

平成 30 年 5 月 19 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04772

研究課題名(和文) 縦断的エクソーム全領域関連解析による生活習慣病の個別化予防システムの開発

研究課題名(英文) Development of the personalized prevention system by longitudinal exome-wide association studies of common complex diseases

研究代表者

山田 芳司 (YAMADA, Yoshiji)

三重大学・地域イノベーション推進機構・教授

研究者番号：90333286

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：一般住民6048名において全エクソームに存在する242,901個の一塩基多型群および平均5年間の経時的疫学データを包括するデータベースを構築した。このデータを用いて縦断的エクソーム全領域関連解析を行ない、9種類の生活習慣病(高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、慢性腎臓病、肥満、メタボリックシンドローム、高尿酸血症、冠動脈疾患、脳梗塞)の発症に強く関連する遺伝子群および一塩基多型群を同定した。本研究成果を用いて高血圧、2型糖尿病、高中性脂肪血症、低HDLコレステロール血症、高LDLコレステロール血症、慢性腎臓病、肥満、メタボリックシンドローム、高尿酸血症、冠動脈疾患、脳梗塞の個別化予防に貢献する。

研究成果の概要(英文)：We developed database for 6048 community-dwelling individuals containing 242,901 single nucleotide polymorphisms and temporal epidemiological data. We then performed exome-wide association studies by the use of these data and identified various genes and polymorphisms that confer susceptibility to hypertension, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia, chronic kidney disease, obesity, metabolic syndrome, hyperuricemia, coronary artery disease, or ischemic stroke. Base on the results of the present study, we will contribute to personalized prevention of hypertension, type 2 diabetes mellitus, hypertriglyceridemia, hypo-HDL-cholesterolemia, hyper-LDL-cholesterolemia, chronic kidney disease, obesity, metabolic syndrome, hyperuricemia, coronary artery disease, and ischemic stroke in Japanese individuals.

研究分野：ゲノム疫学

キーワード：エクソーム全領域関連解析 冠動脈疾患 脂質異常症 糖尿病 慢性腎臓病 高尿酸血症 肥満 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

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5%以上の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発症原因のうち遺伝要因が占める割合は心筋梗塞では40~50%、2型糖尿病では50~60%と推定されているが、大規模なGWASのメタアナリシスにより、GWASで同定されたSNPsでは各疾患の遺伝要因の約10%しか説明できないことが明らかになった(Nat Genet 2013;45:25-33)。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(Nature 2009;461:747-53)、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SNPsを解析することが焦点となっている。さらに、単に疾患感受性のマーカーとなるSNPsではなく、疾患の病態に関与する機能的SNPsを特定することが重要である。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。エクソームアレイでは、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を対象としており、アリル頻度が5%以上のcommon SNPsに加え、rare variantを含むアリル頻度の低い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、大規模集団でエクソン全領域関連解析を効率良く行なうことが可能となる。

一方、common SNPsを用いたGWAS論文は日本人においても発表されているが、欧米の白人に比べると日本人のデータは少ない。さらに日本人を対象としたrare variantを含むエクソン全領域関連解析は未だ行われていない。日本人と白人・黒人では遺伝要因だけでなく食事などの生活習慣や環境要因が異なる。実際に欧米の白人で同定された疾患感受性遺伝子のSNPsの中には日本人には認められない

ものが多く含まれている。逆に日本人で特定された疾患感受性遺伝子のSNPsが欧米人では認められないこともある。このように、今までに行われた多くの疾患のGWASにおいて、欧米の白人や黒人と日本人との間で疾患感受性遺伝子が異なる例が多く認められ、また日本人固有の疾患感受性遺伝子が存在する可能性もあるため、日本人の疾患感受性遺伝子を特定するためには日本人の集団において探索することが必要不可欠である。

代表者は、三重県いなべ市のいなべ総合病院健康管理センターにおいて定期健診または人間ドックを受ける一般住民を対象とした縦断ゲノム疫学研究(いなべ健康長寿研究)を行っており、既に6048名を登録し、健診結果をデータベース化している。いなべ健康長寿研究に登録した6048名については、静脈血からDNAを抽出し、三重大学疾患ゲノム研究センターのDNAバンクに保管している。すべての対象者について、2003年4月から2014年3月までの11年間の健診データを検索し、この間の受診結果をデータベース化した。年間2回以上健診を受けている場合は1回のデータを使用し、全例年1回のデータで統一した。したがって、全対象者は1回~11回の健診を受けており、平均追跡期間は5年である。いなべ健康長寿研究では、健康な人々に加え、高血圧、2型糖尿病、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生活習慣病を有する症例が多数含まれるため、これらの疾患の発症に関連するSNPsを特定することが可能である。生活習慣病のcase-control studyにおいては、罹患率が年齢と共に増加するため、ある時期にcontrolであっても翌年にはcaseになる可能性がある。したがって、一時点のデータを用いた横断的解析に比べて5年間の経時的データを用いた縦断的エクソン全領域関連解析の方が統計解析力が高く、結果の精度も高いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、一般住民6048名においてエクソームアレイを用いた縦断的エクソーム全領域関連解析を行なうことにより9種類の主要な生活習慣病(高血圧・2型糖尿病・脂質異常症・慢性腎臓病・肥満・メタボリックシンドローム・高尿酸血症・冠動脈疾患・脳梗塞)の発症に強く関連する「効果の大きい新規の機能的SNPs」を同定することである。

3. 研究の方法

いなべ健康長寿研究の6048名において全エクソンに存在する242,901個のSNPs(約15億個のSNPs情報)および平均5年間の経時的疫学データを包括するデータベースを構築した。このデータベースを用いて縦断的

エクソーム全領域関連解析を行ない、高血圧、2型糖尿病、脂質異常症（高中性脂肪血症、低HDLコレステロール血症、高LDLコレステロール血症）、慢性腎臓病、肥満、メタボリックシンドローム、高尿酸血症、冠動脈疾患、脳梗塞の9疾患について疾患感受性遺伝子および機能的SNPsを同定した。

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、各疾患の発症にどれだけの寄与度（貢献度）があるのかを解析した。高血圧、2型糖尿病、脂質代謝異常（高中性脂肪血症、低HDLコレステロール血症、高LDLコレステロール血症）、慢性腎臓病、肥満、メタボリックシンドローム、高尿酸血症、冠動脈疾患、脳梗塞の発症の有無（カテゴリデータ）とSNPsとの関連は一般化推定方程式（generalized estimating equation）を用いた縦断的エクソーム全領域関連解析を行った。また収縮期・拡張期血圧、空腹時血糖値、血中ヘモグロビンA_{1c}値、血清中性脂肪・HDLコレステロール・LDLコレステロール値、血清クレアチニン値、糸球体濾過量推算値、肥満指数、ウエスト周囲径、血清尿酸値などの定量的データとSNPsとの関連は混合効果モデル（mixed effects model）を用いた縦断的エクソーム全領域関連解析を行った。統計解析は、R（The R Project for Statistical Computing）およびJMP Genomics（SAS Institute）を用いて行った。

4. 研究成果

一般住民6048名における平均5年間の健診データを用いて縦断的エクソーム全領域関連解析を行ない、罹患頻度の高い9種類の生活習慣病（高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、慢性腎臓病、肥満、メタボリックシンドローム、高尿酸血症、冠動脈疾患、脳梗塞）の発症に強く関連する遺伝子群およびSNPsを同定した。

高血圧の縦断的エクソーム全領域関連解析では、7個のSNPsが有意に高血圧に関連した。このうち6個のSNPsは染色体12q24.1に位置し、東アジア人に特有なハプロタイプ「CAAAA」を構成した。このハプロタイプ「CAAAA」を有する人は一般的なハプロタイプ「TGGGT」を有する人に比較して高血圧罹患の頻度が有意に低値であった。さらに、ハプロタイプ「CAAAA」を有する人は喫煙による高血圧発症の頻度が少ないことが明らかになった。また、縦断的エクソーム全領域関連解析により、COL6A5遺伝子のSNP（rs11917356）が収縮期血圧に有意に関連することを新たに見出した。

2型糖尿病の縦断的エクソーム全領域関連解析では、5個のSNPsが2型糖尿病と有意に関連した。このうちEVC遺伝子のSNP（rs6414624）およびGGA3遺伝子のSNP

（rs78338345）を2型糖尿病感受性遺伝子として新たに同定した。

肥満・メタボリックシンドロームの縦断的エクソーム全領域関連解析では、21個のSNPsが肥満指数に有意に関連し、5個のSNPsがメタボリックシンドロームの発症に関連した。これらのSNPsのうち16個は新規に発見したものであった。独立したコホートで再現性を検証したところ、NKAIN2遺伝子のSNP（rs9491140）、KMT2C遺伝子のSNP（rs145848316）およびAGTPBP1遺伝子のSNP（rs7863248）が肥満指数と有意に関連し、これらの遺伝子を肥満感受性遺伝子として新たに同定した。

慢性腎臓病・高尿酸血症の縦断的エクソーム全領域関連解析では、5個のSNPsが腎機能に有意に関連した。独立したコホートで再現性を検証したところ、CDC42BPG遺伝子のSNP（rs55975541）が血清尿酸値と有意に関連し、新規の高尿酸血症感受性遺伝子として同定した。

脂質異常症の縦断的エクソーム全領域関連解析では、82個のSNPsが高中性脂肪血症、低HDLコレステロール血症、高LDLコレステロール血症または血清中性脂肪・HDLコレステロール・LDLコレステロールと有意に関連した。このうちTCHP遺伝子のSNP（rs74416240）、GIT2遺伝子のSNP（rs925368）、ATXN2遺伝子のSNP（rs7969300）、NAA25遺伝子のSNP（rs12231744）を新規の低HDLコレステロール血症感受性遺伝子として、SLC17A3遺伝子のSNP（rs34902660）、CDSN遺伝子のSNP（rs1042127）を新規の高LDLコレステロール血症感受性遺伝子としてそれぞれ同定した。独立したコホートで再現性を検証したところすべてのSNPsにおいて関連が認められた。

冠動脈疾患および脳梗塞の縦断的エクソーム全領域関連解析では、ADGRE3遺伝子のSNP（rs4606855）、ZFP64遺伝子のSNP（rs3746414）、FAIM2遺伝子のSNP（rs7132908）が冠動脈疾患と有意に関連し、FAM186A遺伝子のSNP（rs6580741）、LINC00400のSNP（rs1324015）、TNFRSF11AのSNP（rs884205）が脳梗塞と有意に関連した。これらの6種類の遺伝子を冠動脈疾患または脳梗塞感受性遺伝子として新たに同定した。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計4件）

1. Yoshiki Yasukochi, Jun Sakuma, Ichiro Takeuchi, Kimihiko Kato, Mitsutoshi Oguri, Tetsuo Fujimaki, Hideki Horibe, Yoshiji Yamada. Two novel susceptibility loci for

type 2 diabetes mellitus identified by longitudinal exome-wide association studies in a Japanese population. Genomics 2018 (published online). 査読有

2. Yoshiki Yasukochi, Jun Sakuma, Ichiro Takeuchi, Kimihiko Kato, Mitsutoshi Oguri, Tetsuo Fujimaki, Hideki Horibe, Yoshiji Yamada. Identification of three genetic variants as novel susceptibility loci for body mass index in a Japanese population. Physiol Genomics 2018;50:179-189. 査読有
3. Yoshiki Yasukochi, Jun Sakuma, Ichiro Takeuchi, Kimihiko Kato, Mitsutoshi Oguri, Tetsuo Fujimaki, Hideki Horibe, Yoshiji Yamada. Identification of *CDC42BPG* as a novel susceptibility locus for hyperuricemia in a Japanese population. Mol Genet Genomics 2018;293:371-379. 査読有
4. Yoshiki Yasukochi, Jun Sakuma, Ichiro Takeuchi, Kimihiko Kato, Mitsutoshi Oguri, Tetsuo Fujimaki, Hideki Horibe, Yoshiji Yamada. Longitudinal exome-wide association study to identify genetic susceptibility loci for hypertension in a Japanese population. Exp Mol Med 2017;49:e409. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Yoshiki Yasuochi, Yoshiji Yamada. Identification of East Asian-specific genetic variants associated with hypertension by cross-sectional and longitudinal exome-wide association studies. Modernization and Health in the Asia-Pacific Region. Hilo, Hawaii, USA, August 19-20, 2016.
2. 安河内彦輝、山田芳司：横断的エクソーム全領域関連解析及び縦断的遺伝疫学解析により同定された高血圧に予防的な東アジア集団特異的ハプロタイプ 第74回日本生理人類学会大会、七尾、平成28年10月22-23日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 芳司 (YAMADA, Yoshiji)
三重大学・地域イノベーション推進機構・
教授
研究者番号：90333286

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

竹内 一郎 (Takeuchi, Ichiro)
名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：40335146

(4) 研究協力者

()