

まだ preliminary な検討段階で現在症例をさらにふやして検討しているが、以上の傾向から、A/L 比はむしろ遺伝的に規定されている部分が強い可能性があること、A を増やす効果が知られている PPAR ガンマアゴニストはこの比を大きく増加させるが、必ずしも血糖コントロールの改善（インスリン感受性の改善）と平行しないこと、が予想される。あるいはこうした指標は、血糖以外の、たとえば動脈硬化性病変との関連なども考えられる。

いずれにしても、断面的なパネルに対する本パネルの有用性が示唆され、ゲノム解析と組み合わせることで病態をより詳しく解明できる可能性が期待される。

(3) 候補遺伝子解析

昨年度までに続き、糖尿病候補遺伝子の SNP 解析を行った。小胞体ストレス関連（EIF2AK3、DDIT3、XBP1、HSPA2、TXNDC4、DNAJC3、DNAJC10）、その他（CCR2、NDN、GPR40 など）を中心とした 13 の候補遺伝子について、合計約 170 の SNP（挿入・欠失を含む）を同定した。

(4) プロテオーム解析

入院患者血清及び網膜症患者の硝子体液について、プロテインチップ（サイファージェン社）を用いた検討（SELDI-TOF-MS）を行った。

このうち、硝子体液については、昨年度までの解析を継続し、糖尿病網膜症症例・非糖尿病症例各 6 例で、前者でのみ見られるシグナルが存在した。我々の検討では、非糖尿病者の硝子体液でもタンパクは存在し、逆に非糖尿病者にのみ存在するシグナルも見られた。ただし、個人差がかなりみられるのも確かであり、さらに多くの症例で、臨床像とあわせて解析してゆく必要性がある。

教育入院患者の血清については、予備的検討により、同一人でも入院直後と退院直前とで差のある可能性のあるシグナルも見られている。ただし本年度行った前処理や分画の最適条件の検討はあまり進展せず、シグナルからタンパク同定への道のりの困難さとあわせ、SELDI-TOF-MS の問題点に直面したといえる。現在、厚生労働省系の他のプロジェクト（プ

ロテオームファクトリー）で進行中の成果をとりいれながら、本パネルの有効な活用法を探ってゆきたい。

D. 考察

糖尿病関連疾患の病態に関する研究は、国内外で精力的に行われているが、いまだその全体像を完全に説明できる分子機構はあきらかでない。

遺伝因子については、それぞれの相対危険度が弱いことから、糖尿病の全体像を完全に説明するのは不可能に近い。プロテオーム解析については、病態のカギとなる患者由来臓器（膵β細胞、肝、脳など）を得ることは不可能に近く、血清・尿などに限られている。この点、合併症、特に局所の試料が手術で得られる網膜症は解析に適しているが、臨床的な診断への応用という点では課題が残る。

さらに臨床情報としては、糖尿病の「成因」の研究に必要な情報と「病期」の定義に必要な情報とを、収集する必要がある。また非常に多くのサンプルが必要であるが、きわめて不均一な疾患であるにもかかわらず、臨床試料・情報の収集に標準化された方法がなく、多施設由来のサンプルを用いた研究のネックになっていた。

日本では糖尿病を含めた疾患関連の大型プロジェクトとして、ミレニアムプロジェクト（平成 12 年度～16 年度）、メディカルフロンティア（平成 13 年度～16 年度）、プロテオームファクトリー（平成 15 年度～19 年度）が進められてきている。また海外では、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームなどの解析は以前より盛んであり、それぞれ地域ベースや家系ベースで大規模なパネルで研究され、詳細な臨床情報も集めている。しかしこれらを統合した病態の解析は行われていないのが現状である。

今回構築しつつあるパネル及び解析情報は、こうした多元的な解析を疾患研究の場で実現するために貴重なものと考えられる。科学としては、さまざまな「オーム」を統合して表現型を理解する「フェノーム」という概念が提唱されているが、臨床試料を用いた解析ではお手本となる成功例がなく、本研究

でもまだ事実上手探りといえる。ただし、前述した教育入院前後の血清パネルのように、新たな有用性を示唆する結果も少しずつ得られてきている。サンプル数もかなり集積してきたので、方法論を適宜吟味しながら (SELDI-TOF-MS で解析が行き詰まったように)、今後統合的解析に挑戦してゆきたい。

E. 結論

ゲノム、プロテオーム、臨床情報を視野においたパネルを収集した。糖尿病の成因及び病期について、これまで個別で研究されてきた、基礎的な分子の性質、疾患関連遺伝因子や生活習慣との関係、及び時間軸との関係などを、総合的にとらえるために非常に有用と思われる。

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

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

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

代謝症候群等のバイオバンク構築

分担研究者 加藤 規弘 国立国際医療センター研究所遺伝子診断治療開発研究部 部長

研究要旨：動脈硬化危険因子の重複した病態であるメタボリック症候群（代謝症候群）に対して、その効率的な医療（診断、治療、予防）を実施するためには、個別化が必要である。そのアプローチの一環として本研究では、国立国際医療センターで平成 17 年 11 月よりスタートした病院コホート・プロジェクトを軸に医療情報ならびに生体由来試料の収集と、メタボリック症候群関連疾患に関するデータベースの構築を行った。

A. 研究目的

動脈硬化危険因子の重複した病態には、個別の疾病（糖尿病、高脂血症、高血圧など）や合併症の研究アプローチを組み合わせるだけでなく、特定の個人における罹患疾病の重み付け、ないし集積に関する類型化も考慮せねばならない。すなわちメタボリック症候群に対して一定の臨床診断基準は設定されているものの、本研究はその医療（診断、治療、予防）の個別化を目的としている。医療費の削減や QOL の向上という視点からもこうした取り組みの必要性は高い。

B. 研究方法

本研究では、国立国際医療センター病院の 29 診療科横断的にメタボリック症候群等の生活習慣病を対象として被験者をエントリーする、病院コホート・プロジェクトを平成 17 年 11 月よりスタートした。同プロジェクトの被験者収集過程において、共通の生活習慣調査、最小限の共通臨床検査を実施し、血液と尿を採取する。血液からは DNA を抽出し、さらに血清と血漿を分離保存する。各診療科が受診患者の記述的臨床情報（罹患病名、薬歴を含む治療歴など）を系統的に整理し、これらを階層的に構築する統合データベースに格納する。メタボリック症候群という視点より、これまでに実施してきた動脈硬化危険因子に関する疾病ゲノム解析研究結果を総括し、

データベースとして公表していく。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立国際医療センターの遺伝子解析研究に係る倫理審査委員会にて平成 17 年 11 月 4 日に承認されている。

C. 研究結果

総合診療を掲げる当医療機関の受診者における、動脈硬化危険因子の集積に関して、生活習慣も含めて横断的データを収集することができた。当研究課題には 3 年目のみの参加であったため、必ずしも十分な時間的余裕はなかったが、1200 名を越える被験者の同意を取得することができた。また代謝性疾患の統合データベースとして JMDBase (Japan Metabolic Disease Database) を立ち上げ、ウェブ公開をスタートした。

D. 考察

近年、メタボリック症候群が、大きな社会的注目を集めており、その解明と治療の体系化を目指した臨床研究の必要性が唱えられている。従来は、主に一般集団コホートでの疫学調査研究により、罹患率、致死的心血管系合併症の発症リスクなどが検討されてきたが、単に療養指導だけでなく、治療の個別化・至適化を実現するためには必ずしも十分でなく、新たな臨床研究システムの拡充・整備が必要である。

本病院コホートの構築はその有用なシステム、バイオリソースを提供できる点で有用と考えられる。

E. 結論

本研究で取り組んだ病院コホートは、一次から三次までの疾病予防全体を対象としており、地域医療や健診システムとの連携を通じて、一般集団中での保健医療へ研究成果が波及していくと期待される。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 加藤規弘. 概論：ゲノムワイドスキャン. 高血圧(上)－最新の研究動向－. 日本臨床 2006 年増刊. 324-330.
- 2) 加藤規弘. 高血圧治療の変遷と将来展望：高血圧遺伝子と治療への応用. 内科. 2006 ;98 (3). 467-470. 南光堂

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

高血圧関連疾患のバイオバンク構築とゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム解析

分担研究者 友池 仁暢 国立循環器病センター 病院長

研究要旨：高血圧素因遺伝子がどのように高血圧発症に関わるかを明らかにするため、今までに収集した遺伝情報と、生活習慣及び中間形質を包含したデータベースを作成し創薬予防の基盤形成を目指す。対象数3500人、300種類の候補遺伝子の遺伝型情報、100項目以上の検診情報、レニン活性など10種類以上の特殊生化学的検査、頸動脈エコーなど特殊生理学的検査などが包含され、基本情報に関しては15年以上の縦断データが存在する。

A. 研究目的

高血圧の革新的な診療・予防法の確立が目的である。候補遺伝子がどのように高血圧発症に関わるかを明らかにするためには、遺伝子の機能ばかりでなく、対象集団において、詳細な生活習慣及び中間形質に関するデータベースが必要となる。今までに収集した各種データを統合し、生活習慣病のゲノム疫学解析の基盤となるデータベース作成を目指す。

B. 研究方法

吹田研究を用いた候補遺伝子法。保存血清などを用いて生理活性物質などの測定を行う。今までに蓄積された生理機能検査などのデータベースとして統合する。

（倫理面への配慮）

臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針を遵守し、国立循環器病センターで定められた手続きに忠実に従って進めてきた。

C. 研究結果

高血圧素因遺伝子の候補10種類に関し、詳細なシークエンスを行い、変異を361種類見出した。これらの中、161種類に関し、吹田スタディー3654人を対象として遺伝型を決定し、血圧レベルとの相関を解析した。特にエラスチン遺伝子（ELN）の3'UTRの

変異は、血圧レベルだけでなく、pulse wave velocityにも強い影響を与えた。データベースとしての価値は、臨床データをより詳細に調査することで高まるが、血圧レベルあるいは生活習慣病に関連のあるものとして、甲状腺ホルモン（FT3, FT4, TSH）、RBP4を今年度は測定した。

アルドステロン合成酵素遺伝子（CYP11B2）のプロモーター領域のT(-344)C変異が、この遺伝子のアンジオテンシンIIへの反応性を規定していること、TT型が、高食塩摂取下でもアルドステロン産生が、相対的に減少せず、結果的に食塩感受性の素因となっていることが判明した。

D. 考察

候補遺伝子法に基づく高血圧素因遺伝子探求は、ひとつの素因遺伝子の寄与の程度が小さいことから、極めて大きなサンプルを必要とする。現実的には不可能なので、各研究を詳細に報告し、多数の結果をまとめたメタ解析の如き手法が必要となる。今後は、プラットフォームも整ったことから、ゲノムワイドスクリーニングがしばらくは隆盛となると思われる。

E. 結論

エラスチン遺伝子の変異が大動脈の硬化を介して収縮期高血圧に関与するものならば、この遺伝型を

保持する高血圧患者には、アンジオテンシン受容体拮抗薬など大動脈のコンプライアンスを改善させる薬が適している可能性がある。

アルドステロン合成酵素のプロモーター領域が TT 型で食塩感受性と考えられる高血圧患者には、減塩あるいはアルドステロン拮抗薬の投与が適していると思われる。

F. 健康危険情報

アルドステロン合成酵素プロモーター領域 T(-344)C 変異が、TT 型のは食塩感受性であり、食塩摂取増加で血圧上昇が引き起こされる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tomoike H., et al. Polymorphism in CYP11B2 determines salt sensitivity in Japanese.

Hypertension (in press)

2) Tomoike H., et al. Extensive genetic analysis of 10 candidate genes for hypertension in Japanese. Hypertension 2006; 48: 901-907.

3) Takashima N, Tomoike H, Iwai N. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance. N. Engl. J. Med. 2006;355:1392 (letter)

4) Takashima N, Niwa Y, Mannami T, Tomoike H, Iwai N. Characterization of Subclinical Thyroid Dysfunction from Cardiovascular and Metabolic View Point; the Suita Study. Circ. J. 2007; 71: 191-195.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

喘息等免疫異常関連疾患を含む成育疾患のバイオバンク構築

分担研究者 藤本 純一郎 国立成育医療センター研究所 副所長

研究要旨：昨年度までは喘息等免疫異常疾患を対象として検体収集ならびに臨床情報とリンクさせた遺伝子発現解析を中心に研究を実施した。本年度は、上記研究も含めメディカル・バイオリソースの整備についての施設内活動を中心とした。そのモデルとして全国規模の小児がん臨床研究と連携した中央診断と検体保存ならびに病院での手術材料のリソースバンク化について検討した。

A. 研究目的

多施設連携によるメディカル・バイオリソースバンクおよびデータベース構築において、国立成育医療センターの特徴を生かした活動として喘息等免疫異常疾患ならびに小児がん等の難治性疾患を対象とし、診療情報と連結した検体収集と保存ならびに病態解明へ応用可能な遺伝子産物等の網羅的解析とデータベース化を目指すことを目的とした。

B. 研究方法

1) 小児がん患者検体の収集と保存

多施設共同臨床試験と連携し、中央診断後の余剰検体を研究用として保存するシステムを構築した。

2) 病院との連携による研究用検体収集と供給
研究用に採取した患者由来検体の余剰分ならびに細胞株等の成果の保存あるいは供給に関する体制について検討した。

（倫理面への配慮）

ヒトを対象とする研究についてはすべて国立成育医療センター倫理委員会に計画書を提出し承認を受けた後に実施している。

C. 研究結果

1) 国立成育医療センターにおける体制整備

成育疾患患者ならびにそれに関連する健常人由来

検体を保存するシステムとして、まず、場所の確保を行った。これについては、センター内部に設置された施設整備に係る委員会を活用し、ひとつの研究室を確保し、実験器具、フリーザーならびに液体窒素タンクを整備した。

保存対象は、小児がん検体ならびに妊婦血清から開始したが、将来的にはすでに蓄積されている他の疾患由来検体や健常人検体にも対象を広げる。また、保存、管理、供給に関する規約ならびに運用細則等を整備する予定である。

2) 小児がん患者検体の収集と保存

小児がんに対する標準的治療法の確立を目指す多施設共同臨床試験は、主要な病型（白血病、悪性リンパ腫、神経芽腫、横紋筋肉腫、Ewing肉腫）については公的研究費の補助を受けて全国規模で開始されている。これらのすべてで病理、細胞マーカーあるいは遺伝子に関する中央診断が種々の組み合わせで実施されている。国立成育医療センターはすべての臨床試験で病理中央診断を実施している。また、細胞マーカー診断および遺伝子診断についても半数以上で実施している。

この多施設共同臨床試験と連携し、中央診断後の余剰検体を研究用として保存するシステムを構築した。白血病を中心としてすでに1000例近い検体の保存を終了した。

3) 病院との連携による研究用検体収集と供給

妊婦血清を使用した研究での余剰検体、本来廃棄される手術摘出組織等を利用した研究で樹立した細胞株等を保存する取り組みを行っている。組織幹細胞については、分譲依頼の増加に伴って研究者の業務負担が増加したため、一部については公的細胞バンクを経由した配分ルートを確認した。

(<http://www.jhsf.or.jp/bank/cell.html>)

D. 考察

国立成育医療センターが関与する疾患あるいは対象者を中心としたヒト由来検体を保存するシステム構築を開始した。バイオリソースバンクを構築するにあたり、特に配分のルール作りは重要課題であり、その方向性を明確にしておく必要があると考える。

細胞株のごとく無限に増殖する可能性のあるリソースの場合と、希少疾患患者から提供を受けた貴重な少量の試料の場合ではおのずと配分ルールは異なることが予想される。

また、リソースバンクは長期にわたること、品質管理の必要があること、かなりの作業内容となることなどを考慮する必要がある。従って、運営資金や供給ルートの確保は十分に考慮すべきと考えられる。

E. 結論

1. 成育疾患関連ヒト検体の保存を開始した。
2. 白血病等のがん由来検体は約 1,000 件に達した。
3. 細胞株等一部の成果は公的細胞バンクを経由した供給体制とした。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Morimoto A, Ikushima S, Kinugawa N, Ishii E, Kohdera U, Sako M, Fujimoto J, Bessho F, Horibe K, Tsunematsu Y, Imashuku S and Japan LCH Study Group. Improved outcome in the treatment of

pediatric multifocal Langerhans cell

histiocytosis: Results in the JLSG-96 protocol study. *Cancer* 107:613-9, 2006.

2) Kato I, Manabe A, Aoyama C, Kamiya T, Morimoto T, Matsufuji H, Suzuki K, Kitagawa Y, Hori T, Tsurusawa M, Kiyokawa N, Junichiro F, Hosoya R. Development of diffuse large B cell lymphoma during the maintenance therapy for B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 48:230-2, 2007.

3) 塩沢裕介, 北村紀子, 竹野内寿美, 田口智子, 大喜多肇, 林泰秀, 小原明, 花田良二, 土田昌宏, 藤本純一郎, 清河信敬. 4 カラーデジタルフローサイトメーターを用いた小児白血病マーカー中央診断の試み. *Cytometry Research* 16(2):11-7, 2006.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

メディカルバイオリソースバンクにおける薬物応答情報の取扱いと解析

分担研究者 澤田 純一 国立医薬品食品衛生研究所機能生化学部 部長

研究要旨：薬物応答・副作用発現を規定する各種薬物動態関連分子のうち、これまでに蓄積した3種の遺伝子の多型解析データを用いた連鎖不平衡解析及びハプロタイプ解析を行い、データベース入力のための高多型密度ハプロタイプ情報を取得した。

A. 研究目的

本研究は痴呆、がん、糖尿病、高血圧、喘息等の高齢者主要疾患の革新的な診療・予防法確立に貢献することを目標とし、そのために必要な研究基盤としての高齢者主要疾患横断的メディカル・バイオリソースバンク及び疾患・薬物応答関連分子経路探索用疾患データベースをモデル構築することを目的とする。当分担研究では日本人を対象とした薬物応答情報との相関解析等に必要とされる薬物応答関連遺伝子のハプロタイプ情報の取得及びその加工を行う。本研究の遂行による高多型密度ハプロタイプ情報のデータベース公開は、有効性及び副作用等の薬物応答性との相関解析に有用であるとともに、上記高齢者主要疾患に対する画期的薬物治療法開発への基盤情報を提供すると考えられる。

B. 研究方法

連鎖不平衡解析はソフトウェア SNPalyze (Dynacom, Yokohama, Japan) により行い、 $|D'|\text{値}$ および r^2 値で連鎖の強さを評価した。解析の結果を視覚的に表示するため、 $|D'|\text{値}$ および r^2 値の大きさ(0~1)を10段階の青色の濃さで表すマクロをMS Excelを用いて開発し使用した。さらにハプロタイプ解析をソフトウェア LDSUPPORT (Kitamura Y. et al., Ann. Hum. Genet. 66: 183-193 (2002)) または PHASE ver. 2.0 (Stephens M. et al., Am. J. Hum. Genet., 68: 978-989. (2001)) により行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトゲノム DNA を解析した遺伝子多型データを取り扱うものであり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、研究倫理審査委員会の承認のもとに行った。

C. 研究結果

今年度は薬物代謝酵素 CYP2C8, CYP2D6、薬物トランスporter-ABCC1 につき、蓄積していた遺伝子多型情報を基に連鎖不平衡解析を行い、さらにハプロタイプ解析を行った。

1. CYP2C8

本酵素は肝臓、並びに、腎臓、副腎、脳、子宮等を含む多くの肝臓以外の組織で発現し、抗がん剤パクリタキセル、抗てんかん薬カルマゼピン、抗糖尿病薬レパグリニド、非ステロイド性抗炎症剤イブプロフェン及び、抗不整脈薬アミオダロン等の治療薬の代謝に重要な役割を果たしていることが報告されている。CYP2C8 が触媒するパクリタキセル 6 α -水酸化活性、並びに、ロシグリタゾンの N-脱メチル化、及び p-水酸化活性が、ヒト肝臓パネルからのミクロソームで、最大 38 倍まで異なることが報告されており、この活性の個体差には遺伝因子の関与が考えられている。本酵素は 9 エクソンよりコードされる。日本人検体 437 人のシーケンシング解析で検出した 40 種の遺伝子多型を用いた連鎖不平衡解析の結果、本遺伝子は 1 ブロックでハプロタイプを解析することが妥当と考えられた。LDSUPPORT による解析の結果、49 種のハプロタイプを同定または推定した。こ

のうち、アミノ酸置換を伴う多型を含まないものが40種、含むものが9種であった。また頻度0.01以上のハプロタイプは8種類(*1A, *1B, *1d-*1g, *1h, *1j)であった。2検体以上から見いだされたハプロタイプを用いたネットワーク解析の結果、アミノ酸置換を含まないハプロタイプは、大きく6グループ(*IA, *IB, *ID, *IE, *IG, *IJ)に分類できることが明らかとなり、分類のためのタグとなる多型を選定した。

2. ABCC1

本トランスポーターは心臓、副腎、肺、肝臓、腎臓を含むほぼ全ての組織に発現しており、抗がん剤ドキシソルビシン、代謝拮抗薬メトトレキサート等を基質として輸送し、これらの薬物の体内動態・排泄に関与することが示唆されている。また、グルクロン酸、グルタチオン、硫酸で抱合された内因性及び外因性化合物も基質となる。本トランスポーター遺伝子は31エクソンより構成されている。

日本人153人のシーケンシング解析により見いだされた86種の遺伝子多型を用いた連鎖不平衡解析の結果、本遺伝子は5ブロックでハプロタイプを解析することが妥当と考えられた。ブロック-1は5'-非翻訳領域のGCCの繰り返し(マイクロサテライト)より構成されており、12種の繰り返し構造が同定された。このうち、頻度0.01以上のものは7種(11回-17回)であった。ブロック1はイントロン1よりイントロン12までの34種の多型より構成されており、アミノ酸置換を伴う多型を含むもの3種を含め計32種のハプロタイプを推定した。このうち、頻度0.01以上のハプロタイプは10種類(*1a-*1j)であった。ブロック2はイントロン12よりイントロン19までの18種の多型より構成されており、アミノ酸置換を伴う多型を含むもの3種を含め計23種のハプロタイプを推定した。このうち、頻度0.01以上のハプロタイプは9種類(*1a-*1h, *2a)であった。ブロック3はイントロン21よりイントロン27までの20種の多型より構成されており、アミノ酸置換を伴う多型を含むもの4種を含め計23種のハプロタイプを推定した。このうち、頻度0.01以上のハプロタ

イプは10種類(*1a-*1j)であった。ブロック4はエクソン28よりエクソン31の3'-非翻訳領域までの12種の多型より構成されており、アミノ酸置換を伴う多型を含むもの1種を含め計13種のハプロタイプを推定した。このうち、頻度0.01以上のハプロタイプは6種類(*1a-*1f)であった。さらに各ブロックで、頻度の高いハプロタイプを同定するためのタグとなる多型を選定した。

また中国人における解析結果(Wang H. et al., *Ann. Hum. Genet.* 68: 563-573 (2004))との比較から、ブロック4の*1c-*1fハプロタイプの頻度が、日本人と中国人で異なることが示唆された。

3. CYP2D6

本酵素は、肝臓、脳を始めとする比較的多くの組織で発現しており、抗精神病薬、循環器病薬、抗うつ薬、抗ヒスタミン薬等の非常に多くの医薬品の代謝に関与している重要な酵素である。本酵素の遺伝子は9エクソンより構成されているが、組換えによる遺伝子の全欠損(*5ハプロタイプ)や重複(*1X2、*2X2等)、及び偽遺伝子との部分的組換え(*36)等、多くの遺伝子構造変化が知られていた。日本人でも比較的頻度の高いハプロタイプとして、野生型

(*1)の他に、野生型とほぼ同等の活性を有する*2、全欠損型の*5、部分的な活性低下を引き起こす*10、及びエクソン9部分が偽遺伝子であるCYP2D7Pと組換えられた*36が報告されている。

日本人254人につき解析した結果、全欠損(*5)様のタイピング結果を26人が有していた。しかし、このうち5人は従来の方法で全欠損(*5)を有していると判定されるものの、実際は欠損しておらず、ミスタイピングであることが判明した。これら5人の患者では、ハプロタイプとして*36-*10D、*36、または*10Dを有しており、誤判定はCYP2D6遺伝子の下流にあるリピート配列部分で組換えが起きていることによることが明らかとなった。結論として、*5の頻度は0.042、*36-*10Dと*36は0.004、*10Dは0.002であった。

一方、全欠損様のタイピング結果を示さなかった228検体中、138検体が*10のマーカーである100C>T

(P34S)多型を有していた。*10を有するハプロタイプのうち、*36-*10というタンデム構造を取るものがほとんどであり、タンデム型である*36-*10の頻度は0.278、シングル型の*10は0.055であった。また*10X2のduplicationは頻度0.008であった。

さらに100C>T(P34S)多型を有さない90検体の中、*1X2及び*2X2というduplicationの頻度はそれぞれ0.008及び0.004であった。

以上の結果から、日本人におけるCYP2D6遺伝子の構造の多様性が明らかとなった。

D. 考察

疾患や薬物応答性との相関解析をする場合、個々の遺伝子多型を用いて解析するよりも、多型同士の連鎖に基づいたハプロタイプの方がより強い相関を得られることが近年多数報告されている。本研究の成果であるハプロタイプに基づいた遺伝子多型情報の、データベースでの公開は、薬物応答性との相関解析に有用な基盤的情報を与えるものと考えられる。

E. 結論

薬物代謝酵素CYP2C8及び薬物トランスポーターABCC1では、遺伝子多型情報を用いた連鎖不平衡解析結果に基づいて、各遺伝子をそれぞれ1及び5ブロックに分割し、各ブロック毎にハプロタイプ解析を行った。薬物代謝酵素CYP2D6では遺伝子の全欠損や重複、及び偽遺伝子との一部領域の組換え等が認められ、さらにその亜型も存在することから、遺伝子構造が非常に複雑であり、ハプロタイプのタイピングには細心の注意を要することが明らかとなった。

なお、本研究の協力研究者である国立医薬品食品衛生研究所・機能生化学部・室長 斎藤嘉朗博士及び同・主任研究官 前川京子博士に感謝する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

a) K. Maekawa, M. Itoda, K. Sai, Y. Saito, N. Kaniwa, K. Shirao, T. Hamaguchi, H. Kunitoh, N. Yamamoto, T. Tamura, H. Minami, K. Kubota, A. Ohtsu, T. Yoshida, N. Saijo, N. Kamatani, S. Ozawa and J. Sawada: Genetic variations and haplotype structure of the ABC transporter gene ABCG2 in a Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 109-121, 2006.

b) SR. Kim, Y. Saito, K. Maekawa, E. Sugiyama, N. Kaniwa, H. Ueno, T. Okusaka, C. Morizane, N. Yamamoto, M. Ikeda, T. Yoshida, H. Minami, J. Furuse, H. Ishii, N. Saijo, N. Kamatani, S. Ozawa and J. Sawada: Thirty novel genetic variations in the SLC29A1 gene encoding human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1). *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 248-256, 2006.

c) A. Soyama, Y. Saito, Y. Ohno, K. Komamura, S. Kamakura, M. Kitakaze, H. Tomoike, S. Ozawa and J. Sawada: Diverse structures of chimeric CYP-REP7/6-containing CYP2D6 and a novel defective CYP2D6 haplotype harboring single-type *36 and CYP-REP7/6 in Japanese. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 395-405, 2006.

d) SR. Kim, S. Ozawa, Y. Saito, K. Kurose, N. Kaniwa, N. Kamatani, T. Hamaguchi, K. Shirao, M. Muto, A. Ohtsu, T. Yoshida, Y. Matsumura, N. Saijo and J. Sawada: Fourteen novel genetic variations and haplotype structures of the TYMS gene encoding human thymidylate synthase (TS). *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 509-516, 2006

e) Y. Saito, N. Katori, A. Soyama, Y. Nakajima, T. Yoshitani, SR. Kim, H. Fukushima-Uesaka, K. Kurose, N. Kaniwa, S. Ozawa, N. Kamatani, K. Komamura, S. Kamakura, M. Kitakaze, H. Tomoike, K. Sugai, N. Minami, H. Kimura, Y. Goto, H. Minami, T. Yoshida, H. Kunitoh, Y. Ohe, N. Yamamoto, T. Tamura, N. Saijo and J. Sawada: CYP2C8 haplotype structures and their influence on pharmacokinetics of paclitaxel in a Japanese

population. Pharmacogenet. Genomics, in press, 2007.

2. 学会発表

a) Y. Saito, H. Fukushima-Uesaka, M. Tohkin, K. Maekawa, R. Hasegawa, M. Kawamoto, N. Kamatani, K. Suzuki, T. Yanagawa, H. Kajio, N. Kuzuya, K. Yasuda and J. Sawada: HAPLOTYPE STRUCTURES AND TAGGING GENETIC VARIATIONS OF AN ABC TRANSPORTER ABCC1 IN A JAPANESE POPULATION. 日本薬物動態学会第 21 回年会 (平成 18 年 11 月 30 日、東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

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
Sai K, Itoda M, Saito Y, Kurose K, Katori N, Kaniwa N, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Tomoike H, Kamakura S, Kitakaze M, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Yamada Y, Ohe Y, Shimada Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani p N, Ozawa S, Sawada J.	Japanese population: an expanded haplotype block covering the distal promoter region, and associated ethnic differences.	Annals of Human Genetics			in press
Hara H, Akihiko Kobayashi, Kimiko Yoshida, Masaki Ohashi, Shumpei Ohnami, Eiji Uchida, Teruhiko Yoshida and Kazunori Aoki.	Local interferon - α gene therapy elicits a systemic immunity in a syngeneic pancreatic cancer model in hamster.	Cancer Sci			in press
Furuhata S, Yoshida T, et al.	Gene expression profiles of endothelial progenitor cells by oligonucleotide microarray analysis.	Molecular and Cellular Biochemistry			in press
Mutoh M, Akasu T, Takahashi M, Niho N, Yoshida T, Sugimura T, Wakabayashi K.	Possible involvement of hyperlipidemia in increasing risk of colorectal tumor development in human familial adenomatous polyposis.	Jpn J Clin Oncol	36(3)	166-171	2006
Hiro Takahashi, Takeshi Nemoto, Teruhiko Yoshida, Hiroyuki Honda and Tadashi Hasegawa.	Cancer diagnosis marker extraction for soft tissue sarcomas based on gene expression profiling data by using projective adaptive resonance theory (PART) filtering method.	BMC Bioinformatics	7	399	2006

Takahashi H, Aoyagi K, Nakanishi Y, Sasaki H, Yoshida T, Honda H.	Classification of intramural metastases and lymph node metastases of esophageal cancer from gene expression based on boosting and projective adaptive resonance theory.	J Biosci Bioeng	102(1)	46-52	2006
Takahashi M, Kikuchi M, Ohkura N, Yaguchi H, Nagamura Y, Ohnami S, Ushiyama M, Yoshida T, Sugano K, Iwama T, Kosugi S, Tsukada T.	Detection of APC gene deletion by double competitive polymerase chain reaction in patients with familial adenomatous polyposis.	Int J Oncol.	29	413-421	2006
Usui T, Aoyagi K, Saeki N, Nakanishi Y, Kanai Y, Ohki M, Ogawa K, Yoshida T, Sasaki H.	Expression status of RUNX1/AML1 in normal gastric epithelium and its mutational analysis in microdissected gastric cancer cells.	Int J Oncol.	29	779-784	2006
Fukaya M, Isohata N, Ohta H, Aoyagi K, Ochiya T, Saeki N, Yanagihara K, Nakanishi Y, Taniguchi H, Sakamoto H, Shimoda T, Nimura Y, Yoshida T, Sasaki H.	Hedgehog signal activation in gastric pit cell and in diffuse-type gastric cancer.	Gastroenterology	131	14-29	2006
Ohashi M, Kobayashi A, Hara H, Miura Y, Yoshida K, Kushida M, Ikarashi Y, Mandai M, Kitajima M, Yoshida T, Aoki K.	Allogeneic MHC gene transfer enhances antitumor activity of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation without exacerbating graft-versus-host disease.	Clin Cancer Res.	12(7 Pt1)	2208-2215	2006
Ashida A, Boku N, Aoyagi K, Sato H, Tsubosa Y, Minashi K, Muto M, Ohtsu A, Ochiai A, Yoshida T, Yoshida S, Sasaki H.	Expression profiling of esophageal squamous cell carcinoma patients treated with definitive chemoradiotherapy: clinical implications.	Int J Oncol.	28(6)	1345-1352	2006

Kim DH, Muto M, Kuwahara Y, Nakanishi Y, Watanabe H, Aoyagi K, Ogawa K, Yoshida T, Sasaki H.	Array-based comparative genomic hybridization of circulating esophageal tumor cells.	Oncol Rep.	16(5)	1053-1059	2006
Daiko H, Isohata N, Sano M, Aoyagi K, Ogawa K, Kameoka S, Yoshida T, Sasaki H.	Molecular profiles of the mouse postnatal development of the esophageal epithelium showing delayed growth start.	Int J Mol Med.	18(6)	1057-1066	2006
Sato Y, Suganami H, Hamada C, Yoshimura I, Sakamoto H, Yoshida T, Yoshimura K.	The confidence interval of allelic odds ratios under the Hardy-Weinberg disequilibrium.	J Hum Genet	51	772-780	2006
Umemura K, Yamashita N, Yu X, Arima K, Asada T, Makifuchi T, Murayama S, Saito Y, Kanamaru K, Goto Y, Kohsaka S, Kanazawa I, Kimura H.	Autotaxin expression is enhanced in frontal cortex of Alzheimer-type dementia patients.	Neurosci Lett.	400	97-100. E	2006
Sharli A-M, Jennings R, Shi J, Bailey K, Davidson Y, Tian J, Bigio EH, Ghetti B, Murrell JR, Delisle MB, Mirra S, Crain B, Zolo P, Arima K, Iseki E, Murayama S, Kretzschmar H, Neumann M, Lippa C, Halliday G, MacKenzie J, Khan N, Ravid R, Dickson D, Wszolek Z, Iwatsubo T, Pickering-Brown SM, Mann DMA	Comparison of extent of tau pathology in patients with frontotemporal dementia with Parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), frontotemporal lobar degeneration with Pick bodies and early onset Alzheimer's disease	Neuropathology and Applied Neurobiology	32	374-387	2006
Nakano S, Asada T, Yamashita F, Kitamura N, Matsuda H, Hirai S, Yamada T	Relationship between antisocial behavior and regional cerebral blood flow in frontotemporal dementia.	NeuroImage	32	301-306	2006

木村英雄、後藤雄一、和田圭司、高坂新一	国立精神・神経センター神経研究所	Cognition Dementia	5	346- 349	2006
後藤雄一	ミトコンドリア病による知的発達障害の分子遺伝学.	神経研究の進歩	50	781- 791	2006
有馬邦正、大出貴士、坂元綾子、木崎菜美子、後藤雄一	アミロイドβ蛋白蓄積症	臨床検査	50	1111- 1120	2006
Idogawa M, Masutani M, Shitashige M, Honda K, Tokino T, Shinomura Y, Imai K, Hirohashi S, Yamada T.	Ku70 and poly(ADP-ribose) polymerase-1 competitively regulate beta-catenin and T-cell factor-4-mediated gene transactivation: possible linkage of DNA damage recognition and Wnt signaling.	Cancer Res.	1;67(3)	911-8	2007
Ono M, Shitashige M, Honda K, Isobe T, Kuwabara H, Matsuzuki H, Hirohashi S, Yamada T.	Label-free quantitative proteomics using large peptide data sets generated by nanoflow liquid chromatography and mass spectrometry.	Mol Cell Proteomics	5(7)	1338- 47	2006
本田一文、山田哲司	ゲノム・プロテオーム情報を利用した薬剤感受性・副作用予測	臨床と研究	83(9)	1270- 1273	2006
尾野雅哉、本田一文、山田哲司	腫瘍マーカー	クリニカルプラク ティス	26(3)	35-36	2007
加藤規弘	概論：ゲノムワイドスキャン、高血圧（上）—最新の研究動向—	日本臨床	2006年 増刊	324-33 0	2006
加藤規弘	高血圧治療の変遷と将来展望：高血圧遺伝子と治療への応用	内科	98(3)	467-47 0	2006
Iwai N, Kajimoto K, Kokubo Y, Okayama A, Miyazaki S, Nonogi H, Goto Y, Tomoike H.	Assessment of genetic effects of polymorphisms in the MCP-1 gene on serum MCP-1 levels and myocardial infarction in Japanese.	Circ. J	70	805- 809	2006

Takashima N, Tomoike H, Iwai N.	Retinol-binding protein 4 and insulin resistance.	N. Engl. J. Med.	355	1392	2006
Iwai N, Kajimoto K, Kokubo Y, Tomoike H.	Extensive Genetic Analysis of 10 Candidate Genes for Hypertension in Japanese.	Hypertension	18	901-907	2006
Takashima N, Niwa Y, Mannami T, Tomoike H, Iwai N.	Characterization of Subclinical Thyroid Dysfunction from Cardiovascular and Metabolic View Point; the Suita Study.	Circ. J.	71	191-195	2007
Morimoto A, Ikushima S, Kinugawa N, Ishii E, Kohdera U, Sako M, Fujimoto J, Bessho F, Horibe K, Tsunematsu Y, Imashuku S and Japan LCH Study Group.	Improved outcome in the treatment of pediatric multifocal Langerhans cell histiocytosis: Results in the JLSG-96 protocol study.	Cancer	107	613-9	2006
Kato I, Manabe A, Aoyama C, Kamiya T, Morimoto T, Matsufuji H, Suzuki K, Kitagawa Y, Hori T, Tsurusawa M, Kiyokawa N, Fujimoto J, Hosoya R.	Development of diffuse large B cell lymphoma during the maintenance therapy for B-lineage acute lymphoblastic leukemia.	Pediatr Blood Cancer	48	230-2	2007
塩沢裕介, 北村紀子, 竹野内寿美, 田口智子, 大喜多肇, 林泰秀, 小原明, 花田良二, 土田昌宏, 藤本純一郎, 清河信敬.	4カラーデジタルフローサイトメーターを用いた小児白血病マーカー中央診断の試み.	Cytometry Research	16	11-7	2006
K. Maekawa, M. Itoda, K. Sai, Y. Saito, N. Kaniwa, K. Shirao, T. Hamaguchi, H. Kunitoh, N. Yamamoto, T. Tamura, H. Minami, K. Kubota, A. Ohtsu, T. Yoshida, N. Saijo, N. Kamatani, S. Ozawa and J. Sawada	Genetic variations and haplotype structure of the ABC transporter gene ABCG2 in a Japanese population.	Drug Metab. Pharmacokinet.	21(2)	109-121	2006

SR. Kim, Y. Saito, K. Maekawa, E. Sugiyama, N. Kaniwa, H. Ueno, T. Okusaka, C. Morizane, N. Yamamoto, M. Ikeda, T. Yoshida, H. Minami, J. Furuse, H. Ishii, N. Saijo, N. Kamatani, S. Ozawa and J. Sawada	Thirty novel genetic variations in the SLC29A1 gene encoding human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1).	Drug Metab. Pharmacokinet.	21(3)	248-256	2006
A. Soyama, Y. Saito, Y. Ohno, K. Komamura, S. Kamakura, M. Kitakaze, H. Tomoike, S. Ozawa and J. Sawada	Diverse structures of chimeric CYP-REP7/6- containing CYP2D6 and a novel defective CYP2D6 haplotype harboring single-type *36 and CYP-REP7/6 in Japanese.	Drug Metab Pharmacokinet.	21(5)	395-405	2006

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
本田一文、逢坂由昭、土田明彦、青木達哉、山田哲司	放射線感受性 - 血清ペプチドプロファイルを用いた食道がん術前化学放射線療法奏効性予測の可能性	市倉隆、日比紀文	別冊医学のあゆみ 消化器疾患 Ver. 3	医歯薬出版	東京	2006	341-344
下重美紀、本田一文、尾野雅哉、山田哲司	5. プロテオミクスの臨床応用への期待	工藤翔二、土屋了介、金沢実、大田健	Annual Review 呼吸器 2007	中外医学社	東京	2007	208-213