

200400047B

厚生労働科学研究研究費補助金

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
基盤的研究に関する研究

平成15年度～16年度 総合研究報告書

主任研究者 坂本 裕美

平成17(2005)年 4月

目 次

I. 総合研究報告書 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 に関する研究 坂本 裕美	—————	1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	9
III. 研究成果の刊行物・別刷		(別添)

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
基盤的研究に関する研究

主任研究者 坂本 裕美 国立がんセンター研究所腫瘍ゲノム解析・情報研究部長

研究要旨：ミレニアム・ゲノム・プロジェクト疾患遺伝子チームが対象疾患として取り組む痴呆・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日本人標準 SNP (JSNP) 約 10 万箇所のスクリーニングが採択され、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を行った。2年計画の本研究では、当初の計画通り初年度に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（理研）と国立がんセンターにおける解析拠点構築と、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、を行い、2年目にあたる今年度に、⑤喘息は理研で、残り4疾患はがんセンターにおいて二次スクリーニングのタイピングを終了し、⑥がんセンターでは独自に策定した方式で4疾患のタイピングデータの品質検査を実施し、基礎統計解析データと共に各疾患サブチームに結果を報告した。具体的には、5疾患各188人ずつ計940名の約10万箇所の一次スクリーニングの結果から、共通の条件式を設定して純粋に遺伝統計学的に、各疾患毎に約3,000箇所のSNPをまず選択した。二次スクリーニングの対象は一次スクリーニングとは別の集団とし、その内訳は、各疾患それぞれについて症例群752人、対照群752人を原則とした。実験を前倒しで進め、最終的に当初の予定を上回る痴呆2,592個、がん2,496個、糖尿病2,992個、高血圧2,643個、喘息3,033個について二次スクリーニングのためのタイピングを行い、タイピングの品質検査の結果、痴呆2,492個、がん2,052個、高血圧2,386個、糖尿病2,730個、喘息約2,800個について、十分な品質の二次スクリーニングのタイピングデータを得た。その結果を各疾患サブチームにおいてより評価・検討した結果、少なくとも痴呆では30個、がんでは2個、糖尿病では171個、高血圧では92個のSNPが、喘息では15個の連鎖不平衡ブロックがまずは選択され、次の段階の解析に進められた。その結果、一部の疾患における三次スクリーニング等により、疾患罹患と有意な相関を示すSNPが既に複数個ずつ同定されている。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されて、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事が期待される。

分担研究者

金澤 一郎 国立精神・神経センター 総長
春日 雅人 神戸医大学大学院 教授
三木 哲郎 愛媛大学医学部 教授
斎藤 博久 国立成育医療センター 部長
玉利真由美 理化学研究所 研究員

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、遺伝子網羅的にその周辺の SNP のタイピング作業を行い、相関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な統計学的解析を行うことを目的とする。ヒトゲノムの全塩基配列解読の進捗に伴い、多遺伝子疾患の本態解明の契機が高まる中、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」チームにより、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展開された。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の予測がついておらず、残りの半数についても従来の知見は極めて断片的である現状を考えると、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平行して、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主に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データベース化・基礎解析、⑤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貢献することが期待される。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す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及び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採用した。一次スクリーニングでは、理化学研究所で開発された 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10万箇所の同じセットの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・管理した。多くの偽陽性が含まれている一次スクリーニングで抽出された SNP をさらに絞り込むために行う二次スクリーニングを以下の要領で実施した。

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：
主任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、各疾患毎に一次スクリーニングのサンプルとは独立に二次スクリーニングで必要とする約1,600サンプルを適切な登録条件を設定して収集し、DNA を調整した。痴呆・がん・糖尿病・高血圧は、752名の症例と同数の対照群をタイピングセンターである国立がんセンターに、喘息は小児喘息470例、成人喘息470例、対照群564例を理化学研究所に送付した。

②二次スクリーニング対象 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 3,000 箇所の SNP を共通の条件式に従って純粋に遺伝統計学的に、遺伝子の annotation 等の情報によらずに選抜した。

③ JSNP 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、コールを行った。喘息に関しては理研が、それ以外の 4 疾患に関しては国立がんセンターでタイピングを行った。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った。さらに、二次タイピングで実際に解析する約 2,500～3,000 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 の組み合わせを考慮しつつ、解析をおこなった。

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検査法を考案し、サブチームに報告すべきタイピングデータを選出した。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た。

(倫理面への配慮) 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

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疾患サブチームが適宜多施設共同研究体を組織し、試料等の収集に当たり、収集目標とする症例・対照群計 1,502 名以上を達成し、本研究における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 SNPs の選択については、一次スクリーニングの各種オッズ比や p 値等のデータの分布を解析し、以下の 5 疾患共通条件式を策定し、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。具体的には以下の条件式による。

i) 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。

ii) 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。

iii) 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。

iv) 対 JSNP と比較したオッズ比は一次スクリーニングのアレル頻度と、JSNP の公開アレル頻度が高度に有意 ($p < 10^{-4}$) に異なる場合、無視する。

v) 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。

vi) 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。

vii) 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。

viii) 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。

ix) 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約 3,000 個の SNPs を選ぶ。

x) 上記 ix)までに選択された 3,000 SNPs の症例の一次スクリーニングのタイピングデータにおいて 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 r^2 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。

以上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 2,592 個、がんは 2,496 個、糖尿病は 2,992 個、高血圧は 2,643 個を選択した。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結果、新たに有意差を示す SNP が認められたため、それらを含め合計 3,033 SNP のタイピングを行った。

③二次スクリーニングの SNP タイピング：

上記②において選択した SNP について、新たに 96-plex PCR を組んで Invader 法によりタイピングを行い、下記④タイピングデータの品質管理に記載した方法でタイピングの品質管理を行った。十分なデータの信頼性を達成できなかった SNP については再度実験を繰り返すか、または異なる 96-plex の組み合わせに入れた。その結果、タイピングの歩留まりは最終的に 9 割程度を達成した。

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、各疾患とも症例で 384 穴カード 2 枚、対照で 384 穴カード 2 枚を使用するが、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した。

- 1) 二次症例の一枚目対二次症例の二枚目
- 2) 二次対照の一枚目対二次対照の二枚目
- 3) 二次対照対一次の他疾患
- 4) 二次の対照対 JSNP の公開アレル頻度
- 5) 二次の症例対一次の症例

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 値を報告した。

- 6) 二次の症例対対照
- 7) 二次の症例対 JSNP の公開アレル頻度
- 8) 一次+二次の症例対二次の対照

本研究で得られたミレニアム・ゲノム・プロジェクトの JSNP ゲノムスキャンの二次スクリーニングデータは、各疾患サブチームにより評価・検討された。少なくとも痴呆では 30 個、がんでは 2 個、糖尿病では 171 個、高血圧では 92 個の SNP が、喘息では 15 個の連鎖不平衡ブロックが、次の段階の解析に進められることが選択されている。糖尿病と高血圧に関しては一部の三次スクリーニングの解析結果を得、それぞれ三次スクリーニングでも疾患罹患と有意な相関を示す SNP が 4 個ずつ同定されている。

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。本研究で行った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%以下のものは残すなど、最終的には conservative な処理に落ち着いた。

実際に各疾患約 2,500~3,000 SNP の二次タイピングを終えてみると、各疾患複数個の SNP が同定されてきた。痴呆では、選ばれた 30 SNP のコードしている遺伝子の中には、アミロイドベータタンパクの輸送に関わるタンパク、タウタンパク、記憶に関わることが報告されている酵素や神経伝達物質受容体をコードしているものが含まれ、アルツハイマー病に強い関連性のある SNP が同定されたことを示している。がんにおいて得られた少なくとも 2つの SNP に関しては、特定のがんとの関わりは報告はあるが胃がんとは結びつけられた報告はなく、候補遺伝子アプローチでは得られなかった情報でもあり、今後の機能解析が期待される。糖尿病では二次スクリーニングにおいて有意差が認められた 171 SNP のうち 67 SNP に関して、別パネル（患者・対照 672 検体）の三次スクリーニングの結果が得られ、その中から、4SNP で二次の結果と一致して有意な結果を得ており、2 型糖尿病の候補遺伝子として新たな知見が得られつつある。高血圧では、二次スクリーニングで 92 個の有意な SNP を得、更に三次スクリーニングを行った結果、有力な SNP を 4 個得、周辺 SNP 等についても検討を行って行く予定である。喘息に関しては 17SNPs, 15 連鎖不平衡ブロックを同定した。この内最も相関の高い SNP を含む遺伝子 X は小児、成人喘息ともに高い相関を示しており、

喘息の病態に広く関わっている可能性がある。さらに遺伝子 X は Hutter らの罹患同胞対解析にてスキンプリックテスト陽性に連鎖を認めた第 20 染色体長腕に位置する。遺伝子 X は機能未知であるが、PI3kinase を活性化する刺激によって活性化されることが判明しており、PI3 kinase のシグナル伝達や炎症反応に関与する可能性がある。

E. 結論

ミレニアム・ゲノム・プロジェクトにおけるゲノム網羅的 JSNP 解析の一次スクリーニングの約 90,000 個の SNP タイピングデータから、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、当初の予定を上回る、各疾患それぞれ約 2,500~3,000 個の SNP を選択・タイピングし、そのタイピングデータの品質管理と基礎的統計学的解析を行い、各疾患サブチームに報告した。それらの結果は各疾患サブチームにより評価・検討され、三次スクリーニングや機能解析等の次の段階の研究への基礎的データを提供した。その結果、少なくとも痴呆では 30 個、がんでは 2 個、糖尿病では 171 個、高血圧では 92 個の SNP が、喘息では 15 個の連鎖不平衡ブロックがまず選択され、次の段階の解析に進められている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, 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) 48:654-658

2) Liu Y, Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, Ohnami S, Kohno T, Yoshida T, Sakamoto H, Sobue T, Tsugane S. Association of habitual smoking and drinking with single nucleotide polymorphism (SNP) in 40 candidate genes: data from random population-based Japanese samples. *J. Hum. Genet* (2005) 50:62-68

3) Yazawa I, Hazeki N, Nakase H, Kanazawa I,

- Tanaka M. Histone H3 is aberrantly phosphorylated in glutamine-repeat diseases. *BBRC*. 302: 144-149, 2003
- 4) Kawahara Y, Kwak S, Sun H, Ito K, Hashida H, Aizawa H, Jeong SY, Kanazawa I. Human spinal motoneurons express low relative abundance of GluR2 mRNA: an implication for excitotoxicity in ALS. *J. Neurochem*. 85: 680-689, 2003
- 5) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Kanazawa I, Kwak S. Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain. *European J Neurosci*. 18:23-33, 2003
- 6) Hoshino M, Tagawa K, Okuda T, Murata M, Oyanagi K, Arai N, Mizutani T, Kanazawa I, Wanker EE, Okazawa H. Histone deacetylase activity is retained in primary neurons expressing mutant huntingtin protein. *J. Neurochem*. 87: 257-267, 2003
- 7) Kawahara Y, Ito K, Sun H, Aizawa H, Kanazawa I, Kwak S. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature* 427(6977):801, 2004
- 8) Hitoshi S, Seaberg RM, Kosciak C, Alexson T, Kusunoki S, Kanazawa I, Tsuji S, van der Kooy D. Primitive neural stem cells from the mammalian epiblast differentiate to definitive neural stem cells under the control of Notch signaling. *Genes Dev* 18(15): 1806-1811, 2004
- 9) Yamamoto M, Abe M, Ji JJ, Wu Z, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of a GNAS1 Gene Variant with Hypertension And Diabetes Mellitus. *Hypertension Res*. 2004;27:919-924
- 10) Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuhara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakura J, Tokunaga K, Kondo I, Sugiyama Y, Miki T. Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2004;19:375-80.
- 11) Zhang JH, Kohara K, Yamamoto Y, Nakura J, Tabara Y, Fujisawa M, Katagi R, Miki T. Genetic predisposition to neurological symptoms in lacunar infarction. *Cerebrovasc Dis*. 2004;17:273-9.
- 12) Okumura S, Kashiwakura JI, Tomita H, Matsumoto K, Nakajima T, Saito H, Okayama Y: Identification of specific gene expression profile in human mast cells via Toll-like receptor 4 and FcεRI. *Blood*. 2003; 102(7): 2547-2554.
- 13) Doyen V, Rubio M, Braun D, Nakajima T, Abe J, Saito H, Delespesse G, Sarfati M: Thrombospondin 1 is an autocrine negative regulator of human dendritic cell activation. *J Exp Med*. 2003;198(8): 1277-1283.
- 14) Hirota T, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Kishi F, Suzuki Y, Saito H, Nakamura Y, Shirakawa T, Tamari M: Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3 (DAP3) and adult asthma. *J Hum Genet*. 2004;49:370-375.
- 15) アレルギー性疾患の遺伝疫学 現代医療 New Horizon for Medicine 35;1p127-133, 2003
- 16) アレルギー疾患における最近の話題 最新医学 58;2 p7-14, 2003
- 17) 喘息関連遺伝子解析の現状と遺伝子治療の可能性 *Prarma Medica The Review of Medicine and Pharmacology* 21;3 p15-19, 2003
- 18) 喘息の全ゲノム SNP 解析 アレルギー・免疫医薬ジャーナル社 10; 11 p112-119, 2003
- 19) アトピー性皮膚炎の全ゲノム解析 アレルギー・免疫 医薬ジャーナル社 10;12 p98-104, 2003
- 20) 遺伝子多型と喘息, *Asthma Frontier*. 3 ; 29-37, 2004
- 21) SNP (一塩基多型) アレルギーの臨床 24 : 643-647, 2004
- 22) SNPs を用いた気管支喘息関連遺伝子の解明 日本小児アレルギー学会誌 18;2 164-167, 2004
- 23) SNP (一塩基多型) アレルギーの臨床 北陸館 アレルギーの臨床 24 ; 643-647, 2004
- 24) ADAM33 をめぐって 分子呼吸器病 8;3 p97-99, 2004
- 25) ロイコトリエンと遺伝子多型 アレルギー・免疫 11 ; 16-23, 2004
- 26) 日本人喘息患者における ADAM33, TGFβ 遺伝子多型を含む最近の研究結果 アレルギー科 17 ; 364-373, 2004
- 27) 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*. 114:503 (2004)

28) Kamada F, Suzuki Y, Shao C, Tamari M, Hasegawa K, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Chiba Y, Aoki Y, Kure S, Taamura G, Shirakawa T, Matsubara Y: Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma. *Genes Immun.* 7:540-547 (2004)

29) Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kamada F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, Shirakawa T, Suzuki Y: Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma. *Hum Genet.* 115:295-301 (2004)

30) Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, Shirakawa T: Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese cedar pollen. *Clin Exp Allergy.* 34:192-201 (2004)

31) 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.* 49:115-22, (2004)

32) Akahoshi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, N. Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, Shirakawa T. A functional promoter polymorphism in the TBX21 gene is associated with aspirin-induced asthma *Hum Genet.* in press (2005)

33) 遺伝子多型と喘息遺伝子 -喘息の個別化医療をめざして *International Review of Asthma* 7;54-63, 2005

2. 学会発表

1) Murata M, Horiuchi E, Tsuji S, Kanazawa I. Long-term clinical effects of zonisamide; A new drug for Parkinson's disease. 6th International Conference AD/PD 2003 (Seville, Spain) 5.8-12, 2003

2) Horiuchi E, Takahashi Y, Kanazawa I, Murata M. The action mechanism of Zonisamide; A new drug for

Parkinson's disease. 6th International Conference AD/PD 2003 (Seville, Spain) 5. 8-12, 2003.

3) Murata M, Horiuchi E, Tsuji S, Kanazawa I. Zonisamide- A new drug for Parkinson's disease Long-term clinical effects. 55th Annual Meeting, American Academy of Neurology (Honolulu, Hawaii) 3. 29- 4.5, 2003

4) Goto J, Liu W, Murata M, Nemoto N, Kanazawa I. Suppression of Huntingtin Gene Expression by siRNA: A Possible Therapeutic Tool for Huntington's Disease. 55th Annual Meeting, American Academy of Neurology (Honolulu, Hawaii) 3.29- 4.2, 2003

5) Murata M, Horiuchi E, Takahashi Y, Kanazawa I. Zonisamide increase dopamine synthesis by inducing TH mRNA. 7th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Miami) 11.10-14, 2003

6) Liu W, Wang Y, Wada E, Murata M, Wada K, Kanazawa I. Rescue of the HD model mouse by siRNA technology: Silencing the huntingtin expression in vitro and in vivo. The Society for Neuroscience 34th Annual Meeting, San Diego, 10. 24, 2004

7) Murata M, Hasegawa K, Kanazawa I. Randomized, double-blind study of zonisamide with placebo in advanced Parkinson's disease. 8th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Rome, Italy) 6.14-17, 2004

8) 村田美穂, 堀内恵美子, 辻 省次, 金澤一郎: Zonisamide のパーキンソン病に対する長期効果. 第44回日本神経学会総会・横浜 2003年5月15 - 17日

9) 後藤 順, 劉 万兆, 村田美穂, 根本直人, 金澤一郎: siRNA によるハンチンチン遺伝子発現の抑制. 第44回日本神経学会総会・横浜 2003年5月15 - 17日

10) 堀内恵美子, 村田美穂, 高橋祐二, 辻 省次, 金澤一郎: Zonisamide の抗パーキンソン作用の発現機序(3). 第44回日本神経学会総会・横浜 2003年5月15 - 17日

11) 星野将隆, 田川一彦, 奥田智博, 植田弘子, 村田美穂, 小柳清光, 新井信隆, 水谷俊雄, 金澤一郎, Wanker E.E, 岡澤 均: ハンチントン病におけるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)変化の検討. 第45回日本神経学会総会・高輪 2004年5月12 - 14日

12) 田川一彦, 星野将隆, 奥田智博, 村田美穂, 金澤一

郎, Eric Wanker, 岡澤 均: 変異型ハンチンチン (mhht)による Hsp70 の小脳神経細胞に特異的な発現誘導. 第 45 回日本神経学会総会・高輪 2004 年 5 月 12 - 14 日

13) The 6th International Meeting on Single Nucleotide Polymorphism and Complex Genome Analysis. Nov 19-22, 2003. Washington DC, USA

14) Hunting for hypertension genes; the national Millennium Genome Project in Japan. Miki T and The Study Group of Millennium Genome Project for Hypertension. The American Society of Hypertension 19th Annual Scientific Meeting New York, USA, May 18-22, 2004

15) Matrix metalloproteinase gene polymorphisms and pulse pressure in a large Japanese general population. Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Yamada Y, Miki T, Shimokata H

16) Genetic risk factor for the susceptibility for chronic Chlamydia Pneumoniae infection: J-SHIPP study. Kohara K, Tabara Y, Abe M, Tachibara R, Nakura J, Miki T

17) 第 27 回日本高血圧学会総会 平成 16 年 10 月 7 日～9 日 宇都宮

18) Catalase 遺伝子 (CAT) のプロモータ領域 C-844T 遺伝子多型と日本人高血圧との関連性. 安部道子・名倉潤・金京姫・呉志紅・山本美由紀・田原康玄・茂木正樹・小原克彦・三木哲郎

19) 斎藤博久. アレルギー・アトピー性疾患における遺伝子発現 第 126 回日本医学会シンポジウム「アレルギー・アトピー性疾患」6 月 24 日, 2004.

20) 第 11 回関東アレルギークラブ日本都市センター 喘息等アレルギー疾患ホールゲノムプロジェクトの成果と展望

21) 第 15 回日本アレルギー学会 春期臨床大会 パシフィコ横浜 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

22) 第 40 回日本小児アレルギー学会シンポジウム 4 岐阜 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

23) 「オーダーメイド医療を考える」公開シンポジウム 博多・電気ホール—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—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」

24) 日本人類遺伝学会第 48 回大会 長崎ブリックホール 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」

25) 第 16 回日本アレルギー学会 春期臨床大会 群馬県民会館 シンポジウム 2 ゲノム解析の臨床応用 特別講演 2 環境と遺伝の相互作用、粘膜免疫をめぐる

26) 第 54 回日本アレルギー学会総会 パシフィコ横浜 (横浜市西区みなとみらい) シンポジウム 5 アレルギー関連遺伝子 2. アレルギー関連遺伝子—本邦の状況

27) Annual Meeting The American Society of Human Genetics 2004. Toronto, Canada.

A large-scale case control study for bronchial asthma

28) The 13th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience Genome Analysis and Medicine Hotel Okura Tokyo, Tokyo, Japan

A large-scale case control study for bronchial asthma

29) 第 3 回 気道アレルギー疾患シンポジウム 江陽グランドホテル 気管支喘息の遺伝要因

30) The 8th Guest Symposium on Asthma and Allergy 阪急電鉄本社「エコルテ・ホール」感染とアレルギー、自然免疫とリモデリング

自然免疫関連遺伝子の遺伝子多型

31) 第 7 回多摩アレルギー懇話会 吉祥寺第一ホテル 遺伝子多型を利用した気管支喘息へのアプローチ

G. 知的所有権の出願、取得状況

1. 特許取得

特許出願番号: 2003-136477

発明の名称: ハンチントン病遺伝子の発現抑制

発明者: 金澤一郎, 他 5 名

特許出願人: 科学技術振興事業団

出願年月日: 平成 15 年 5 月 15 日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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	巻号	ページ	出版年
Yoshimura K., Hanaoka T., Ohnami S., Ohnami S., Kohno T., Ying Liu, Yoshida T., Sakamoto H., Tsugane S.	Allele frequencies of 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
Ying Liu, Yoshimura K., Hanaoka T., Ohnami S., Ohnami S., Kohno T., Yoshida T., Sakamoto H., Sobue T., Tsugane S., Yazawa I., Hazeki N., Nakase H., Kanazawa I., Tanaka M.	Association of habitual smoking and drinking with single nucleotide polymorphism (SNP) in 40 candidate genes: data from random population-based Japanese samples. J. Hum. Genet (2005) 50:62-68	J. Hum. Genet.	50	62-68	2004
Yazawa I., Hazeki N., Nakase H., Kanazawa I., Tanaka M.	Histone H3 is aberrantly phosphorylated in glutamine-repeat diseases.	BBRC.	302	144-149	2003
Kawahara Y., Kwak S., Sun H., Ito K., Hashida H., Aizawa H., Jeong SY., Kanazawa I.	Human spinal motoneurons express low relative abundance of GluR2 mRNA: an implication for excitotoxicity in ALS.	J. Neurochem.	85	689	2003
Kawahara Y., Ito K., Sun H., Kanazawa I., Kwak S.	Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain.	Eur. J. Neurosci.	18	23-33	2003
Hoshino M., Tagawa K., Okuda T., Murata M., Oyanagi K., Arai N., Mizutani T., Kanazawa I., Wanker EE., Okazawa H.	Histone deacetylase activity is retained in primary neurons expressing mutant huntingtin protein.	J. Neurochem.	87(1)	257-67	2003
Kawahara Y., Ito K., Sun H., Aizawa H., Kanazawa I., Kwak S.	Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons.	Nature	427(6977)	801	2004
Hitoshi S., Seaberg RM, Koscik C., Alexson T., Kusunoki S., Kanazawa I., Tsuji S., van der Kooy D.	Primitive neural stem cells from the mammalian epiblast differentiate to definitive neural stem cells under the control of Notch signaling.	Genes Dev.	18(15)	1806-11	2004
Yamamoto M., Abe M., Ji JJ, Wu Z., Tabara Y., Mogi M., Kohara K., Miki T., Nakura J.	Association of a GNAS1 Gene Variant with Hypertension And Diabetes Mellitus.	Hypertension Res.	27	919-924	2004

○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	巻号	ページ	出版年
Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuwara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakura J, Tokunaga K, Kondo I, Sugiyama Y, Miki T.	Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLC01B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors.	Drug Metab Pharmacokinet.	19	375-380	2004
Zhang JH, Kohara K, Yamamoto Y, Nakura J, Tabara Y, Fujisawa M, Katagi R, Miki T.	Genetic predisposition to neurological symptoms in lacunar infarction.	Cerebrovasc Dis.	17	273-279	2004
Okumura S, Kashiwakura JI, Tomita H, Matsumoto K, Nakajima T, Saito H, Okayama Y	Identification of specific gene expression profile in human mast cells via Toll-like receptor 4 and FcεRI.	Blood.	102(7)	2547-2554	2003
Doyen V, Rubio M, Braun D, Nakajima T, Abe J, Saito H, Delespesse G, Sarfati M	Thrombospondin 1 is an autocrine negative regulator of human dendritic cell activation.	J Exp Med.	198(8)	1277-1283	2003
Hirota T, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Kishi F, Suzuki Y, Saito H, Nakamura Y, Shirakawa T, Tamari M	Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3 (DAP3) and adult asthma.	J Hum Genet.	49	p370-375	2004
清水麻貴子 長谷川耕一 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 大津暁子 玉 利真由美 白川太郎	アレルギー性疾患の遺伝疫学	現代医療	35	P127-133	2003
赤星光輝 玉利真由美 白川 太郎	アレルギー疾患における最近の話題	最新医学	58	P7-14	2003

○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	巻号	ページ	出版年
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	喘息関連遺伝子解析の現状と遺伝子治療の可能性	Prarma Medica	21	P15-19	2003
赤星光輝 玉利真由美 白川太郎	喘息の全ゲノムSNP解析	アレルギー・免疫	10	P112-119	2003
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	アトピー性皮膚炎の全ゲノム解析	アレルギー・免疫	10	P98-104	2003
玉利 真由美	遺伝子多型と喘息	Asthma Frontier	3	p29-37	2004
玉利 真由美	SNP (一塩基多型)	アレルギーの臨床	24	p643-647	2004
玉利真由美 白川太郎	SNPsを用いた気管支喘息関連遺伝子の解明	日本小児アレルギー学 会誌	18	p164-167	2004
玉利 真由美	呼吸器疾患関連遺伝子異常: ADAM33をめぐって	分子呼吸器病	8	p269-271	2004
玉利 真由美	ロイコトリエンと遺伝子多型	アレルギー・免疫	11	p16-23	2004
程雷 山崎曉子 清水麻貴子 広田朝光 赤星光輝 松田彰 玉利真由美 白川太郎	日本人喘息患者におけるADAM33, TGFβ遺伝子多型を含む最近の研究結果	アレルギー科	17	p364-373	2004

○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	巻号	ページ	出版年
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.	114	p503-509	2004
Kamada F, Suzuki Y, Shao C, Tamari M, Hasegawa K, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Chiba Y, Aoki Y, Kure S, Taamura G, Shirakawa T, Matsubara Y	Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma	Genes Immun.	7	p540-547	2004
Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kamada F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, Shirakawa T, Suzuki Y	Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma.	Hum Genet.	115	p295-301	2004
Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, Shirakawa T	Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese ceda pollen.	Clin Exp Allergy.	34	p1192-201	2004

○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	巻号	ページ	出版年
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	49	p115-22	2004
Akahoshi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, N. Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, Shirakawa T	A functional promoter polymorphism in the <i>TBX21</i> gene is associated with aspirin-induced asthma	Hum Genet			In press
玉利 真由美	遺伝子多型と喘息遺伝子 -喘息の個別化医療をめざして	International Review of Asthma	7	P54-63	2005