

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: sub-common diseaseの感受性遺伝子同定と個人型易罹患性診断への応用

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者: 井ノ上 逸朗(東海大学総合医学研究所 所長・教授)

主たる共同研究者:

羽田明(千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学 教授)

小島俊男((独)理化学研究所基幹研究所先端計算科学研究領域 チームリーダー)

3. 研究内容及び成果

個々人に合った医療、テーラーメイド医療、を実現するためには、個人における病気の原因を確実に突き止め、それに伴う病態を理解把握し、個々人の違いに基づいた治療法、予防法をおこなう必要がある。病気に強弱はあれ遺伝要因が関与することはよく認識されている。またヒトゲノムに存在する遺伝子多型は個々人を規定しているといっている。すなわち個人の遺伝子多型と病気を繋げることにより、個々人の異なる病態まで検討できることとなる。本研究ではありふれた疾患ではあるものの比較的遺伝背景の強いsub-common diseaseの感受性遺伝子同定を目指した。多因子疾患においてひとつの遺伝要因の効果は小さいと予測でき、複数の遺伝要因がどのように疾患発症に関与するか、遺伝子間相互作用かつ遺伝子/環境要因相互作用を検出する手法を開発する必要があった。

本研究で対象とする疾患は脳動脈瘤、男性不妊症、家族性甲状腺癌である。それぞれに疾患の特徴や研究環境状況を考慮しつつ、疾患遺伝子多型同定を目指した。また個々人の罹患予測や健康保持のための、遺伝要因と生活習慣を組み合わせた予測プログラム作成も試みた。脳動脈瘤と男性不妊症は井ノ上チームが担当、家族性甲状腺癌研究は小島チームが担当し、羽田チームは患者DNA収集、臨床情報収集かつ取りまとめなどで全体計画に参画した。

### 脳動脈瘤感受性遺伝子同定(井ノ上チーム)

くも膜下出血の原因である脳動脈瘤の発症に関連する遺伝子同定を目指した。ゲノム全域SNPタイピングプラットフォームが整備されてきたので、Illumina HumanHap300 BeadChipを用いたゲノム全域アソシエーション・スタディへと解析手法を転換した。SNPデータについては厳格、厳密な品質管理をおこない、タイピング精度の管理は当然として、日本人の不均一性を見だしメジャーな集団から遊離している検体は排除した。日本人脳動脈瘤患者300例、対照200例でアソシエーション・スタディをおこない日本人で有意となるSNPは同定できた。さらにYale大学Gunnel教授との共同研究で、フィンランド、オランダ検体において(患者2,200例、対照8,000例)、集団の階層化を排除したうえでアソシエーション・スタディをおこない、3カ所、2、8、9番染色体のSNPにおいてP値で $10^{-9}$ を超える有意差を認め、脳動脈瘤感受性遺伝子領域を特定できた(Nat Genet 2008)。有意差を認めたSNP近傍に存在する遺伝子はSOX17、CDKN2Aで今後病態との関連を精査する必要がある。

### 男性不妊症(非閉塞性無精子症)のゲノム解析(井ノ上チーム)

男性不妊症の原因として、精子形成過程に異常をきたしている非閉塞性無精子症を主な研究対象とした。非閉塞性無精子症においてこれまでY染色体の欠失などが報告されているもののほとんどは特発性であり原因不明である。非閉塞性無精子症といっても臨床型は単一でなく、精子形成の段階ごとに異常が知られ、セトリ細胞の有無、精祖細胞、精母細胞、精子細胞、精子といった分化過程の段階における異常などで病的に分類されている(Johnsen score)。本研究では精巣組織の遺伝発現プロファイルから非閉塞性無精子症の分子解剖

的分類を試みた。また病理的な分類がなされているものを、教師なし情報で非負値行列因数分解法にて分類を試みたところ、Johnsen score の低い重症型がふたつに分類され、そのサブグループは血中 LH、FSH レベルに差があった。これら分類を特徴づける遺伝子を候補としてアソシエーション・スタディをおこなったところ、ART3 遺伝子 SNP において有意な関連を認めた (PLoS Genetics 2008)。ART3 は ADP-ribosyl transferase のファミリー遺伝子で標的タンパク質の ADP リボシル化により機能不活化に関連する。現在のところ ART3 の酵素活性は確認できておらず、非閉塞性無精子症への機能的関与も不明なので、今後の検討課題である。

#### 家族性甲状腺癌の解析(小島チーム)

甲状腺乳頭癌は、最も高頻度で発生する内分泌系の悪性腫瘍である。全甲状腺癌の約 80% を占め、男性と比較して女性の発症率が高い、という特徴を持つ。女性における癌発症率は、他のあらゆる種類の悪性腫瘍と比べて急激に増加しており、韓国の 2005 年の統計によると、女性の発症率は乳癌を抜いて甲状腺癌が 1 番高かった。

人口の 5-10% に一生の間に臨床的に問題となる甲状腺腫瘍が発生するため、良性腫瘍と悪性腫瘍の判別は非常に重要である。しかしながら、現在使用可能な診断ツールは必ずしも信頼性が高くない。近年、甲状腺乳頭癌は固形腫瘍の分子病因学において重要な研究対象となり、MAPK パスウェイの異常活性化などが明らかにされてきたが、一般的な甲状腺癌での感受性遺伝子は同定されていない。

本研究では、家族性甲状腺乳頭癌のゲノム全域罹患同胞対連鎖解析により、8 番染色体に連鎖領域を認めた。この領域については、今後、次世代シーケンサーを用いたターゲット領域リシーケンスにより効率的なスクリーニングを目指す予定である。また、候補遺伝子変異スクリーニング解析により、甲状腺癌患者でミスセンス変異が集積する MAPK パスウェイ上の遺伝子を同定した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

本研究では、ありふれた疾患ではあるが比較的遺伝背景の強い、脳動脈瘤、男性不妊症、家族性甲状腺癌等の疾患の感受性遺伝子同定を行い、それに伴う病態を明らかにすることでテーラーメイド医療に貢献することを目指した。

くも膜下出血の原因となる脳動脈瘤の感受性遺伝子同定では、ゲノム全域アソシエーションスタディ (GWAS) で、まず日本人サンプルから有意な SNPs を同定後、フィンランド、オランダの多数の検体 (患者 2,200 例、対照 8,000 例) を用いた Yale 大学との共同研究で、2、8、9 番染色体上に強い有意差を有する遺伝子多型を世界に先駆けて同定した。有意差を認めた SNPs の近傍には、SOX17 遺伝子、CDKN2A 遺伝子が存在する。男性不妊症 (非閉塞性無精子症) の検討においては、患者精巣組織の遺伝子発現プロファイルと候補遺伝子解析から、ART3 遺伝子を非閉塞性無精子症の感受性遺伝子として初めて同定した。また、家族性甲状腺癌の解析では、候補遺伝子の変異スクリーニングからミスセンス変異が蓄積する MAPK パスウェイ上の遺伝子が同定されている。

これらの研究成果は、80 編の原著論文 (及び 62 件の口頭及びポスター発表) として発表されている。当初計画で設定した研究課題において、それぞれ確度の高い遺伝子同定に成功し、また、因子間相互作用の検出方法、健康予測システム開発におけるプログラム開発等の技術開発においても一定の成果を挙げたことは、高く評価できる。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

くも膜下出血はその殆どが脳動脈瘤の破裂が原因で発症する、致死率が高く、かつ働き盛りを襲うため社会

的損失も大きい疾患である。また、少子化対策は日本の喫緊の課題であり、甲状腺癌は女性の発症率が高い急激に増加しつつある内分泌系の悪性腫瘍である。本研究では研究の対象としたこれらの疾患の感受性遺伝子を種々の手法を用いて同定することができた。特に、脳動脈瘤及び非閉塞性無精子症の感受性遺伝子同定の報告は世界初であり、国際的にも評価されるインパクトのある成果である。脳動脈瘤研究では、喫煙等の生活習慣と発症との関わりを解明、脳動脈瘤の破裂に関わる遺伝要因の解明等への取り組みが既に始まっている。いずれの疾病においても、発症機序の解明へと進み、早期にテーラーメイド医療に貢献することを期待したい。

#### 4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

本研究の成果は、甲状腺癌の感受性遺伝子同定を含め、これらの疾患の病因解明と臨床応用(診断、予防、治療)への道を拓く成果であると高く評価する。

以上