

201442085A

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

集約的オミックス解析による難病の原因究明と
疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター

松 田 文 彦

2015 (平成 27) 年 3 月

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

集約的オミックス解析による難病の原因究明と
疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター

松 田 文 彦

2015 (平成 27) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の難治性疾患実用化研究事業による委託業務として、松田文彦が実施した平成26年度「集約的オミックス解析による難病の原因究明と疾患別遺伝子診断ネットワークの構築」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 本研究事業について	1
II. 研究班構成	2
III. 委託業務成果報告（総括）	3
集約的オミックス解析による難病の原因究明と疾患別遺伝子診断ネットワークの構築 松田 文彦（京都大学医学研究科教授）	
IV. 委託業務成果報告（分担）	
1. 山田 亮 京都大学医学研究科教授	8
2. 田原康玄 京都大学医学研究科准教授	11
3. 後藤謙元 京都大学医学研究科准教授	14
4. 山口 泉 京都大学医学研究科特定講師	16
5. 日笠幸一郎 京都大学医学研究科特定講師	18
6. 寺尾知可史 京都大学医学研究科特定助教	22
7. 吉村長久 京都大学医学研究科教授	29
8. 白神史雄 岡山大学医歯薬学総合研究科教授	31
9. 伊達洋至 京都大学医学研究科教授	33
10. 松原広己 国立病院機構岡山医療センター臨床研究部長	35
11. 小川愛子 国立病院機構岡山医療センター医師	37
12. 山野嘉久 聖マリアンナ医科大学准教授	39
13. 千葉 勉 京都大学医学研究科教授	47
14. 三森経世 京都大学医学研究科教授	49
15. 木下芳一 島根大学医学部教授	52
16. 小島勢二 名古屋大学医学系研究科教授	56
17. 小川誠司 京都大学医学研究科教授	59
18. 佐藤孝明 筑波大学グローバル教育院教授	62
19. 松原謙一 株式会社 DNA チップ研究所顧問	64
20. 小杉真司 京都大学医学研究科教授	67
V. 学会等発表実績	72
VI. 研究成果の刊行物別刷	89

I. 本研究事業について

医療費助成対象の特定疾患の患者数は、従来の 56 疾患で約 78 万人、助成医療費は約 1,190 億円に上る（平成 23 年度）。これら疾患を含め、特定疾患（難病）は予後不良なものが多く、また患者の QOL を大きく損なうことから、疾患の原因解明と治療法の開発とが待ち望まれている。近年のゲノム解析技術の進歩、特に SNP アレイによる網羅的遺伝子解析は、難病の発症要因の解明に一定の成果を挙げた。しかし、SNP アレイで検出できるような一般集団で高頻度に観察される遺伝子多型のみでは、難病の遺伝的背景の一部しか説明できない。次世代遺伝子解析装置の普及と相まって、低頻度であっても疾患寄与率の高い遺伝子変異をとりこぼさずに同定・解析する試みが本格的に行われるようになった。このようなアプローチからは多くの原因遺伝子変異が同定され、病因解明の大きな手がかりになるとともに、診断精度の向上にも大きく貢献した。しかし、遺伝子変異の情報だけでは必ずしも正確に予後を予測せず、治療法の選択にも結びつかないことから、原因遺伝子の解明に加えて、病態や病勢を鋭敏に反映する疾患関連バイオマーカーの開発も、難病医療において極めて重要となる。

そこで本事業では、次世代遺伝子解析装置やマイクロアレイ技術を駆使した網羅的ゲノム・転写物解析に、我が国が誇る最先端の質量分析技術による網羅的代謝物解析を加えた統合オミックス解析拠点を構築し、疾患関連遺伝子や新たなバイオマーカーの同定を通じて難病発症の機序解明や、患者群内での亜集団解析による重症度・予後予測因子の同定を目指す。疾患を遺伝子や細胞のレベルで見るのではなく、「分子を通して身体全体で見る」ような革新的戦略はいまだ世界で例がなく、様々な疾患において病因分子の解析を行う上で極めてよいモデルケースとなるであろう。

本事業は、難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（平成 23～25 年度）で構築したオミックス解析のプラットフォーム、難病研究班との緊密な連携体制、世界的にも秀逸な患者検体コレクションを受け継ぐ事業である。これら技術・研究基盤に加え、そこから導出される膨大なゲノム・オミックスデータ、各疾患の専門家の叡智の結集によって、難病克服への扉が開かれるものと期待している。

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター
センター長・教授 松田文彦

II. 研究班構成

研究代表者

松田文彦 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター センター長・教授

研究分担者

山田 亮 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 教授
田原康玄 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 准教授
後藤謙元 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 准教授
山口 泉 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 特定講師
日笠幸一郎 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 特定講師
寺尾知可史 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター 特定助教
吉村長久 京都大学大学院医学研究科眼科学 教授
白神史雄 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科機能再生・再建眼科学専攻眼科 教授
伊達洋至 京都大学大学院医学研究科呼吸器外科学 教授
松原広己 国立病院機構岡山医療センター臨床研究部 臨床研究部長
小川愛子 国立病院機構岡山医療センター臨床研究部 医師
山野嘉久 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター病因・病態解析部門 准教授
千葉 勉 京都大学大学院医学研究科消化器内科学 教授
三森経世 京都大学大学院医学研究科臨床免疫学 教授
木下芳一 島根大学医学部内科学第二 教授
小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授
小川誠司 京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学 教授
佐藤孝明 筑波大学グローバル教育院 教授
松原謙一 株式会社DNAチップ研究所 顧問
小杉真司 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学 教授

事務局

金澤雅美 京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53
電話：075-751-4157 Fax：075-751-4167
mkana@genome.med.kyoto-u.ac.jp

経理事務担当者

矢野哲也 京都大学医学・病院構内共通事務部経理・研究協力課 外部資金掛
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町
電話：075-753-4686 Fax：075-753-4347
igakukenkyo@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

集約的オミックス解析による難病の原因究明と疾患別遺伝子診断ネットワークの構築

業務主任者：松田文彦 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

網羅的オミックス解析から、難病（IgG4 関連疾患、HTLV-1 関連脊髄症、肺高血圧症、好酸球性食道炎）の病因解明と新規診断・治療法の確立を目指す。IgG4 関連疾患、HTLV-1 関連脊髄症については、疾患関連遺伝子を複数見いだした。引き続き、時系列検体を用いたオミックス解析から病因・病勢に関連するバイオマーカーの探索を進める。肺高血圧症と好酸球性食道炎についても、順調に検体収集を進めた。疾患研究と平行して、網膜色素変性症、遺伝性肺高血圧症、遺伝性間質性肺炎、小児遺伝性血液疾患をモデルケースとし、実地医療に即応可能な遺伝子診断ネットワークを構築する。家系例や孤発例を対象に新規疾患関連遺伝子変異を同定し、既知の遺伝子変異と併せて、遺伝子診断のためのカタログ化を進めている。

A. 研究目的

難病の発症要因を解明することは、疾患の詳細な類型化や病態・病勢に応じた適切な医療の提供につながる。我々は、平成 23 年度からの難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業において、ゲノム、転写物、代謝物、血液・髄液マーカー等の中間形質を網羅したオミックス解析が IgG4 関連疾患や肺高血圧症の病因解明に有用であることを明示した。本事業は、これまでの研究成果を更に発展させ、IgG4 関連疾患や肺高血圧症の原因解明を進めるとともに、これまでに構築したオミックス解析のプラットフォームを他の疾患にも応用展開し、HTLV-1 関連脊髄症（HAM）や好酸球性食道炎などの原因解明を目指す。

その一方で、我が国では難病の遺伝子診断体制が確立されていないために、これまでの研究から解明された原因遺伝子変異が診断・治療に活用されていないことが多い。原因遺伝子の情報を臨床応用するには、遺伝子変異

に応じた臨床的解釈を付与して医療現場に提供するような遺伝子診療体制が不可欠である。そこで本事業においては、網膜色素変性症、遺伝性肺高血圧症、遺伝性間質性肺炎、小児遺伝性血液疾患をモデルケースとして、実地医療に即応可能な遺伝子診断ネットワークを構築する。

B. 研究方法

検体収集・分析のための環境整備

検体の収集から分析、データベース化までを一元管理することで、迅速かつシームレスなオミックス解析環境を整えるとともに、遺伝子診断における検体や情報の取り違えを防ぐ。

検体収集と研究計画

本事業では、IgG4 関連疾患、肺高血圧症、HAM の検体収集をさらに進めるとともに時系列での検体収集も進め、断面解析から得られた候補分子について、臨床応用を目指した

縦断研究を行う。具体的には、IgG4 関連自己免疫性膵炎では治療介入直前、介入後 30、180、360、720 日の時系列検体を、特発性肺動脈性肺高血圧症では肺動脈カテーテル治療直前、治療後 3、7、180 日の時系列検体の収集を行う。HAM については、抗 CCR4 抗体の臨床試験を通じて時系列検体を収集する。本事業で新たに解析を始める好酸球性胃腸炎についても時系列検体の収集を開始した。

対照群の確保

申請者が滋賀県長浜市民を対象に実施中の「ながはま 0 次コホート事業」において、10,082 例分のゲノム DNA、末梢血 RNA、血漿、血清検体を収集した。このうち 300 例で疾患群と同様にオミックス解析を行い、対照群のデータを確保した。本事業において、対照データのさらなる充実を図る。

オミックス解析

当面は以下の項目について分析を行い、構築済みの解析パイプラインを通して個々に疾患や中間形質との関連解析を行うとともに、全情報を用いた網羅的解析も行う。定型的な解析方法がない網羅的オミックス解析については、解析方法の開発も平行して行う。

①網羅的ゲノム解析

末梢血 DNA を用いて、ゲノム網羅的 SNP タイピング（ゲノムスキャン）、全ゲノム解析もしくは網羅的エクソーム解析を行う。

②転写物

末梢血 RNA を用いて、網羅的遺伝子発現解析（発現アレイ）を行う。

③代謝物

ガスクロマトグラフィー質量分析法、液体クロマトグラフィー質量分析法等を駆使して、血漿中の脂質・代謝物の測定を行う。現時点で約 200 種の脂質と 135 種の代謝物を測定可能であるが、事業期間中に解析対象を

増やす。タンパク質やペプチドの分析体制も確立し、血漿の網羅的プロファイリングを実現する。

遺伝子診断

網膜色素変性症と家族性の肺高血圧症、間質性肺炎を例として、疾患や治療戦略と関連する既知の原因遺伝子変異を検出するための解析パネルを作成する。検出された遺伝子変異に応じた診療を行うために、必要な情報を付与して依頼者に結果を提供する。いずれの疾患においても、既知の遺伝子変異のみでは十分に疾患との対応付けができない場合は、家系で検体を収集した上でエクソーム解析を行い、新たな原因遺伝子・変異の同定と臨床的意義づけを進める。新規の原因遺伝子・変異が同定された場合は、その情報を解析パネルに組み込む。

難病試料バンク

本事業で収集した検体と臨床情報およびオミックス解析結果は、将来の新たな研究に有効活用するために生体試料バンクとして保管・管理し、希少難病研究を推進するための基盤としての機能を果たす。一連の情報は、申請者が開発・運用する「日本人の遺伝子変異データベース（HGVD）」に格納して広く公開する。

C. 研究結果

IgG4 関連疾患

これまでに収集した 887 例の遺伝子解析から、疾患関連遺伝子を複数見出した。現在、当該遺伝子領域の詳細な解析を実施している。本疾患はアメリカのグループと激しい競争下にあり、今年度中に論文採択を目指している。IgG4 関連自己免疫性膵炎で 42 例の時系列検体（治療介入直前、介入後 30、180、360、720 日）を収集した。

肺高血圧症

単一施設との共同研究で 260 例を超える孤発例、家族性肺高血圧症 7 家系の検体の収集を終えた。家族性肺高血圧症の患者の全ゲノム解析を実施し、うち 4 家系で原因遺伝子を同定した。他の家系での解析も進めており、得られた情報をデータベース化してコミュニティに提供する。特発性肺動脈性肺高血圧症で 45 例（肺動脈カテーテル治療直前、治療後 3、7、180 日）の時系列検体を収集した。

HAM

我が国における推定患者数 3,000 例のうち 867 症例を収集し、世界でも類のない極めて貴重な検体バンクを構築した。現在、2 つの候補遺伝子座を同定しており、その内の 1 つは家族性 HAM の解析で他の難病研究班が得た領域と一致しており、結果の信頼性は極めて高いといえる。そのグループとの共同発表の可能性も検討しつつ、年度内に第一報を投稿したい。

好酸球性胃腸炎

希少性の高い疾患であり、多数の検体の収集に時間がかかるが、現在までに 48 症例の DNA を収集した。これまでに築いた解析プラットフォームを用いて、他の疾患と同様の解析を行い、疾患関連遺伝子の同定を目指す。

間質性肺炎

まず家族性間質性肺炎の原因遺伝子を同定し、その遺伝子が孤発例で疾患発症とどのように関わるのかを探索する予定である。すでに 2 家系が見つかっており、1 家系の患者 2 人と家族 4 人の DNA の収集を終え、全ゲノム解析を開始した。

網膜色素変性症

329 例の患者に対して候補遺伝子解析を

実施し、121 例に既知の遺伝子の変異を同定した。更に検体数を増やすとともに、原因変異を同定できなかった検体を用いた全ゲノム解析を計画している。

小児遺伝性血液疾患

すでに収集された検体を用いて全ゲノム解析による疾患原因遺伝子の同定を進め、得られた原因遺伝子群をデータベース化し研究者に提供するとともに、遺伝子診断の体制を整える。

D. 考察

当初の計画に比して順調に推移している。遺伝子解析に関しては、IgG4 関連疾患および HAM の原因遺伝子をほぼ同定しており、遺伝子診断による臨床応用の可能性も見えてきた。これらの疾患は、いずれも時系列検体を収集しており、今回同定した遺伝子を手がかりとしたオミックス解析によって、病態・病勢の詳細な類型化へと応用展開されることが期待される。

難病の遺伝子診断（間質性肺炎・網膜色素変性症・小児遺伝性血液疾患）については、家系列・孤発例の遺伝子解析が進んでいる。特に網膜色素変性症については多数例を解析し、日本人患者における既知の原因遺伝子変異の頻度が明らかになった。今後、新規原因遺伝子の探索をすすめるとともに全ての遺伝子変異をカタログ化し、それぞれの変異と臨床的特徴とを関連づけることで、遺伝子診断を実現するためのバックボーンを築く。

E. 結論

本事業の柱である 1) 検体収集、2) 病因解明のためのオミックス解析、3) 遺伝子診断いずれにおいても、当初予定に比して順調に推移し、本報告書にまとめたような有用な成果が得られた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Terao, C., Hashimoto, M., Furu, M., Nakabo, S., Ohmura, K., Nakashima, R., Imura, Y., Yukawa, N., Yoshifuji, H., Matsuda, F., Ito, H., Fujii, T. and Mimori, T. (2014) Inverse association between air pressure and rheumatoid arthritis synovitis. *PLoS One*. 15, e85376.
2. Segawa, K., Kurata, S., Yanagihashi, Y., Brummelkamp, T. R., Matsuda, F. and Nagata, S. (2014) Caspase-mediated cleavage of phospholipid flippase for apoptotic phosphatidylserine exposure. *Science*. 344, 1164-1168.
3. Terao, C., Terada, N., Matsuo, K., Kawaguchi, T., Yoshimura, K., Hayashi, N., Shimizu, M., Soga, N., Takahashi, M.; Nagahama Cohort Study Group, Kotoura, Y., Yamada, R., Ogawa, O. and Matsuda, F. (2014) A genome-wide association study of serum levels of prostate-specific antigen in the Japanese population. *J. Med. Genet.* 51, 530-536.
4. Narahara, M., Higasa, K., Nakamura, S., Tabara, Y., Kawaguchi, T., Ishii, M., Matsubara, K., Matsuda, F. and Yamada, R. (2014) Large-scale East-Asian eQTL mapping reveals novel candidate genes for LD mapping and the genomic landscape of transcriptional effects of sequence variants. *PLoS One*. 9, e100924.
5. Hong, K. W., Lim, J. E., Kim, J. W., Tabara, Y., Ueshima, H., Miki, T., Matsuda, F., Cho, Y. S., Kim, Y. and Oh, B. (2014) Identification of three novel genetic variations associated with electrocardiographic traits (QRS duration and PR interval) in East Asians. *Hum. Mol. Genet.* 23, 6659-6667.
6. Terao, C., Ohmura, K., Yamada, R., Kawaguchi, T., Shimizu, M., Tabara, Y., Takahashi, M., Setoh, K., Nakayama, T., Kosugi, S., Sekine, A., Matsuda, F. and Mimori, T.; on behalf of the Nagahama Study Group. (2014) An association between anti-nuclear antibody and HLA class II locus and heterogeneous characteristics of staining patterns: The Nagahama Study. *Arthritis Rheumatol.* 66, 3395-3403.
7. Tabara, Y., Takahashi, Y., Kawaguchi, T., Setoh, K., Terao, C., Yamada, R., Kosugi, S., Sekine, A., Nakayama, T. and Matsuda, F.; on behalf of the Nagahama Study Group. (2014) Association of Serum-Free Fatty Acid Level With Reduced Reflection Pressure Wave Magnitude and Central Blood Pressure: The Nagahama Study. *Hypertension*. 64, 1212-1218.
8. Oishi, M., Oishi, A., Gotoh, N., Ogino, K., Higasa, K., Iida, K., Makiyama, Y., Morooka, S., Matsuda, F. and Yoshimura, N. (2014) Comprehensive molecular diagnosis of a large cohort of Japanese retinitis pigmentosa and Usher syndrome patients by next-generation sequencing. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55, 7369-7375.
9. Kumagai, K., Tabara, Y., Yamashiro, K., Miyake, M., Akagi-Kurashige, Y., Oishi, M., Yoshikawa, M., Kimura, Y., Tsujikawa, A., Takahashi, Y., Setoh, K., Kawaguchi, T., Terao, C., Yamada, R., Kosugi, S., Sekine, A., Nakayama, T., Matsuda, F. and Yoshimura, N.; on behalf of the Nagahama Study group. (2015) Central blood pressure relates more strongly to retinal arteriolar narrowing than brachial blood pressure: the Nagahama Study. *J. Hypertens.* 33, 323-329.
10. Terao, C., Yano, K., Ikari, K., Furu, M., Yamakawa, N., Yoshida, S., Hashimoto, M., Ito, H., Fujii, T., Ohmura, K., Yurugi, K., Miura, Y., Maekawa, T., Taniguchi, A., Momohara, S., Yamanaka, H., Mimori T. and Matsuda, F. (2015) A main contribution of DRB1*04:05 among shared epitope and involvement of 57th DRB1 amino acid in association with joint destruction in ACPA(+) RA. *Arthritis Rheumatol.* in press.

2. 学会発表

1. 松田文彦、「予防医療におけるゲノムコホート研究の役割」、第22回日本がん検診・診断学会総会シンポジウム、聖路加国際病院（東京）、2014年7月27日
2. 松田文彦、「ヒト複合遺伝病と感受性遺

伝子の探索～網羅的オミックス解析の
こころみ」、第 5 回小児がん学術セミナー、
ウェスティン都ホテル京都(京都)、
2014 年 9 月 7 日

3. Matsuda F, for the Nagahama Cohort Research Group. The comprehensive human biology using a large-scale genome cohort. 23rd KOGO Annual Conference 2014, Plenary Lecture. The Korea Science and Technology Center, Seoul, Korea. September 19, 2014.
4. Matsuda F, for the Nagahama Cohort Research Group. The comprehensive human biology using a large-scale genome cohort. 4th Global Cancer Genomics Consortium. Shiran Hall, Kyoto University, Kyoto, Japan. November 14-15, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

統計遺伝学解析・オミックス解析の統括的実施手法に関する研究

担当責任者：山田 亮 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

本研究班は、オミックス多層解析を行うという多様性ととも、対象疾患の遺伝性の多様性（単一遺伝性疾患の特性の強いものから複合遺伝性疾患の特性の強いものまで）、並びに、研究標的の多様性（疾患関連因子の同定から、遺伝子診断まで）を包含している。この分担研究では、このような多様な諸研究に、データ解析・統計解析・結果解釈の点において、最新の標準的手法を調査し適宜、班員に情報提供する。また、それを実行するために、多様なプラットフォーム・スタイルの間での情報学的・統計解析的類型化について理論的検討を加える。

A. 研究目的

多様な疾患の遺伝要因の病態理解・診断応用・治療戦略開発のための情報学的類型化に関する研究を行い、コモンバリエント・レアバリエントを臨床応用するための統計学的基礎を与える。また、ゲノムとそれ以外のオミックス(エピゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム・メタボローム・フェノーム)を統合的に解析するための実用的アプローチについて、研究開発代表者・分担者と協議しつつ、統計学的適切さを担保する。

B. 研究方法

研究開発全体で算出される多様なデータ群に関して以下のことを実施する

1. 統計解析手法の現時点で適切と思われる手法について網羅的情報収集と解釈を行う。
2. 研究開発代表者・分担者に適切な形で情報提供するとともに実施を支援する。
また、その実行にあたっては、
3. データ収集・データ管理・解析前処理・解析実施・結果解釈につき、タコ足化・

アドホック化することによる応用化障壁・一般化障壁を回避するため、データ管理担当者・データ解析実行者に適切なインプットをする。

上記の実施にあたり、班員からの情報収集を実施し、幅広く文献・学術集会からの情報収集に努めた。

（倫理面への配慮）

ゲノム情報・臨床情報の取り扱いに関して国の指針にのっとり進めるとともに、遺伝子診断上の標準的配慮と、遺伝子情報の臨床活用が現在直面している新規の倫理的課題であって、スタンダードが定まらない点について、海外の情勢にも留意しながら進めている。

C. 研究結果

班員へのデータ解析に関する情報提供を行った。また、収集した情報を、解析手法の選択・解析の実施に適宜活用した。

そのような班支援的な活動成果の他、オミックス領域の多様性の高い大規模データの

情報学的考察を研究集会にて発表した。また、同様の内容を、所属機関のホームページを通じて公表し、広く一般の利用に供した。

D. 考察

広汎なプラットフォーム・アプローチのすべてに詳細な関与をし、その全体を俯瞰するには、遠く及ばない段階にとどまっているが、個々の班員研究のそれぞれにある程度の寄与をする程度には、役割を果たすことができた。また、急速に変化・進化を続けるオミックス領域のデータ解析につき、包括的観点に立ち、研究コミュニティに情報発信を続けたことは、貴重であると考えられる。

E. 結論

オミックス研究を臨床応用するための、統計学的な基礎理論研究とその情報発信とにつき、適切なアウトプットを実施できたと考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Narahara, M., Higasa, K., Nakamura, S., Tabara, Y., Kawaguchi, T., Ishii, M., Matsubara, K., Matsuda, F. and Yamada, R. (2014) Large-scale East-Asian eQTL mapping reveals novel candidate genes for LD mapping and the genomic landscape of transcriptional effects of sequence variants. *PLoS One*. 9, e100924.
2. Okada, Y., Wu, D., Trynka, G., Raj, T., Terao, C., Ikari, K., Kochi, Y., Ohmura, K., Suzuki, A., Yoshida, S., Graham, R. R., Manoharan, A., Ortmann, W., Bhangale, T., Denny, J. C., Carroll, R. J., Eyler, A. E., Greenberg, J. D., Kremer, J. M., Pappas, D. A., Jiang, L., Yin, J., Ye, L., Su, D. F., Yang, J., Xie, G., Keystone, E., Westra, H. J., Esko, T., Metspalu, A., Zhou, X., Gupta, N., Mirel, D., Stahl, E. A., Diogo, D., Cui, J., Liao, K., Guo, M. H., Myouzen, K.,

- Kawaguchi, T., Coenen, M. J., van Riel, P. L., van de Laar, M. A., Guchelaar, H. J., Huizinga, T. W., Dieude, P., Mariette, X., Bridges, S. L. Jr., Zhernakova, A., Toes, R. E., Tak, P. P., Miceli-Richard, C., Bang, S. Y., Lee, H. S., Martin, J., Gonzalez-Gay, M. A., Rodriguez Rodriguez, L., Rantapaa-Dahlqvist, S., Arlestig, L., Choi, H. K., Kamatani, Y., Galan, P., Lathrop, M., RACI consortium; GARNET consortium; Eyre, S., Bowes, J., Barton, A., de Vries, N., Moreland, L. W., Criswell, L. A., Karlson, E. W., Taniguchi, A., Yamada, R., Kubo, M., Liu, J. S., Bae, S. C., Worthington, J., Padyukov, L., Klareskog, L., Gregersen, P. K., Raychaudhuri, S., Stranger, B. E., De Jager, P. L., Franke, L., Visscher, P. M., Brown, M. A., Yamanaka, H., Mimori, T., Takahashi, A., Xu, H., Behrens, T. W. Siminovitch, K. A., Momohara, S., Matsuda, F., Yamamoto, K., Plenge, R. M. (2014) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*. 506, 376-381.
3. Terao, C., Yamada, R., Mimori, T., Yamamoto, K. and Sumida, T. (2014) A nationwide study of SLE in Japanese identified subgroups of patients with clear signs patterns and associations between signs and age or sex. *Lupus*. 23, 1435-1442.
 4. Terao, C., Ohmura, K., Yamada, R., Kawaguchi, T., Shimizu, M., Tabara, Y., Takahashi, M., Setoh, K., Nakayama, T., Kosugi, S., Sekine, A., Matsuda, F., Mimori, T; on behalf of the Nagahama Study Group. (2014) An association between anti-nuclear antibody and HLA class II locus and heterogeneous characteristics of staining patterns: The nagahama study. *Arthritis Rheumatol*. 66, 3395-3403.
 5. Terao, C., Terada, N., Matsuo, K., Kawaguchi, T., Yoshimura, K., Hayashi, N., Shimizu, M., Soga, N., Takahashi, M.; Nagahama Cohort Study Group, Kotoura, Y., Yamada, R., Ogawa, O. and Matsuda, F. (2014) A genome-wide association study of serum levels of prostate-specific antigen in the Japanese population. *J. Med. Genet*. 51, 530-536.

2. 学会発表

1. 奈良原舞子・田原康玄・川口喬久・松田文彦・山田 亮、「血球細胞における遺伝子発現の性差および年齢変化の解析」、日本人類遺伝学会第 59 回大会、タワーホテル船堀（東京）、2014 年 11 月 21 日
2. 山田 亮、「0/1 表現型と個別化医療における決断」、ゲノム医科学とバイオインフォマティクスの接点と集学研究集会 国立遺伝学研究所（三島）、2015 年 2 月 20 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

HTLV-1 関連疾患の原因究明と新規診断・治療法の確立に関する研究

担当責任者：田原康玄 京都大学大学院医学研究科・准教授

研究要旨

HTLV-1 関連脊髄症（HAM）の発症や病勢に関連する遺伝因子を同定する目的で、ゲノム網羅的な一塩基多型（SNP）解析を行った。HAM 患者と HAM 未発症の HTLV-1 キャリア、および成人 T 細胞白血病（ATL）患者とを比較したゲノムワイド関連解析から、HLA 領域が HAM と強く関連することを見いだした。加えて、染色体 2 番にも候補遺伝子を見いだした。当該成果の臨床応用に向けて、HLA 領域のシーケンスを行い、疾患と関連する HLA ハプロタイプの同定を進めている。加えて染色体 2 番の候補遺伝子のエクソーム解析も行い、疾患原因遺伝子変異の特定を進めている。

A. 研究目的

我が国におけるヒト T 細胞白血病ウイルス（Human T-cell Leukemia Virus Type 1, HTLV-1）の感染者数は 108 万人と推計され、感染者の 5% 程度が成人 T 細胞白血病や HTLV-1 関連ぶどう膜炎、HTLV-1 関連脊髄症（HTLV-1 Associated Myelopathy, HAM）を発症する。このうち HAM は 1986 年に日本から提唱された疾患であり、本邦における有病者数は 3,000 人程度と諸外国に比して高率である。HAM 患者は緩徐進行性の両下肢痙性不全麻痺から下肢筋力低下と痙性による歩行障害を来し、進行すると歩行不能、座位不能で寝たきりとなるが、その病勢は一様ではない。発症後数十年経過しても症状が軽度である場合もあれば、発症後数か月単位で急速に症状が悪化するケースもあるが、現在臨床で用いられている血液や髄液のマーカー、プロウイルス量（感染細胞率）等のみでは、病勢を十分に予測できない。また、HTLV-1 ウィルス感染者のうち数%しか HAM を発症しないことから、HAM の発症や病勢には遺伝的な因子が関連することが

強く示唆される。

そこで本研究では、HAM 患者を対象としたゲノム網羅的な遺伝子多型解析（GWAS）から、疾患の発症や病勢に関連する遺伝因子を同定することを目的とした。今年度は、さらに検体の収集を進め、検出力を高めた GWAS から感受性遺伝子の同定を進めた。事前仮説に依らないゲノム網羅的な解析からは、これまで予想されなかった遺伝因子が同定される可能性が高い。疾患に感受性を示す遺伝因子の同定は、病因の解明と病勢マーカーの獲得において大きな手がかりを与える点で、厚生労働行政に大きく寄与するものと期待される。

B. 研究方法

主に「次世代遺伝子解析技術を用いた希少難治性疾患の原因究明及び病態解明に関する研究班」（班長：鹿児島大学医学部 高嶋博）、「HAM の新規バイオマーカー同定による重症度別治療指針の作成と病因細胞標的治療法の開発」（班長：聖マリアンナ医科大学 山野嘉久）、京都大学ウィルス研究所で収集し

た HAM 患者 848 例、成人 T 細胞白血病 (ATL) 患者 601 例、関連疾患非発症の HTLV-1 陽性キャリア 918 例とした。Illumina 社製の SNP アレイ (Human610-Quad、HumanCoreExome) を用いてゲノム網羅的な SNP タイピングを行い、定法に則ったクオリティコントロールを通過した HAM 患者 686 例、HTLV-1 キャリア 836 例、ATL 患者 546 例を対象に、各アレイに共通する 104,155 SNP について関連解析を行った。関連解析には PLINK (ver 1.07) を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、京都大学医の倫理委員会により承認を受けて実施している。加えて個々の共同研究機関においても、独自に倫理委員会から承認を得ている。患者採血にあたっては、本研究の主旨を十分に説明した後、書面にて同意を確認している。個人情報採血を行った研究機関で保存し、本研究では匿名化された検体のみを解析に用いた。

C. 研究結果

HAM、キャリアの検体収集

平成 26 年度に、共同研究者から HAM 患者 52 検体、ATL 患者 152 例、HTLV-1 キャリア 153 例分の検体の追加提供を受けた。本年度はこれら検体の SNP タイピングを行い、ゲノム網羅的 SNP タイピング (ゲノムスキャン) の規模を拡大した。特に HAM 患者数は全国で 3,000 例と推計されることから、本研究で用いた患者検体は極めて秀逸なコレクションといえる。

HAM の GWAS

HAM 患者と非 HAM 発症者 (ATL 患者 + 健常キャリア) とを比較した関連解析から、HLA-DRA 領域と染色体 2 番の遺伝子 X に有意な関連を認めた (図 1)。このうち、HLA 領域は集団の構造化補正後も有意に関連し

た。一方、染色体 2 番のピークは構造化補正で弱まったが、検体数が限られていることを勘案すると、候補遺伝子として位置づけられる。

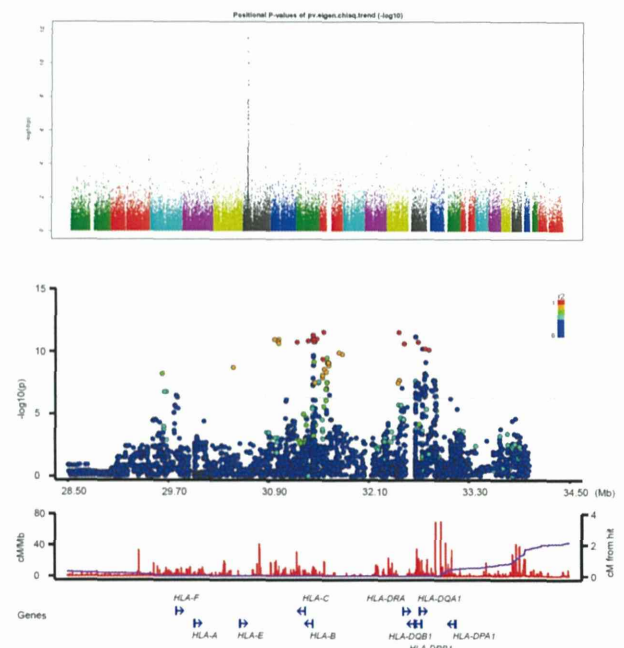


図 1 ATL 患者とキャリアを対照とした HAM の GWAS

HLA ハプロタイプの解析

疾患に関連する HLA ハプロタイプを特定する目的で、一部の検体を用いて全 HLA 領域のシーケンスを行っている。プレリミナリーな解析において、HAM と関連するハプロタイプが 2 種類検出された。現在、検体数を増やした解析を行っており、疾患関連ハプロタイプの特定を急いでいる。平行して、染色体 2 番の候補遺伝子のエクソーム解析も行っており、原因遺伝子変異の同定を進めている。

D. 考察

本研究において、疾患に感受性を示す候補領域が染色体 2 番に観察された。両者の関連は GWAS における統計学的有意水準 ($p=5.0 \times 10^{-8}$) を満たさなかったものの、以前に行ったより少数例での検討から検体数を増やしても有意水準は変化しなかったため、当該遺伝子が HAM と関連する可能性は極

めて高い。HAM の患者数は限られていることから、これ以上、検体数を増やすことは難しい。そこで、候補遺伝子のエクソーム解析を行い、より頻度の低い遺伝子変異も含めた解析から、疾患に関連する変異の同定を進めている。

一方、HLA 領域と HAM との関連は、構造補正後も有意であったことから、当該領域が疾患感受性を持つことは確定的といえる。この成果を臨床応用するためには、いずれの HLA ハプロタイプが疾患と関連するかを明らかにする必要があるため、現在、全 HLA 領域のシーケンスを進めている。HLA 領域は多様性に富むため、本研究結果は必ずしも他人種に外挿できないが、少なくとも日本人において、HAM 発症リスクの高い HTLV-1 感染者を特定するには大いに役立つことが期待される。

E. 結論

HAM 患者を対象とした GWAS、HLA 領域が疾患と関連することを明らかにした。また、染色体 2 番に候補遺伝子を見いだした。これら領域のシーケンスから、疾患に関連する HLA ハプロタイプや遺伝子変異の同定を進める。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1. Penova, M., Yasunaga, J., Saito, M., Sato, T., Nozuma, S., Matsuura, E., Kubota, R., Matsuzaki, T., Izumo, S., Takashima, H., Yamano, Y., Matsuoka, M., Matsuda, F. and Tabara, Y., Genome-wide association study of HTLV-1 associated myelopathy reveals association in the HLA locus in

Japanese population、第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京大学医科学研究所講堂（東京）、2014 年 8 月 22～24 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

網膜色素変性についての遺伝子診断ネットワーク構築に関する研究

担当責任者：後藤謙元 京都大学大学院医学研究科・准教授

研究要旨

425人の網膜変性症患者（遺伝形式は多様）について、Agilent社 Haloplex, Illumina社 HiSeq2500を用い379遺伝子についてTarget Exome Sequencingを行った。網膜色素変性症（狭義）およびアッシャー症候群の変異情報につき、京都大学医学研究科附属ゲノム医学センターのサーバーに、検索可能な情報として格納した。1例についてはコロイデレミア（X染色体連鎖劣性遺伝）であると遺伝子診断がついたため、姉の臨床検査をおこなったところ保因者としての特徴を有していた。コロイデレミアについては、海外で遺伝子治療の臨床試験が行われ良好な結果を得ていることから、患者本人にその情報を伝え、本人・姉・家族に対しては遺伝カウンセリングの必要性について理解をえた。網膜色素変性症を対象にした遺伝子診断を実地医療にとり入れた、最初のケースであると考え。

A. 研究目的

遺伝性疾患の一モデルケースとして、網膜色素変性症を対象にして、ゲノム解析の精度管理や倫理面での対応を含め、遺伝子診療体制の確立を行う。

B. 研究方法

既存検体である425人の網膜変性症患者（遺伝形式は多様）のDNAを用い、Agilent社 Haloplex, Illumina社 HiSeq2500を用い379遺伝子についてTarget Exome Sequencingを行った。網膜色素変性症（狭義）およびアッシャー症候群の変異情報につき、京都大学医学研究科附属ゲノム医学センターのサーバーに、検索可能な情報として格納する。

（倫理面への配慮）

希望のある対象者については、本研究の分担研究者である京都大学医療倫理学・遺伝医

療学小杉教授と協力し、遺伝カウンセラー立ち合いのもとに結果の説明を行った。ヘルシンキ宣言が言明する諸原則に従っている。「疫学研究の倫理指針」に準拠している。

C. 研究結果

原因変異が同定された患者は38%であった。網膜色素変性症（狭義）およびアッシャー症候群の変異情報につき、京都大学医学研究科附属ゲノム医学センターのサーバーに、検索可能な情報として格納を終えた。1例については網膜色素変性症（狭義）の診断から、コロイデレミア（X染色体連鎖劣性遺伝）に変異情報を根拠に診断名の変更をした。姉の臨床検査をおこなったところ保因者としての特徴を有していた。網膜色素変性症（狭義）は治療法がない一方、コロイデレミアについてはオックスフォード大学が遺伝子治療の臨床試験を開始し良好な結果を得ている。患者本人に治療の結果を伝え、本人および姉に

対しては遺伝カウンセリングの必要性について理解をえ、来年度に遺伝カウンセリングを行う予定である。

D. 考察

網膜色素変性症（広義）について、欧米で臨床試験が相次いでいるが、すべて個別遺伝子に適応となっている（例えば ABCA4 retinopathy という概念）。患者個人にとっては、自分が臨床試験の対象の遺伝子異常を保持しているか知ること、情報の集め方や将来設計がかわるものと思われる。

E. 結論

網膜色素変性症を対象にした遺伝子診断を実地医療にとり入れた、最初のケースをもたらすことができた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oishi, M., Oishi, A., Gotoh, N., Ogino, K., Higasa, K., Iida, K., Makiyama, Y., Morooka, S., Matsuda, F., Yoshimura, N. (2014) Comprehensive molecular diagnosis of a large cohort of Japanese retinitis pigmentosa and Usher syndrome patients by next-generation sequencing. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 16, 55, 7369-7375.
2. Oishi M, Oishi A, Ogino K, Makiyama Y, Gotoh, N., Kurimoto, M., Yoshimura, N. (2014) Wide-field fundus autofluorescence abnormalities and visual function in patients with cone and cone-rod dystrophies. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 20, 55, 3572-3577.

2. 学会発表

1. 大石真秀・大石明生・後藤謙元・荻野顕・牧山由希子・諸岡諭・栗本雅史・吉村長久、「ターゲットエクソームシーケンスによる網膜色素変性患者の網羅的遺伝

子検査」、第 53 回日本網膜硝子体学会総会、大阪国際会議場（大阪）、2014 年 11 月 28 日

2. 大石真秀・大石明生・後藤謙元・荻野顕・牧山由希子・諸岡諭・栗本雅史・吉村長久、「次世代シーケンサーを用いた遺伝性網膜変性疾患の網羅的遺伝子診断」、第 68 回日本臨床眼科学会、ポートピアホテル（神戸）、2014 年 11 月 13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

臨床情報の管理及び検体管理に関する研究

担当責任者：山口 泉 京都大学大学院医学研究科・特定講師

研究要旨

本研究事業において行う網羅的オミックス解析に必要な多種多様な検体及び臨床情報の収集から解析、データベース化の段階までを独自開発の情報管理システムによって一元管理を行う体制を構築することにより、迅速かつシームレスなオミックス解析環境の確立を支援した。IgG4 関連疾患プロジェクトでは臨床情報に基づく自動診断システムを開発し、解析対象症例の正確な選別が迅速に行える体制を構築した。

A. 研究目的

本研究事業において行う①網羅的オミックス解析、②遺伝子診断ネットワークにおける検体及び臨床情報の収集、解析、データベース化までのプロセスを一元管理することにより迅速かつシームレスなオミックス解析環境を整備し、解析の支援を行う。

B. 研究方法

本研究事業のうちの IgG4 関連疾患、好酸球性胃腸炎、肺高血圧症、HTLV-1 関連脊髄症プロジェクトにおいて当施設で開発した管理システムを用いて臨床情報の収集・管理及び検体管理を行う体制を構築する。

IgG4 関連疾患については収集した臨床情報に基づいて疾患の詳細診断を行うソフトウェアを開発し、国際診断基準に基づいて統一的に被験者の診断・分類を行える体制を構築する。

（倫理面への配慮）

本研究は全て国の倫理指針に基づいた倫理委員会での審議を受け許可を得ている。検体及び臨床情報は匿名化される。

C. 研究結果

特に IgG4 関連疾患及び好酸球性胃腸炎では数多くの項目に渡る臨床情報の収集を行っており、当施設の臨床情報管理システムにより円滑・確実な臨床情報収集と堅牢な情報管理を行うことが出来た。

本システムから必要な臨床情報を取得して IgG4 関連疾患の自動診断を行うシステムを開発した。これにより被験者の診断を迅速かつ統一的に行えるようになったのみならず、臨床情報が不足しているために診断が確定しない症例の選別も出来るようになり、解析準備作業が効率化し解析対象症例選定の精度が向上した。

検体管理については検討の結果、検体匿名化のスムーズな運用のために追加が必要な機能の存在が判明し、機能追加作業を行った。

D. 考察

疾患のオミックス解析においては正確な臨床情報収集と統一された基準による診断が極めて重要であり、それを可能にする体制の確立が不可欠である。

IgG4 関連疾患は様々な臓器に発症する全身疾患であり、その疾患概念は現在も発展中