

## インフルエンザ脳症の遺伝子多型解析

研究分担者 蒔田泰誠

理化学研究所 統合生命医科学研究センター・グループディレクター

### 研究要旨

インフルエンザ脳症の発症に関連する遺伝子を、全ゲノム領域を対象とした一塩基多型 (SNP) 解析にて同定し、インフルエンザ脳症の発症リスクを事前に予測するツールを開発することを目的としている。候補遺伝子解析として、インフルエンザ脳症や熱中症の発症リスクと関連することが報告されている carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) 上の SNP について関連解析を実施したが、日本人小児インフルエンザ脳症患者 85 例 (ケース群) と日本人一般集団 934 例 (コントロール群) の遺伝子型頻度には有意な差は見られなかった。また、ケース群 72 例とコントロール群 934 例の全ゲノム関連解析 (GWAS) で既に得られている SNP の遺伝子型情報に基づいて、「ジェノタイプ・インピュテーション (遺伝子型予測)」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。インピュテーションにより、解析対象の SNP を約 250 万箇所を増やすことができ、新たに得られた SNP (imputed SNP) の情報を用いた関連解析において、21 箇所の SNP が GWAS 有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) をクリアした。しかしながら、21 箇所全ての SNP において、インピュテーションで予測された遺伝子型と実際の遺伝子型との間に不一致が認められた。すなわち、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症に関連する SNP を検出することはできなかった。

### A. 研究目的

日本においてインフルエンザの学童罹患数は、年間 50 万から 100 万人である。そのうち 100 から 300 人がインフルエンザ脳症を合併する。インフルエンザ脳症の死亡率は 30%前後と高く、生存例においても重篤な後遺症を残す症例が多いため社会的関心が高まっている。

インフルエンザ脳症の詳細な発症機序は不明であるが、日本人での報告が多いことから遺伝的因子が関与していると考えられる。本研究では、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する遺伝子を同定するため、一塩基多型 (SNP) を用いて、全ゲノム領域を対象とした関連解析 (genome-wide association study: GWAS) を行う。インフ

ルエンザ脳症の発症における遺伝的背景を解明することができれば、ハイリスク群を事前に特定することができ、ワクチン接種等の積極的な予防が可能となる。また、感受性遺伝子の同定は、インフルエンザ脳症の新たな治療法の開発にもつながることが期待される。

### B. 研究方法

#### 研究対象

インフルエンザ脳症を発症した 1 歳以上の日本人小児 85 症例。

#### SNP 解析

国際 HapMap データベースの情報に基づいて抽出した約 50 万 SNP について、日本人

小児インフルエンザ脳症患者（ケース群）及び日本人一般集団（コントロール群）をジェノタイピングし、ケース-コントロール関連解析を行う。

（倫理面への配慮）

#### I. 研究等の対象とする個人の人権擁護

本研究に同意するか否かは本人（対象が16歳未満の場合は、本人及び代諾者）の自由意志に委ねられ、同意しない場合であってもいかなる不利益も被ることはないことを保証する。本研究は連結可能匿名化を行う。個人識別情報は、担当者が厳重に保管・管理し、外部へは決して提供しない。また、同意はいつでも撤回できることを保証する。同意が撤回された場合は、すみやかにDNA検体をオートクレーブにかけ廃棄する。

#### II. 研究への参加者に理解を求め同意を得る方法

検体の提供を受ける際には、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者及び代諾者）との質疑応答を経て、本研究について十分に理解されたことを確認した後、同意を得る。説明文書では、本研究の意義、目的、遺伝子解析などについて解説し、プライバシーの保護の方法、提供者の権利、研究に協力することの利益と不利益、本研究終了後の検体の取り扱い方針について説明する。同意をいただいた方には、同意書に自署をお願いする。同意書は、鍵のかかるロッカーにて厳重に保管・管理する。

#### III. 研究によって生じる個人への不利益ならびに危険性と科学的な貢献の予測

本研究の成果により、インフルエンザ脳症の感受性遺伝子が同定されれば、ハイリスク群をスクリーニングすることが可能となる。インフルエンザの感染予防に対してはワクチンの接種という非常に有効な予防

法が存在するため、ハイリスク群に対しては積極的にワクチン接種をすすめることにより、インフルエンザ脳症の罹患を予防することが可能となる。

また、感受性遺伝子の同定は、その遺伝子またはカスケードをターゲットとした新たな治療法の確立にも貢献すると確信する。

個人識別情報の漏洩により人権の侵害を被る可能性があるが、本研究では、担当者が個人識別情報を厳重に保管・管理し、個人情報・プライバシーの保護には万全をつくす。

インフルエンザ脳症は、ほとんどが10歳までの発症であり、遺伝的背景を研究することは、患者の健康に対して利益はあるものの、その後の社会的な不利益や危険性があるとは考えられない。

#### IV. 遺伝カウンセリング体制の整備

個人識別情報の管理に記したように、本研究の結果を提供者が知ることにより、提供者や血縁者の生命の危機を回避できる可能性がある。この場合には、遺伝子情報を提供者や家族に報告する可能性がある。そのような遺伝情報を知るとは、生命危機を回避することを目的にしているため、患者及び家族の利益となるが、そのことを正確に理解し、受け入れることを支援するために日本遺伝カウンセリング学会認定医が遺伝カウンセリングを行う体制を整備している。

#### V. 研究終了後のDNA検体の取り扱い

提供者の承諾が得られた場合に限り、将来の本研究以外のインフルエンザ脳症に関連した医学研究に用いることがある。ただし、その場合は連結不可能匿名化を行う。研究終了後のDNA検体の保管に関しては、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者及び代諾者）に十分説明する。

研究終了後の DNA 検体の保管を承諾されなかった場合には、すみやかに検体をオートクレーブにかけ破棄する。

## C . 研究結果

日本人においてインフルエンザ脳症や熱中症の発症リスクと関連することが報告されている carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) (Chen et al. FEBS Lett 579:2040-4 (2005)) について、アミノ酸置換を伴う SNP についてのケース - コントロール関連解析を行った。また、国際 HapMap データベースの情報に基づいて CPT2 周辺領域の 17 箇所の TagSNP を抽出し、関連解析を行った。CPT2 上の 3 箇所の SNP (F352C、I368V、M647V) において、インフルエンザ脳症の発症リスクとの関連が報告されている Type 9 (F/C、I/V、M/M) の遺伝子型頻度には、ケース群 85 例 (7.1%) とコントロール群 934 例 (10.9%) との間で有意な差は見られなかった。また、TagSNP 解析においても、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する SNP は見られなかった。

ケース群 72 例及びコントロール群 934 例の GWAS で既に得られている SNP の遺伝子型の情報を基にして、「ジェノタイプ・インピュテーション (遺伝子型予測)」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。ジェノタイプ・インピュテーションとは、実際のゲノム解析で得られた約 50 万箇所の SNP の遺伝子型情報と、公共データベース 1000 Genomes に登録されている全ゲノム上の数百万箇所の SNP 情報を基に、専用の遺伝子型予測ソフト MaCH-Admix を用いて、実際に解析した SNP の近傍にある SNP の症例毎の遺伝子型を遺伝統計学的に推定する方法である。インピュテーションにより、解析対象の SNP を約 250 万箇所に増やすことができ、新たに得られた SNP (imputed SNP) の情報を用いた関連解析において、21 箇所の

SNP が GWAS 有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) をクリアした。しかしながら、21 箇所全ての SNP において、インピュテーションで予測された遺伝子型と実際の遺伝子型との間に不一致が認められた。すなわち、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する SNP を検出することはできなかった。

## D . 考察

本研究では、症例数が少ない場合でも、遺伝子型の疾患発症に対する寄与が大きければ疾患関連遺伝子を同定することができるものと考え、高速・大量 SNP ジェノタイプピングによる GWAS を実施したが、P 値が GWAS 有意水準を満たす SNP は同定されなかった。

## E . 結論

候補遺伝子解析、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症に関連する SNP を検出することはできなかった。

## F . 研究発表

なし

## G . 知的所有権の取得状況

なし