

エクソン全領域関連解析による心筋梗塞感受性遺伝子の同定と個別化予防システムの開発

山田芳司

三重大学生命科学研究支援センター ヒト機能ゲノミクス部門

【研究の背景】

2007 年以降の欧米を中心としたゲノム全領域関連解析 (GWAS) により生活習慣病の発症に関連する多数の一塩基多型 (SNP) が同定されたが、これらの SNPs はマイナーアリル頻度が比較的高い(5%以上) common SNPs であり、疾患感受性においてそれほど大きな影響を及ぼしていないことが明らかになった。例えば、一卵性・二卵生双生児の疫学研究から心筋梗塞の原因のうち遺伝要因が占める割合は 40~50%であることが知られているが、大規模な GWAS のメタアナリシスにより、GWAS で同定された SNPs では遺伝要因の 10%しか説明できないことが明らかになった。残りの説明できない遺伝要因は「失われた遺伝性」と呼ばれ、その原因として以下の点が考えられている。(1)今までの GWAS では、国際 HapMap 計画で報告されたマイナーアリル頻度が 5%以上の common SNPs を用いていたため、アリル頻度が低く効果の大きい SNPs を見逃していた。(2)遺伝子間の相互作用および遺伝因子と環境因子の相互作用が検討されていなかった。(3)DNA のメチル化やヒストンの修飾などのエピジェネティックスの要因が検討されていなかった。

このような観点から、次世代GWASではcommon SNPsだけでなく、アリル頻度が低く効果の大きい機能的SNPsを解析することが焦点となっている。そのためには、ヒトゲノムの全エクソンに位置する機能的SNPsを搭載したエクソームアレイを用いて解析する手法が有効である。エクソームアレイは、エクソン全領域に存在する非同義置換SNPs(アミノ酸の置換を伴うSNPs)に加え、スプライシング部位、ストップコドン部位およびプロモーター領域などに位置する機能的SNPsを含み、common SNPsだけでなくアリル頻度が低いSNPsも解析することができる。このエクソームアレイを用いることにより、大規模集団におけるエクソン全領域関連解析を効率的に行なうことができる。

著者は、循環器疾患をはじめとする種々の生活習慣病の発症・進展や重症度との関連が強い疾患感受性遺伝子の SNPs を特定し、病態における役割を分子レベルで解明することにより、疾患の新しい個別化予防・治療法を開発することを目的として研究を行なっている。多施設共同研究により、脳梗塞(参考文献 1)、心筋梗塞(参考文献 2)、慢性腎臓病(参考文献 3)に関して、日本人集団において common SNPs を用いた GWAS を行い、各疾患に強く関連する SNPs を発見した。

【目的】

心筋梗塞 2,000 例、対照 9,000 例においてエクソームアレイを用いたエクソン全領域関連解析を行ない、心筋梗塞の発症に強く関連する「効果の大きい新規の機能的 SNPs」を同定し、年齢、性別、既知の危険因子(高血圧・糖尿病・脂質異常症・慢性腎臓病・肥満・メタボリックシンドローム)および環境因子(喫煙、飲酒、運動、食習慣、ストレス)を加えたデータベースを構築することにより、心筋梗塞に関して精度の高い「個別化予防システム」を開発する。

【方法】

(1) エクソン全領域関連解析による心筋梗塞感受性遺伝子の同定

心筋梗塞 2,000 例、対照 9,000 例のゲノム DNA について、エクソームアレイ(HumanExome-12 v1.2 DNA Analysis BeadChip、イルミナ社)およびマイクロアレイスキャナー(iScan、イルミナ社)を用いて Infinium genotyping 法により SNPs 解析を行なう。このエクソームアレイは、ゲノム全領域の 25 万以上のエクソン領域に存在する SNPs を対象としており、1,000 人ゲノムプロジェクトをはじめとする多くの全エクソームシークエンシング研究により同定された 242,901 個の SNPs を解析することが

できる。その中には約 22 万個の nonsynonymous SNPs(アミノ酸の置換を伴う SNPs)に加え、スプライシング部位、ストップコドン部位およびプロモーター領域などに位置する機能的 SNPs を対象としており、アリル頻度が低い SNPs や rare variant を含んでいる。このエクソームアレイを用いてエクソン全領域関連解析を行ない、心筋梗塞感受性遺伝子および機能的 SNPs を同定する。特定された SNPs が日本人の集団においてどの程度の頻度で存在し、心筋梗塞の発症にどれだけの寄与度があるのかを明らかにする。

(2) 心筋梗塞の個別化予防システムの開発

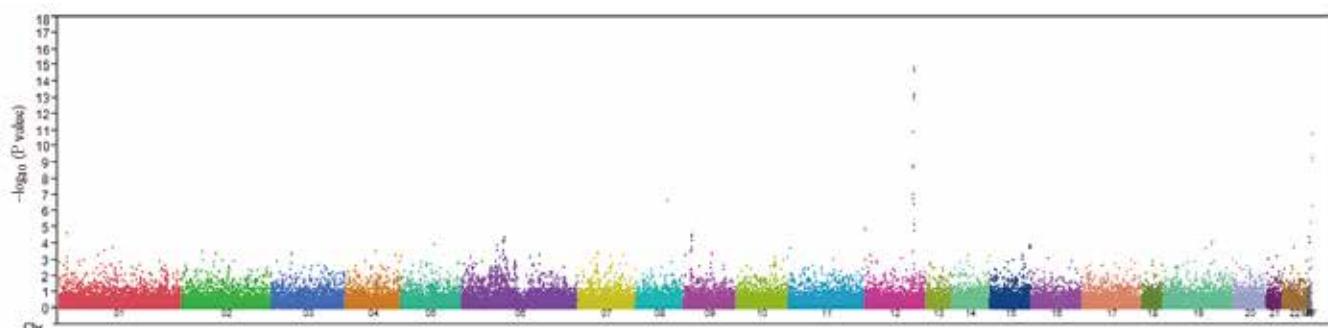
心筋梗塞の発症に関連する SNPs に加え、年齢、性別、既知の危険因子(高血圧・糖尿病・脂質異常症・慢性腎臓病・肥満・メタボリックシンドローム)および環境因子(喫煙、飲酒、運動、食習慣、ストレス)を包括した個別化予防システムを開発し、実用化する。さらに、それぞれの生活習慣病の発症における遺伝子間の相互作用および遺伝因子と環境要因の相互作用について解析し、その情報を個別化予防システムに導入する。本研究では、11,000 例において全エクソンに存在する 242,901 個の SNPs(約 27 億個の SNPs 情報)および多数の臨床・疫学データで構成する医学的「ビッグデータ」を解析し、科学的エビデンスに基づいて個別化予防システムを開発する。本システムでは、心筋梗塞を発症するリスク、ならびに発症リスクにおける各 SNP およびその他の因子の寄与率を算出する。本システムにより、心筋梗塞に関する個人の発症リスクを予測し、遺伝因子以外の治療・改善可能な因子に関して「生活習慣の改善あるいは治療によりどの危険因子を改善・除去すればどれだけ発症リスクが減少するか」についても予測する。健診センターや病院、クリニックにおいて、希望者に対し発症リスクを予測し、結果について医師あるいは遺伝カウンセラーによるカウンセリングを行う。リスクが高い場合には生活習慣の改善や、危険因子の早期治療を行うことにより心筋梗塞・冠動脈疾患の予防を積極的に推進する。特に心筋梗塞・冠動脈疾患に家族歴のある人々への適用が有効である。

【結 果】

平成 27 年 9 月までに、合計 6,742 例のエクソームアレイ解析を行ない、SNPs 情報および臨床情報をデータベース化した。平成 28 年度末までに全対象 11,000 例の SNPs 情報および臨床情報をデータベース化し、エクソン全領域関連解析により心筋梗塞感受性遺伝子と SNPs を特定する予定である。平成 29~30 年度に心筋梗塞に関する遺伝因子・臨床情報を包括したリスク予測モデルを構築し、個別化予防システムを開発する。

心筋梗塞のエクソン全領域関連解析の途中経過を図 1 に示す。12 番染色体に心筋梗塞発症に強く関連する領域が認められる。

図 1. 心筋梗塞のエクソン全領域関連解析(心筋梗塞 1,764 例・対照 1,022 例)



【考 察】

本研究の特色は、(1)大規模集団においてエクソン全領域関連解析により、医学的「ビッグデータ」から心筋梗塞の発症に関連する SNPs を同定し、(2)SNPs および年齢、性別、既知の危険因子、環境因子などの情報を用いて心筋梗塞の個別化予防システムを開発し、「健康長寿と活力ある社会づくり」の推進に貢献する点にある。

本研究では、心筋梗塞感受性遺伝子群および機能的 SNPs を同定し、年齢、性別、臨床情報、生活習慣を包括した個別化予防システムを開発し、実用化を目指している。11,000 例において全エクソンに存在する 242,901 個の SNPs および多数の臨床情報・生活習慣情報で構成する医学的「ビッグデータ」を解析し、科学的エビデンスに基づいて精度・信頼性の高い個別化予防システムを開発する。本システムにより、心筋梗塞に関する個人の発症リスクを予測し、遺伝要因以外の治療・改善可能な因子に関して「生活習慣の改善あるいは治療によりどの危険因子を改善・除去すればどれだけ発症リスクが減少するか」についても予測する。健診センターや病院、クリニックにおいて、希望者に対し発症リスクを予測し、結果について医師あるいは遺伝カウンセラーによるカウンセリングを行う。リスクが高い場合には生活習慣の改善や、危険因子の早期治療を行うことにより心筋梗塞の予防を積極的に推進する。特にそれぞれの生活習慣病に家族歴のある人々への適用が有効である。本システムを用いて心筋梗塞の個別化予防をすることにより、高齢者の健康長寿・生活の質の向上・ねたきり防止への貢献が期待できる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

心筋梗塞について、高血圧・糖尿病・脂質異常症・慢性腎臓病・肥満・メタボリックシンドロームなどの既知の危険因子だけでなく、遺伝因子や生活習慣などの環境要因を包括する「個別化予防システム」を開発することにより、より有効な予防法を確立することができる。本システムを用いて心筋梗塞・冠動脈疾患の個別化予防を行なうことにより、中高年者の健康維持・健康長寿・生活の質の向上・ねたきり防止への貢献が期待できる。高齢化社会を迎えたわが国では冠動脈疾患の患者数は今後さらに増加することが予想されるため、その予防対策は急務である。本研究は、国民一人ひとりが生涯にわたり元気で活動できる「健康長寿と活力ある社会づくり」の推進に貢献できる点に臨床的な意義がある。

【参考・引用文献】

- Yamada Y, Fuku N, Tanaka M, Aoyagi Y, Sawabe M, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Kato K, Watanabe S, Nozawa Y, Hasegawa A, Kojima T. Identification of CELSR1 as a susceptibility gene for ischemic stroke in Japanese individuals by a genome-wide association study. *Atherosclerosis* 207:144-149, 2009.
- Yamada Y, Nishida T, Ichihara S, Sawabe M, Fuku N, Nishigaki Y, Aoyagi Y, Tanaka M, Fujiwara Y, Yoshida H, Shinkai S, Satoh K, Kato K, Fujimaki T, Yokoi K, Oguri M, Yoshida T, Watanabe S, Nozawa Y, Hasegawa A, Kojima T, Han B-G, Ahn Y, Lee M, Shin D-J, Lee JH, Jang Y. Association of a polymorphism of BTN2A1 with myocardial infarction in East Asian populations. *Atherosclerosis* 215:145-152, 2011.
- Yamada Y, Nishida T, Ichihara S, Kato K, Fujimaki T, Oguri M, Horibe H, Watanabe S, Satoh K, Aoyagi Y, Fukuda M, Sawabe M. Identification of 3q28 and ALPK1 as susceptibility loci for chronic kidney disease in Japanese individuals by a genome-wide association study. *J Med Genet* 50:410-418, 2013.