

■受領No.1323

## 縦断的エクソーム全領域関連解析による 新規生活習慣病感受性遺伝子の同定と機能解析

代表研究者

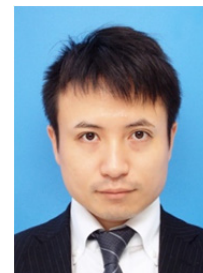
安河内彦輝

三重大学地域イノベーション推進機構 助教

共同研究者

山田芳司

三重大学地域イノベーション推進機構 教授



### 1. 研究の目的

本研究では、従来の横断的研究では検出が困難な新規の生活習慣病感受性遺伝子を同定することを目的とした。

### 2. 研究概要

近年、ゲノム全領域関連解析 (GWAS) やエクソーム全領域関連解析 (EWAS) といった大量の情報解析技術を駆使した研究が飛躍的に増え、様々な疾患感受性遺伝子が同定されている。しかし、多くは横断的な研究によるもので、のちに罹患する可能性のある対象を健常者とするなどの問題を考慮していない。そこで本研究では、三重県いなべ市のいなべ総合病院・健康管理センターで2003年-2014年に健康診断を受診した6026名の縦断的な測定データ (平均追跡期間5年) を用いて、生活習慣病に関わる表現型と約244,000多型マーカーとの関連を調査した。ここで、クオリティ・コントロールにより多型マーカー数は6022名の約24600一塩基多型 (SNP) に絞られた。統計学的有意性は一般化推定方程式 (GEE) により評価し、ボンフェローニ補正 ( $P < 2.3 \times 10^{-6}$ ) もしくはFalse discovery rate (FDR  $< 0.05$ ) 補正を適用した。縦断的EWASにより多くの関連SNPが検出されたのち、データベースの情報を用いて新規性を調査した。その結果、関連を示したSNPのうち、19のSNPは先行研究では報告されておらず、新規の疾患感受性遺伝子多型とした (表1)。同様の解析により、9

つのSNPが赤血球などの血液学的形質の関連マーカーとして新しく同定された。

#### 2.1 高血圧の縦断的 EWAS

まず着手したのは、高血圧の感受性遺伝子の探索である。高血圧罹患率と収縮期血圧、拡張期血圧の縦断データをもとに上述した手法を用いて解析した結果、7つのSNPが有意な関連を示した。そのうち、1つは新規の疾患感受性遺伝子 (*COL6A5*) として同定し、血管の弾力性への関与が示唆された。さらに、残りの6つは12番染色体上の12q24.11-q24.13に密集しており、強い連鎖不平衡 (LD) がみられた。LDが特に強い5つのSNPについてハプロタイプを推定したところ、すべてが東アジア特異的な対立遺伝子 (アレル) で構成されたハプロタイプは、共通ハプロタイプに比べて高血圧の罹患率が有意に低いことが示された ( $P < 2.2 \times 10^{-16}$ )。さらにこの東アジアハプロタイプは、喫煙による血圧を上昇させる効果に対して感受性が低いことを示唆した。これらの結果は、国際学術誌の「Experimental & Molecular Medicine」<sup>1)</sup>に掲載された。

#### 2.2 慢性腎臓病・高尿酸血症の縦断的 EWAS

疾患罹患率と推定糸球体濾過量、血清クレアチニン濃度、血清尿酸値の縦断データを用いたEWASにより、*CDC42BPG*遺伝子のrs55975541が高尿酸血症の新規感受性遺伝子多型として同定

**表 1.** 本研究で同定された新規の疾患感受性遺伝子(SNP)もしくは新規血液学的形質マーカー

表現型	SNP ID	アレル <sup>a</sup>	染色体位置 (GRCh38)	遺伝子座
収縮期血圧	rs11917356	G → A	3: 130391707	COL6A5
血清尿酸値	rs55975541	G → A	11: 64829729	CDC42BPG
二型糖尿病罹患率と空腹時血糖値	rs6414624	C → T	4: 5741785	EVC
二型糖尿病罹患率と空腹時血糖値	rs78338345	C → G	17: 75242428	GGA3
肥満指数 (男性のみ)	rs9491140	C → T	6: 124370091	NKAIN2
肥満指数 (男性のみ)	rs145848316	C → A	7: 152185587	KMT2C
肥満指数 (女性のみ)	rs7863248	T → C	9: 85693212	AGTPBP1
LDLコレステロール	rs34902660	C → A	6: 25850874	SLC17A3
LDLコレステロール	rs1042127	T → G	6: 31116393	CDSN
HDLコレステロール	rs925368	G → A	12: 109953174	TCHP
HDLコレステロール	rs74416240	A → G	12: 109904793	GIT2
HDLコレステロール	rs7969300	T → C	12: 111555908	ATXN2
HDLコレステロール	rs12231744	C → T	12: 112039251	NAA25
虚血性心疾患罹患率	rs4606855	G → C	19: 14658527	ADGRE3
虚血性心疾患罹患率	rs3746414	G → A	20: 52152840	ZFP64
虚血性心疾患罹患率	rs7132908	G → A	12: 49869365	FAIM2
脳梗塞心疾患罹患率	rs6580741	G → C	12: 50333923	FAM186A
脳梗塞心疾患罹患率	rs1324015	G → A	13: 43153713	LINC00400
脳梗塞心疾患罹患率	rs884205	G → T	18: 62387624	TNFRSF11A
赤血球数	rs4686683	C → A	3: 185589575	SENP2
平均赤血球容積	rs3917688	G → A	1: 169621842	SELP
白血球数	rs3133745	C → T	8: 95522578	C8orf37-AS1
好塩基球数	rs12338	G → C	8: 11853379	CTSB
好中球数	rs13121954	G → A	4: 147102677	4q31.2
好酸球数	rs7584099	G → A	2: 147720767	2q22.3
好酸球数	rs1579219	G → A	6: 30256528	HCG17
好酸球数	rs10757049	A → G	9: 19281503	DENND4C
単球数	rs395967	A → G	5: 38842857	OSMR-AS1

<sup>a</sup> メジャーアレル → マイナーアレル

された ( $P = 3.7 \times 10^{-12}$ )。

このSNPのマイナーアレルは、東アジア集団においてその頻度 (10–18%) が他の民族集団 (南アジアやヨーロッパ、アフリカ: 0–0.3%) に比べて高く、このSNPによる病気への感受性は東アジア特異的であることが示唆された。本解析結果は、国際学術誌の「Molecular Genetics and Genomics」<sup>2)</sup>に掲載された。

### 2.3 二型糖尿病の縦断的 EWAS

糖尿病罹患率、空腹時血糖値、ヘモグロビンA<sub>1c</sub>の縦断データを用いて解析を行なった結果、EVCとGGA3遺伝子のSNP (rs6414624とrs78338345) が新規の二型糖尿病遺伝子多型として同定された ( $P < 2.26 \times 10^{-7}$ )。このうちGGA3のSNPにおいて、マイナーアレルは東アジアでしかほとんど観察されず、東アジア特異的な感受性遺伝子であることが示唆された。これらの結果は、国際学術誌の「Genomics」<sup>3)</sup>に掲載された。

## 2.4 肥満・メタボリックシンドロームの縦断的 EWAS

本解析では、疾患罹患率と肥満指数 (BMI) のデータを用いて SNP との関連を GEE により調査した。その結果、3つの遺伝子 (*NKAIN2*, *KMT2C*, *AGTPBP1*) が新規の肥満感受性遺伝子と同定された (FDR < 0.05)。これらの遺伝子は主に神経症性障害に関わることが報告されており、精神疾患に関わる因子との相互作用が示唆された。本研究結果は、国際学術誌の「Physiological Genomics」<sup>4)</sup>に掲載された。

## 2.5 脂質異常症の縦断的 EWAS

脂質異常症罹患率と血清トリグリセリド、HDL コレステロール、LDL コレステロールの検査値を用いて脂質異常症の縦断的 EWAS を行なった。GEE による検定の結果、4つ (*TCHP*, *GIT2*, *ATXN2*, *NAA25*) と 2つの遺伝子 SNP (*SLC17A3*, *CDSN*) が、それぞれ低 HDL コレステロール血症と高 LDL コレステロール血症の新規感受性遺伝子多型として同定された ( $P < 2.03 \times 10^{-6}$ )。中でも *SLC17A3* の rs34902660 のマイナーアレル頻度は、日本集団とアフリカ集団でしかほとんど観察されず、日本集団で最近このアレルの頻度が増加したことが示唆された。本 EWAS の解析結果は、国際学術誌の「Genomics」<sup>5)</sup>に掲載された。

## 2.6 虚血性心疾患・脳梗塞の縦断的 EWAS

本解析により、それぞれ 3つ遺伝子の SNP を虚血性心疾患 (*ADGRE3*, *ZFP64*, *FAIM2*) と脳梗塞 (*FAM186A*, *LINC00400*, *TNFRSF11A*) の感受性遺伝子多型として新しく同定した (FDR < 0.05)。これらの遺伝子は主に免疫・炎症反応の調節に関与していた。本結果は、国際学術誌の「Biomedical Reports」<sup>6)</sup>に掲載された。

## 2.7 血液学的形質の縦断的 EWAS

本解析から 9つの遺伝子座 (*SEN2*、

*C8orf37-AS1*, *SELP*, 4q31.2, *CTSB*, *OSMR-AS1*, 2q22.3, *HCG17*, *DENND4C*) が新規関連マーカーとして同定された (FDR < 0.05)。中でも好中球と関連を示した *CTSB* 分子は好中球から放出されることが報告されており、結果と矛盾しない。同定遺伝子のいくつかはまだ機能が不明なものもあるが、*SELP* のように血液学的形質と関わりがある遺伝子も含まれている。本解析結果は、国際学術誌の「Physiological Genomics」<sup>7)</sup>に掲載された。

## 3. 発表 (研究成果の発表)

- 1) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y (2017) Longitudinal exome-wide association study to identify genetic susceptibility loci for hypertension in a Japanese population. *Experimental & Molecular Medicine*, 49(12): e40
- 2) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y (2018) Identification of *CDC42BPG* as a novel susceptibility locus for hyperuricemia in a Japanese population. *Molecular Genetics and Genomics*, 293: 371-379
- 3) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y (2018) Two novel susceptibility loci for type 2 diabetes mellitus identified by longitudinal exome-wide association studies in a Japanese population. *Genomics*. (Published online, <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.12.010>)
- 4) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y (2018) Identification of three genetic variants as novel susceptibility loci for body mass index in a Japanese population. *Physiological Genomics*, 50(3): 179-189
- 5) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K,

- Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y  
(2018) Identification of six novel susceptibility loci for dyslipidemia using longitudinal exome-wide association studies in a Japanese population. *Genomics*. (Published online, <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.05.015>)
- 6) Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y  
(2018) Six novel susceptibility loci for coronary artery disease and cerebral infarction identified by longitudinal exome-wide association studies in a Japanese population. Yasukochi Y, Sakuma J, Takeuchi I, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Yamada Y (2018) Identification of nine novel loci related to hematological traits in a Japanese population. *Physiological Genomics*. (Published online, <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00088.2017>)