

「テ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 15 年度採択研究代表者

松田 文彦

京都大学大学院医学研究科・教授

日仏共同体制による人種間ゲノム多型の比較解析

1. 研究実施の概要

日仏国際共同研究で、白人と日本人で SNP を探索し比較することで、人種を超えて病気と関連する遺伝子・多型を同定し、人種的偏差を加味した疾患別 SNP データベース構築を目的とする。解析対象疾患は、当初の予定通り免疫系疾患と一部の癌に限定してはいるが、中間評価時の方針変更に基づいて、今日比較的リーズナブルなコストで行なえるようになった、全ゲノムスキニングを取り入れ、また疾患をリュウマチに限定して白人、日本人間で疾患感受性遺伝子を同定することとした。

本年度は、日本人患者 400 検体、白人患者 200 検体および白人健常者 700 検体を用いたゲノムスキニング(イルミナ社 300K チップを使用)を終え、統計解析の結果日本人において有意な p 値(補正無しで $p < 10^{-6}$)を示すマーカーを HLA 以外に 4 個見だし、また 2 次スクリーニングの候補となりうる $p < 0.01$ を下回るマーカーが 2400 個近く得られた。白人の解析に関しては、HLA 領域は再現性良く相関が見られたが、他の領域では 2 人種間で極めて強い相関を示すマーカーは現在のところ得られていない。

検体収集は極めて順調に進み現在 2 人種合わせて約 2600 検体が得られている。最終年度は、新たな検体を用いたゲノムスキニングを行ない、プロジェクト終了までにリュウマチ感受性遺伝子の同定を目指す。

2. 研究実施内容

中間評価における方針変更でリュウマチに重点を置くこととなり、また全ゲノムのスキニングが予算的にも十分可能となったので、候補遺伝子を限定することなくゲノム全体をターゲットに、疾患感受性遺伝子の検索をおこなった。

1) 日本人および白人検体を用いたリウマチ感受性遺伝子の同定

今年度は、日本人患者 400 検体、白人患者 200 検体および白人健常者 700 検体用いて、イリミナ社300Kチップ(ゲノム上の30万個の多型マーカーを搭載)によりゲノムワイドスキャンをおこなった。日本人健常者に関しては、予算の関係上患者検体をより多く用いることが重要と考え、自らの検体でのゲノムスキャンを行わず、バイオバンクプロジェクトのデータ(健常者 1000 人分)を統計解析に用いることとした。

ゲノムスキャンを終了後、得られた結果の品質管理(QC)を行なった。検体ごとの QC は、アッセイ成功率で行ない、95%以上の検体のみを用いた。また、マーカーごとの QC は、アッセイ成功率が95%以上で、健常者におけるハーディー・ワインバーグ値が0.05以上のマーカーに限定して統計解析を試みた。

統計解析において、白人の結果は各検体のジェノタイプが得られたので、通常に関連解析(ジェノタイプ頻度、アレル頻度、優性、劣性の検定)に加え、用いた検体集団の構造化を補正するプログラムも用いた。日本人検体は、バイオバンクデータがジェノタイプ頻度のみ公開であるため、構造化補正が出来なかったため、通常に関連解析にとどめた。両人種において、HLA 遺伝子座に極めて強い疾患との相関が得られ($p < 10^{-10}$)、用いた集団の有効性が示された。HLA 以外の領域に関しては、日本人検体で有意な p 値(補正無しで $p < 10^{-5}$)を示す領域が10領域得られ、また2次スクリーニングの候補となりうる $p < 0.01$ を下回るマーカーが 2400 個近く得られた。白人においては、患者検体数が日本人と比較して少ないため、p 値が高めになっているが、補正なしで $p < 10^{-5}$ を示す領域が1領域得られた。現在のところ、両人種で共通にリウマチと有意な相関を示す領域は得られていない。さらに結果の再現性を検討するため、日本人患者600検体のゲノムスキャンを進めており、2008年3月で300検体が終了した。現在得られたジェノタイプを用いて統計解析を行っており、その結果でさらに検体数を増加させるか、ファインマッピングに進むかを判断したい。

2) 検体収集

詳細な臨床情報を伴う日本人のリウマチ患者の検体を、京都大学医学研究科免疫内科学教室、国立相模原病院より約 1000 検体、道後温泉病院より約 600 検体収集済みで、また東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センターより約 1000 検体が供与された。

今後、日本人検体については、京都大学、国立相模原病院、道後温泉病院での検体収集、特に患者の中でも重症度の高い検体(ムチランス)、また間質性肺炎を伴う患者検体の収集を継続し、十分数の検体の中でフェノタイプ毎の解析を試みる。

白人検体に関しても、パリ大学を中心としたリウマチ研究コンソーシアムとの連携で、検体収集が続けられており、また詳細な臨床情報も集積してきた。2008 年度中に追加検体が 1000 例程度集まることになっており、バリデーションに用いる予定にしている。

3. 研究実施体制

(1) 「松田」グループ

- ① 研究者名: 松田 文彦(京都大学)
- ② 研究項目
 - ・日仏共同体制による人種間ゲノム多型の比較解析

(2) 「Lathrop」グループ

- ① 研究者名: Lathrop, Mark (Centre National de Genotypage)
- ② 研究項目
 - ・多遺伝子型遺伝病の多人種間の比較解析

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

1. Yamada, R. and Matsuda, F. (2007) A novel method to express SNP-based genetic heterogeneity, Psi, and its use to measure linkage disequilibrium for multiple SNPs, D(g), and to estimate absolute maximum of haplotype frequency. *Genet. Epidemiol.* **31**, 709-726. Epub 2007 May 16.
2. Hung, R.J., McKay, J.D., Gaborieau, V., Boffetta, P., Hashibe, M., Zaridze, D., Mukeria, A., Szeszenia-Dabrowska, N., Lissowska, J., Rudnai, P., Fabianova, E., Mates, D., Bencko, V., Foretova, L., Janout, V., Chen, C., Goodman, G., Field, J.K., Liloglou, T., Xinarianos, G., Cassidy, A., McLaughlin, J., Liu, G., Narod, S., Krokan, H.E., Skorpen, F., Elvestad, M.B., Hveem, K., Vatten, L., Linseisen, J., Clavel-Chapelon, F., Vineism P., Bueno-de-Mesquita, H.B., Lund, E., Martinez, C., Bingham, S., Rasmuson, T., Hainaut, P., Riboli, E., Ahrens, W., Benhamou, S., Laggiou, P., Trichopoulos, D., Holcátová, I., Merletti, F., Kjaerheim, K., Agudo, A., Macfarlane, G., Talamini, R., Simonato, L., Lowry, R., Conway, D.I., Znaor, A., Healy, C., Zelenika, D., Boland, A., Delepine, M., Foglio, M., Lechner, D., Matsuda, F., Blanche, H., Gut, I., Heath, S., Lathrop, M. and Brennan, P. (2008) A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. *Nature.* **452**, 633-637.

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 1 件)