

# 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

研究代表者：板倉 光夫（徳島大学ゲノム機能研究センター）

## 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、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、高血圧や痛風等の「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なる「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。

### 2. 研究内容及び目標

#### 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（厚生労働省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、さらに、得られたSNP情報をもとに遺伝子型解析を行う体制を整える。収集して得られた日本人SNP情報の特徴をもとに、多型情報を有効に用いて疾患感受性遺伝子にせまる方法を検討し、その循環器疾患の疾患感受性遺伝子の探索をおこなう。

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。

##### (2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集

① 高血圧症を中心とした患者ゲノムの収集と病因解析（厚生労働省国立循環器病センター）

一つの素因遺伝子が、高血圧発症に寄与する程度は、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、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出し、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(厚生労働省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、ゲノムDNA試料の収集に関する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について関連解析を行い、最終的にその同定を目指す。

#### 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)の遺伝的要因を、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。

#### ④ 循環器疾患リスク因子としての肥満に関する遺伝疫学的研究(徳島大学医学部)

これまでの男性の体重・身長データとY染色体上のDNA多型の解析より、Y染色体上に肥満を促進する遺伝子が存在することが示唆されている。このY染色体上に存在する肥満促進因子について、SNP解析によりその遺伝子(または遺伝子群)を同定して、この因子による肥満と高血圧の関連について疫学的に解析する。すなわち、まず、Y染色体上のSNPをカタログ化し、肥満に関係した領域を特定する。そのために、Y染色体上のSNPを探索して得ら

れたSNPを使って肥満の関連解析を行う。さらに、候補領域を狭めると共に、領域内に存在する候補遺伝子cDNAについてSNPのカタログ化を行い、肥満や高血圧との関連を分子疫学的に解析する。

#### ⑤ トリプレットリピートの伸長と関連するゲノム多型の同定(徳島大学ゲノム機能研究センター)

1991年にCGGとCAGリピートの伸長によって引き起こされることが証明されて以来、多くのヒトの遺伝病が同様の単純なトリプレットリピートの伸長の結果起こることが明らかとなってきた。しかし、トリプレットリピートの伸長機構は殆ど理解されておらず、トリプレット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“滑りやすさ(slippage)”を促進し、その結果、特定の遺伝子内のトリプレットリピートの伸長を促すと考えられているものの、まだ不明の点が多い。本研究ではCGGリピートの伸長に関連するゲノム多型の同定を試み、種々の疾患におけるFMR1座位、特にCGGリピート近傍のSNPをMF-PCR-SSCPならびに直接DNA配列決定により収集する。検出されたSNPの意義を患者群と健常者群におけるSNPの頻度の偏り、すなわち、関連解析により詳細に検討して、最終的にありふれた疾患とトリプレットリピートとの関係を明らかにする。

#### (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関連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（厚生労働省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。

#### ③ 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（厚生労働省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うことで明らかに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。

#### ④ 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. 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	
(2) 各種疾患患者のゲノム情報の収集					
① 高血圧症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	
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		連鎖解析・不平衡解析	
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	
④ 循環器疾患リスクファクターとしての肥満に関する遺伝疫学的研究		Y染色体の多様性の評価		関連解析	
⑤ トリプレットリピートの伸長と関連するゲノム多型の同定		CGG リピートの多様性の評価		関連解析	
(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	189百万円	231百万円	

#### 4. 平成14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 日本人 SNP の収集とその特徴を利用した循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした多型解析（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、循環器疾患感受性遺伝子候補として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50種以上のそれぞれについて、MF-PCR-SSCP解析ならびにdHPLC解析により、翻訳領域、プロモーター領域についてこれまで行ったSNPの収集を継続し、順次、周辺領域に検索を進める。同時に公的データベースも活用し、日本人SNP情報について活用可能な情報源としての情報リソースの確立をめざす。この際、SNPの位置情報ばかりでなく頻度情報さらに個々のSNP間の連鎖不平衡についても検討し、SNPハプロタイプ解析が行える日本人ゲノム多型情報を収集する。こうしたゲノム多型情報解析とともに、得られた情報を元に、循環器病モデル疾患についてハプロタイプ解析など新しい手法に基づく相関解析をおこなう。日本人ゲノム多型情報の利用・応用・活用については国立循環器病センター、徳島大学、東京女子医科大学などの共同研究者とともに進め、効率良い解析手法を案出し、検証しながら、疾患感受性遺伝子にせまる。

② 日本人 SNP の収集とその特徴を利用した代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした多型解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

昨年度までに引き続き、代謝性疾患の疾患感受性遺伝子の探索のため、日本人SNPの収集と多型解析を行うが、今年度はI期の成果の活用、公開データベースの活用の上に新規日本人SNPなど多型情報の集積と検証を行い、情報基盤の整備を続行し、以下の4項目について事業を行う。すなわち、1.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同定に関する解析、2.プリン合成律速酵素群の日本人におけるSNP解析、3.慢性関節リウマチの罹患同胞対解析による疾患感受性遺伝子座位の特定、4.糖尿病発症マウスのQTL解析による疾患感受性候補遺伝子座位の特定について研究を進め、これらの検討に基づき代謝性疾患の疾患感受性遺伝子の解明にせまる。候補遺伝子の選別にはモデル動物より新規に得られる候補遺伝子（領域）や機能解析も積極的に活用し、効率よく目的の疾患感受性遺伝子に達することをめざす。

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の多型解析（徳島大学医学部）

Y染色体上のSNPsを用いてY染色体ハプロタイプを構築し、同時に各ハプロタイプで特徴的なY染色体の構造を

明らかにすることで、ハプロタイプ特異的な構造上の違いと、男性の体格指標との関連、さらに代謝疾患発症リスク因子を探る。今年度はY染色体上の個々の遺伝子のエクソンにプライマーを設定し、DHPLC法を中心とした方法によってSNPsの収集を行う。見出されたSNPsについては発現実験等により、その生物学的意味を探る。また、Y染色体の場合、SNPs以外にサザンブロット法によって見出される、大きな領域の塩基配列の欠失や挿入が多様性を多く生み出していると考えられるので、これまでに見いだされたY染色体ハプロタイプとY染色体構造の特徴を対応させることにより、ハプロタイプごとのY染色体の構造上の特徴を見出す。

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ゲノム多型の解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

トリプレットリピート病は脆弱X症候群に代表され、この疾患はその発症頻度において人種によりほとんど差が認められていない。脆弱X症候群は、X染色体長腕末端の脆弱部位に存在する遺伝子FMR1の5'非翻訳領域中に存在するトリプレットリピート(CGG)<sub>n</sub>の伸長が原因であることが判明している。このCGGリピートは多型を示し、リピート数は通常5~50の間に安定にするが、リピート数が60~200の場合は不安定で、次の世代に伝えられる時にリピートが伸長する傾向が見られ、この状態を前変異(pre-mutation)と呼ぶ。前変異状態のリピートが伸長し、次の世代でリピート数が200以上に増幅した場合に脆弱X症候群の症状を示す。女性が前変異を子供に伝える場合のみ、CGGリピートの大きな伸長(200以上、時には1,000以上)が見られる。諸外国では、前変異アリルを持つキャリアーの頻度が約300人に一人であると見積もられる。日本では、脆弱X症候群の頻度は極めて低いため、この頻度がFMR1前変異アリルを持つキャリアーの頻度を反映したものであるか否かをPCR法を用いて検定し、さらに、リピートの伸長と相関のあるSNPsの同定も試み、疾患要因としてのゲノム多型を検討する。

###### (2) 各種疾患における病因解析

① 血管調節障害に基づく疾患の患者ゲノム多型による病因解析（厚生労働省国立循環器病センター）

血管調節障害に基づく疾患において多型情報を有効な解析手法で検討して疾患感受性遺伝子にせまる。その際に対象とする候補遺伝子の選別には動物モデルを活用する。すなわち、動物モデルラットにおいて、血圧調節に関与する遺伝子群を網羅的に記述し、その中から高血圧素因遺伝子候補と考えられるものをヒトの疾患研究へ還元を用いることを目指す。患者検体については、その利用システムの効率化を計り、研究を効率良く推進する。

② 心不全を中心とした疾患の患者ゲノム多型による病因解析（厚生労働省国立循環器病センター）

特発性心筋症患者につきゲノム DNA を採取し、原因遺伝子変異ならびに関連遺伝子多型につき解析し、患者の重症度・予後との関連につき検討する。その他の心不全患者について疾患感受性に関わる候補遺伝子の解析、更に他の疾患感受性候補遺伝子につき順次解析を行う。また、抗心不全薬などの薬剤に対する反応性につき各遺伝子変異ならびに関連遺伝子多型との相関解析を行う。また、サルコメア蛋白遺伝子ならびに細胞骨格関連蛋白の遺伝子についても解析を行う。

③ リウマチ性疾患を中心とした疾患の患者ゲノム多型による病因解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

本年度は、患者臨床データベースの作成を行い、リウマチ性疾患家系のマイクロサテライト（MS）一次スクリーニングを終了し、確認作業をおこなう。ついで、患者家系の二次収集を開始し、目標として合計 80 家系程度をめざす。得られた疾患感受性候補領域について、領域内の他の MS, SNP を連鎖分析し、領域の特定を開始する。さらに、相関分析のためのランダムサンプルの収集を正常コントロールとともに開始し、患者 1,000 サンプル、コントロール 200 サンプルを次年度にかけて収集解析する予定とする。得られたサンプルをもとに、候補領域内の候補遺伝子、SNP を検討し、相関分析を開始する。

(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）

これまでの成果をふまえ、今年度はさらにゲノム多型情報を用いた解析に必要なプログラムの開発を進める。連鎖不平衡、またはハプロタイプ情報は SNP、マイクロサテライト座位での遺伝子型を含んだ、個人の遺伝情報の完全情報である。通常の遺伝子型情報、あるいは集団のハプロタイプ頻度情報は特定の遺伝子についてのすべての情報を抽出していない。従って、SNP、マイクロサテライト多型についての個人情報の解析が続くにつれ、その情報を完全に抽出した個人のディプロタイプ形、集団の連鎖不平衡の解析が進むと思われる。それらの解析のためには遺伝子型データを遺伝統計学的手法により解析するツールが多数必要であるので、そうしたツールなどを整備する。また、これらの解析法が妥当かどうかを検証するためのデータを遺伝子型解析により求め、ツールの有効性と妥当性を検討する。これらをもとに、実際に疾患関連遺伝子を特定するべく解析を進める。

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疾患感受性遺伝子の解析

① モデル動物を用いた心機能不全の疾患感受性遺伝子の機能解析（厚生労働省国立循環器病センター）

疾患モデル動物を用いて、心筋症の発症過程のごく初期に発現変化する遺伝子群を検出し、病態との関連性を解析

することによってヒト心筋症の発症機序や関連の疾患感受性候補遺伝子の同定を目指す。これまでに、心筋症ハムスター由来培養筋細胞の機能異常の検討から、疾患感受性候補遺伝子を同定し、それらを標的とする遺伝子操作マウスを作成しているが、このうち、非特異的カチオンチャネルの遺伝子操作マウスについて、さらに詳細な病態解析を行ないヒト心筋症との関連を明らかにする。また、他の遺伝子を標的とする遺伝子操作マウスの作成も行っており、これらについても同様な検討を行う。また、上述の心機能不全モデル遺伝子操作マウスを用い、発現変化する遺伝子の検索を行う。さらに、心筋症ハムスターの解析結果も合わせ、発現変化を示す遺伝子について、イオン代謝異常、細胞膜脆弱性などの細胞機能の検討を行ない、心機能不全と関連する可能性がある遺伝子について新たな遺伝子操作マウスの作成を開始する。

② モデル動物を用いた血管疾患の疾患感受性遺伝子の機能解析（厚生労働省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、このバランス異常による循環器疾患の発症と進展に関連する遺伝子を探索するために、遺伝子改変マウスをモデルに用いて解析することを目的とする。これまでに、血管障害を発症する PGI 合成酵素欠損マウスを用いた DNA チップ解析によって発現変動を示す遺伝子を見出したので、本年度は候補遺伝子のうち障害発症の初期に変動する遺伝子を RT-PCR 法で絞り込む。未知遺伝子については単離、解析を行う。PGI 合成酵素、TX 合成酵素、PGE 合成酵素遺伝子過剰発現マウス表現型の解析を引き続き行う。

③ モデル動物を用いた免疫疾患の疾患感受性遺伝子の機能解析（徳島大学ゲノム機能研究センター）

免疫系の異常をもたらすゲノム要因を網羅的に明らかにするために、小型魚類メダカを用いて胸腺 T リンパ球を対象にした変異体のゲノムワイドスクリーニングを行っている。すでにスクリーニングは全ゲノムの約 60 % をカバーし、胸腺形成あるいは胸腺内 T リンパ球分化に異常を示す変異体を約 20 発見した。現在、更なるスクリーニングを進めつつ、各変異体については交配によって責任ゲノム変異の純化を図り、相互異同の解析を進めている。得られた変異体については、まず鰓弓や甲状腺といった胸腺以外の形態異常を探索するとともに、造血異常の有無を解析する。また、興味深いものから順に、ポジショナルクローニング法およびゲノムライブラリ導入による変異救済法を用いて変異原因ゲノム領域のマッピングとクローニングを行う。これらの結果を免疫疾患発症の疾患感受性遺伝子解明に活用する。

## II 平成 14 年度における実施体制

研 究 項 目	担 当 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 日本人 SNP の収集とその特徴を利用した循環器疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした多型解析</p> <p>② 日本人 SNP の収集とその特徴を利用した代謝性疾患の疾患感受性候補遺伝子を中心とした多型解析</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ゲノム多型の解析</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多型による病因解析</p> <p>② 心不全を中心とした患者ゲノム多型による病因解析</p> <p>③ ウマチ性疾患を中心とした患者ゲノム多型による病因解析</p> <p>(3) ゲノム情報と臨床情報のデータベース化と</p> <p>2. 解析対象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を用いた疾患感受性遺伝子の解析</p> <p>① モデル動物を用いた心機能不全の疾患感受性遺伝子の機能解析</p> <p>② モデル動物を用いた血管疾患の疾患感受性遺伝子の機能解析</p> <p>③ モデル動物を用いた免疫疾患の疾患感受性遺伝子の機能解析</p> <p>3. 研究管理</p>	<p>厚生労働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>厚生労働省国立循環器病センター</p> <p>厚生労働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>東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター</p> <p>厚生労働省国立循環器病センター</p> <p>厚生労働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>厚生労働省国立循環器病センター</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>板 倉 光 夫</p> <p>鎌 谷 直 之</p> <p>重 川 宗 一</p> <p>横 山 知 永 子</p> <p>高 浜 洋 介</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 東京女子医科大学 膠原病リウマチ痛風センター 教授 厚生労働省 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	厚生労働省 国立循環器病センター 客員研究員 新潟大学 脳研究所 教授 ㈱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 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 厚生労働省 国立循環器病センター 部長 徳島大学 医学部 教授 厚生労働省 国立循環器病センター 部長