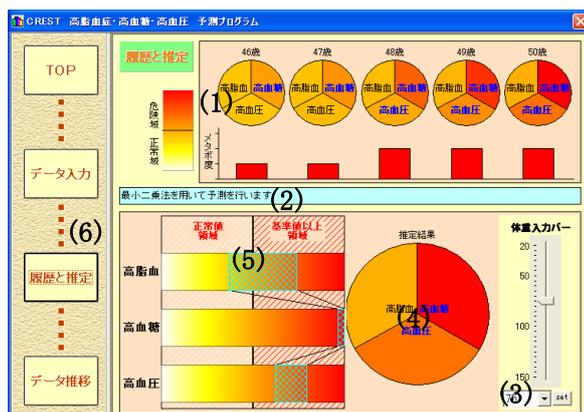


図 24 推定結果画面  
(1)年齢別の疾患要因データの推移、(2)メタボリックの進行度、(3)体重入力用スライダー、(4)疾患要因データの推定値、(5)疾患要因データの推定範囲、(6)推定手法の表示。

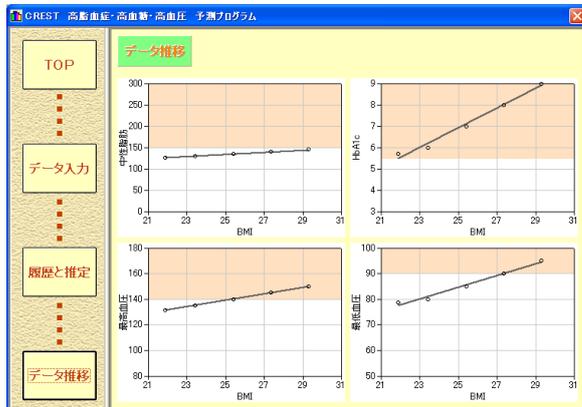


図 25 経時推移データ表示画面  
疾患要因データごとに横軸を BMI とした経時データの推移を表示。

## (2)研究成果の今後期待される効果

本研究では、テーラーメイド健康予測システム開発を目指したが、個々人の経時推移データから、疾患要因を推測するモデルを構築するテーラーメイドの手法が確立できた。また、予測が困難と考えられる群に対しては 35,000 人の集団から個々人の体格と適合する集団の分布を利用するセミテーラーメイドの手法で予測を補助するシステムで補完した。

今回の研究では、個人が簡便に計測可能な体重や BMI などの単一要因からの予測システムの開発を実施した。現在では、家庭用の血圧計や体組成計、歩数計などが普及している。このような採血を伴わず、個人で計測できる要因を利用した予測システムが充足することにより、健康診断時の検査データにおいて軽度の異常で投薬治療等に至らないような疾患予備軍の生活習慣改善などに活かされることが期待できる。加えて、生活習慣や遺伝的な体質を考慮した集団データを用いた予測システム開発に繋げることで、精度の高いシミュレーションが期待できる。

## § 4 研究参加者

### ①井ノ上グループ(脳動脈瘤、男性不妊症の研究)

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	井ノ上 逸朗	東海大学	教授	研究の総括	H15.10～H21.3
	田嶋敦	東海大学	助教	マイクロアレイ解析	H16.4～H21.3
	成田暁	東海大学	助教	統計遺伝学的解析	H16.4～H21.3
*	安野勝史	東海大学	CREST 研究員	SNP データ解析	H18.4～H20.8
*	秋山康一	東海大学	CREST 研究員	分子生物学	H18.4～H21.3
	崔泰林	東海大学	研究員	CNV 検出	H19.4～H21.3
	細道一善	東海大学	研究員	ゲノム構造変化解析	H20.4～H21.3

	中岡博文	東海大学	研究員	統計遺伝学的解析	H20.4～H21.3
	高橋朋子	東海大学	研究員	臨床データの整理	H18.4～H21.3
*	坂本佳子	東京大学	CREST 研究補助員	DNA マイクロアレイ実験	H15.10～H18.7
*	三森理恵	東京大学	CREST 研究補助員	SNP タイピング、機能解析	H15.10～H18.3
	中島敏晶	東京大学	助手	SNP 解析	H15.10～H16.3
	吉田健一	東京大学	助手	細胞での遺伝子破壊実験	H15.10～H16.3
	亀井大助	東京大学	リサーチアシソリート	機能解析	H16.4～H18.3
	要匡	琉球大学	准教授	疾患モデル作製	H16.4～H21.3
*	松浦双葉	東京大学	チーム事務員	事務担当	H15.10～H18.7

②羽田グループ(疾患・健康予測研究)

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	羽田明	千葉大学	教授	臨床情報の取りまとめ	H15.10～H21.3
	藤宮仁	ダイナコム	社長	健康予測プログラム作成	H15.10～H21.3
*	船水真紀子	千葉大学	CREST 研究補助員	検体・臨床情報収集	H15.10～H21.3
	伊藤千晶	ダイナコム	研究員	クラスタリング解析	H15.10～H21.3

③小島グループ(甲状腺癌遺伝子研究)

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	小島俊男	理化学研究所	チームリーダー	SNP, CNV タイピング	H15.10～H21.3
	内野眞也	野口病院	部長	検体・臨床情報収集	H15.10～H21.3
*	木村萌	理化学研究所	CREST 研究補助員	検体収集、臨床情報ファイリング	H15.10～H19.3

## § 5 招聘した研究者等

なし。

## § 6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 80件)

国際（欧文）誌

1. Jinnai N, Sakagami T, Sekigawa T, Kakihara M, Nakajima T, Yoshida K, Goto S, Hasegawa T, Koshino T, Hasegawa Y, Inoue H, Suzuki N, Sano Y, Inoue I. Polymorphisms in the prostaglandin E2 receptor subtype 2 gene confer susceptibility to aspirin-intolerance asthma: a candidate gene approach. *Hum Mol Genet*, 13, 3203-3217, 2004.
2. Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, Akagawa H, Hori T, Inoue I, Choi K-Y, Lee W-J, Hong S-W, Yang T-K, Kim C-J. Absence of alpha 1-antitrypsin deficiency alleles (S and Z) in Japanese and Korean patients with intracranial aneurysm. *Stroke*, 35, e376-378, 2004.
3. Ishikawa C, Ozaki H, Nakajima T, Ishii T, Kanai S, Anjo S, Shirai K, Inoue I. A frameshift variant of CYP2C8 was identified in a patient who suffered from rhabdomyolysis after administration of cerivastatin. *J Hum Genet*, 49, 582-585, 2004.
4. Imaizumi T, Yagihashi N, Hatakeyama M, Yamashita K, Ishikawa A, Taima K, Yoshida H, Inoue I, Fujita T, Yagihashi S, Satoh K. Expression of retinoic acid-inducible gene-I in vascular smooth muscle cells stimulated with interferon-gamma. *Life Sci*, 75, 1171-1180, 2004.
5. Yoshida K, Inoue I. Expression of MCM10 and TopBP1 is regulated by cell proliferation and UV irradiation via the E2F transcription factor. *Oncogene*, 23, 6250-6260, 2004.
6. Sakagami T, Witherspoon DJ, Nakajima T, Jinnai N, Wooding S, Jorde LB, Hasegawa T, Suzuki E, Gejyo F, Inoue I. Local adaptation and population differentiation at the interleukin 13 and interleukin 4 loci. *Genes Immun*, 5, 389-397, 2004.
7. Sasaki T, Kasuya H, Onda H, Sasahara A, Hori T, Inoue I. Role of p38 mitogen-activated protein kinase on cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Stroke*, 35, 1466-1470, 2004.
8. Yoshida K, Inoue I. Peptide binding to Geminin and inhibitory for DNA replication. *Biochem Biophys Res Commun* 317, 218-222, 2004.
9. Nakajima T, Wooding S, Sakagami T, Emi M, Tokunaga K, Tamiya G, Ishigami T, Umemura S, Munkhbat B, Jin F, Guan-jun J, Hayasaka I, Ishida T, Saito N, Pavelka K, Lalouel J-M, Jorde LB, Inoue I. Natural selection and population history in the human angiotensinogen gene (AGT): 736 AGT sequencing in worldwide chromosomes. *Am J Hum Genet*, 74, 898-916, 2004.
10. Yoshida K, Inoue I. Regulation of Geminin and Cdt1 expression by E2F transcription factors. *Oncogene*, 23, 3802-3812, 2004.
11. Ohmori H, Ando Y, Makita Y, Onouchi Y, Nakajima T, Saraiva MJM, Terazaki H, Sulu O, Sobue G, Nakamura M, Yamaizumi M, Munar-Ques M, Inoue I, Uchino M, Hata A. Common origin of the Val30Met mutation responsible for the amyloidogenic transthyretin type of familial amyloidotic polyneuropathy. *J Med Genet*, 41, e51, 2004.
12. Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, Akagawa H, Hashiguchi K, Nakajima T, Hori T, Inoue I. Collagen type I $\alpha$ 2 (COL1A2) is the susceptible gene for intracranial aneurysms. *Stroke* 35, 443-448, 2004.
13. Matsui H, Suzuki K, Ohtake N, Nakata S, Takeuchi T, Yamanaka H, Inoue I. Genomewide linkage analysis of familial prostate cancer in Japanese population. *J Hum Genet* 49, 9-15, 2004.
14. Yoshida K, Oyaizu N, Dutta A, Inoue I. The destruction box of human Geminin is critical for proliferation and tumor growth in human colon cancer cells. *Oncogene* 23, 58-70, 2004.
15. Kobashi G, Hata A, Ohta K, Yamada H, Hirayama E, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K. A1166C variant of angiotensinogen II type 1 receptor gene is associated with severe hypertension in pregnancy independently of T235 variant of angiotensinogen gene. *J Hum Genet* 49, 182-186, 2004.
16. Kobashi G, Washio M, Okamoto K, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Ohta K, Inaba Y, Tanaka H; Japan Collaborative Epidemiological Study Group for Evaluation of Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Spine Risk. High body mass index after age 20 and diabetes mellitus are independent risk factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine in Japanese subjects: a case-control study in multiple hospitals. *Spine* 29, 1006-1010, 2004.
17. Onouchi Y, Onoue S, Tamari M, Wakui K, Fukushima Y, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Kishi F, Ouchi K, Terai M, Hamamoto K, Kudo F, Aotsuka H, Sato Y, Nariai A, Kaburagi Y, Miura M, Saji T, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. CD40 ligand gene and Kawasaki disease.

- Eur J Hum Genet* 12,1062-1068, 2004.
18. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T, Ichimori T, Saito S, Iida A, Onouchi Y, Hata A, Nakamura Y. Association analysis of SLC22A4, SLC22A5 and DLG5 in Japanese patients with Crohn disease. *J Hum Genet* 49, 664-668, 2004.
  19. Ikeda R, Yoshida K, Tsukahara S, Sakamoto Y, Tanaka H, Furukawa-K, Inoue I. The promyelotic leukemia zinc finger promotes osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells as an upstream regulator of CBFA1. *J Biol Chem* 280, 8523-8530, 2005.
  20. Krischek B, Kasuya H, Inoue I. Collagen Morphology Is Not Associated With the Ala549Pro Polymorphism of the COL1A2 Gene. *Stroke* 36:2068-69, 2005 (response to a letter).
  21. Tsukahara S, Miyazawa N, Akagawa H, Forejtova S, Pavelka K, Tanaka T, Toh S, Tajima A, Akiyama I, Inoue I. COL6A1, the candidate gene for ossification of posterior longitudinal ligament, is associated with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis in Japanese. *Spine* 30, 2321-2324, 2005.
  22. Nakajima T, Wooding S, Satta Y, Jinnai N, Goto S, Hayasaka I, Saitou N, Guan-Jun J, Tokunaga K, Jorde LB, Emi M, Inoue I. Evidence for natural selection in the HAVCR1 gene: high degree of amino-acid variability in the mucin domain of human HAVCR1 protein. *Genes Immun* 6, 398-406, 2005.
  23. Yamaguchi T, Park S-B, Narita A, Maki K, Inoue I. Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patients. *J Dent Res* 84, 255-259, 2005.
  24. Koizumi H, Hashimoto K, Shimizu E, Mashimo Y, Hata A, Iyo M. Further analysis of microsatellite marker in the BDNF gene. *Am J Med Genet Neuropsychiatric Genet* 135B, 103, 2005.
  25. Lin L, Ozaki T, Takada Y, Kageyama H, Nakamura Y, Hata A, Zhang J-H, Simonds WF, Nakagawara A, Koseki H. tpsrs, a p53 and topoisomerase I-binding RING finger protein, is a coactivator of p53 in growth suppression induced by DNA damage. *Oncogene* 24, 3385-3396, 2005.
  26. Kobashi G, Ohta K, Shido K, Hata A, Yamada H, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K, Tamashiro H. The Egogram is a Potent, Independent Risk Factor for Hypertension in Pregnancy in Japanese Women. *Seminor Thromb Hemostat* 31, 302-306, 2005.
  27. Kobashi G, Hata A, Shido K, Ohta K, Yamada H, Kato EH, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K, Tamashiro H. Insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and preeclampsia in Japanese. *Seminor Thromb Hemostat* 31, 346-350, 2005.
  28. Hiraide A, Imazeki F, Yokosuka O, Kanda T, Kojima H, Fukui K, Suzuki Y, Hata A, Saisho H. Fas polymorphisms influence susceptibility to autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 100, 1322-1329, 2005.
  29. Yokosuka O, Kawai S, Suzuki Y, Fukai K, Imazeki F, Kanda T, Tada M, Mikata R, Hata A, Saisho H. Evaluation of clinical usefulness of second-generation HCV core antigen assay: comparison with COBAS AMPLICOR HCV MONITOR assay version 2.0. *Liver Int.* 25, 1136-1141, 2005.
  30. Koizumi H, Hashimoto K, Shimizu E, Mashimo Y, Hata A, Iyo M. Further analysis of microsatellite marker in the BDNF gene. *Am J Med Genet Neuropsychiatric Genet* 135B, 103, 2005.
  31. Lin L, Ozaki T, Takada Y, Kageyama H, Nakamura Y, Hata A, Zhang J-H, Simonds WF, Nakagawara A, Koseki H. tpsrs, a p53 and topoisomerase I-binding RING finger protein, is a coactivator of p53 in growth suppression induced by DNA damage. *Oncogene* 24, 3385-3396, 2005.
  32. Yokosuka O, Kawai S, Suzuki Y, Fukai K, Imazeki F, Kanda T, Tada M, Mikata R, Hata A, Saisho H. Evaluation of clinical usefulness of second-generation HCV core antigen assay: comparison with COBAS AMPLICOR HCV MONITOR assay version 2.0. *Liver Int* 25, 1136-1141, 2005.
  33. Iwasawa T, Iwasaki K, Sawada T, Okada A, Ueyama K, Motomura S, Harata S, Inoue I, Toh S, Furukawa K-I. Pathophysiological role of endothelin in ectopic ossification of human spinal ligaments induced by mechanical stress. *Calcif Tissue Int* 79, 422-430, 2006.
  34. Krischek B, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Kasuya H, Hori T, Inoue I. The alanine/threonine polymorphism of the alpha-1-antichymotrypsin (SERPINA3) gene and ruptured intracranial

- aneurysms in the Japanese population. *Cerebrovasc Dis* 23, 46-49, 2006.
35. Ikeda R, Yoshida K, Ushiyama M, Yamaguchi T, Iwashita K, Futagawa T, Shibayama Y, Oiso S, Takeda Y, Kariyazono H, Furukawa T, Nakamura K, Akiyama S, Inoue I, Yamada K. The small heat shock protein alphaB-crystallin inhibits differentiation-induced caspase 3 activation and myogenic differentiation. *Biol Pharm Bull* 29, 815-819, 2006.
  36. Tsukahara S, Ikeda R, Goto S, Yoshida K, Mitsumori R, Sakamoto Y, Tajima A, Yokoyama T, Toh S, Furukawa K, Inoue I. Tumor necrosis factor alpha stimulated gene-6 inhibits osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells induced by OS and BMP-2. *Biochem J* 398, 595-603, 2006.
  37. Horikoshi T, Maeda K, Kawaguchi Y, Chiba K, Mori K, Koshizuka Y, Hirabayashi S, Sugimori K, Matsumoto M, Kawaguchi H, Takahashi M, Inoue H, Kimura T, Matsusue Y, Inoue I, Baba H, Nakamura K, Ikegawa S. A large-scale genetic association study of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Hum Genet* 119,611-616, 2006.
  38. Sakagami T, Jinnai N, Sekigawa T, Hasegawa T, Suzuki E, Inoue I, Gejyo F. ADAM33 polymorphisms are associated with aspirin-intolerant asthma in the Japanese population. *J Hum Genet* 52, 66-72, 2006.
  39. Krischek B, Kasuya H, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Onda H, Hori T, Inoue I. Using endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms to identify intracranial aneurysms more prone to rupture in Japanese patients. *J Neurosurg* 105, 717-722, 2006.
  40. Akagawa H, Tajima A, Sakamoto Y, Krischek B, Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, Hori T, Kubota M, Machida T, Saeki N, Hata A, Hashiguchi K, Kimura E, Kim C-J, Yang T-K, Lee J-Y, Kimm K, Inoue I. A haplotype spanning two genes, *ELN* and *LIMK1*, decreases their transcripts and confers susceptibility to intracranial aneurysms. *Hum Mol Genet* 15, 1722-1734, 2006.
  41. Niikura Y, Tabata Y, Tajima A, Inoue I, Arai K, Watanabe S. Zebrafish numb homologue: phylogenetic evolution and involvement in regulation of left-right asymmetry. *Mech Dev* 123, 407-414, 2006.
  42. Krischek B, Narita A, Akagawa H, Kasuya H, Tajima A, Onda H, Yoneyama T, Hori T, Inoue I. Is there any evidence for linkage on chromosome 17cen in affected Japanese sib-pairs with an intracranial aneurysm? *J Hum Genet* 51, 491-494, 2006.
  43. Suzuki H, Komiya A, Kamiya N, Inamoto T, Kawamura K, Miura J, Suzuki N, Nakatsu H, Hata A, Ichikawa T. Development of a nomogram to predict probability of positive initial prostate biopsy among Japanese patients. *Urology* 67, 131-136, 2006.
  44. Omi T, Kumada M, Kamesaki T, Okuda H, Munkhtulga L, Yanagisawa Y, Utsumi N, Gotoh T, Hata A, Soma M, Umemura S, Ogihara T, Takahashi N, Tabara Y, Shimada K, Mano H, Kajii E, Miki T, Iwamoto S. An intronic variable number of tandem repeat polymorphisms of the cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) gene modifies gene expression and is associated with essential hypertension. *Eur J Hum Genet* 14, 1295-1305, 2006.
  45. Nakayama T, Kuroi N, Sano M, Tabara Y, Katsuya T, Ogihara T, Makita Y, Hata A, Yamada M, Takahashi N, Hirawa N, Umemura S, Miki T, Soma M. Mutation of the follicle-stimulating hormone receptor gene 5'-untranslated region associated with female hypertension. *Hypertension* 48, 512-518, 2006.
  46. Takikawa K, Haga N, Maruyama T, Nakatomi A, Kondoh T, Makita Y, Hata A, Kawabata H, Ikegawa S. Spine and rib abnormalities and stature in spondylocostal dysostosis. *Spine* 31, E192-E197, 2006.
  47. Krischek B, Inoue I. Genetics of intracranial aneurysm. *J Hum Genet* 51, 587-594, 2006.
  48. Inoue I, Ikeda R, Tsukahara S. PLZF and TSG-6 identified by gene expression analysis play roles in the pathogenesis of OPLL. *J Pharmacol Sci* 100, 205-210, 2006.
  49. Saheki T, Iijima M, Li MX, Kobayashi K, Horiuchi M, Ushikai M, Okumura F, Meng XJ, Inoue I, Tajima A, Moriyama M, Eto K, Kadowaki T, Sinasac DS, Tsui LC, Tsuji M, Okano A, Kobayashi T. Citrin/mitochondrial glycerol 3-phosphate dehydrogenase double-knockout mice recapitulate features of human citrin deficiency. *J Biol Chem* 282, 25041-25052, 2007.
  50. Sasahara A, Kasuya H, Akagawa H, Ujiie H, Kubo O, Sasaki T, Onda H, Sakamoto Y, Krischek B, Hori T, Inoue I. Increased expression of ephrin A1 in brain arteriovenous malformation. *Neurosurg Rev* 30, 299-305, 2007.
  51. Ikeda R, Tsukahara S, Yoshida K, Inoue I. Gene expression changes during the chondrogenic

- differentiation of human mesenchymal stem cells *J Biol Sci* 7 729-736 2007.
52. Akagawa H, Narita A, Yamada H, Tajima A, Krischek B, Kasuya H, Hori T, Kubota M, Saeki N, Hata A, Mizutani M, Inoue I. Systematic screening of lysyl oxidase-like (LOXL) family genes demonstrates that *LOXL2* is a susceptibility gene to intracranial aneurysms. *Hum Genet* 121, 377-387, 2007.
  53. Ikeda R, Yoshida K, Inoue I. Identification of FAZF as a novel BMP2-induced transcription factor during osteoblastic differentiation. *J Cell Biochem* 101,147-154 2007.
  54. Onouchi Y, Tamari M, Takahashi A, Tsunoda T, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Wakui K, Fukushima Y, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. A genomewide linkage analysis of Kawasaki disease: evidence for linkage to chromosome 12. *J Hum Genet* 52, 179-190, 2007.
  55. Yatsu K, Mizuki N, Hirawa N, Oka A, Itoh N, Yamane T, Ogawa M, Shiwa T, Tabara Y, Ohno S, Soma M, Hata A, Nakao K, Ueshima H, Ogihara T, Tomoike H, Miki T, Kimura A, Mano S, Kulski JK, Umemura S, Inoko H. High-resolution mapping for essential hypertension using microsatellite markers. *Hypertension* 49, 446-52, 2007.
  56. Campos E, Shimojo N, Inoue Y, Arima T, Suzuki S, Tomiita M, Matsuura T, Hata A, Suzuki Y, Aoyagi M, Kohno Y. No Association of Polymorphisms in the 5' Region of the CD14 Gene and Food Allergy in a Japanese Population. *Allergol Int* 56, 23-27, 2007.
  57. Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Nakao Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M. Identification of functional polymorphisms in the promoter region of the human PICK1 gene and their association with methamphetamine psychosis. *Am J Psychiatry* 164, 1105-1114, 2007.
  58. Yamazaki K, Onouchi Y, Takazoe M, Kubo M, Nakamura Y, Hata A. Association analysis of genetic variants in IL23R, ATG16L1 and 5p13.1 loci with Crohn's disease in Japanese patients. *J Hum Genet* 52, 575-583, 2007.
  59. Inoue Y., Shimojo N., Suzuki Y., Campos Alberto E.J., Yamaide A., Suzuki S., Arima T., Matsuura T., Tomiita M., Aoyagi M., Hoshioka A., Honda A., Hata A. Kohno, Y. CD14 -550 C/T, Which Is Related to the Serum Level of Soluble CD14, Is Associated with the Development of Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in the Japanese Population. *J Infect Dis* 195, 1618-24, 2007.
  60. Kamada F, Mashimo Y, Inoue H, Shao C, Hirota T, Doi S, Kameda M, Fujiwara H, Fujita K, Enomoto T, Sasaki S, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y, Hata A, Tamari M, Suzuki Y. The GSTP1 gene is a susceptibility gene for childhood asthma and the GSTM1 gene is a modifier of the GSTP1 gene. *Int Arch Allergy Immunol.* 144, 275-86, 2007
  61. Nishida N, Koike A, Tajima A, Ogasawara Y, Ishibashi Y, Uehara Y, Inoue I, Tokunaga K. Evaluating the performance of Affymetrix SNP Array 6.0 platform with 400 Japanese individuals. *BMC Genomics* 9, 431, 2008
  62. Murakami M, Tajima A, Saigo K, Toyoda H, Kanoue T, Inoue I, Shimotohno K. Global transcriptome analysis for miRNA target prediction: A novel approach to identify cancer related genes in hepatocellular carcinomas. *J Hepatol* in press.
  63. Kimura T, Kobayashi T, Munkhbat B, Oyungerel G, Bilegtsaikhan T, Anar D, Jambaldorj J, Munkhsaikhan S, Munkhtuvshin N, Hayashi H, Oka A, Inoue I, Inoko H. Genome-wide association analysis with selective genotyping identifies candidate loci for adult height at 8q21.13 and 15q22.33-q23 in Mongolians. *Hum Genet* 123, 655-660, 2008.
  64. Krischek B, Kasuya H, Tajima A, Akagawa H, Sasaki T, Yoneyama T, Ujiie H, Kubo O, Bonin M, Takakura K, Hori T, Inoue I. Network-based gene expression analysis of intracranial aneurysm tissue reveals role of antigen presenting cells. *Neuroscience* 154, 1398-1407, 2008.
  65. Uno Y, Suzuki Y, Wakaguri H, Sakamoto Y, Sano H, Osada N, Hashimoto K, Sugano S, Inoue I. Analysis of expressed sequence tags from liver in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): A systematic identification of drug-metabolizing enzyme genes. *FEBS Lett* 582, 351-358, 2008.
  66. Sasahara A, Kasuya H, Krischek B, Tajima A, Onda H, Sasaki T, Akagawa H, Hori T, Inoue I. Gene expression in a canine basilar artery vasospasm model: a genome-wide network-based analysis. *Neurosurg Rev* in press.
  67. Bae JS, Cheong HS, Kim JO, Lee SO, Kim EM, Lee HW, Kim S, Kim JW, Cui T, Inoue I, Shin

- HD. Identification of SNP markers for common CNV regions and association analysis of risk of subarachnoid aneurismal hemorrhage in Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun* 373, 593-596, 2008.
68. Osada N, Hashimoto K, Kameoka Y, Hirata M, Tamura R, Uno Y, Inoue I, Hida M, Suzuki Y, Sugano S, Terao K, Kusuda J, Takahashi I. Large-scale analysis of *Macaca fascicularis* transcripts and inference of genetic divergence between *M. fascicularis* and *M. mulatta*. *BMC Genomics* 9, 90, 2008.
  69. Saigo K, Yoshida K, Ikeda R, Sakamoto Y, Murakami Y, Urashima T, Asano T, Kenmochi T, Inoue I. Integration of hepatitis B virus DNA into the MPP (mixed lineage leukemia) 4 gene and rearrangements of *MLL4* in human hepatocellular carcinoma cells. *Hum Mutat* 29 703-708 2008.
  70. Okada H, Tajima A, Shichiri K, Tanaka A, Tanaka K, Inoue I. Genome-wide expression analyses of testes of non-obstructive azoospermia patients demonstrate a specific gene expression profile and implicate *ART3* in genetic susceptibility. *PLoS Genet* 4e26, 2008.
  71. 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. *Hypertens Res* 31, 203-212, 2008.
  72. Inoue H, Kayano S, Aoki Y, Kure S, Yamada A, Hata A, Matsubara Y, Suzuki Y. Association of the *GABRB3* gene with nonsyndromic oral clefts. *Cleft lip Cranofacial J* 45, 261-266, 2008
  73. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Wakui K, Fukushima Y, Kishi F, Hamamoto K, Terai M, Sato Y, Ouchi K, Saji T, Akiyoshi Nariai A, Yoichi Kaburagi Y, Yoshikawa T, Suzuki K, Tanaka T, Nagai T, Cho H, Fujino A, Sekine A, Nakamichi R, Tsunoda T, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. A functional polymorphism in *ITPKC* is associated with Kawasaki disease susceptibility and formation of coronary artery aneurysms. *Nature Gene.* 40, 35-42, 2008.
  74. Ohmi H, Hirooka K, Mochizuki Y, Hata A. The male/female ratio of spontaneous fetal deaths and low birthweight in Japan. *Pediatrics International* 50, 262-263, 2008.
  75. Mashimo Y, Suzuki Y, Hatori K, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Katsuya T, Ogihara T, Yamada M, Takahashi N, Makita Y, Nakayama T, Soma M, Hirawa N, Umemura S, Ohkubo T, Imai Y, Hata A. Association of *TNFRSF4* gene polymorphisms with essential hypertension. *J Hypertens* 26, 902-913, 2008.
  76. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Shimojo N, Hasegawa K, Hirota T, Doi S, Kameda M, Miyatake A, Kohno Y, Okamoto Y, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Association of the *C3* gene with adult and childhood asthma. *J Hum Genet* 53,728-738,2008.
  77. Cervigni F, Suzuki Y, Ishii T, Hata,A. Spatial accessibility to pediatric services. *J Community Health* 33,444-448,2008.
  78. Hayashi S, Mizuno S, Migita O, Okuyama T, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. The *CASK* gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation. *Am J Med Gene.* 146A, 2145-2151, 2008.
  79. Kobashi G, Ohta K, Washio M, Okamoto K, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Hata A, Tamashiro H, Inaba Y, Tanaka H. FokI variant of vitamin D receptor gene and factors related to atherosclerosis associated with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine: a multi-hospital case-control study. *Spine* 33, E553-558, 2008.
  80. Bilguvar K, Yasuno K, Niemela M, Ruigrok YM, Fraunberg M, Duijn CM, Berg LH, Mane S, Mason C, Choi M, Gaaal E, Bayri Y, Kolb L, Arlier Z, Ravuri S, Ronkainen A, Tajima A, Laakso A, Hata A, Kasuya H, Koivisto T, Rinne J, Ohman J, Breteler MMB, Wijmenga C, State MW, Rinkel GJE, Hernesniemi J, Jaaskelainen JE, Palotie A, Inoue I, Lifton RP, Gunel M. Genome-wide association identified susceptibility loci for intracranial aneurysm in Europe and Japanese populations. *Nat Genet* in press.

(2)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議 16 件、国際会議 7 件)

1. Inoue I. Gene-mapping strategy of human common metabolic disease of civilization in the post-genome era. International Society of Animal Genetics, Special lecture, September 2004, Tokyo
2. Inoue I. SNPs: tool for mapping of disease gene and understanding of population structure. The 8<sup>th</sup> GIST International Symposium on Life Science, November 2004, Gwangju
3. Inoue I. SNP as a signature of population and disease history. International Symposium of Genome Variations and Disease Association, December 2004, Seoul
4. Inoue I., Tajima A, and Tanaka K. Disentangling of gene expression profile of human azoospermia. The 58<sup>th</sup> Annual Meeting of Japan Society of Obstetrics and Gynecology, April 2006, Yokohama
5. Inoue I. Genetics of intracranial aneurysm. Workshop of American Heart Association, October 2006, Chicago
6. Inoue I. Genome-wide genetic study of intracranial aneurysm. 7<sup>th</sup> International Symposium on Host Genetic Epidemiology, December 2006, Seoul
7. Inoue I. Genetics of IA in Japanese population. 2<sup>nd</sup> meeting FIA meeting, September 2007, Honolulu
8. 井ノ上 逸朗 (2004) sub-common disease のゲノム解析. 分子予防環境医学研究会第 4 回大会シンポジウム (東京)
9. 井ノ上 逸朗 (2005) 後縦靭帯骨化症患者由来靭帯細胞より見出された骨代謝関連遺伝子の機能. 日本薬理学会第 78 回大会シンポジウム (横浜)
10. 羽田 明 (2005) ゲノム研究とオーダーメイド健康管理の展望 シンポジウム: 分子疫学から疾病予防へ. 日本衛生学会第 75 回大会 (新潟)
11. 井ノ上 逸朗 (2006) 多因子疾患のゲノム解析から病因・病態解明へ. 日本骨代謝学会第 24 回大会シンポジウム (東京)
12. 井ノ上 逸朗 (2006) 生活習慣病の遺伝背景の解明と臨床への応用. 日本分子脳神経外科学会第 7 回大会特別講演 (東京)
13. 井ノ上 逸朗 (2006) 脳動脈瘤のゲノム解析から病態解明. 日本人類遺伝学会第 51 回大会シンポジウム (米子)
14. 羽田 明 (2006) 生活習慣病と遺伝子多型 シンポジウム: グローバルな視点から見た日本人の健康特性—遺伝子多型と生活習慣を踏まえた研究戦略—. 日本衛生学会第 76 回大会 (宇部)
15. 井ノ上 逸朗 (2007) 脳動脈瘤のゲノム解析. ゲノム 4 領域成果公開シンポジウム (東京)
16. 成田 暁 (2007) ヒト多因子疾患における遺伝子間相互作用解析手法の現状. 研究セミナー「ポストゲノム時代の統計遺伝学的アプローチ—今、何がどこまでできるのか?—」(つくば)
17. 井ノ上 逸朗 (2007) 脳動脈瘤のゲノム解析からテーラーメイド医療へ. 第 27 回日本医学会総会シンポジウム (大阪)
18. 羽田 明 (2007) 疾患領域横断的遺伝学 シンポジウム: 川崎病の遺伝的背景と個別化医療の可能性. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 (東京)
19. 井ノ上 逸朗 (2008) 男性不妊症遺伝子の新たな展開. 第 26 回日本受精着床学会総会 ART フォーラム (福岡)
20. 井ノ上 逸朗 (2008) ヒト疾患へのダーウィン医学的アプローチ. 日本進化学会第 10 回大会シンポジウム (東京)
21. 井ノ上 逸朗 (2008) 男性不妊症解明に向けたゲノム医学からのアプローチ. 日本人類遺伝学会シンポジウム第 53 回大会 (横浜)
22. 羽田 明 (2008) 教育講演: 多因子遺伝. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)

23. 田嶋 敦 (2008) ヒト形質の理解に向けた遺伝子発現量の多様性解析からの試み：無精子症をモデルとして. 日本人類学会第 62 回大会 (名古屋)

② 口頭発表 (国内会議 25 件、国際会議 5 件)

1. Tajima A, Sakamoto Y, Mitsumori R, Inoue I. Systematic sequencing analysis discloses the pattern of nucleotide polymorphisms in human microRNA genes. ASHG 55th Annual Meeting, Salt Lake City, USA. October 25-29, 2005
2. Tajima A, Sakamoto Y, Okada H, Tanaka A, Shichiri K, Tanaka K, Inoue I. Genetic dissection of male infertility-related molecular pathways by transcriptional profiling of testicular biopsies from patients with non-obstructive azoospermia. ASHG 56th Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
3. Krischek B, Kasuya H, Tajima A, Akagawa H, Onda H, Sasaki T, Sakamoto Y, Ujiie H, Hori T, Inoue I. A network-based gene expression analysis of intracranial aneurysm tissue reveals immune response to be a key mediator. 2007 AANS Annual meeting, Washington, DC, USA. April 14-19, 2007
4. Krischek B, Kasuya H, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Hori T, Inoue I. The influence of jun dimerization protein 2 gene on the formation of intracranial aneurysms: a comparison between Japanese, Korean and German cohorts. 2007 AANS Annual meeting, Washington, DC, USA. April 14-19, 2007
5. Akira Hata, Yoshihiro Onouchi. A possible personalized medicine with a functional polymorphism in ITPKC to prevent coronary artery complications in Kawasaki disease. The 2008 EAUHGS Symposium (Sapporo, Japan) July 18-20, 2008
6. 真下陽一, 牛島恭子, 石井拓磨, 今村卓司, 芳賀信彦, 西村 玄, 池川志郎, 羽田 明 (2004) 日本人 Spondylocostal dysplasia 症例の DLL3 遺伝子解析. 日本人類遺伝学会第 49 回大会 (東京)
7. 近江俊徳, 熊田真樹, 後藤孝也, 亀崎豊実, 奥田 浩, 羽田 明ほか (2005) CIAS1 遺伝子と本態性高血圧症の関連解析. 日本人類遺伝学会第 50 回大会 (倉敷)
8. 井上寛規, 鈴木洋一, 茅野修史, 山田 敦, 松原洋一, 羽田 明 (2005) 非症候性唇裂口蓋裂と GABRB3 遺伝子の相関研究. 日本人類遺伝学会第 50 回大会 (倉敷)
9. 蒔田芳男, 岡本伸彦, 黒澤健司, 奥山虎之, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治, 羽田 明 (2005) 遺伝医療における CGH アレイ解析とその有用性: 染色体診断法としての実用化と新たな疾患特異的ゲノム構造異常の同定に向けて. 日本人類遺伝学会第 50 回大会 (倉敷)
10. 浜砂祥子, 深田直美, 武城英明, 羽田 明 (2005) 携帯カメラを使った双方向性栄養指導の試み. 日本栄養改善学会第 52 回大会 (徳島)
11. クリシェクボリス, 糟谷英俊, 田嶋 敦, 恩田英明, 赤川浩之, 堀 智勝, 井ノ上逸朗 (2006) 網羅的遺伝子発現解析から明らかになった脳動脈瘤関連パスウェイ 日本分子脳外科学会第 7 回大会 (東京)
12. 浜砂祥子, 武城英明, 深田直美, 羽田 明 (2006) 携帯カメラを使った双方向性栄養指導の試み. 千葉県公衆衛生学会
13. ファビアナセルビニ, 石井拓磨, 鈴木洋一, 羽田 明 (2006) GIS を使った千葉市における小児医療供給システムの評価. 千葉県公衆衛生学会
14. ファビアナセルビニ, 石井拓磨, 鈴木洋一, 羽田 明 (2006) Forecasting accessibility to pediatric healthcare services in chiba city using GIS. 第 76 回日本衛生学会総会 (宇部)
15. 井上寛規, 鈴木洋一, 真下陽一, 羽鳥加寿子, 羽田 明, 長谷川耕一, 広田朝光, 清水麻貴子, 土居 悟, 藤原 寛, 宮武昭彦, 藤田きみゑ, 玉利真由美 (2006) C3 遺伝子と気管支喘息の相関. 日本人類遺伝学会第 51 回大会 (米子)
16. 鈴木洋一, 真下陽一, 井上寛規, 羽鳥加寿子, 羽田 明, 広田朝光, 鎌田文頭, 松原洋一, 土居 悟, 藤原 寛, 宮武昭彦, 藤田きみゑ, 玉利真由美 (2006) 日本人の小児喘息, 成人喘息の感受性遺伝子. 日本人類遺伝学会第 51 回大会 (米子)

17. 真下陽一, 鈴木洋一, 羽鳥加寿子, 田原康玄, 三木哲郎, 徳永勝士, 羽田 明 (2006) 女性の本態性高血圧発症と TNFRSF4 遺伝子. 日本人類遺伝学会第 51 回大会 (米子)
18. 太田薫里, 小橋 元, 羽田 明, 山田秀人, 水上 尚典, 藤本征一郎, 近藤喜代太郎 (2006) 妊娠高血圧症候群における遺伝子多型の交絡. 日本人類遺伝学会第 51 回大会 (米子)
19. 久保秀一, 羽田 明, 井上孝夫, 山崎彰美 (2007) 子どもを持っている親の喫煙行動の解析 (喫煙の増加因子の解析). 千葉県公衆衛生学会 (千葉)
20. 服部 聡, 羽田 明, 川田礼治, 田村邦弘. 鈴木基郎, 青木 謹, 宮本 力 (2007) 心電図同期眼底カメラの網膜血管画像による経時的動脈硬化度診断システムについて. 千葉県公衆衛生学会 (千葉)
21. 服部 聡, 川田礼治, 田村邦弘. 鈴木基郎, 青木 謹, 宮本 力, 星野文則, 羽田 明 (2007) 心電図同期眼底カメラの網膜血管画像による経時的動脈硬化度診断システムについて. 第 77 回日本衛生学会総会 (大阪)
22. ファビアナセルビニ, 石井拓磨, 鈴木洋一, 羽田 明 (2007) Accessibility to pediatric health care services in Chiba Prefecture. 第 77 回日本衛生学会総会 (大阪)
23. 船水真紀子, 久保田基夫, 井ノ上逸朗, 石井拓磨, 羽田 明 (2007) インフォームド・コンセント履行補助者の有用性に関する検討. 日本遺伝子診療学会第 14 回大会 (松山)
24. 井上寛規, 真下陽一, 船水真紀子, 下条直樹, 河野陽一, 岡本美孝, 羽田 明, 鈴木洋一 (2007) MMP9 遺伝子と小児アトピー患児における花粉症発症との相関解析. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 (東京)
25. 鈴木洋一, 真下陽一, 井上寛規, 船水真紀子, 下条直樹, 河野陽一, 岡本美孝, 羽田 明 (2007) 血清 IgE 値に影響を与える環境要因と遺伝要因とその相互作用の検討. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 (東京)
26. 高橋朋子, 田嶋 敦, 井ノ上逸朗 (2008) 男性不妊症感受性遺伝子 *ART3* の人類遺伝学的解析. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)
27. 尾内善広, 郡司知彦, 石川 烈, 羽田 明 (2008) 日本人侵襲性歯周炎患者における *FPR1* 遺伝子多型の解析. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)
28. 山本 緑, 船水真紀子, 羽田 明 (2008) 海外ゲノム疫学研究におけるインフォームド・コンセントの実態調査. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)
29. 服部 聡, 真下陽一, 船水真紀子, 下条直樹, 岡本義孝, 河野陽一, 羽田 明, 鈴木洋一 (2008) 保育所通園歴の有無による血清 IgE 値の変化は *CD14* 遺伝子-550C/T の遺伝型に影響される. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)
30. 蒔田芳男, 斎藤伸治, 羽田 明, 石井拓磨, 吉橋博史, 黒澤健司, 小崎里華, 小野正恵, 沼部博直, 水野誠司, 古庄知己, 福嶋義光, 岡本伸彦, 三渕 浩, 知念安紹, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治 (2008) ゲノムアレイを用いた先天異常症の効率的診断法の確立と疾患特異的構造異常の検索. 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)

③ ポスター発表 (国内会議 3 件、国際会議 29 件)

1. Narita A, Tajima A, Inoue I. Identity-by-descent (IBD)-based variance component method to detect multiple genetic loci responsible for the complex diseases under a threshold model. ASHG 54<sup>th</sup> Annual Meeting, Toronto, Canada. October 26-30, 2004
2. Takamiya M, Sakamoto Y, Tajima A, Inoue I, Tanaka K, Okada H, Shichiri K, Tanaka A. Microarray-based gene-expression profiling of testicular biopsy specimens from patients with non-obstructive azoospermia. HGM2005, Kyoto, Japan. April 18-21, 2005
3. Narita A, Tajima A, Inoue I. Mixed inheritance model-based method to implement linkage analysis for multiple genetic loci responsible for the complex diseases under threshold model. ASHG 55<sup>th</sup> Annual Meeting, Salt Lake City, USA. October 25-29, 2005
4. Kirschek B, Yamada H, Akagawa H, Kasuya H, Onda H, Kubota M, Hata A, Hori T, Tajima A, Inoue I. LOXL2 polymorphisms are associated with susceptibility to intracranial aneurysms.

- ASHG 55<sup>th</sup> Annual Meeting, Salt Lake City, USA. October 25-29, 2005
5. Akagawa H, Onda H, Kasuya H, Kubota M, Hata A, Hori T, Tajima A, Inoue I. Systematic screening of susceptibility for intracranial aneurysms on chromosome 7q11 using sliding window analysis and permutation test. ASHG 55<sup>th</sup> Annual Meeting, Salt Lake City, USA. October 25-29, 2005
  6. Sekigawa T, Sakamoto Y, Tajima A, Matsune S, Inoue I. Gene-expression profiles in human nasal polyp tissues from aspirin intolerant asthma patients. ASHG 55<sup>th</sup> Annual Meeting, Salt Lake City, USA. October 25-29, 2005
  7. Krischek B, Narita A, Kasuya H, Akagawa H, Tajima A, Onda H, Yoneyama T, Hori T, Inoue I. Linkage analysis of familial intracranial aneurysms failed to reveal region on chromosome 17cen in affected Japanese sibpairs. 2006 AANS Annual meeting. San Francisco, USA. April 22-27, 2006
  8. Krischek B, Kasuya H, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Onda H, Hori T, Inoue I. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms do not identify intracranial aneurysms that are more prone to rupture in Japanese patients. 2006 AANS Annual meeting. San Francisco, USA. April 22-27, 2006
  9. Narita A, Tajima A, Inoue I. A new Bayesian method to detect complex multifactorial interactions in complex diseases using the variance-component-threshold model. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  10. Mashimo Y, Suzuki Y, Hatori K, Tabara Y, Miki T, Tokunaga K, Hata A. Possible role of the *TNFRSF4* gene in the pathogenesis of women's essential hypertension. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  11. Suzuki Y, Mashimo Y, Inoue H, Hatori K, Hata A, Hirota A, Kamada F, Matsubara Y, Tamari M. Susceptibility genes for childhood and adult asthma. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  12. Kobashi G, Ohta K, Hata A, Washio M, Okamoto K, Japan OPLL Epidemiological Study Group. Genetic and acquired factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spines in Japan; a case-control study. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  13. Ohta K, Kobashi G, Yamada H, Hata H, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K, Hokkaido PIH Epidemiological Study Group. A confoundings of candidate single nucleotide polymorphisms for pregnancy-induced hypertension in Japan. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  14. K. Yamazaki, D. McGovern, J. Ragoussis, M. Paolucci, H. Butler, D. Jewell, L. Cardon, M. Takazoe, S. Saito, A. Iida, A. Takahashi, T. Tsunoda, M. Lathrop, Y. Nakamura, A. Hata. Single nucleotide polymorphisms in *TNFSF15* confer susceptibility to Crohn's disease. ASHG 56<sup>th</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA. October 9-13, 2006
  15. Yoshihara K, Sekine M, Tajima A, Inoue I, Tanaka K. Two subclasses of advanced serous ovarian adenocarcinoma with different gene expression profilings by hierarchical clustering and non-negative matrix factorization. AACR Annual Meeting 2007, Los Angeles, USA. April 14-18, 2007
  16. Uchino S, Kojima T, Noguchi S (Noguchi Thyroid Clinic and Hospital Foundation, RIKEN Genomic Science Center, Computational and Experimental Systems Biology Group). Genome-wide linkage analysis for familial nonmedullary thyroid carcinoma. 2007 Conference of the International Association of Endocrine Surgery, Montreal, Canada. August 26-30, 2007
  17. Uchino S, Kojima T, Noguchi S, Murakami A (Noguchi Thyroid Clinic and Hospital Foundation, RIKEN Genomic Science Center, Computational and Experimental Systems Biology Group). Genome-wide linkage analysis for familial nonmedullary thyroid carcinoma. The Japanese Cancer Association 66<sup>th</sup> Annual Meeting, Yokohama, Japan. October 3-5, 2007
  18. Tajima A, Okada H, Sekine M, Shichiri K, Tanaka A, Tanaka K, Inoue I. Candidate-gene association study of non-obstructive azoospermia (NOA): *ART3* as a genetic susceptibility to NOA. ASHG 57<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA. October 23-27, 2007
  19. Yasuno K, Tajima A, Cui T, Narita A, Inoue I. A search for genetic variants attributing to the risk

- of formation of intracranial aneurysms. ASHG 57<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA. October 23-27, 2007
20. Suzuki Y, Mashimo Y, Inoue H, Funamizu M, Shimojo N, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A. Gene-environmental interaction that affects serum IgE levels of urban school children. ASHG 57<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA. October 23-27, 2007
  21. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. Linkage disequilibrium mapping of a susceptibility gene for Kawasaki disease. ASHG 57<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA. October 23-27, 2007
  22. Gunji T, Onouchi Y, Nagasawa T, Watanabe H, Kobayashi H, Arakawa S, Noguchi K, Hata A, Izumi Y, Ishikawa I. Functional polymorphisms of FPR1 gene and aggressive periodontitis In Japanese. ASHG 57<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, USA. October 23-27, 2007
  23. Inoue I, Okada H, Tajima A, Shichiri K, Tanaka A, Tanaka K. Integrative genomic analyses identify *ART3* as a susceptibility gene for human non-obstructive azoospermia. The 7th International Workshop on Advanced Genomics, Tokyo, Japan. November 27-28, 2007
  24. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. Identification of a susceptibility gene for Kawasaki disease. The 2007 EAUHGS Symposium & the 7th EAUHGS Annual Meeting, Changsha, China. December 8-9, 2007
  25. Yoshihara K, Tajima A, Inoue I, Kodama S, Fujiwara H, Suzuki M, Tanaka K. Gene expression profile of ovarian serous adenocarcinomas: Identification of two subclasses of advanced stage associated with different prognoses. AACR Annual Meeting 2008, San Diego, USA. April 12-16, 2008
  26. Yasuno K, Tajima A, Takahashi T, Hata A, Inoue I. A two-stage whole genome association study of intracranial aneurysm in a Japanese cohort. ASHG 58<sup>th</sup> Annual Meeting, Philadelphia, USA. November 11-15, 2008
  27. Narita A., Yasuno K, Nakaoka H, Tajima A, Inoue I. Elucidation of etiologies in complex diseases under multivariate variance component-threshold model. ASHG 58<sup>th</sup> Annual Meeting, Philadelphia, USA. November 11-15, 2008
  28. Tajima A, Yoshihara K, Inoue I, Tanaka K. Allelic alterations in epithelial ovarian carcinomas uncovered by Affymetrix SNP Array 5.0. ASHG 58<sup>th</sup> Annual Meeting, Philadelphia, USA. November 11-15, 2008
  29. Hattori S, Mashimo Y, Funamizu M, Shimojo N, Okamoto Y, Kohno Y, Hata A, Suzuki Y. CD14 -550C/T polymorphism modifies the effect of earlier life daycare attendance on total and specific IgE levels in school children. ASHG 58<sup>th</sup> Annual Meeting, Philadelphia, USA. November 11-15, 2008.
  30. 山口徹太郎, 友安洋子, 田嶋 敦, 中島敏晶, 井ノ上逸朗, 榎 宏太郎 (2007) 成長ホルモン受容体遺伝子と下顎骨形態との関連 日本人類遺伝学会第 52 回大会 (東京)
  31. 友安洋子, 山口徹太郎, 田嶋 敦, 中島敏晶, 井ノ上逸朗, 榎 宏太郎 (2007) 成長ホルモン受容体遺伝子と下顎骨高さとの関連を確証する 日本矯正歯科学会第 66 回大会 (大阪)
  32. 田嶋 敦, 吉原弘祐, 井ノ上逸朗, 田中憲一 (2008) 上皮性卵巣癌における Affymetrix SNP Array 5.0 を用いた網羅的ゲノム不安定性解析 日本人類遺伝学会第 53 回大会 (横浜)

### (3)特許出願

#### ①国内出願 (2 件)

1. 発明の名称 : B 型肝炎ウイルスによる発癌の検出法  
 発明者 : 井ノ上 逸朗、西郷健一  
 出願人 : 大塚製薬 (株)  
 出願日 : 2004 年 3 月 5 日  
 出願番号 : 2004-42907
2. 発明の名称 : 健康状態の予測推定情報の表示

発明者：藤宮仁、三浦順一郎、伊藤千晶、上野光一、羽田明  
出願人：株式会社ダイナコム  
出願日：2008年1月31日  
出願番号：2008-048704

②海外出願（1件）

1. 発明の名称：B型肝炎ウイルスによる発癌の検出法  
発明者：井ノ上 逸朗、西郷健一  
出願人：大塚製薬（株）  
出願日：2005年3月5日  
出願番号：PCT/JP2005/003383

(4)受賞等

- ①受賞  
なし。

②新聞報道

日本経済新聞 2006年10月9日 脳卒中予防へ成果—くも膜下出血、関連遺伝子を同一—

NHKニュース 2008年11月10日 くも膜下出血に関連遺伝子、毎日新聞 くも膜下出血：発症高める脳動脈瘤の遺伝領域特定—東海大など、日本経済新聞 東海大、脳動脈瘤の原因遺伝子3種解明 リスク最大7倍に

③その他

なし。

(5)その他特記事項

和文

1. 井ノ上 逸朗 遺伝学的アプローチ Molecular Medicine 臨時増刊号 中山書店 210-216, 2004
2. 井ノ上 逸朗 脳動脈瘤の分子遺伝学 神経研究の進歩 医学書院 48, 726-732, 2004
3. 井ノ上 逸朗 連鎖解析による疾患遺伝子座マッピング ゲノム研究実験ハンドブック 羊土社 302-306, 2004
4. 井ノ上 逸朗 遺伝学的アプローチ Molecular Medicine 臨時増刊号 中山書店 210-216, 2004
5. 羽田 明 候補遺伝子アプローチ（千葉大学方式）血圧 12, 37-40, 2005
6. 羽田 明 多因子疾患 遺伝子診療学—遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望— 日本臨床 63, 70-74, 2005
7. 羽田 明 高血圧感受性遺伝子研究の現状 医学のあゆみ 214, 455-459, 2005
8. 羽田 明 多因子疾患 —遺伝子診療学— 日本臨床 63, 70-74, 2005
9. 田嶋 敦、井ノ上 逸朗 SNP を用いた体系的アソシエーション・スタディによる疾患遺伝子研究への期待と現実 実験医学 23, 511-513, 2005
10. 井ノ上 逸朗 脳動脈瘤の分子遺伝学 神経研究の進歩 48, 726-732, 2005
11. 田嶋 敦、井ノ上 逸朗 SNP を用いた体系的アソシエーション・スタディによる疾患遺伝子研究への期待と現実 実験医学 羊土社 vol. 23, 511-513, 2005
12. 羽田 明 遺伝子異常の検査体制 —ここまでわかった遺伝子異常— JOHNS 22, 1685-1687, 2006
13. 成田 暁、田嶋 敦、井ノ上逸朗 バイオ解析・診断技術のテーラーメイド医療への応用（山本重夫 監修）. シーエムシー出版 3-9, 2006

14. 田嶋敦 ゲノム医科学研究における「フィールドワーク」 GSJ コミュニケーションズ June 2006 (Supplement to Genes Genet Syst 81, 19, 2006)
15. 井ノ上 逸朗 靱帯骨化症のゲノム学 ゲノム医学 6, 59-65, 2006
16. 成田 暁, 井ノ上逸朗. 実験医学増刊号 ゲノム情報と生命現象の統合的理解 (榊 佳之, 伊藤隆 司, 辻 省次, 小原雄治 編). 羊土社 204-208, 2007
17. 成田暁, 田嶋敦, 井ノ上逸朗 疾患診断に利用される SNP の現状と今後の展望 「バイオ解析・診断技術のテーラーメイド医療への応用」 シーエムシー出版 3-9, 2006
18. 井ノ上 逸朗 体系的 1 塩基多型に基づく多因子疾患遺伝要因の解明 細胞工学 24, 1292-1296, 2006
19. 井ノ上 逸朗 後縦靱帯骨化症は遺伝するか? 難病と在宅ケア 12, 7-10, 2006
20. 羽田 明 臨床ゲノム研究の支援体制構築 臨床遺伝子学' 07. 最新医学 62, 2250-2257, 2007
21. 羽田 明 (2007) 医学研究と社会 分子細胞治療 6, 92, 2007
22. 秋山康一 井ノ上 逸朗 ゲノム全域 SNP タイピングでわかるゲノム構造変異 骨・関節・靱帯 20 (9), 845-854, 2007
23. 井ノ上 逸朗 多因子病の遺伝的要因をどのように考えるべきか 最新医学 9, 140-149, 2007
24. 安野勝史 実践しよう連鎖解析 分子精神医学 7(2): 131-134, 2007
25. 井ノ上 逸朗 Y 染色体にまつわる話題 分子細胞治療 6, 2007
26. 田嶋敦 井ノ上 逸朗 網羅的 SNP 解析による疾患感受性遺伝子の同定 分子消化器病 4, 24-28, 2007
27. 池田龍二, 吉田健一, 井ノ上逸朗 骨芽細胞分化における PLZF の機能的関与 生体と科学 58, 152-157, 2007
28. 野村文夫, 羽田 明 編著 チーム医療のための遺伝カウンセリング入門. 中外医学社, 2007
29. 稲澤譲治, 蒔田芳男, 羽田 明 編 アレイ CGH 診断活用ガイドブック. 医薬ジャーナル社, 2007
30. 尾内善広, 羽田 明 特集 川崎病 川崎病と遺伝子 日本臨床 66, 272-277, 2008
31. 羽田 明, 尾内善広 ゲノム薬理学と個別化医療 川崎病の遺伝的背景と個別化医療の可能性. 医学のあゆみ 225, 919-924, 2008
32. 羽田 明 特集 小児科医のための遺伝学 総論 多因子遺伝病 40, 1255-1258, 2008
33. 山崎慶子, 羽田 明 特集 I オートファジーの新たな側面 Crohn 病とオートファジー. 炎症と免疫 16, 395-398, 2008
34. 羽田 明 特集 小児科医のための遺伝学. 多因子遺伝病. 小児内科 40, 1255-1258, 2008
35. 笹子久美子, 羽田 明 大人のための食育ツール-双方向性健康管理支援システムを用いた食事指導-. 小児科臨床 61, 1387-1393, 2008
36. 羽田 明 多因子遺伝病. 小児科医のための遺伝学, 40, 1255-1258, 2008
37. 中林一彦, 田嶋敦, 白澤専二 ゲノム解析 日本臨床 出版中
38. 井ノ上 逸朗 初めて統計遺伝学に接する研究者のための解説 監修(井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
39. 田嶋 敦 SNP を用いた疾患感受性遺伝子同定 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
40. 田嶋 敦 SNP による集団遺伝学的研究 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
41. 成田 暁 SNP による連鎖解析 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
42. 成田 暁 多重検定についての考え方および解決策 監修 (井ノ上 逸朗) WEB 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中

43. 成田 暁 遺伝子間相互作用の検出法 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
44. 秋山康一 遺伝子コピー数変異 (CNV) と疾患 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
45. 田嶋 敦 これだけは知っておきたい SNP 解析のための統計学 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
46. 小島俊男 高密度 SNP タイピングアレイを用いたゲノム全域解析による疾患遺伝子解析 監修 (井ノ上 逸朗) 電子出版 (2008 年 11 月) バイオウェブ (株式会社ダイナコム) 出版中
47. 秋山康一, 井ノ上逸朗 SNP による疾患遺伝子探査: その方法と成果 ゲノム科学からゲノム医療の実践へ (井村裕夫 監修) 六然社 出版中

英文

1. Inoue I. Genetic susceptibility to OPLL. In: Yonenobu K, Nakamura K, Toyama Y (eds) Ossification of the posterior longitudinal ligament. Springer, Tokyo 2006.

## §7 研究期間中の主な活動

ワークショップ・シンポジウム等  
なし

## §8 結び

戦略的創造研究推進事業 (CREST) からの多大な研究支援を受けた 5 年間はゲノム医科学にとっても飛躍の時であり、われわれも局面に応じて研究計画、手法を変化させつつ研究推進を図ってきた。国際 HapMap 計画の完了により、ゲノム全域を高密度に網羅する SNP 情報が整備された。それに伴い、Affymetrix 社や Illumina 社からゲノム全域 SNP をタイピングするプラットフォームが提供され、疾患遺伝子研究は一気に成功へと導かれることとなった。脳動脈瘤ゲノム全域アソシエーション・スタディにおいては、われわれの先行研究と徹底した統計遺伝解析をもとに、Yale 大学における脳動脈瘤大規模遺伝子タイピングデータを JST 研究員の安野が中心となり東海大チームが解析した。これが国際的な成果につながったものといえる。

研究代表者の井ノ上が研究期間のちょうど半ばで東京大学から東海大学へと異動し、それに伴い研究チームのほとんどが東海大へ引っ越しした。研究環境が変わっただけでなく、研究補助員の入れ替わりなど、決してすべてがスムーズに運んだわけではないものの、CREST の支援でどうにか持ちこたえてきたといえるだろう。改めて CREST からの 5 年間の研究支援には感謝する次第である。また、井ノ上チーム、羽田チーム、小島チームにおいてこの 5 年間、研究成果を積み上げることに従事した研究者、研究補助員に感謝したい。今後は本研究で得られた知識基盤を基にテーラーメイド医療の実現化を目指したい。



井ノ上チーム