

厚生労働科学研究費補助金  
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

ゲノム網羅的疾患遺伝子探索に基づく  
疾病対策・創薬推進のための基盤的研究

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉田 輝彦

平成16（2004）年4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

ゲノム網羅的疾患遺伝子探索のための基盤的 SNP 解析と、がん対策・創薬推進の  
ための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析

吉田 輝彦 ----- 1

### II. 分担研究報告

1. 痴呆対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析に関する研究

金澤 一郎 ----- 7

2. 糖尿病対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析に関する研究

春日 雅人 ----- 8

3. 高血圧対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析に関する研究

三木 哲郎 ----- 10

4. 気管支喘息等免疫・アレルギー性疾患対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における  
遺伝子・診療情報解析に関する研究

斎藤 博久 ----- 12

5. ゲノム網羅的気管支喘息等免疫・アレルギー性疾患関連遺伝子探索のための基盤的 SNP 解析

玉利真由美 ----- 14

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 17

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

ゲノム網羅的疾患遺伝子探索に基づく疾病対策・創薬推進のための基盤的研究

主任研究者 吉田 輝彦 国立がんセンター研究所腫瘍ゲノム解析・情報研究部 部長

研究要旨 ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおいて推進される痴呆・がん・糖尿病・高血圧・喘息の疾患関連遺伝子探索の一部として、ゲノム全域に分布する、遺伝子周辺のSNP約10万箇所のスクリーニングが進められている。本研究はそのゲノム網羅的アプローチにおける二次スクリーニング部分を行う。本年度は、①二次スクリーニングの対象となる各疾患の症例群・対照群のDNA試料の調整、②二次スクリーニングの対象SNP選抜のための各疾患共通の条件式の設定、③一次スクリーニングに引き続き、理化学研究所と国立がんセンターに解析拠点を作り、一次スクリーニングと同一の技術を用いて行う二次スクリーニングのためのSNPタイピングの着手、④二次スクリーニングのタイピングデータの品質管理法の設定と、最初のデータの基礎統計解析、を行った。二次スクリーニングは次年度第3四半期に終了する予定で、本研究の成果は各疾患サブチームにおける診療情報等を加味した高度解析や遺伝子機能解析等と組み合わせられて、従来の研究戦略では同定できなかったような新しい疾患関連遺伝子の同定につながることを期待される。

#### A. 研究目的

本研究では、ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおいて推進される痴呆・がん・糖尿病・高血圧・喘息の疾患関連遺伝子研究の一部として、ゲノム全域に分布する、遺伝子周辺のSNPのタイピングを行い、関連解析に必要な遺伝子解析データ及び診療情報の集計・データベース化・それらの情報の基礎的解析を行う。ゲノム解析技術が長足の進歩を遂げ、ヒトゲノムの全塩基配列の解読終了が宣言されたポスト・シーケンズ時代においては、個人の遺伝因子、生活習慣・環境因子の多様性を的確に捕捉し、個人に最も適した予防・診断・治療を実現するオーダーメイド医療の確立が医学の最大の課題の一つとなっており、ゲノム関連生命科学に基づく創薬とあわせて国際的にも激しい研究競争が展開されている。我が国においては、ミレニアム・ゲノム・プロジェクトが5カ年計画として平成12年度から開始され、「疾患遺伝子プロジェクトチーム」により、疾患の頻度や重篤度等の観点から厚生労働行政上重要性・緊急性が高い上記5疾患を標的とした研究事業が推進されている。これらの疾患関連遺伝子の探索においては、ヒト遺伝子の約半数については機能がわかっておらず、残りの半数についても従来の知見はしばしば断片的であることから、個々の研究者の発

想に基づく仮説検証型の候補遺伝子アプローチと並行し、それを補完する方法論として、ゲノム・遺伝子網羅的に統計学手法を用いて相関解析を行う戦略を展開することが必要である。本研究はそのゲノム網羅的アプローチにおける二次スクリーニングの部分について、①二次スクリーニングの対象となる各疾患の症例群・対照群のDNA試料の調整、②二次スクリーニングの対象SNPの選択、③理研と共同で解析拠点を構成し、理研が開発した技術を用いて行うSNPの高速大量タイピング、④そのデータの品質管理と基礎解析、取りまとめ機関である国立研究所を通しての各疾患サブチームへの報告、を行う。本研究の成果は、各疾患サブチームにおける診療情報等を加味した高度解析や遺伝子機能解析等と組み合わせられて、従来の研究戦略では同定できなかったような新しい疾患関連遺伝子の同定につながることを期待される。さらに、その成果の一部は、倫理的諸問題を十分考慮しつつ「疾患データベース」として提供できるように検討を進めることにより、間接的にも、国内外で展開される様々な疾患や治療法・診断法の選択等に関わる研究の基盤として活用され、国民の保健・医療・福祉の向上に貢献することを目指す。

#### B. 研究の方法

JSNPによるゲノムスキャンの第一種の過誤、第二種の過誤を適切にバランスし、かつ研究期間・必要DNA量・コストの面から最も効率が良く、達成可能な方法として、二段階スクリーニング法を計画した。一次スクリーニングでは、理化学研究所の中村博士らが開発した96-plex PCR/Invader法により、理研と分担して合計5疾患各188人ずつ計940名のタイピングを約10万箇所と同じセットのJSNPについて実施し、そのタイピング結果は国立がんセンターで5疾患分全てを集計・管理している。一次スクリーニングで抽出されたSNPには多くの偽陽性が含まれているので、さらに絞り込むために行う二次スクリーニングについては従来、各疾患サブチームで行うこととされていたが、平成14年7月3日の第4回評価・助言会議において、一次スクリーニングと同様の拠点方式で実施することが定められた。二次スクリーニングにおけるタイピングの予定終了時期は平成16年12月である。本研究では主として二次スクリーニングに必要な部分を以下の要領で実施する。

①二次スクリーニングの対象となる各疾患の症例群・対照群のDNA試料の調整：総括研究者及び分担研究者が、それぞれがん、痴呆、糖尿病、高血圧、喘息を分担し、各疾患毎に、二次スクリーニングで必要とする752名の症例と同数の対照群を収集し、DNAを調整、タイピングセンターである国立がんセンターまたは理化学研究所に送付する。

②JSNPゲノムスキャンの一次スクリーニングデータの解析による二次スクリーニング用SNPの選択：一次スクリーニングで得られる各疾患のアレル頻度とJSNPのアレル頻度の比較、後者にHardy-Weinberg平衡を仮定して行う遺伝子型頻度の比較、各疾患対他の4疾患の比較アレル頻度・遺伝子型頻度の比較から、それぞれオッズ比及びそのp値を求めて適切な条件式を各疾患毎に設定し、上位約2,000箇所のSNPを条件式に従って一意的に選択する。

③JSNPゲノムスキャンの二次スクリーニングにおけるSNPタイピングとアレルコール：基本的に一次スクリーニングと同一の、理研が開発した96-plex PCR/Invader法によりタイピングを実施し、コールを行う。但し、二次スクリーニングでは、各疾患毎に752名の症例と、752名の対照に対して解析し、国立がんセンターと理研の両タイピングセンターでの疾患分担も変更される予定であるなど、一次スクリーニングとは解析のデザインが基

本的に異なるので、新たな実験管理基本システムの開発を行う。さらに、二次タイピングで解析する約2,000箇所のSNPは各疾患毎に異なるので、はるかに少ない母数から効率の良い96-plex PCRの組み合わせを選択する必要がある。以上のソフト開発をまず実施する。

④タイピングデータの品質管理と基礎解析、各疾患サブチームの研究者への報告：解析結果をデータベース化して確実に管理し、タイピング欠落サンプル数や、Hardy-Weinberg平衡からのずれ等を基に、タイピングデータの品質管理を行う。また、症例-対照間の粗オッズ比の計算等の基本解析を行い、取りまとめ機関である国研を通して各サブチームに結果を報告していく。

倫理面への配慮 本研究については、平成13年4月施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、各施設の倫理審査委員会による研究計画の審査と機関の長の承認を受けて実施することで、試料等提供者のプライバシー及び人権の保護に努めるとともに、得られた研究成果を広く社会に還元することで研究の意義を明らかにしていく。

## C. 研究結果

上記A. 研究目的に記した具体的研究項目について、本年度の成果は以下のとおりである。

①二次スクリーニング試料の収集：分担研究者が代表を務めるサブチームにより、適宜多施設共同で試料等の収集に当たり、収集目標とする症例・対照群各752名を達成した痴呆・糖尿病・高血圧については二次スクリーニングのためのタイピングセンターである国立がんセンターに、喘息については理化学研究所にそれぞれ濃度を調整した高品質DNAを送付した。

②二次スクリーニング用SNPの選択：二次スクリーニングの対象となるSNPsの選択については、5疾患共通の条件式を設定し、遺伝子のannotation等の情報によらず、純粋に遺伝統計学的に選抜することとした。具体的には、一次スクリーニングのオッズ比の分布など様々な検討に基づき、以下の条件式を考案した。

1) 計算には対他疾患アレル頻度オッズ比、対他疾患優性遺伝モデルオッズ比、対他疾患劣性遺伝モデルオッズ比、対JSNPアレルオッズ比の4種類のみを用いる。

(したがってLathrop法によるオッズ比、ヘテロオッズ比、ホモオッズ比は無視する。)

2) JSNPのマイナーアレル頻度が存在しかつ10%未満であるSNPは無視する。

3) 性染色体上のSNPと、現在のゲノム配列上にマップされないSNPは無視する。(症例と対照の男女比の違いによって性染色体上のアレル頻度は違って当然なので。)

4) 対JSNPと比較したオッズ比は一次スクリーニングの品質管理フラグのD9 (=今回の一次スクリーニングによるアレル頻度と、JSNPの公開アレル頻度が高度に有意 ( $p < 10^{-4}$ ) に異なる) がついていたら無視する。

5) その他の疾患数が1の場合には対他疾患オッズ比を無視する。

6) 他疾患においてHardy-Weinberg平衡のp値が1%未満ならば、対他疾患遺伝子型オッズ比(優性遺伝モデルオッズ比と対他疾患劣性遺伝モデルオッズ比)を無視する。

7) 遺伝子型オッズ比が1.5未満、アレルオッズ比が1.316未満は無視する。

8) もし対他疾患と対JSNPでオッズ比の向きが逆なら、そのSNPは無視する。

9) 残りのオッズ比をp値の小さいもの順に並べ、それらのオッズ比に対応する上位3,000個のSNPsを選ぶ。

10) 上記9)までに選択された3,000 SNPsの症例のタイピングデータを用いて、Hardy-Weinberg平衡のp値が5%以上のSNPsについて2点間の連鎖不平衡の指標  $\rho^2$  (rho square) を計算し、その値が0.9以上のSNPsペアについては、オッズ比のp値が大きい方のSNPを除外する。

これにより一次スクリーニングのデータが確定した約90,000個のSNPsから、痴呆は2,327個、がんは2,403個、高血圧は2,313個、糖尿病は2,269個、喘息は2,266個のSNPsが選択された。

なお、気管支喘息は炎症性疾患であるため、慢性胃炎を背景に発症の見られる胃がん、また血管炎を示す糖尿病については除外し、対照疾患をアルツハイマー病、高血圧の2疾患とした選択も行った。

③二次スクリーニングのSNPタイピング: 本年度は糖尿病、高血圧、痴呆について二次スクリーニングを開始した。上記②において選択したSNPについて、96-plex PCRを組み、糖尿病と高血圧については最初の約500 SNPsについてのタイピングが終

了し、タイピングデータの品質管理にかけた。タイピングの歩留まりは85%程度を達成している。喘息については、理化学研究所ですでに2001年より約80,000SNPsの気管支喘息の一次スクリーニングのケースコントロール研究を開始しており、その結果、 $p < 0.01$ を満たすSNPs 2,026個についてすでに二次スクリーニングを終了している。今回の1,392個のうち、理化学研究所においてすでに二次スクリーニングを行った2,026SNPsと共通であったSNPsは22個であった。残りの約1,370個のSNPsについての2次スクリーニングに着手した。

④タイピングデータの品質管理と基礎解析、報告:

二次スクリーニングのタイピングデータの品質管理は、以下の5通りの組み合わせについてアレル頻度の差を検定することにした。

1) 二次のcaseの一枚目 対 二次のcaseの二枚目

2) 二次のcontrolの一枚目 対 二次のcontrolの二枚目

3) 二次のcontrol 対 一次の他疾患

4) 二次のcontrol 対 JSNP

5) 二次のcase 対 一次のcase

タイピングセンターからサブチーム取りまとめ機関である国研への報告では、上記品質管理項目に加えて、以下のアレル頻度での2x2検定を行い、オッズ比とそのp値を報告する。

6) 二次のcase 対 control

7) 二次のcase 対 JSNP

8) 一次+二次のcase 対 二次のcontrol

#### D. 考察

約90,000個のゲノム全域に渡るSNPのタイピングデータからの二次スクリーニング用SNPの選抜式には、色々な考え方がありうる。一次スクリーニングはまさにスクリーニングであり、そのデータ処理の方法に唯一絶対の方法は無い。本研究で行う二次スクリーニングは、あくまでもセンター方式で行う二次スクリーニングであり、サブチーム主導の研究として、別の考え方の二次スクリーニングが行われても至極当然であると考ええる。本研究で策定したSNP選抜条件式で、議論がわかれたのは、オッズ比の足切りのレベル、マイナーアレル頻度の足切りの有無、強い連鎖不平衡にあるSNP同士の処理である。オッズ比が小さい遺伝子多型はおそらく数多く存在するだろうが、今回の一次ス

クリーニングのデザインでは、オッズ比1.5以下では検出力が20%以下と、かなり低下する。一方、生活習慣病でオッズ比2.0以上のような遺伝子はそれほど多くは期待できないだろうし、今回の対象疾患集団においてはそのような遺伝子がそもそも存在しない可能性もある。マイナーアレル頻度についても、検出力の維持のためには10%未満を割愛することとした。連鎖不平衡についても、D'による連鎖不平衡ブロックを推定し、そのブロック内をさらに10kb間隔で分割し、その亜ブロック内でp値が最も小さいものを選択することを考えた。しかし、実際の計算を始めて見ると、連鎖不平衡ブロックの推定そのものの不確かさが目立ち、2 SNPs間の連鎖不平衡のみを推定して同じような情報しか与えないSNPs同士を集約していくことにした。その場合でも、連鎖不平衡の指標の計算はHardy-Weinberg平衡が成立していることが前提なので、その平衡のずれがp値で5%以下のものは残すことにするなど、最終的にはconservativeな処理に落ち着いた。次年度は二次スクリーニングのタイピングを可能な限り早く進め、各サブチームにデータを返して、各サブチームが行う三次以降のスクリーニングや機能解析のための時間を確保することが求められている。

#### E. 結論

ゲノム網羅的JSNP解析の一次スクリーニングの約90,000個のSNPのデータから、5疾患共通の二次スクリーニング用SNP選抜条件式を設定し、各疾患それぞれ約2,300個のSNPを抽出した。これらのSNPから96-plex PCRの組み合わせを作り、痴呆、糖尿病、高血圧、喘息については一部、二次タイピングを着手、約85%の歩留まりを達成している。二次タイピングのデータの品質管理、集計・基礎統計解析のシステムもほぼ完成し、次年度本格化する二次スクリーニングに備えることができた。

#### F. 健康危険情報

該当するもの無し。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

1. Suzuki K, Aoki K, Ohnami S, Yoshida K, Kazui T, Kato N, Inoue K, Kohara M, Yoshida T. Adenovirus-mediated gene transfer of interferon  $\gamma$  improves dimethylnitrosamine-

induced liver cirrhosis in rat model. *Gene Ther*, 2003, 10:765-773.

2. Furuhata S, Ide H, Miura Y, Yoshida T, Aoki K. Development of prostate specific promoter for gene therapy against androgen-independent prostate cancer. *Mol Ther*, 2003, 7:366-374.

3. Jinno H, Saeki M, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, Saito Y, Ozawa S, Ando M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Sawada J. Functional characterization of wild-type and variant (T202I and M59I) human UDP-glucuronosyltransferase 1A10. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(5):528-532.

4. Yoshida T and Yoshimura K. Outline of disease gene hunting approaches in the Millennium Genome Project of Japan. *Proc Japan Acad*, 2003, 79:34-50.

5. Aoyagi K, Tatsuta T, Nishigaki M, Akimoto S, Tanabe C, Omoto Y, Hayashi S, Sakamoto H, Sakamoto M, Yoshida T, Terada M, Sasaki H. A faithful method for PCR-mediated global mRNA amplification and its integration into microarray analysis on laser-captured cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300: 915-920.

6. Sumitsuji I, Sugano K, Matsui T, Fukayama N, Yamaguchi N, Akasu T, Fujita S, Moriya Y, Yokoyama R, Nomura S, Yoshida T, Kodama T, Ogawa M. Frequent genomic disorganisation of MLH1 in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) screened by RT-PCR on puromycin treated samples. *J Med Genet*, 2003, 40(3):e30.

7. Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ozawa S, Sawada J. Three novel single nucleotide polymorphisms in UGT1A9. *Drug Metabol Pharmacokin*, 2003, 18(2):SNP6(146)-SNP9(149).

8. Jinno H, Saeki M, Saito Y, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, Sai K, Kaniwa N, Ando M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ozawa S, Sawada J. Functional characterization of human UDP-

- glucuronosyltransferase 1A9 variant, D256N, found in Japanese cancer patients. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 306(2):688-693.
9. Suzuki K, Ohnami S, Tanabe C, Sasaki H, Yasuda J, Katai H, Yoshimura K, Terada M, Perucho M, Yoshida T. The genomic damage estimated by arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting is useful for the prognosis of gastric cancer. *Gastroenterology*, 2003, 125: 1330-40.
  10. Itoda M, Saito Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Suzuki H, Sugiyama Y, Ozawa S, Sawada J. Eight novel single nucleotide polymorphisms in ABCG2/BCRP in Japanese cancer patients administered irinotecan. *Drug Metabol Pharmacokin*, 2003, 18(3):SNP14(212)-SNP19(217).
  11. Tanabe C, Aoyagi K, Sakiyama T, Kohno T, Yanagitani N, Akimoto S, Sakamoto M, Sakamoto H, Yokota J, Ohki M, Terada M, Yoshida T, Sasaki H. Evaluation of a whole-genome amplification method based on adaptor-ligation PCR of randomly sheared genomic DNA. *Genes, Chrom & Cancer*, 2003, 38:168-176.
  12. Suzuki K, Aoki K, Ohnami S, Yoshida K, Kazui T, Kato N, Inoue K, Kohara M, Yoshida T. Adenovirus-mediated gene transfer of interferon  $\alpha$  inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 307:814-819.
  13. Ohnishi S, Ohnami S, Laub F, Aoki K, Suzuki K, Kanai Y, Haga K, Asaka M, Ramirez F, Yoshida T. Downregulation and growth inhibitory effect of epithelial-type Kr $\mu$ ppel-like transcription factor KLF4, but not KLF5, in bladder cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308:251-256.
  14. Ohnami S, Aoki K, Yoshida K, Ohnami S, Hatanaka K, Suzuki K, Sasaki H, Yoshida T. Expression profiles of pancreatic cancer cell lines infected with antisense K-ras-expressing adenoviral vector. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309:798-803.
  15. Hatanaka K, Ohnami S, Yoshida K, Miura Y, Aoyagi K, Sasaki H, Asaka M, Terada M, Yoshida T, Aoki K. A simple and efficient method for constructing an adenoviral cDNA expression library. *Mol Ther*. 2003;8(1):158-66.
  16. Kim S-R, Nakamura T, Saito Y, Sai K, Nakajima T, Saito H, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ozawa S, Sawada J. Twelve novel single nucleotide polymorphisms in the CES2 gene encoding human carboxylesterase 2 (hCE-2). *Drug Metabol Pharmacokin*, 2003, 18(5):327-332.
  17. Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan. *Pharmacogenetics*, 2003, 13:741-757.
  18. Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, Kohno T, Liu Y, Yoshida T, Sakamoto H, Tsugane S. Allele frequencies of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 40 candidate genes for gene-environment studies on cancer: data from population-based Japanese random samples. *J Hum Genet*, 2003, 48:654658.
  19. Mori K, Aoyagi K, Ueda T, Danjoh I, Tsubosa Y, Yanagihara K, Matsuno Y, Sasako M, Sakamoto H, Mafune K, Kaminishi M, Yoshida T, Terada M, Sasaki H. Highly specific marker genes for detecting minimal gastric cancer cells in cytology negative peritonea washings. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(4):913-917.
  20. Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Katori N, Jinno H, Hasegawa R, Kaniwa N, Sawada J, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Kitamura Y, Kamatani N, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N. UGT1A1 Haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese cancer patients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, in press.
  21. Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, Kurose K,

Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S,  
Kitakaze M, Hanai S, Nakajima T, Matsumoto K,  
Saito H, Goto Y, Kimura H, Katoh M, Sugai K,  
Minami N, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N,  
Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N,  
Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, and Sawada  
J. Haplotypes of CYP3A4 and Their Close  
Linkage With CYP3A5 Haplotypes in a Japanese  
Population. Human Mutation. Mutation in  
brief. #681 online 2004.

22. Miyakura Y, Sugano K, Akasu T, Yoshida  
T, Maekawa M, Saitoh S, Sasaki H, Nomizu T,  
Konishi F, Fujita S, Moriya Y, Nagai H.  
Extensive but hemiallelic methylation of the  
hMLH1 promoter region in early -onset  
sporadic colon cancers with microsatellite  
instability. Clin Gastroenterol Hepatol,  
2004, 2:147-56.

2) 学会発表  
特になし

H. 知的所有権の取得状況  
該当するもの無し



痴呆対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析

分担研究者 金澤 一郎 国立精神・神経センター 総長

**研究要旨** ミレニアム・ゲノム・プロジェクト疾患関連遺伝子研究における、アルツハイマー病等痴呆について、疾患サンプルを収集し、ゲノム全域に分布する遺伝子周辺のSNP解析を行う。相関解析に必要な遺伝子解析データ及び診療情報のデータベース化と、それら情報の基礎的解析を行う。現在までのところ、アルツハイマー群、1000検体、コントロール群1000検体の収集を行い、1次スクリーニングで188検体について、約5万SNPのタイピングを行った。今後、10万SNPの解析を行い、オッズ比及びp値に基づいて上位2000SNPを選択し、2次スクリーニングを行う。ここで得られる成果は、機能解析と組み合わせ、従来の研究では発見できなかった新規の疾患関連遺伝子の同定を可能にし、疾患解明、治療法の確立に貢献すると期待される。

A. 研究目的

アルツハイマー病DNAサンプル及びコントロールサンプルを収集し、がんセンターとの共同研究により、ホールゲノム10万SNPのタイピングを行う。また、独自に機能解析を行い、両者を組み合わせ、新規の疾患関連遺伝子の同定を目指す。

B. 研究方法

収集した血液サンプルからDNAを調製し、がんセンターとの共同研究で、96-plexPCR/Invader法により疾患188検体について10万SNPのタイピングを行う。解析を行ったSNPから、オッズ比及びp値に基づき、上位2000SNPを選択し、2次スクリーニングを行う。また、これらSNPを持った遺伝子を細胞に発現させ、機能解析を行う。

(倫理面への配慮)

文部科学省、厚生労働省、経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠した倫理審査で承認され、研究を実施している。

C. 研究結果

アルツハイマー病DNAサンプル及びコントロールサンプルそれぞれ、1000検体を収集し、DNAの抽出を完了した。また、平成16年2月現在で、188検体について、約5万SNPのタイピングを終えている。

D. 考察

当初の計画通り、検体の収集とDNAの抽出は完了し、タイピングも順調に進んでいる。

E. 結論

現在の効率で解析が進むと、平成16年度12月までには、2次スクリーニングが完了する。さらに3次スクリーニングが必要となるが、新規の疾患関連遺伝子が同定されることが期待される。

F. 健康危険情報

特記事項無し。

G. 研究発表

1) 論文発表  
無し。

2) 学会発表  
無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

無し。

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

糖尿病対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析

分担研究者 春日 雅人 神戸大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨 ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子・糖尿病サブチームでは、2型糖尿病疾患感受性遺伝子の同定を目標に、ゲノム網羅的SNP解析を二段階スクリーニング法で行っている。そのために、糖尿病を専門とする全国11の施設を中心に“糖尿病コンソーシアム”を形成し、平成15年度に関しては二次スクリーニングのための症例の収集及び試料の提出を予定通り終了した。

#### A. 研究目的

我が国における糖尿病患者の急増は憂慮すべき問題であり、その遺伝素因を明らかにすることは糖尿病の発症予防や新しい治療法の開発に多大の貢献をする。ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子・糖尿病サブチームでは、コンソーシアム全体でサンプル収集を行い、理化学研究所・がんセンターをタイピング拠点としたゲノム網羅的SNP解析により、2型糖尿病疾患感受性遺伝子を同定することを研究目的とする。

#### B. 研究方法

ゲノム網羅的SNP解析を二段階スクリーニング法で行うこととした。具体的には、糖尿病を専門とする全国11の施設を中心に“糖尿病コンソーシアム”を形成し、このコンソーシアムを基盤として、検体・臨床情報収集やSNP解析結果と臨床情報の統合的解析、さらには遺伝子機能解析を行い2型糖尿病疾患感受性遺伝子の同定に結びつける。

（倫理面への配慮）

ヒトゲノムを用いた研究に際し、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づきコンソーシアム各施設の倫理審査委員会の審査、機関の長の承認を得ている。検体収集に関しては、同指針に則りインフォームドコンセントを書面にて得ている。個人情報保護のための匿名化を行い、漏洩防止のために十分な措置を講じていると考えている。

#### C. 研究結果

一次スクリーニングに関しては、平成15年12月までに約60,000箇所のSNPタイピングが終了し結果の報告を受けている。一次スクリーニングで抽出されたSNPに関しては、二次スクリーニングをがんセンターで行う。コンソーシアムとして、2型糖尿病患者・正常対照者それぞれ752検体の試料収集を平成15年12月までに終え、平成16年1月、がんセンターに試料を提出した。

#### D. 考察

理化学研究所での一次スクリーニングについては、当初予定である平成15年度末までの終了を見込んでいる。がんセンターでの二次スクリーニングについては、平成16年12月までの終了を目指すべく、計画通りに検体収集・提出を完了したと考える。

#### E. 結論

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子・糖尿病サブチームでは、ゲノム網羅的SNP解析の二次スクリーニングのための検体収集と試料の提出を終了した。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

現在のところなし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

現在のところなし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

高血圧対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における遺伝子・診療情報解析

分担研究者 三木 哲郎 愛媛大学医学部 教授

研究要旨 ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおいて推進される痴呆・がん・糖尿病・高血圧・喘息の疾患関連遺伝子研究の一端として、2次スクリーニングを実施するために必要な、高血圧検体および健常検体、各752例を収集した。収集された検体のDNA（10ug）および臨床情報は、種々調整の上、2次スクリーニングに提供可能な状態となった。

A. 研究目的

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおいて推進される痴呆・がん・糖尿病・高血圧・喘息の疾患関連遺伝子研究の一端として、本研究では、ゲノム全域に分布する遺伝子周辺のSNPタイピング、ならびに相関解析を行い、高血圧対策・創薬推進のための疾患遺伝子同定を目的とする。本目的を達成するにあたり、検体および臨床情報の収集とデータベース化、ならびにその基礎的解析を行った。

B. 研究方法

疾患遺伝子の同定にあたり、2段階スクリーニング法を計画した。1次スクリーニングでは、188検体について10万SNPのタイピングが進行中であり、近々終了する予定である。1次スクリーニングで抽出されるSNPには、多くの擬陽性が含まれているため、2次スクリーニングでさらに候補を絞り込む必要がある。そのため、以下の条件を満たす752検体（各群あたり）を収集した。収集には、ミレニアム・ゲノム・プロジェクトー高血圧部会の班員がその任にあたった。

高血圧群

性別 男女とも

年齢 発症時年齢が30～59歳

血圧値 収縮期血圧160mmHg以上

かつ/または 拡張期血圧100mmHg以上

あるいは降圧薬服薬中

家族歴 両親あるいは兄弟に高血圧

家族歴を有すること

健常群 性別 男女とも

年齢 採血時年齢50歳以上

血圧値 収縮期血圧130mmHg

かつ拡張期血圧85mmHg未満

服薬 降圧薬服用歴なし

家族歴 両親あるいは兄弟に高血圧家族歴がないこと

(倫理面への配慮)

本研究については、平成13年4月施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、当該施設の倫理審査委員会による研究計画の審査と期間の長の承認を受けて実施することで、資料等提供者のプライバシー及び人権に保護に努めるとともに、得られた研究成果を広く社会に還元することで研究の意義を明らかにしていく。

C. 研究結果

上記の条件を満たす検体が、高血圧群／健常群とも約1000例ずつ収集された。このうち752検体のDNA (10ug) および臨床情報は、国立循環器病センターで種々調整の上、2次スクリーニングに提供可能な状態となった。

#### D. 考察

検体の収集にあたり、1次スクリーニングよりも収集基準を多少緩和したが、なおも多く時間を必要とした。また、必要なDNA量を確保するにあたり、困難を伴うケースも認められた。しかしながら、ミレニアム・ゲノム・プロジェクト-高血圧部会班員の努力により、必要量の検体を収集することができた。また、国立循環器病センターの手配により、各検体の調整作業も速やかに行われ、期限までに拋出可能な状態となった。この点は、他疾患部会よりも迅速かつ適格であり、高く評価できる。

1次スクリーニングおよび2次スクリーニングの進捗については、多疾患部会とも同調しており、評価・考察の余地はない。今後の2次スクリーニングの成果が期待される。

2次スクリーニング以降の検証作業については、約15,000の一般地域住民検体を収集済みである。収集は高血圧部会で行われ、必要な臨床情報も揃っている。1日あたり12,000タイピング以上の高速処理を実現しており、事実上、2次スクリーニング結果の受け入れ態勢は整っている。これらは高血圧部会の地力・先見性を代弁するものであり、高く評価することができる。

#### E. 結論

ミレニアム・ゲノム・プロジェクト-高血圧関連遺伝子研究において、2次スクリーニングを実施するにあたり必要は検体（高血圧群／健常群：各752検体）を期限までに拋出した。2次スクリーニング結果の受入体制も整っており、今後の展開・成果が期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

なし

##### 2) 学会発表

1. Hunting for hypertension genes; the national Millennium Genome Project in Japan. Miki T and The Study Group of Millennium Genome Project for Hypertension. The 6th International Meeting on Single Nucleotide Polymorphism and Complex Genome Analysis. Nov 19-22, 2003. Washington DC, USA

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

気管支喘息等免疫・アレルギー性疾患対策・創薬推進のための疾患遺伝子探索における  
遺伝子・診療情報解析

分担研究者 齋藤 博久 国立成育医療センター研究所免疫アレルギー研究部 部長

研究要旨 ミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子チームが推進する喘息疾患関連遺伝子の探索研究において、SNPタイピング結果データ登録機能、統計機能、解析結果出力機能、発現解析支援機能を入力し、二次スクリーニングを行うべきSNPsの選択が可能なコンピュータシステムを構築した。

#### A. 研究目的

本研究はミレニアム・ゲノム・プロジェクトの疾患遺伝子チームが推進する喘息疾患関連遺伝子の探索研究において、遺伝子領域周辺のSNPをゲノム網羅的にタイピングする事により、相関解析の基盤となる遺伝子解析データ及び診療情報の提供と集計、データベース化、それらの情報に対する基礎的解析を行うことを目的とする。

#### B. 研究方法

疾患関連遺伝子の同定に当たっては、仮説検証型の候補遺伝子アプローチに加えて、ゲノム・遺伝子網羅的に統計学手法を用いて相関解析を行う戦略の必要性が認識されている。ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおいては、「ヒトゲノム多様性プロジェクトチーム」が同定した日本人標準SNP（JSNP）のうち約10万箇所についてのタイピングを一次スクリーニングとし、少なくとも2段階の相関解析によって検出力と偽陽性率の適切なバランスをとりつつ相関解析を進めるJSNPゲノムスクランが理化学研究所（以下、「理研」）との連携により順調に進行している。本研究においては、二次スクリーニングを行うべきSNPsに関し、統計学的手法をもちいて解析選択する。

（倫理面への配慮）

本研究所にて開発された匿名化装置を使用し、二重に匿名化された試料を使用しているため、研

究者が臨床情報から個人を特定するは不可能になっている。

#### C. 研究結果

SNPタイピングされたアリル情報だけでなく、臨床情報や、今までの実験結果等、今後の研究に必要なデータを一元的に管理するとともに、それらのデータに対して、各種解析が簡単に行えるプラットフォームを構築した。現在、SNPタイピング結果データ登録機能、統計機能、解析結果出力機能、発現解析支援機能を入力し、二次スクリーニングを行うべきSNPsの選択を開始した。

#### D. 考察

このような遺伝子・ゲノム網羅的SNP解析による組織的な大規模疾患ゲノム研究への取り組みは国外では類が無く、その成果は、各疾患サブチームにおける機能解析等と組み合わせられて、従来の研究戦略では見つからなかったような新しい疾患関連遺伝子の同定を可能にすると期待される。また、その成果の一部は倫理的諸問題を十分考慮しつつ「疾患データベース」として研究者に提供することにより、間接的にも国内外で展開される様々な疾患や治療法・診断法の選択等に関わる研究の基盤として活用され、その結果、国民の保健・医療・福祉の向上に貢献すると期待される。

## E. 結論

SNPタイピング結果データ登録機能、統計機能、解析結果出力機能、発現解析支援機能を入力し、二次スクリーニングを行うべきSNPsの選択を行うことのできるシステムを構築した。

## F. 健康危険情報

国民の保健・医療・福祉の向上に貢献すると期待されるが、今後、データベース化した場合にあっては、個人情報の管理を厳重に継続すべきであろう。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

1. Koyano S, Kurose K, Saito Y, Ozawa S, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Nakajima T, Matsumoto K, Akasawa A, Saito H, Sawada JI. Functional characterization of four naturally occurring variants of human pregnane X receptor (PXR): One variant causes dramatic loss of both DNA binding activity and the transactivation of the CYP3A4 promoter/enhancer region. *Drug Metab Dispos.* 2004;32(1):149-154.

2. Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, Kurose K, Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Hanai S, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Goto YI, Kimura H, Katoh M, Sugai K, Minami N, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada JI: Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat.* 2004;23(1):100.

3. Matsumoto K, Terakawa M, Miura K, Fukuda S, Nakajima T, Saito H: Extremely rapid and intense induction of apoptosis in human eosinophils by anti-CD30 antibody treatment

in vitro. *J Immunol.* 2004;172(4):2186-2193.

4. Yoshikawa M, Nakajima T, Matsumoto K, Okada N, Iida M, Otori N, Haruna SI, Moriyama H, Imai T, Saito H: TNF- $\alpha$  and IL-4 regulate expression of fractalkine (CX3CL1) as a membrane-anchored proadhesive protein as soluble chemotactic peptide on human fibroblasts. *FEBS letters* 2004;561(1-3):105-110.

5. Nakajima T, Iikura M, Okayama Y, Matsumoto K, Uchiyama C, Shirakawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H: Identification of granulocyte subtype-selective receptors and ion channels by using a high-density oligonucleotide probe array. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;133(3):528-535.

6. Kano H, Ito Y, Matsuoka K, Nakajima T, Iwata T, Kohsaka T, Saito H, Abe J: Critical role of T cell migration in bacterial superantigen-mediated shock in mice. *Clin Immunol.* 2004;110(2):159-171.

7. Fujino M, Kitazawa Y, Kawasaki M, Funeshima N, Kimura H, Nakajima T, Saito H, Li XK: Differences in lymphocyte gene expression between tolerant and syngeneic liver grafted rats. *Liver Transpl.* 2004;10(3):379-391.

### 2) 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1) 特許取得

### 2) 実用新案特許

### 3) その他

以上、特になし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

ゲノム網羅的気管支喘息等免疫・アレルギー性疾患関連遺伝子探索のための基盤的SNP解析

分担研究者 玉利 真由美 理化学研究所横浜研究所遺伝子多型研究センター 研究員

研究要旨 ゲノムワイドに約100,000SNPsを用いたケースコントロールスタディー（喘息 vs. コントロール）を行い、この中で有意差を認めたSNPsを抽出し、さらに喘息900例、非喘息症例700例を用いて喘息発症に関連する遺伝子同定を試みる。現在、1次スクリーニングの結果1370SNPsが候補として同定された。

#### A. 研究目的

ゲノムワイドに約100,000SNPsを用いたケースコントロールスタディー（喘息 vs. コントロール）の結果を活用し、喘息発症に関与する遺伝子の同定を試みる。

#### B. 研究方法

ゲノムワイドに約100,000SNPsを用いたケースコントロールスタディー（気管支喘息188症例 vs. コントロール）を行う。さらにこの中で有意差を認めたSNPsにつき、2次スクリーニングを気管支喘息900症例、非喘息コントロール700例を用いて行い、喘息の発症、及び病態に関与する遺伝子の同定を行う。その結果有意差の認められたSNPsについてはそのSNPs周辺の連鎖不平衡マッピングを行い、最も強い相関を示すSNPsの同定を行う。さらにハプロタイプ解析により、相関の確認を行う。候補遺伝子については機能解析を行う。またSNPsがその遺伝子の発現量や蛋白構造にどのような影響を示すかを検討する。

（倫理面への配慮）

本研究のヒトの遺伝子解析研究はすべてヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（平成13年3月29日）に準拠して行われている。

#### C. 研究結果

二次スクリーニングの対照となるSNPsの選択については一次スクリーニングで得られる各疾患のアレル頻度とJSNPのアレル頻度の比較、各疾患対他の4疾患の比較アレル頻度・遺伝子型頻度の比較から、オッズ比1.5以上、マイナーアレル頻度10%以上等の条件からなる二次選抜式を用いる予定であったが、その後遺伝子型オッズ比とアレル オッズ比分布より、遺伝子型オッズ比1.5に相当するアレルオッズ比は1.31であったため、アレルオッズ比は1.31以上のものを選抜した。気管支喘息188症例対他の4疾患とのケースコントロール解析の結果、1392個のSNPsがピックアップされた。またこの対照とした疾患群は高血圧、アルツハイマー病、糖尿病、胃がんの4疾患群であったが、気管支喘息は炎症性疾患であるため、慢性胃炎をベースに発症の見られる胃がん、また血管炎を示す糖尿病については除外し、現在、対照疾患をアルツハイマー病、高血圧の2疾患とし、さらに検討を行っている。なお理化学研究所ではすでに2001年より約80,000SNPsの気管支喘息の一次スクリーニングのケースコントロール研究を開始しており、その結果、 $p < 0.01$ を満たすSNPs2026個については二次スクリーニングを終了している。今回の1392個のうち、理化学研究所においてすでに二次スクリーニングを行った2026SNPsと共通であったSNPsは22個であった。残りの約1370個のSNPsについては現在2次スクリーニングを行っている。

#### D. 考察



今回の検討にてこれまでの理化学研究所におけるゲノムワイドのスクリーニングと共通に有意差のみとめられたSNPsは22個であった。小児喘息はその病態により、発症原因に違いがある可能性がある。近年、衛生的な環境整備に伴い、先進国を中心に小児の気管支喘息の発生頻度が上昇している。一方で環境要因とは関係なく発症する従来からの喘息群がある。今回のプロジェクトでは乳幼児期発症症例に限定して、検体の収集を行った。乳幼児期に発症する喘息については、より重症化しやすく、通年性に症状がみられることが多いと言われている。理化学研究所でゲノムワイドにタイピングを行った症例は全例、大阪の病院より収集されたサンプルであり、吸入ステロイドを常用している症例は約3割であり、比較的軽症な典型的な都会型の喘息を対照としている。これらの2通りのゲノムワイドなスクリーニングより、異なる病態の気管支喘息関連遺伝子が同定される可能性がある。また用いた対照疾患の違いによる原因も考えられる。今回のスクリーニングでは対象疾患の組み合わせを変えてさらに検討する予定である。また、2次スクリーニングに使用する気管支喘息900症例は、発症年齢、重症度、IgE値等、詳細な臨床データとともに収集されており、気管支喘息の発症のみならず、その病態に関連する遺伝子の同定も可能と考えられる。

## E. 結論

今回の一次スクリーニング解析結果で理研の解析で一次スクリーニングを通過したものとオーバーラップしたものは22SNPでありそれらは1000サンプルの二次スクリーニングでその有意差が消失したものばかりである。理研で行ったゲノムワイドな患者対照関連解析の一次スクリーニングに用いた検体は大阪府立羽曳野病院より収集した家族歴のある小児喘息であり、94症例中、軽症例が約50%含まれていた。一方、今回の一次スクリーニング解析に用いた188症例はすべて、乳幼児期発症のサンプルに限定しており、より、重症な、寛解しにくい症例が多く含まれていると考えられる。よって今回の解析では、以前に理研で行ったゲノムワイドな患者対照関連解析では得られないような、全く新しい喘息関連遺伝子が同定出来る可能性が考えられた。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

1. アレルギー疾患における最近の話題 赤星光輝 玉利真由美 白川太郎 最新医学 2003 58;2 p7-14
2. SNPを用いた気管支喘息関連遺伝子の解明 玉利真由美 最新医学 2003 58;2 p15-21
3. 喘息関連遺伝子解析の現状と遺伝子治療の可能性 清水麻貴子 赤星光輝 程雷 高橋尚美 小久保美紀 関口寛史 広田朝光 小原和彦 玉利真由美 白川太郎 *Prarma Medica The Review of Medicine and Pharmacology* 2003 21;3 p15-19
4. アレルギー疾患のゲノム解析 赤星光輝 玉利真由美 白川太郎 先端医療シリーズ19アレルギー・リウマチ膠原病の最新医療 先端医療技術研究所 2003 p51-57
5. 喘息の全ゲノムSNP解析 赤星光輝 玉利真由美 白川太郎 アレルギー・免疫 医薬ジャーナル社 2003 10; 11 p112-119
6. アトピー性皮膚炎の全ゲノム解析 清水麻貴子 赤星光輝 高橋尚美 小久保美紀 関口寛史 中島加珠子 広田朝光 小原和彦 松田彰 玉利真由美 白川太郎 アレルギー・免疫 医薬ジャーナル社 2003 10;12 p98-104
7. Akahoshi M, Ishihara M, Remus N, Uno K, Miyake K, Hirota T, Nakashima K, Matsuda A, Kanda M, Enomoto T, Ohno S, Nakashima H, Casanova JL, Hopkin JM, Tamari M, Mao XQ, Shirakawa T. Association between IFNA genotype and the risk of sarcoidosis. *Hum Genet.* 2004 (in press)
8. Shao C, Suzuki Y, Kamada F, Kanno K, Tamari M, Hasegawa K, Aoki Y, Kure S, Yang X, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Karahashi

M, Saito S, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y. Linkage and association of childhood asthma with the chromosome 12 genes.

J Hum Genet. 2004 (in press)

## 2) 学会発表

1. 第15回日本アレルギー学会 春期臨床大会2003年5月 気管支喘息関連遺伝子へのアプローチ 患者-対照研究を中心に

2. 第40回日本小児アレルギー学会シンポジウム4 2003年10月 ゲノム21世紀型ポストゲノムを小児アレルギー診療にどのように展開するか?小児喘息のオーダーメイド医療をめざして

3. オーダーメイド医療を考える」公開シンポジウム 副作用のリスクを減らし、ひとりひとりの体質に応じた21世紀の医療へー

2003年10月

4. シンポジウム「喘息等アレルギー疾患ゲノム解析の成果と展望」日本人類遺伝学会第48回大会 2003年10月

5. シンポジウムIII多因子疾患のSNP研究 小児喘息のオーダーメイド医療をめざして

## H. 知的所有権の取得状況

### 1) 特許取得

未定

### 2) 実用新案登録

未定

### 3) その他

特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Suzuki K, Aoki K, Ohnami S, Yoshida K, Kazui T, Kato N, Inoue K, Kohara M, Yoshida T.	Adenovirus-mediated gene transfer of interferon $\gamma$ improves dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis in rat model.	Gene Ther	10	765-773	2003
Furuhata S, Ide H, Miura Y, Yoshida T, Aoki K.	Development of prostate specific promoter for gene therapy against androgen-independent prostate cancer.	Mol Ther	7	366-374	2003
Jinno H, Saeki M, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, Saito Y, Ozawa S, Ando M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Sawada J.	Functional characterization of wild-type and variant (T202I and M59I) human UDP-glucuronosyltransferase 1A10.	Drug Metab Dispos	31(5)	528-532	2003
Yoshida T and Yoshimura K.	Outline of disease gene hunting approaches in the Millennium Genome Project of Japan. , 2003, 79:34-50.	Proc Japan Acad	79	34-50	2003
Aoyagi K, Tatsuta T, Nishigaki M, Akimoto S, Tanabe C, Omoto Y, Hayashi S, Sakamoto H, Sakamoto M, Yoshida T, Terada M, Sasaki H.	A faithful method for PCR-mediated global mRNA amplification and its integration into microarray analysis on laser-captured cells.	Biochem Biophys Res Commun	300	915-920	2003
Sumitsuji I, Sugano K, Matsui T, Fukayama N, Yamaguchi N, Akasu T, Fujita S, Moriya Y, Yokoyama R, Nomura S, Yoshida T, Kodama T, Ogawa M.	Frequent genomic disorganisation of MLH1 in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) screened by RT-PCR on puromycin treated samples.	J Med Genet	40(3)	e30	2003
Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ozawa S, Sawada J.	Three novel single nucleotide polymorphisms in UGT1A9.	Drug Metabol Pharmacokin	18	SNP6(146)-SNP9(149)	2003
Jinno H, Saeki M, Saito Y, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, Sai K, Kaniwa N, Ando M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ozawa S, Sawada J.	Functional characterization of human UDP-glucuronosyltransferase 1A9 variant, D256N, found in Japanese cancer patients.	J Pharmacol Exp Ther	306	688-693	2003
Suzuki K, Ohnami S, Tanabe C, Sasaki H, Yasuda J, Katai H, Yoshimura K, Terada M, Perucho M, Yoshida T.	The genomic damage estimated by arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting is useful for the prognosis of gastric cancer.	Gastroenterology	125	1330-40	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Itoda M, Saito Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, <u>Yoshida T</u> , Saijo N, Suzuki H, Sugiyama Y, Ozawa S, Sawada J.	Eight novel single nucleotide polymorphisms in ABCG2/BCRP in Japanese cancer patients administered irinotecan.	Drug Metabol Pharmacokin	18	SNP14(212)-SNP19(217)	2003
Tanabe C, Aoyagi K, Sakiyama T, Kohno T, Yanagitani N, Akimoto S, Sakamoto M, Sakamoto H, Yokota J, Ohki M, Terada M, <u>Yoshida T</u> , Sasaki H.	Evaluation of a whole-genome amplification method based on adaptor-ligation PCR of randomly sheared genomic DNA.	Genes, Chrom & Cancer	38	168-176	2003
Suzuki K, Aoki K, Ohnami S, Yoshida K, Kazui T, Kato N, Inoue K, Kohara M, <u>Yoshida T</u> .	Adenovirus-mediated gene transfer of interferon $\gamma$ inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes.	Biochem Biophys Res Commun	307	814-819	2003
Ohnishi S, Ohnami S, Laub F, Aoki K, Suzuki K, Kanai Y, Haga K, Asaka M, Ramirez F, <u>Yoshida T</u> .	Downregulation and growth inhibitory effect of epithelial-type Kr <sub>ppel</sub> -like transcription factor KLF4, but not KLF5, in bladder cancer.	Biochem Biophys Res Commun	308	251-256	2003
Ohnami S, Aoki K, Yoshida K, Ohnami S, Hatanaka K, Suzuki K, Sasaki H, <u>Yoshida T</u> .	Expression profiles of pancreatic cancer cell lines infected with antisense K-ras-expressing adenoviral vector.	Biochem Biophys Res Commun	309	798-803	2003
Hatanaka K, Ohnami S, Yoshida K, Miura Y, Aoyagi K, Sasaki H, Asaka M, Terada M, <u>Yoshida T</u> , Aoki K.	A simple and efficient method for constructing an adenoviral cDNA expression library.	Mol Ther.	8	158-66	2003
Kim S-R, Nakamura T, Saito Y, Sai K, Nakajima T, Saito H, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, <u>Yoshida T</u> , Saijo N, Ozawa S, Sawada J.	Twelve novel single nucleotide polymorphisms in the CES2 gene encoding human carboxylesterase 2 (hCE-2).	Drug Metabol Pharmacokin	18	327-332	2003
Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, <u>Yoshida T</u> , Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J.	Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan.	Pharmacogenetics	13	741-757	2003
Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, Kohno T, Liu Y, <u>Yoshida T</u> , Sakamoto H, Tsugane S.	Allele frequencies of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 40 candidate genes for gene-environment studies on cancer: data from population-based Japanese random samples.	J Hum Genet	48	654-658	2003