「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遺伝子診断治療開発研究部　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”遺伝的効果しか持たず、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、⑴ 基盤的研究資源の開発と整備、⑵ 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、⑶ 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、⑷ 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。

【研究の概要、今後の見通し】

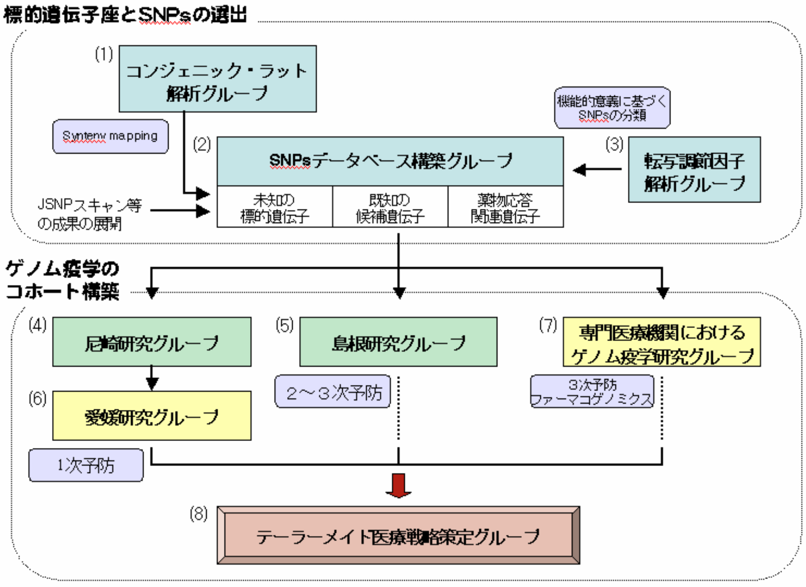
前項の研究目的に沿って、(i) SNPs を中心とした遺伝的マーカー資源の開発・整備とウェブ公開、(ii)多段階的な研究体制としての一般集団コホート、脳梗塞コホート、病院コホートの構築、そして(iii)両者を用いた疾病ゲノム解析を行ってきた。既知の候補遺伝子のなかで、高血圧および脳卒中に関して主要な遺伝的効果をもつ遺伝子多型リストを絞り込み、また未知の素因遺伝子も同定することができた。

今後は、注目する高血圧関連疾患の、特に‘予防’面で有用な「遺伝– 環境要因のデータ・セット」を、体系的に抽出しテーラーメイド医療の推進に役立てていくこととなる。

２．研究実施内容

Ⅰ. 研究目的および方法、進捗状況

本研究は、下図に示すごとく【A】解析対象とする遺伝子座と SNPs の選出に関する部分（上段）と、【B】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（下段）とに大別される。



【A】解析対象とする遺伝子座とSNPsの選出に関する部分

(1)「コンジェニック・ラット解析」グループ

遺伝的高血圧ラット由来のコンジェニック・ラット（特定の染色体断片のみを対照ラットとの間で組み換えたモデル動物）を作成し、多因子疾患の‘単一遺伝子化’を実現して、素因遺伝子の解明、さらにヒトでの synteny 検索を試みる。ヒト高血圧および関連疾患のモデルとして幅広い分野の研究に用いられてきた高血圧自然発症ラット（SHR）系統から、戻し交配を繰り返すことによりコンジェニック・ラットを 14 系統作成し、組み換え染色体断片の狭小化、DNA マイクロアレイ法を用いた系統的発現解析、機能解析（プロモーターアッセイなど）によって量的形質遺伝子座（QTL）の同定を試みている。並行して、ヒト homolog の SNPs を探索して関連解析を進めている。既に 14 のコンジェニック系統は完成した。特に染色体 1 番由来のコンジェニック・ラットについて、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)「SNPs データベース構築」グループ

既知の（あるいはコンジェニック・ラットの解析等を通じて新たに見出された）生理的機序の候補遺伝子に関して、疾病ゲノム解析を網羅的に推進するために、「疾患ベース」の SNPs データベースを構築する。先ず既知の候補として 150 遺伝子を選出し、direct sequencing を行って、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。これらより多型情報を効率的に抽出するための 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 SNPs 情報を独自にデータベース化したうえでウェブ公開した（http://www.jmdbase.jp）。その後、候補遺伝子がさらに追加となり、当研究部のデータベースに内蔵される情報は、すでに 400 遺伝子、5000SNPs を超えている。

(3)「転写調節因子解析」グループ

ゲノム規模で転写調節因子の結合配列を同定することにより、数多く存在する SNPs のなかの機能的 SNPs（特に rSNPs）に関する情報を入手する。これによって、単にスクリーニ

ング用の“マーカー”として SNPs を活用するのでなく、より直接的な、function-oriented な疾病ゲノム解析のための研究ツールとしても使えるよう情報整備する。血圧調節に重要性の高い転写調節因子(グルココルチコイド受容体など)に関して、結合配列同定後に rSNPs の探索を進めている。未だ基盤実験の段階であるものの、少なくとも分子レベルでの転写調節因子の結合という点で、プロモーター領域だけでは十分に標的遺伝子をカバーできないことが判明した。

【B】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

(4)「尼崎研究」グループ

代表的な都市化した地域集団で高血圧関連疾患のゲノム疫学研究（尼崎研究）を実施し、1 次予防のためのエビデンスの構築を目的とする。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、繰り返し受診している者については経時的な疫学・検査データを整備した。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たうえで血液サンプル（DNA）の提供を受けて疾病ゲノム解析を進めている。これまで、高血圧に関する候補遺伝子多型を３段階スクリーニング法で検討したところ、既に繰り返し報告されてきたアンジオテンシノーゲンの M235T 多型を含む 3 つの SNPs で有意性を再現できた。さらに代謝症候群（危険因子の重複）という視点では、いくつかの遺伝子多型が複数病態にまたがって有意な傾向を示した。

(5)「島根研究」グループ

高血圧性臓器合併症として、特に無症候性脳硬塞（SBI）及びラクナ硬塞に着目したコホート研究（島根研究）を実施し、２次、３次予防のためのエビデンスの構築を目的とする。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 およびコントロールの被験者を収集し、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調査して解析対象とする。インフォームドコンセントを取得して収集した DNA を用いて 130 候補遺伝子の関連解析を進め、その結果、高血圧とは独立した脳卒中固有の遺伝因子の存在が示唆された。

(6)「専門医療機関におけるゲノム疫学研究」グループ

詳細な臨床検査データに基づく、中間的形質に関する解析とファーマコゲノミクス研究の実施を目的とする。インフォームドコンセントの得られた者については、心血管系疾患のゲノム解析および ARB とスタチン系薬剤のファーマコゲノミクス研究を行う。ここで解析対象とする遺伝子は、(2)の SNPs データベース構築の研究項目で見出された、ラットにおけ

る薬物負荷実験の成果である。

II. 総括

1）標的遺伝子リストの拡充と、機能的意義に基づいたSNPs分類の促進

上述した通り、我々は、先ず既知の候補遺伝子リスト（これまでに国内外で関連が報告されたものを網羅するリスト）として 150 遺伝子を選出し、高血圧および脳卒中の疾病ゲノム解析の対象とした。さらに本研究では、「reverse genetics」のアプローチとして未知の遺伝子を選出するために、主に２つの研究戦略を進めている。一つは遺伝的高血圧ラット由来のコンジェニック系統を用いた、QTL 同定からの synteny mapping であり、もう一つは、平成 12 年から 16 年度にかけて実施された高血圧の JSNP スキャンでの成果の展開である。

２）コホート研究としての疾病ゲノム解析とファーマコゲノミクス研究

既に最初の段階としては、断面調査データに基づいて、各々の疾病の発症リスクを高めるような既知の候補遺伝子多型をスクリーニングしてきたが、今後、検討する標的遺伝子リストを拡充するとともに、時系列データ（一定期間でみた病態の進行）や複合病態（危険因子の集積の程度や、脳卒中の基礎疾患としての高血圧の有無など）に着目した解析を進める。

３）テーラーメイド医療としての臨床応用の見通し

これまでの研究を通じて、多因子疾患としての高血圧（およびその関連疾患）の感受性遺伝子が個々には「マイルドな」効果しか持たず、単独で、かつマーカーとしての診断的意義はさほど大きいと言えない。そこで、SNPs の機能的意義を明らかとし、‘対’となる交絡要因（生活習慣）を定め、組み合わせ効果としての『SNPs 診断キット化』を本研究は目指しており、８つの研究グループの成果を統合することで、その達成の見通しは高い。

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、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、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、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、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（尼崎研究）

「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、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（島根研究）

「愛媛研究」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、部長）
②研究項目：遺伝的に隔離された集団が多い愛媛県下の 2 つの地域集団と１つの職域集団でのゲノム疫学研究

「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、部長）
②研究項目：詳細な臨床検査データに基づく、中間的形質に関する解析とファーマコゲノミクス

「テーラーメイド医療戦略策定」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、部長）
②研究項目：様々な交絡因子の影響を考慮した生物統計学的解釈と、疾病予防を目指した SNP 情報の活用

４．主な研究成果の発表

（１）　論文（原著論文）発表

○ Inomata H, Watanabe T, Iizuka Y, Liang Y-Q, Mashimo T, Nabika T, Ikeda K, Yanai K, Gotoda T, Yamori Y, Isobe M, Kato N. Identification of quantitative trait loci for cardiac hypertrophy in two different strains of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertens Res.* 2005, 28: 273-81.

○ Konoshita T, Wakahara S, Mizuno S, Motomura M, Aoyama C, Makino Y, Kawai Y, Kato N, Koni I, Miyamori I, Mabuchi H. Tissue gene expression of renin-antiotensin system in human type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2006, 29: 848-52.