

学内グラント 報告書

平成21-22年度 学内グラント終了時報告書

全ゲノム SNP 解析を用いた
日本人由来サルコイドーシス関連遺伝子の同定

研究代表者 田中 知明(大学病院 呼吸器内科)

緒 言

サルコイドーシス(以下サ症)は地域特異的に患者が発生することで知られており、症状は人種および民族的背景によって大きく異なる疾患である。日本におけるサ症は、罹患率は女性が多く、また地域として北海道に多いことが知られている(びまん性肺疾患に関する調査研究班 サルコイドーシス疾患の手引き-2006)。また欧米と異なり日本人には肺サ症患者が多く、いまだ原因は不明であるため、根治療法は存在していない。また、日本のサ症について、欧米各国と比べ発症率および有病率も低いとされている(森本ら 2004年サルコイドーシス疫学調査)ことから、日本人サ症の疾患因子は、海外症例とは異なることが強く示唆されている。

日本人サ症患者の遺伝的疾患素因は、海外症例の原因遺伝子との関連性は低いと考えられ、日本人サ症患者特異的かつ効率に集積した単一もしくはごく少数の遺伝子による疾患モデルが想定される。この原因遺伝子が特定されれば、発症の原因となる危険因子の有無を想定できる。

そこで本研究は、疾患となる遺伝因子が、強い連鎖不平衡の影響を受け、かつそれらは同祖由来であると考えられる、特定地域に多発している日本人サ症患者を対象とし、同祖由来遺伝子からサ症の責任遺伝子を同定することを目的とし、ゲノムワイドでの単塩基多型(SNP)およびコピー数多型(CNV)データを集積し、解析を行った。

当初の計画予定とは異なり、患者群のみのデータ解析だけでなく、特定地域由来のコントロール群との比較検討を行う事になり、追加でデータを収集したため、解析がまだ未完了である。よって、現在の解析経過を報告する。

材料と方法

解析に使用したDNAは、共同研究先である旭川医

科大学呼吸器内科 大崎能伸教授および黒田光医師の元、旭川医科大学倫理委員会に提出されたプロトコルを基にインフォームドコンセントを得られた患者からの検体を収集したものを使用した。

SNP解析およびCNV解析は、Genome-Wide Human SNP Array 6.0(Affymetrix社, USA)を用いた。解析依頼施設として AROS Biotechnology A/S社(Denmark)に依頼した。

試験期間中(平成21~22年度)に、患者群150例およびコントロール群100例のGeneChip解析を施行した。

結 果

実験当初に得られた患者群のみ80例のGenechip解析データを用い、Genotyping console(Affymetrix社)にてデータ解析を行った所、サ症患者群にコピー数減少領域(3q26)が存在する事が明らかとなった。また、同領域以外にも別の染色体上に幾つかのコピー数増加領域の存在や(4q28, 9p23等)、幾つかの共通LOH領域が存在する事が分かった。さらに、これらの結果から3~4の患者グループが存在する可能性が示唆され、患者群に特異的なコピー数多型が存在する可能性が示唆された(data not shown)。

引き続き、追加で得られた患者群およびコントロール群のGeneChip解析データの収集を行い、HH-analysis(ホモ接合ハプロタイプ法解析プログラム; Miyazawa, et al. Am J Hum Genet 2007;80:1090-102.)にて現在解析を施行中である。患者群80例のみで行った予備解析の結果から、一部の患者群に共通のホモ接合領域が存在する可能性があるデータを得ている(data not shown)。

現在は、追加で収集および解析を行った同地域由来コントロール群のGeneChipデータも集積したため、これらコントロール群と疾患群との直接比較することで、より精度の高い解析結果を得る事を想定し、解析を継続中である。

考 察

本研究では、サ症患者由来のDNAより全ゲノム SNP 情報の収集を目的として、得られた Genechip 情報を基に、Genome Wide な解析を行った。同患者群は、特定地域由来のグループであり、同時に同地域由来のコントロール群の全ゲノム SNP 情報の収集も行っている。

同一疾患および同地域由来から得られた検体を解析した結果、コピー数多型の情報から、患者群内で数グループが存在する可能性が考えられた。この結果から、疾患関連遺伝子が単一でない可能性も考えられるが、現在詳細を検討中である。

海外症例において、サ症との関連遺伝子として報告されている、ドイツ人サ症症例の原因遺伝子として特定されたChromosome 10上の*ANXA11*遺伝子

(Hofmann, et al. Nat Genet 2008;40:1103-6) およびアフリカーアメリカ人サ症症例のChromosome 5上の*BTNL2* 遺伝子 (Rybicki BA, et al. Am.J.Hum.Genet 2005;77:491-9) のそれぞれの遺伝子領域と日本人由来サ症患者との関連性についても現在検討中である。

引き続き現在も継続して検体およびデータ集積と解析を継続して行っている。

研究成果リスト

- 1) Huqun, Fukuyama S, Morino H, Miyazawa H, Tanaka T, Suzuki T, et al. A quantitatively-modeled homozygosity mapping algorithm, qHomozygosityMapping, utilizing whole genome single nucleotide polymorphism genotyping data. BMC Bioinformatics 2010 Oct 15;11(Suppl 7):S5.