

ら、大多数を占める凝固系以外のタンパク質に関しては、MS 脳分子病態における意義は明らかされなかった。

われわれは、Hanらのプロテオームデータを KEGG, PANTHER, IPA, KeyMolnet に入力し、ステージ特異的プロテオームを最も良く反映している分子ネットワークを同定した<sup>20)</sup>。これら 4 種類のツールは独自の分子ネットワークを検出したが、共通して、CAP, CP プロテームにおける細胞外基質(extracellular matrix: ECM)-インテグリンシグナル伝達系の中心的役割が示唆された(図 4)<sup>20)</sup>。インテグリンは複数の $\alpha$ ,  $\beta$ サブユニットから構成される 24 種類のヘテロダイマー分子で、細胞膜上に発現し、ECM のリガンドとして働く。 $\beta 1$  インテグリンファミリーはコラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンと結合し、 $\alpha v$  インテグリンファミリーはビトロネクチンと結合する。ECM-インテグリン系は細胞接着、遊走、分化、増殖に必須なシグナルを伝達する。MS 慢性病巣においては、髄鞘や軸索の再生が著しく乏しい。その理由として、グリア瘢痕に含まれている ECM が軸索再生阻害因子として働く可能性や、活性化マクロファージやミクログリアが産生するタンパク質分解酵素が ECM に結合して長期に保持され、その結果、髄鞘崩壊が遷延化している可能性がある。現在、欧米では MS 再発抑制目的で、抗 $\alpha 4\beta 1$  integrin モノクローナル抗体®Natalizumab が用いられている。しかしながら、Natalizumab は進行性多巣性白質脳症(progressive multifocal leukoencephalopathy: PML)を惹起する危険性があり、より安全な薬の開発が必要である。ECM-インテグリンシグナル伝達系では、focal adhesion kinase (FAK)がハブとして働く(図 4)<sup>20)</sup>。従って FAK を標的とする治療薬は、慢性炎症性脱髄抑制薬の候補となる可能性があり、今後の開発が待たれる。

## Key Words

- 次世代シーケンサー

最近数年のうちに急速に進歩した電気泳動を行わずに、高速で並列して塩基配列を解析出来る装置。通常は、30 塩基程度の短い配列(ショートリード)を1度のランで10億塩基(1Gb)以上決定出来る。取得した膨大なデータに関しては、参照配列にマッピングしたり、連結(アセンブリ)することにより連続配列を構築する。全ゲノム、全エクソン、RNA(トランスクリプトーム)、メチル化部位、転写因子結合部位(ChIP-seq)などの配列を網羅的に解析出来る。

- オミックス

細胞における遺伝子RNA(トランスクリプトーム)、タンパク質(プロテオーム)、代謝物質(メタボローム)の網羅的発現情報を統合して、個々の細胞の生理学的・病理学的全体像を把握する研究の流れ。

- テーラメイド医療

ヒトゲノムが解読され、個人で異なる塩基配列の多様性が明らかにされた。このような遺伝子多型情報やDNAマイクロアレイや次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現情報に基づいて、薬物応答性の個人差を予測可能となり、個々の患者に最適な治療方法を計画出来るようになった。

- 正規化

特定のルールに従ってデータを変換して利用し易くすることを言う。®GeneChip(Affymetrix)では、各チップのデータをMAS5やRMAというアルゴリズムに従って正規化してから、チップ間の比較解析を行うことが多い。

- アノテーション

あるデータに対して注釈として付与された関連する情報のこと。ここでは遺伝子の機能に関連する情報を指す。Gene Ontology (GO)には、Cellular Function, Cellular Process, Cellular Component の分類がある。

- ゲノムワイド関連解析

大規模な集団のDNAサンプルをジェノタイピングアレイで解析し、全ゲノムの遺伝子多型の頻度を評価することで、疾患や形質の原因となるアリルを探索する解析方法。疾患や形質をもたないコントロール集団と比較して、特異的な多型が高頻度に集積していれば、その多型は疾患に関連していると判断出来る。

## 文献

1. Oksenberg JR, Baranzini SE. Multiple sclerosis genetics--is the glass half full, or half empty? *Nat Rev Neurol* 2010; 6: 429-437.
2. Lassmann H, et al. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol* 2007; 17: 210-218.
3. Kitano H. A robustness-based approach to systems-oriented drug design. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 202-210.
4. Satoh J. Bioinformatics approach to identifying molecular biomarkers and networks in multiple sclerosis. *Clin Exp Neuroimmunol* 2010; 1: 127-140.
5. 佐藤準一. アレイインフォマティクスの進展. *YAKUGAKU ZASSHI* 2008; 128: 1537-1545.
6. Huang da W, et al. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* 2009; 4: 44-57.
7. The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 2007; 357: 851-862.
8. The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, the Wellcome Trust Case Control Consortium. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011; 476: 214-219.
9. Baranzini SE, et al. Genome, epigenome and RNA sequences of monozygotic twins discordant for multiple sclerosis. *Nature* 2010; 464: 1351-1356.
10. Achiron A, et al. Blood transcriptional signatures of multiple sclerosis: Unique gene expression of disease activity. *Ann Neurol* 2004; 55:410-417.
11. Strüzebecher S, et al. Expression profiling identifies responder and non-responder phenotypes to interferon- $\beta$  in multiple sclerosis. *Brain* 2003; 126: 1419-1429.
12. Satoh J, et al. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2005; 18: 537-550.
13. Satoh J, et al. T cell gene expression profiling identifies distinct subgroups of

- Japanese multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2006; 174: 108-118.
14. Comabella M, et al. A type I interferon signature in monocytes is associated with poor response to interferon- $\beta$  in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 3353-3365.
  15. Satoh J, et al. Microarray analysis identifies a set of CXCR3 and CCR2 ligand chemokines as early IFN $\beta$ -responsive genes in peripheral blood lymphocytes: an implication for IFN $\beta$ -related adverse effects in multiple sclerosis. *BMC Neurology* 2006; 6: 18.
  16. Satoh J, et al. Aberrant transcriptional regulatory network in T cells of multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2007; 422: 30-33.
  17. Satoh J, et al. Molecular network analysis of T-cell transcriptome suggests aberrant regulation of gene expression by NF- $\kappa$ B as a biomarker for relapse of multiple sclerosis. *Dis Markers* 2008; 25: 27-35.
  18. Lock C, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nature Med* 2002; 8: 500-508.
  19. Han MH, et al. Proteomic analysis of active multiple sclerosis lesions reveals therapeutic targets. *Nature* 2008; 451: 1076-1081.
  20. Satoh J, et al. Molecular network of the comprehensive multiple sclerosis brain-lesion proteome. *Mult Scler* 2009; 15: 531-541.

#### Further reading

- 藤渕 航, 堀本勝久(編). マイクロアレイデータ統計解析プロトコール. 東京:羊土社; 2008.  
マイクロアレイデータ解析入門書としてお勧め
- 小田吉哉, 長野光司(編). 創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析. 東京:羊土社; 2010.  
プロテオーム解析入門書としてお勧め

## 図の説明

### 図 1. 網羅的発現解析から分子ネットワーク解析へ.

比較対象となる遺伝子発現レベルが異なる数種類以上の細胞や組織から RNA を精製し、蛍光標識して、アレイとハイブリダイゼーションを行う。スキャン後に、シグナル強度を正規化し、サンプル間の遺伝子発現プロフィールを統計学的に比較解析し、有意な発現差異を呈する遺伝子群(DEG)を抽出し、定量的 PCR で検証する。生物学的意味付けのため、Gene Ontology (GO)のアノテーションを調べ、階層的クラスタ解析を行い、KEGG, PANTHER, STRING, IPA, KeyMolnet を利用して分子ネットワークを解析する。図は文献 4 より引用改変。

### 図 2. KeyMolnet による MS 疾患メディエート分子のネットワーク解析.

KeyMolnet に収録されている 91 種類の多発性硬化症疾患メディエート分子(赤)を入力して、上下流 1 パス周辺検索法で、ネットワークを解析した。913 分子と 1,005 分子リレーションから構成される複雑なネットワークが検出された。ハブ分子として働く vitamine D receptor (VDR) (青楕円)による発現調節との関連性が最も強く示唆された。図は文献 4 より引用改変。

### 図 3. 階層的クラスタ解析による MS の病型分類.

患者(MS; n =72)と健常者(CN; n = 22)の末梢血 CD3<sup>+</sup> T 細胞で有意な発現差異を示す 286 遺伝子を抽出し、指標遺伝子として階層的クラスタ解析を行った。286 遺伝子は5クラスに分類され、MS 群はCN 群から分離され、4 群 A, B, C, D に分類された。IFNB レスポンダーは A 群と B 群に集積していた。図は文献 13 より引用改変。

### 図 4. MS 脳病巣プロテオームの分子ネットワーク解析.

PANTHER による MS 脳病巣 CAP プロテオームの分子ネットワーク解析では、インテグリンシグナル伝達系との有意な関連性が示唆された。Reference pathway 上の分子とヒットした CAP タンパク質をピンク色で示す。Focal adhesion kinase (FAK)(青楕円)が、

ネットワークのハブ分子として働いていることがわかる。図は文献 20 より引用改変。













