

日本人ゲノムの多型情報の集積と多遺伝子性疾患の 疾患感受性遺伝子の同定に関する研究

I 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

ゲノムの多様性に基づく「ありふれた病気 (common diseases)」は、環境因子以外に疾患に対する個人の感受性を決める複数の疾患感受性遺伝子により規定されている。本提案では、世界的にみて遺伝的背景が均一で疾患感受性遺伝子の抽出に有利な日本人ゲノムの多型情報に基づいて、日本人の「ありふれた病気」の疾患感受性遺伝子を明らかにするために必要な条件と解析方法に関する学術的検討を行う。第一の方法として、高血圧と痛風等の「ありふれた病気」の大家系と罹患同胞対を対象として、「マイクロサテライトマーカーを用いる全ゲノムにわたる連鎖解析」、およびこれらと多数の罹患患者を対象として「罹患患者群と健常者群における標的遺伝子局所の単一ヌクレオチド多型 (Single Nucleotide Polymorphism; SNP, スニップと略称する) の頻度の偏りの解析、すなわち関連解析を行い、日本人の多遺伝子性疾患の疾患感受性遺伝子を同定する場合に必要な条件と「家系数」、「臨床的表現型による層別」、「解析ソフトウェア」等に関する条件と方法を明らかにする。第二の方法として、遺伝子導入・消失等の遺伝子負荷を与えた遺伝子負荷動物を対象とし、「標的遺伝子とそのゲノム多型」が「疾患感受性遺伝子により規定される定量的形質」に与える影響を解析することにより、多遺伝子性疾患の疾患感受性遺伝子を同定する場合に必要な条件と解析方法を明らかにする。日本人ゲノム多様性情報の有効利用法に関する学術基盤の整備にあたり、①日本人健常者ゲノムの SNP の収集、②罹患患者を対象とした候補遺伝子の SNP の型と疾患との関連解析により疾患感受性遺伝子を判別する研究、および③多遺伝子性疾患に関する遺伝情報の収集解析システムの開発を行う。本提案では、これらをあわせ、日本人ゲノムの多様性から、疾患感受性候補遺伝子を抽出するために必要な条件と方法に関する研究基盤を確立すると同時に、日本人 SNP と疾患感受性候補遺伝子に関する具体的なデータの蓄積を目指す。

第 I 期の目標は、モデル疾患 (心不全等) の SNP 情報を用いた、多遺伝子性疾患の遺伝子の解析技術を開発することであり、第 II 期の目標は、さらに集積される SNP 情報に対応した、汎用性のある解析技術として確立することである。

2. 研究概要

1. 日本人 SNP の収集と疾患感受性遺伝子の探索

(1) 日本人 SNP の収集

① 循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析 (国立循環器病センター)

「ありふれた病気」の疾患感受性遺伝子は単一の遺伝子異常によるものでなく、複数の遺伝子の変化が関わりと考えられ、その解析に際して日本人のゲノム多型情報を収集することが重要である。一方、「ありふれた病気」と同じあるいは類似する病態を呈する疾患のなかに単一遺伝子病が含まれ、これらの疾患原因遺伝子が疾患感受性遺伝子の一部となっている。そこで、それらを含め、これまでの検索でありふれた循環器疾患の疾患感受性遺伝子候補を手始めに、MF-PCR-SSCP ならびに dHPLC などの方法を駆使して収集する体制を整える。収集して得られた日本人 SNP 情報を用いて循環器疾患の疾患感受性遺伝子にせまる。

② 代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人多型解析と SNP の収集 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

「ありふれた病気」の発症は単一の遺伝子異常によらず、複数の遺伝子の変化が相加的に発症因子として関与する。日本人の多遺伝子性疾患の疾患感受性遺伝子を同定するために、マイクロサテライトと SNP を含む日本人ゲノムの多型情報を収集する。その上で、日本人の臨床情報により層別を行った約 50 罹患同胞対を対象とする「罹患同胞対解析」、大家系の「パラメトリック連鎖解析」により疾患感受性遺伝子の座位が特定できるか否かを検討する。この結果に基づきさらにシミュレーション解析によりどの程度の家系数が必要であるかを検討し、必要な臨床試料の収集の体制を確立する。

多遺伝子性疾患の発症や予後が単一遺伝子疾患の原因遺伝子や候補遺伝子の発現の異常を介して制御されるので、これまでに明らかにされた単一遺伝子疾患の疾患原因遺伝子と候補遺伝子に関し、主として痛風、慢性関節リウマチ等の疾患を対象として、これらの疾患原因遺伝子に関してのイントロン・エキソン構造とプロモーターの配列を明らかにし、これらの領域に存在する SNP を、MF-PCR-SSCP の方法を用いて収集する体制を整える。日本人のゲノム多様性に関するデータベースの実用化を図る。

③ 代謝性疾患発症リスク因子として関係する Y 染色体

における日本人 SNP の収集と多型解析 (徳島大学医学部)
Y 染色体上に肥満を促進する遺伝子が存在することを示す予備検討結果に基づき、Y 染色体上に存在する促進因子について、日本人 SNP を収集し、その解析により遺伝子

または遺伝子群を同定する。さらに、この因子による代謝性疾患との関連についての疫学的解析を進める。

④ 疾患原因としての遺伝子塩基トリプレットリピートの伸長に関連する日本人 SNP などゲノム多型の収集と解析 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

遺伝子塩基配列の CGG や CAG など単純な 3 塩基リピート (トリプレットリピート) の伸長によって多くの疾患が発症することが明らかとなり、ありふれた病気との関連も十分考えられるが、まだ不明の点が多い。さらに、このトリプレット伸長の機構についてはあまり理解が進んでいないが、リピートの近傍に存在する特異的な配列とそれを認識する細胞因子との相互作用の結果として誘導されるクロマチンの構造変化が、DNA 複製時の DNA ポリメラーゼの「滑り易さ (slippage)」を促進して、その結果として特定の遺伝子内のトリプレットリピートの伸長が促進されると考えられる。この仮説を検証して、ありふれた病気との関連を明らかにする。

(2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集

① 血管調節障害に基づく疾患の患者ゲノムの収集と病因解析 (国立循環器病センター)

一つの素因遺伝子が、血管調節障害に寄与する程度は、それほど大きなものとは考えられず、対立遺伝子の頻度にもよるが、かなり大きな対象集団が必要と思われる。現在までに、一般住民からランダムに抽出されたサンプルを約 5000 (吹田スタデー)、大学病院にて疾患特異的に集められたサンプルを約 1200 (心筋梗塞 400, 狭心症 300, 高血圧 500) を保持しているが、国立循環器病センターにおいて更に収集を図る。疾患感受性遺伝子を絞り、意義ある変異を検索後、その変異と疾患の関連を検索する方向で研究を進めるため、高血圧モデルラットを用いた連鎖解析より見出した複数の候補座位とヒトとの comparative mapping よりいくつかの候補遺伝子を見い出しており、これらにおける変異検索をすすめて疾患感受性遺伝子にせまる。

② 心不全を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析 (国立循環器病センター)

国立循環器病センターにおいて患者ゲノム収集・保存に必要な取り扱い基準の整備、インフォームドコンセントの整備を引き続き行い、問題点を解決しながらゲノム DNA バンクとしての遺伝子検体管理室を運用して、病因解析のための基盤を構築する。多遺伝子性疾患の病因に単一遺伝子病で同定された遺伝子の関与のあることが知られることから、患者ゲノム、臨床情報の収集と同時に、家族性心筋症およびそのほかの心不全患者について疾患感受性を決める候補遺伝子の解析、さらに、他の疾患感受性候補遺伝子について順次解析をおこなう。最終的に、家族性の心不全をきたす疾患の新規病因遺伝子ないし疾患感受性遺伝子の同定を目指す。

③ リウマチ性疾患を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析 (東京大学医学部)

リウマチ性疾患 (慢性関節リウマチ・痛風) の遺伝要因を、兄弟例を用いた罹患同胞対法で検討する。そのため、各 50 家系を集め、患者ゲノム DNA の収集を行いデータベースを構築する。遺伝分析には、まず全染色体に分布する約 400 のマイクロサテライト (MS) マーカーを用いる。疾患の分析にあたり、従来情報が不十分な日本人正常人の MS 多型の頻度についても検討する。以上より推定される疾患感受性領域と疾患の関連を関連解析で検討するが、これにはランダムな患者サンプルを用いる。また、推定される MS 近傍の他の MS や遺伝子、SNP を検討するための PCR などの基礎検討を行う。

(3) ゲノム情報と臨床情報のデータベース化と解析方法の確立 (東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター)

多遺伝子性疾患に関する遺伝情報を収集解析するためには、SNP 等のゲノム多様性に関する情報をデータベース化すると同時に臨床情報をデータベース化する必要がある。多数の臨床データの中から、疾患感受性遺伝子により決定されると考えられる病態の特徴を、典型的な「ありふれた病気」に関して選定する。これらの臨床情報は、患者群をこれらの特徴に応じて層別し、臨床情報とゲノム多様性との相関解析を行うために必須である。臨床情報としてデータベースするための項目と表示の方法を考案し、これらの情報をデジタル情報として入力しデータベース化するシステムを開発する。また、連鎖解析、あるいは広い意味では遺伝情報と表現型との関係を分析するために必要なソフトウェア、および補助ソフトウェアを開発し、患者や一般人から得られた DNA サンプルを用いた SNP や他の多型の分析結果をそれらのソフトウェアで解析する。疾患については初期には痛風と慢性関節リウマチ、それらが解決した後には膠原病や類似疾患、さらには疾患以外の表現型について解析する。最終的に多くの研究者が広く連鎖解析を行えるためのソフトウェアパッケージを開発する。また、SNP および他の多型と表現型が集団内でどのように変化し、維持されるかをシミュレーションソフトウェアを開発し分析する。さらに、実験的 DNA 分析の結果を分析し解析するための自動化システムと必要なソフトウェアを開発し、同時に、将来、患者の SNP が分析されるようになった場合、それを患者の利益になる方向で即座に臨床応用するために必要な医師と患者間のインターフェースの原形を開発する。

2. モデル動物を用いた疾患感受性遺伝子の解析

(1) 遺伝子改変動物モデルを用いた研究

① モデル動物を用いた心機能不全の遺伝子解析 (国立循環器病センター)

心不全モデル動物としてジストロフィン結合蛋白質遺伝子の異常を持つハムスターモデル及びこの蛋白質又は関連

蛋白質を欠損させたマウスモデルを用いて、心不全の発症と病態の進行に関与する遺伝子を同定してその機能解析を行い心機能変化との関連を明らかにする。また、遺伝子操作動物モデルを作成することにより、同定した遺伝子産物の分子・細胞レベルの機能評価と *in vivo* の心筋機能変化との関連を明らかにしてこれらの遺伝子の病態的役割を評価する。

② モデル動物を用いた心血管病変の発症進展に関わる遺伝子解析（国立循環器病センター）

動脈硬化や心筋梗塞などの循環器疾患の要因として、アラキドン酸から生合成されるプロスタサイクリン（PGI）とトロンボキサン（TX）のバランス異常が考えられている。本研究は、このバランス異常がどのように循環器疾患の発症と進展に結びついているかを、遺伝子改変マウスをモデルに使用して解明することを目的とする。具体的には、PGIとTX合成の鍵を握るPGI合成酵素とTX合成酵素を欠損したマウスの解析と、両酵素を過剰発現するトランスジェニックマウスの作成と解析を行う。特に、PGIとTXのバランス異常と心血管病変の発症進展の関連を、動物個体と遺伝子変異動物から得られる組織や細胞を材料に、分子生物学的手法を使って解析する。

③ 免疫不全モデル動物を用いた遺伝子解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

生体防御の司令塔として自己・非自己の識別を担うTリンパ球は、胸腺にて発生分化する。しかし、多能性の造血前駆細胞がどのようにして胸腺環境でTリンパ球への分化方向を決定づけられるのか不明である。私たちはこれまでに、様々な遺伝子改変マウスを作成してきたが、最近、トランスジェニックマウスのうちの1系統に興味深い遺伝子挿入変異を発見した。このマウスにおいては、Tリンパ球分化が完全に停止しており、そのかわりに胸腺内でリンパ系前駆細胞が選択的にBリンパ球へと異常分化していた。最近、このマウスの異常は導入遺伝子の発現によるのではなく、遺伝子の挿入による変異であることを明らかにしたので、本研究においてはまず、このマウスの遺伝子挿入ゲノム座の解析を進めることによってTリンパ球への分化系譜を決定する責任分子の解明を目指す。さらに、血液、免疫系だけでなく、代謝性疾患や循環器疾患との関係についても詳細に検討する。

3. 研究年次計画

本プロジェクトでは世界的にみて遺伝的背景が均一で疾

患感受性遺伝子の抽出に有利な日本人ゲノムの多型情報に基づいて、日本人の「ありふれた病気」の疾患感受性遺伝子を明らかにするために必要な条件と解析方法に関する学術的基盤の確立を目標とする。

第I期では、まず、多遺伝子性疾患の疾患感受性遺伝子が存在する座位の特定に用いるマイクロサテライトマーカーとしては70%以上のヘテロ接合体率を示すことが求められるので、日本人を対象とし、平均約0.75センチモルガンにひとつの頻度で、この要件を満たすマイクロサテライトマーカーを明らかにする。これらの情報を用いて、大家系のパラメトリック連鎖解析、あるいは「ありふれた病気」の疾患感受性遺伝子の座位がノンパラメトリック連鎖解析のひとつである罹患同胞対解析により、約50罹患同胞対を対象として座位を特定できるか否かを慢性関節リウマチと痛風を対象として検討する。

単一遺伝子疾患の原因遺伝子や候補遺伝子の発現の異常を介して多遺伝子性疾患の発症や予後が制御される。主として、特に高血圧、痛風、慢性関節リウマチ等の「ありふれた病気」を対象として、これまでの検索で明らかにされた単一遺伝子疾患の疾患原因遺伝子と候補遺伝子のイントロン・エキソン構造とプロモーターの配列を明らかにし、これらの領域に存在する単一ヌクレオチド多型（SNP）を効率よく収集し、疾患との関連を多検体で解析できる体制を整える。

これらと平行して、①候補座位と候補遺伝子に関するデータベース、②集団遺伝学用のソフトウェア、および③SNPの位置と頻度に関するデータベースの開発を進め、具体的なデータの収納を介して、その有用性を向上させる。

第II期では「ありふれた病気」の疾患感受性遺伝子の候補遺伝子に関してSNPの型の頻度を疾患患者と健常人で比較することにより、疾患感受性遺伝子感受性遺伝子であるか否かを順次明らかにする。大家系の連鎖解析では、マイクロサテライトマーカーで明らかにされた座位に存在する候補遺伝子のSNPの多型を順次検討し、これを用いて連鎖解析を進め、求める単一遺伝子疾患の疾患原因遺伝子に迫る。より多数の単一遺伝子疾患の疾患原因遺伝子と候補遺伝子のイントロン・エキソン構造とプロモーターに存在するSNPの頻度を関連解析により比較検討し、これらが疾患感受性遺伝子として機能する可能性を順次検討する。

研究項目	11年度	12年度	13年度	14年度	15年度
1. 日本人 SNP の収集と疾患感受性遺伝子の探求					
(1) 日本人 SNP の収集					
① 循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析	候補遺伝子の SNP 収集			連鎖不平衡解析	
② 代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析	候補遺伝子の SNP 収集			連鎖不平衡解析	
③ 代謝性疾患発症リスク因子として関係する Y 染色体における日本人 SNP の収集と多型解析		Y 染色体の多様性の評価			
④ 疾患原因としての遺伝子塩基トリプレットリピートの伸長に関連する日本人 SNP などゲノム多型の収集と解析		CGG リピートの多様性の評価		関連解析	
(2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集					
① 血管調節障害に基づく疾患の患者ゲノムの収集と病因解析	患者ゲノム DNA 収集 マーカー解析			連鎖解析・不平衡解析	
② 心不全を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析	患者ゲノム DNA 収集 マーカー解析				
③ リウマチ性疾患を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析	患者ゲノム DNA 収集 マーカー解析			連鎖解析・不平衡解析	
(3) ゲノム情報と臨床情報のデータベース化と解析方法の確立	解析ソフトウェアの開発・ファイリングシステムの開発と運用			自動解析システムの構築・ゲノム・臨床情報の統合	
2. モデル動物を用いた疾患感受性遺伝子の解析					
(1) 遺伝子改変動物モデルによる解析					
① モデル動物を用いた心機能不全の遺伝子解析	心不全モデル動物の作製			心機能関連遺伝子の解析	
② モデル動物を用いた心血管病変の発症進展に関わる遺伝子解析	血管病モデル動物の作製			血管病変関連遺伝子の解析	
③ 免疫不全モデル動物を用いた遺伝子解析	免疫不全モデルの解析			ありふれた病気と免疫不全との関連解析	
所要経費(合計)	180百万円	185百万円			

4. 平成 12 年度における実施内容と達成目標

1. 日本人 SNP の収集と疾患感受性遺伝子の探求

(1) 日本人 SNP の収集

① 循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析 (国立循環器病センター)

50 人以上の正常日本人よりゲノム DNA (100 アリル以上) を抽出し、心不全疾患感受性遺伝子候補として 15 種以上のアデニンヌクレオチド代謝、ヌクレオチド輸送系に関係する遺伝子、エネルギー産生に関わる遺伝子、循環器疾患の中で単一遺伝子病を発症することが知られる疾患病因遺伝子 15 種以上のそれぞれについて、翻訳領域、プロモーター領域について MF-PCR-SSCP 解析ならびに dHPLC 解析による SNP の収集を行う。同時に、順次、周辺領域に検索を進める。本年度は循環器疾患患者におけるこれらの多型情報の収集も開始する。得られた収集情報の利用方法、応用については国立循環器病センターの共同研究者、徳島大学、東京女子医科大学、東京大学の共同研究者とともに進める。

② 代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

健常対照群として 50 人以上の日本人のゲノム DNA を抽出し、若年性痛風性腎症の疾患原因遺伝子存在領域の候補遺伝子に関する SNP 解析、プリン合成律速酵素群の日本人における SNP 解析をおこなう。また、慢性関節リウマチの 50 罹患同胞対の罹患同胞対解析と、痛風と腎障害を来す大家系の連鎖解析を行う。また、痛風、糖尿病、慢性関節リウマチを含む「ありふれた病気」の患者のゲノム DNA の収集と、これら疾患の候補遺伝子とそのゲノム構造に関する情報収集を行う。

③ 代謝性疾患発症リスク因子として関係する Y 染色体における日本人 SNP の収集と多型解析 (徳島大学医学部)

Y 染色体上に肥満を促進する遺伝子が存在することを示す予備検討結果に基づき、Y 染色体上に存在する促進因子について、日本人 SNP を収集し、その解析により遺伝子または遺伝子群を同定する。さらに、この因子による代謝性疾患との関連についての疫学的解析を進める。このために、まず、Y 染色体上の SNP をカタログ化し、関連領域の特定化を目指す。具体的には Y 染色体上に 200 のプライマーセットを設定し、これらについて SNP を探索し、収集した SNP を解析に用いる。

④ 疾患原因としての遺伝子塩基トリプレットリピートの伸長に関連する日本人 SNP などゲノム多型の収集と解析 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

遺伝子塩基配列の CGG や CAG など単純な 3 塩基リピート (トリプレットリピート) の伸長によって多くの疾患が発症することが明らかとなり、ありふれた病気との関連も十分考えられるが、まだ不明の点が多い。さらに、このト

リプレット伸長の機構についてはあまり理解が進んでいないが、リピートの近傍に存在する特異的な配列とそれを認識する細胞因子との相互作用の結果として誘導されるクロマチンの構造変化が、DNA 複製時の DNA ポリメラーゼの「滑り易さ (slippage)」を促進して、その結果として特定の遺伝子内のトリプレットリピートの伸長が促進されると考えられる。この仮説を検証して、ありふれた病気との関連を明らかにする事を最終目標に、CGG リピートの伸長に関連する日本人ゲノム多型の収集を行い、解析を行う。

(2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集

① 血管調節障害に基づく疾患の患者ゲノムの収集と病因解析 (国立循環器病センター)

ナトリウム・チャンネル (SCNN1g, SCNN1b, SCNN1a)、プロスタグランジン関連酵素 (COX1, COX2, thromboxane synthase) に焦点を絞り、エクソン、プロモーター領域を 48 人のサンプルでシーケンスを行い、遺伝的変異 (SNPs) を見出す。見出した遺伝的変異を用い、吹田スターを対照として、関連研究を行い、これら遺伝子が素因遺伝子なのか否かを明らかとする。また、SA 遺伝子領域に相当するヒト・クロモソーム 11 番領域 (11p15.4-p15.3) に存在する遺伝子を数種類選びだし、シーケンスを行って遺伝的多型を見出し、それを用いて、吹田スターでの関連研究を同様に進行する。

② 心不全を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析 (国立循環器病センター)

国立循環器病センターに現在受診中で検体収集について同意の得られるすべての特発性心筋症患者 (最大 1 日あたり 20 名) につきゲノム DNA を採取し、臨床情報と共にカタログ化する。既報の原因遺伝子の変異探索ならびに関連遺伝子多型の解析をおこない、患者の重症度・予後との関連につき検討する。

③ リウマチ性疾患を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析 (東京大学医学部)

兄妹発症慢性関節リウマチ、痛風家系について各 50 家系以上の登録を行い、家系サンプルからのゲノム DNA を採取する (次年度末までに終了予定)。また、当該患者について臨床情報をデータベース化する準備を進める。正常対照群のゲノム DNA を 100 例について採取する。得られた家系サンプルについてマイクロサテライトマーカーの多型スクリーニングを開始 (3 年間で完了の予定) し、同時に正常対照例についてマイクロサテライトマーカーの多型スクリーニングを開始する (2 年間で完了予定) 慢性関節リウマチ患者の HLADR タイピングを行って、慢性関節リウマチ (RA) の疾患感受性遺伝子の一つである HLA・DR を家系例で検討し、マイクロサテライトマーカーと同様に重要なインフォメーションを得る。一方、他施設と共同で解析ソフトウェアの検討し、実際のデータを利用して

多型データを MAPMAKER/SIB で解析する際に必要なデータ処理ソフトを考案する。順次、得られた情報に関する関連解析の基礎検討としてマイクロサテライトマーカー、HLA データーで基礎検討を行う。

(3) ゲノム情報と臨床情報のデータベース化と解析方法の確立（東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター）

今年度は昨年度に引き続き、解析プログラムの開発を進め、実際に疾患関連遺伝子を特定する。前年度までに腎疾患、高血圧、痛風の原因となっている遺伝子を連鎖解析により 16p12 の D16S401 付近の約 9 cM の領域に特定することに成功したので、次に、さまざまな手法を通じてこの遺伝子を特定する必要がある。約 300-900 個存在すると予想される遺伝子の中から病気の原因となっている遺伝子を連鎖解析的手法（TDT, parametric and non-parametric 連鎖解析, 関連解析, 連鎖不平衡解析）、情報収集（各遺伝子に関する種々の情報を雑誌やインターネットから収集する）、配列決定による手法の 3 種類を組み合わせる。また、他の疾患、即ち、膠原病に関する原因遺伝子特定のための連鎖解析をスタートさせる。当センターでインフォームドコンセントを取った上で採取した多くの DNA 検体を用い、連鎖解析的手法を用いて解析を進めていく。

2. モデル動物を用いた疾患感受性遺伝子の解析

(1) 遺伝子改変動物モデルによる解析

① モデル動物を用いた心機能不全の遺伝子解析（国立循環器病センター）

心筋の機能に関わる遺伝子を新規に単離するために、作製した分化ライブラリー及びサルコグリカン欠損ハムスター心筋 cDNA ライブラリーのスクリーニングを続行する。同定された遺伝子はその関連遺伝子も含めて、順次、ヒトホモログ遺伝子の同定、蛋白質の分子・細胞レベルでの機能解析、さらに、ジーンターゲットングなどを行う。

また、サルコグリカン以外の細胞骨格蛋白質についても、欠損マウス作製の準備を進めるとともに、予備実験として、アンチセンス DNA/RNA を細胞に導入し標的蛋白質欠

損に起因する細胞異常を検出し、新たな病態関連遺伝子候補を検索する。さらに前年度に見出したサルコグリカン欠損にともなうイオン代謝、特に Ca 輸送の異常と、心不全病態との関連を明らかにするために、細胞内 Ca 濃度の調節に重要な役割を果たしている Na/Ca 交換輸送体 (NCX1) の欠損マウスを作成する。この蛋白質の分子・細胞レベルの機能解析を行い、個体レベルでの心機能変化との関連を明らかにする。

② モデル動物を用いた心血管病変の発症進展に関わる遺伝子解析（国立循環器病センター）

昨年度の結果をもとにプロスタサイクリン (PGI) 合成酵素遺伝子欠損マウスの腎障害ならびに血管障害の解析をより詳細に行う。すなわち (ア) 欠損マウス血管内皮細胞および平滑筋細胞を培養し機能の変化を調べる。(イ) 低酸素暴露による血管系に対する影響を調べる。(ウ) 動脈硬化を惹起させ病変部位への遺伝子導入の効果を検討する。

また、TX 合成酵素遺伝子欠損マウスの作成を完了したので、表現型を解析する。特に血小板や炎症病変に浸潤するマクロファージの機能において TX 欠損がどのように影響するか PGI 欠損マクロファージと比較しながら観察する。さらに PGI および TX 合成酵素の過剰発現マウスの作成を開始しているので、これを完了させ、表現型の解析を開始する。

③ 免疫不全モデル動物を用いた遺伝子解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

我々が開発した T リンパ球分化が完全に停止したトランスジェニックマウスにみられる遺伝子挿入変異について、挿入遺伝子座の同定を進め、免疫系細胞の分化系譜決定の異常をもたらすゲノム異常の解明を目指し、疾患との関連を明らかにする。更に、T・B リンパ球の分化方向決定に関与する転写因子の理解を進める。リンパ系前駆細胞の機能異常は血液、免疫系ばかりでなく、代謝性疾患、循環器系疾患との関係も少なくなく、重要な知見を得ることができる。

II 平成 12 年度における研究実施体制

研究項目	研究実施機関	研究担当者
<p>1. 日本人 SNP の収集と疾患感受性遺伝子の探求</p> <p>(1) 日本人 SNP の収集</p> <p>① 循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析</p> <p>② 代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした日本人 SNP の収集と多型解析</p> <p>③ 代謝性疾患発症リスク因子として関係する Y 染色体における日本人 SNP の収集と多型解析</p> <p>④ 疾患原因としての遺伝子塩基トリプレットリピートの伸長に関連する日本人 SNP などゲノム多型の収集と解析</p> <p>(2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集</p> <p>① 血管調節障害に基づく疾患の患者ゲノムの収集と病因解析</p> <p>② 心不全を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析</p> <p>③ リウマチ性疾患を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析</p> <p>(3) ゲノム情報と臨床情報のデータベース化と解析方法の確立</p>	<p>厚生省国立循環器病センター</p> <p>徳島大学ゲノム機能研究センター</p> <p>徳島大学医学部</p> <p>徳島大学ゲノム機能研究センター</p> <p>厚生省国立循環器病センター</p> <p>厚生省国立循環器病センター</p> <p>東京大学医学部</p> <p>東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター</p>	<p>森崎隆幸</p> <p>板倉光夫</p> <p>中堀豊</p> <p>塩見春彦</p> <p>岩井直温</p> <p>駒村和雄</p> <p>竹内二士夫</p> <p>鎌谷直之</p>
<p>2. モデル動物を用いた疾患感受性遺伝子の解析</p> <p>(1) 遺伝子改変動物モデルによる解析</p> <p>① モデル動物を用いた心機能不全の遺伝子解析</p> <p>② モデル動物を用いた心血管病変の発症進展に関わる遺伝子解析</p> <p>③ 免疫不全モデル動物を用いた遺伝子解析</p>	<p>厚生省国立循環器病センター</p> <p>厚生省国立循環器病センター</p> <p>徳島大学ゲノム機能研究センター</p>	<p>重川宗一</p> <p>横山知永子</p> <p>高浜洋介</p>
<p>3. 研究管理</p>	<p>厚生省国立循環器病センター</p>	<p>森崎隆幸</p>

Ⅲ 研究推進委員会

委 員	所 属
[プロジェクト内委員] ○板 倉 光 夫 鎌 谷 直 之 森 崎 隆 幸	徳島大学 ゲノム機能研究センター教授 東京女子科大学 膠原病リウマチ痛風センター教授 厚生省 国立循環器病センター部長
[プロジェクト外委員] 加 藤 久 雄 辻 省 次 増 保 安 彦	厚生省 国立循環器病センター部長 新潟大学 脳研究所教授 (株)ヘリックス研究所 所長

(注：○は研究推進委員長)

Ⅳ 研究連絡会議

委 員	所 属
板 倉 光 夫 鎌 谷 直 之 重 川 宗 一 竹 内 二 士 夫 中 堀 豊 森 崎 隆 幸	徳島大学 ゲノム機能研究センター教授 東京女子医科大学 膠原病リウマチ痛風センター教授 厚生省 国立循環器病センター部長 東京大学 医学部講師 徳島大学 医学部教授 厚生省 国立循環器病センター部長