

[0025]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2010

<https://doi.org/10.15017/26853>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 25, 2011. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン :
権利関係 :



遺 伝 情 報 実 験 セ ン タ ー

Research Center for Genetic Information

ゲノム構造学分野

Division of Genome Analysis

平成 22 年度より，旧ゲノム集団遺伝学分野とゲノム構造学分野が合流し，新しい研究室としてスタートした．これに伴う異動は無い．山本，手柴，北島，秋永，園田，福山は，これまでの多施設共同研究を進めるとともに，平成 22 年度採択新学術領域「ゲノム支援」ならびに「HLA 進化と疾病」における研究に従事した．田平，岩下，堤，吉永は，「日本人の全ゲノムハプロタイプ」，「転写因子 MIBP1 による発現調節と糖転移酵素 OGT による修飾」，「DNA を用いたナノ構造体の構築」および疾患遺伝子解析の研究を進展させた．また，医学科 3 年生村上智哉君が，ゲノムインフォマティックス解析に参画した．

A. 基礎ゲノム科学分野における研究

a. 日本人の全ゲノムハプロタイプ

ゲノム情報に基づく疾患要因の解析には，ヒトゲノム中の一塩基多様性 (SNV) 及びコピー数多型 (CNV) 等の多様な構造多型の同定と，それらの染色体上での組み合わせ (ハプロタイプ) を決定することが重要である．しかし，2 倍体 (ディプロイド) 細胞を用いてこれを決定することは困難であり，とくに日本人ゲノムにおける多型構造は不明で解決すべき課題である．この課題への取り組みとして，倍加ハプロイドゲノムをもつ約 100 個の全胎状奇胎細胞をゲノムワイドマイクロアレイにより解析し，確定ハプロタイプを決定してきた．平成 22 年度は約 88 万個の SNP と 1336 個の CNV 領域からなる確定ハプロタイプの解析に基づき，ハプロタイプにより CNV を生じやすいものがあることを見出し論文発表した (Am J Hum Genet 2010) ．さらに，別のアレイでの解析を統合することにより，多型密度を 2 倍にし，国際コンソーシアムにより同じプラットフォームで解析されている HapMap3 と比較した結果を報告した．

b. HLA 領域非コード RNA に関する研究

非コード RNA が有する転写制御をはじめとする多彩な機能に鑑みれば，HLA 領域内非コード RNA の機能と多様性を理解することは，免疫関連疾患と HLA 領域の強い相関の分子機序解明に不可欠である．本研究では，次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を異なる HLA ハプロタイプについて実施し，HLA 領域に位置する非コード RNA を同定する．これに基づき，免疫関連疾患との相関が示された HLA アレルと連鎖不平衡にある非コード RNA を抽出し，その機能を解析することによって，免疫関連疾患の発症機序解明を目指す．平成 22 年度は，代表的な HLA ハプ

ロタイプを有する 7 種の B 細胞株について mRNA-Seq を実施した。

c. DNA を用いたナノ構造体の構築

DNA の「自己組織化」，すなわち水素結合により塩基対形成する性質を利用した「DNA おりがみ」が素材として広い可能性をもつことが最近報告されている．しかし，これらの多くは M13 ファージの DNA 配列に基づいており，構造体形成に至適化された配列ではない．我々は DNA 二重螺旋を骨格とし，アドレス可能で階層的に構築をできるナノ構造体の新しいデザインシステムの確立を目的としている．平成 22 年度は正八面体のオリゴマーを基本ユニットとした三次元構造体を作製するために PX (paranemic crossover) モチーフ等を組み込んだ構造体形成を報告した．

B. 応用ゲノム科学分野における研究

a. 単一遺伝病の原因遺伝子解明に関する研究

単一遺伝病における原因遺伝子変異同定は，ヒト表現型を形成する遺伝子機能の直接的な理解に有意義である．本研究室では，優性遺伝様式をとる甲状腺腫瘍家系，TNF 受容体関連周期性発熱症候群（九州大学・堀内孝彦との共同研究）劣性遺伝様式を示す家族性血球貪食症候群，および両方の遺伝様式をとる家族性滲出性硝子体網膜症（産業医科大学・近藤寛之との共同研究），について原因遺伝子解明のためのゲノム解析を行っている．平成 22 年度は以下の成果を得た．甲状腺腫瘍家系について，SNP をマーカーとして用いたパラメトリック連鎖解析を実施し，ある特定の染色体領域に連鎖領域を見出した．連鎖領域は数 Mb に及ぶことから，次世代シーケンサーを用いたエクソーム変異解析を実施し，遺伝子変異同定を進めている．家族性血球貪食症候群においては，日本人症例で初めて STXBP2 遺伝子変異を同定し報告した (PLoS One 2010)．家族性滲出性硝子体網膜症の常染色体優性遺伝症例においては，TSPAN12 遺伝子変異を同定し報告した (Am. J. Ophthalmol, in press)．

b. 多因子疾患の遺伝背景解明に関する研究

多因子疾患の原因遺伝子多型を基盤として，疾患の発症機序を，分子・細胞・個体レベルで解明し，さらに，コホート集団解析を通じて，個々人のゲノム情報に基づいた新しい予防法や診断法・治療法を開発するためには，集団を対象としたゲノム多型解析が必須である．本研究室では，多施設共同研究活動を主体として，多因子疾患発症に関わる遺伝背景の解明を進めている．平成 22 年度進めたゲノム共同研究の対象疾患は以下の通りである（敬称略）．①自己免疫性甲状腺炎（九州大学・笹月健彦），②心筋梗塞（愛知学院大学・横田充弘），③大腸がん・食道がん（大阪大学・森正樹），④糖尿病・肥満・高脂血症・高血圧（国立国際医療センター・加藤規弘），⑤横隔膜ヘルニア（九州大学・増本幸二），⑥パーキンソン病（大阪大学・戸田達史），⑦ヒト可

視形質（琉球大学・木村亮一）、⑧睡眠障害（京都大学・岡村均）、⑨全身性エリテマトーデス（九州大学・堀内孝彦）。主な成果は以下の通りである。全ゲノム相関解析によって、日本人での血中グルコース濃度を規定する遺伝子群を同定した（Diabetologia2010）。同様に、日本人高血圧に関連する遺伝子群を同定した（Circulation 2010）。食道がんの原因遺伝子同定と環境要因との相互作用について報告した（Gut 2010）。糖尿病患者における肥満感受性遺伝子を同定した（Diabetologia 2011）。また、全身性エリテマトーデスと KIR 受容体の関連を報告した（Rheumatology 2010）。

c. 先天性疾患ならびに腫瘍におけるゲノム構造異常解明に関する研究

先天性疾患には原因不明のものが多く、微小染色体変異が関与している可能性がある。本研究室では、九大小児外科教室と連携し、先天性横隔膜ヘルニアについてのゲノム構造異常解析を実施した。SNP プローブの蛍光強度とアレルバランスを指標として症例特有のゲノム変化を全ゲノムで検出し、6q27 に位置する TCTE3 遺伝子の部分欠失が本疾患の原因となる可能性を示し報告した（Pediatr Surg Int 2011）。また、Wilms 腫瘍における染色体変化と臨床病型との関連について研究を進めている。

C. 遺伝子発現制御に関する研究

a. 転写因子 MIBP1 による発現調節と糖転移酵素 OGT による修飾

MIBP1（別名 HIVEP2, Schnurri2）は *c-myc* intron 1 をはじめ様々な遺伝子の転写調節領域に結合し、特に NFκB 認識配列に結合する。MIBP1 強制発現による発現変動をマイクロアレイで解析した結果、発現抑制される遺伝子の転写開始点上流には NFκB 配列が有意に多く含まれていた。この結果は MIBP1 が NFκB 応答を抑制するというレポーターアッセイの結果とも一致した。さらに、新たに見出した *O*-GlcNAc transferase (OGT) との結合が MIBP1 の転写抑制能を調節するメカニズムについて検討を行っている。

b. メチル化 PCAF の機能に関する研究

ヒストンメチル化酵素が非ヒストンタンパクを修飾してその機能を制御することが報告されており、リジン残基メチル化に対する関心はヒストンだけに留まっていない。我々は、SET9 が p300/CBP-associated factor (PCAF) の複数のリジン残基を *In vitro* および *In vivo* でメチル化することを明らかにし報告した。平成 22 年度は、その機能的意義を明らかにするための研究を進め、PCAF が有する p53 やヒストン H3 に対するアセチル化活性が K89 のメチル化によって阻害されること、一方、このメチル化は PCAF の自己アセチル化には影響しないこと、などを *In vitro* において明らかにした。現在、PCAF メチル化による p53 標的遺伝子の発現変化について解析を進めている。

業績目録

原著論文

1. F. Takeuchi, K. Yamamoto, T. Katsuya, T. Nabika, T. Sugiyama, A. Fujioka, M. Isono, K. Ohnaka T. Fujisawa, E. Nakashima, H. Ikegami, J. Nakamura, Y. Yamori, S. Yamaguchi, S. Kobayashi, T. Ogihara, R Takayanagi, N. Kato. 2011.
Association of obesity susceptibility genetic variants with type 2 diabetes in the Japanese.
Diabetologia, in press.
2. H. Kondo, S. Kusaka, A. Yoshinaga, E. Uchio, A. Tawara, K. Hayashi, T. Tahira. 2011.
Mutation in TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy.
Am. J. Ophthalmol. , in press.
3. R. Teshiba, K. Masumoto, G. Esumi, K. Nagata, Y. Kinoshita, T. Tajiri, T. Taguchi, K. Yamamoto. 2011.
Identification of TCTE3 as a gene responsible for congenital diaphragmatic hernia using a high-resolution single-nucleotide polymorphism array.
Pediatr Surg Int., 27, 193-198.
4. K. Nagai, K. Yamamoto, H. Fujiwara, J. An, T. Ochi, K. Suemori, T. Yasumi, H. Tauchi, K. Koh, M. Sato, A. Morimoto, T. Heike, E. Ishii, M. Yasukawa. 2010.
Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes.
PLoS One. 5 , e14173.
5. K. Akiyama, A. Narita, H. Nakaoka, T. Cui, T. Takahashi, K. Yasuno, A. Tajima, B. Krischek, K. Yamamoto, H. Kasuya, A. Hata, I. Inoue. 2010
Genome-wide association study to identify genetic variants present in Japanese patients harboring intracranial aneurysms.
J Hum Genet. 55, 656-661.
6. F. Tanaka, K. Yamamoto, S. Suzuki, H. Inoue, M. Tsurumaru, Y. Kajiyama, H. Kato, H. Igaki, K. Furuta, H. Fujita, T. Tanaka, Y. Tanaka, Y. Kawashima, S. Natsugoe, T. Setoyama, S. Tokudome, K. Mimori, N. Haraguch, H. Ishii, M. Mori. 2010.
Strong interaction between the effects of alcohol consumption and smoking on esophageal squamous cell carcinoma among individuals with ADH1B and/or ALDH2 risk alleles.
Gut, 59, 1457-1464.
7. Yokomizo, K. Yamamoto, K. Furuno, M. Shiota, K. Tatsugami, K. Kuroiwa, S. Naito. 2010
Histopathologic subtype-specific genomic profiles of renal cell carcinomas identified by high-resolution whole-genome single nucleotide polymorphism array analysis.
Oncol Lett., 1: 1073-1078.

8. Y. Kukita, K. Yahara, T. Tahira, K. Higasa, M. Sonoda, K. Yamamoto, K. Kato, N. Wake, K. Hayashi. 2010.
A definitive haplotype map as determined by genotyping duplicated haploid genomes finds a predominant haplotype preference at copy number variation events.
Am. J. Hum.Genet., 86, 918-928.
9. M. Shiota, A. Yokomizo, Y. Tada, T. Uchiumi, J. Inokuchi, K. Tatsugami, K. Kuroiwa, K. Yamamoto, N. Seki, S Naito. 2010.
P300/CBP-associated factor regulates Y-box binding protein-1 expression and promotes cancer cell growth, cancer invasion and drug resistance.
Cancer Sci., 101, 1797-1806.
10. F. Takeuchi, M. Isono, T. Katsuya, K. Yamamoto, M. Yokota, T. Sugiyama, T. Nabika, A. Fujioka, K. Ohnaka, M. Nakatochi, Y. Yamori, S. Yamaguchi, S. Kobayashi, R. Takayanagi, T. Ogihara, N. Kato. 2010.
Blood pressure and hypertension are associated with seven loci in the Japanese population.
Circulation, 121, 2302-2309.
11. Y. Kimoto, T. Horiuchi, H. Tsukamoto, C. Kiyohara, H. Mitoma, A. Uchino, I. Furugo, S. Yoshizawa, A. Ueda, S. Harashima, T. Sawabe, T. Tahira, K. Hayashi, S. Yoshizawa, T. Shimoda, K. Akashi, M. Harada. 2010.
Association of killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL5 with systemic lupus erythematosus and accompanying infections.
Rheumatology, 49, 1346-1353.
12. J. Umeno, T. Matsumoto, M. Esaki, Y. Kukita, T. Tahira, R. Yanaru-Fujisawa, S. Nakamura, H. Arima, M. Hirahashi, K. Hayashi, M. Iida. 2010.
Impact of group IVA cytosolic phospholipase A(2) gene polymorphisms on phenotypic features of patients with familial adenomatous polyposis.
Int. J. Colorectal Dis., 25, 293-301.
13. F. Takeuchi, T. Katsuya, S. Chakrewarthy, K. Yamamoto, A. Fujioka, M. Serizawa, T. Fujisawa, E. Nakashima, K. Ohnaka, H. Ikegami, T. Sugiyama, T. Nabika, A. Kasturiratne, S. Yamaguchi, S. Kono, R. Takayanagi, Y. Yamori, S. Kobayashi, T. Ogihara, A. de Silva, R. Wickremasinghe, N. Kato. 2010.
Common variants at the GCK, GCKR, G6PC2-ABCB11 and MTNR1B loci are associated with fasting glucose in two Asian populations.
Diabetologia, 53, 299-308.

総説

1. 山本健. 2010.

遺伝子多型と大腸発癌の最新知見－多型でわかる大腸癌の現状－.
大腸癌 Frontier, Vol.3, No.3, 20-25.

2. 田平知子, 林 健志. 2010.
PCR-SSCP 法.
実験医学別冊「新遺伝子工学ハンドブック」改訂第 5 版, 110-114.

学会発表

1. Teshiba R, Yamamoto K, Kinoshita Y, Masumoto K, Tajiri T, Sumitomo K, Taguchi T (2010, 4/8-10).
Whole-Genome SNP Linkage Analysis in a Familial Multinodular Goiter.
第 47 回日本小児外科学会, 愛知.
2. Yamamoto Ken (2010, 5/17-19).
Search for genes susceptible to myocardial infarction by linkage analysis.
Symposium of Trends in Genomics and Clinical Research in Cardiovascular Disease.
Annual Meeting of Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology, Seoul, Korea.
3. Teshiba R, Yamamoto K, Kinoshita Y, Masumoto K, Tajiri T, Sumitomo K, Taguchi T (2010, 8/21).
Whole-Genome SNP Linkage Analysis in a Familial Multinodular Goiter.
21th Fukuoka International Symposium on Pediatric/Maternal-Child Health Research, Fukuoka.
4. 手柴理沙, 江角元史郎, 永田公二, 増本幸二, 山本健, 田口智章 (2010, 8/28).
先天性横隔膜ヘルニアにおける SNP アレイを用いた染色体異常の検討.
第 40 回九州小児外科学研究会, 福岡.
5. Tsutsumi T, Tahira T, Kanegami A, Okada T, Hayashi K (2010, 9/21).
Implosive addressing of space by self-assembled DNA.
第 48 回日本生物物理学会年会, 仙台.
6. Teshiba R, Esumi G, Nagata K, Masumoto K, Taguchi T, Yamamoto K (2010, 9/12-14).
Genome-wide analysis for micro-aberrations in congenital diaphragmatic hernia.
23th International Symposium on Paediatric Surgical Research, Tokyo.
7. 手柴理沙, 住友健三, 田尻達郎, 増本幸二, 田口智章, 山本健 (2010, 10/28-30).
SNP アレイを用いた連鎖解析による家族性多結節性甲状腺腫新規連鎖領域の同定.
第 55 回日本人類遺伝学会, 埼玉.
8. 北島秀俊, 山本健, 大中佳三, 高柳涼一, 古野純典 (2010, 10/28-30).
日本人における HDL-C 感受性遺伝子多型と環境因子との交互作用の解析.
日本人類遺伝学会第 55 回大会, 埼玉.
9. Kitajima H, Yamamoto K., Ohnaka K., Takayanagi R., Kono S (2010, 11/2-6).
Effect of rs662799 (APOA5) and rs10503669 (LPL) on HDL-C concentration is modified by dietary fat intake, physical activity and alcohol consumption.
60th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Washington D.C. U.S.A.

10. Tomoko Tahira, Yoji Kukita, Koji Yahara, Miki Sonoda, Ken Yamamoto, Norio Wake, Kenshi Hayashi (2010, 11/4).
A definitive haplotype map derived from homozygous genomes as a basis for disease gene study.
60th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Washington DC, U.S.A.
11. 田平知子, 久木田洋児, 矢原耕史, 園田美紀, 山本 健, 和気徳夫, 林 健志 (2010, 12/7-8).
A definitive haplotype map of SNPs and CNVs as determined by genotyping duplicated haploid human genomes by genome-wide microarrays.
第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸.
12. 堤孝信, 田平知子, 兼上明美, 岡田孝夫, 林健志 (2010,12/9).
自己集合核酸によるアドレス可能な内部拡大型ナノ構造体.
第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸.
13. 手柴理沙, 住友健三, 田尻達郎, 増本幸二, 田口智章, 山本健 (2010, 12/17-19) .
SNP アレイを用いた連鎖解析による家族性多結節性甲状腺腫新規連鎖領域の同定.
第 26 回日本小児がん学会, 大阪.

ゲノム機能学分野

Division of Human Molecular Genetics

当研究室では、一個の遺伝子の異常により起きる単一遺伝子病や、複数の遺伝子と環境因子の相互作用により発症する多因子病の解析と共に、ストレスや薬物への応答遺伝子の解析を行うことにより、遺伝情報制御機構の観点から生命現象を理解することを目指しており、さらに疾病の診断および治療法の確立にも寄与したいと考えている。

2010 年度の研究室への新たな参加者は、システム生命科学府博士課程 1 年として茨城大学理学部出身の藤岡 竜太である。

A. 統合失調症の分子基盤の解明

統合失調症は主に思春期に発病し、幻覚、妄想、思考障害などの陽性症状や、感情の平板化、寡動、意欲・自発性の欠如などの陰性症状を特徴として、多くは慢性に経過する頻度の高い精神疾患である。複雑な遺伝様式から多因子病と考えられている。罹患率は約 1%，同胞発症相対リスク λ_s は 10，遺伝率は約 80%であり遺伝子の関与が比較的高いことが知られている。この疾患の感受性遺伝子を同定し、分子機構を解明するために、遺伝統計学的、機能ゲノム学的小および発生工学的アプローチをとっている。

a. PCP 応答遺伝子を候補遺伝子とした関連解析

精神作用薬であるPCP (phencyclidine) はヒトおよび動物モデルで統合失調症様の陽性症状と陰性症状を引き起こすため、現在のところ統合失調症の最も有効な薬理学的モデルと考えられている。我々はPCPの急性投与に反応して発現が有意に変化する遺伝子をマイクロアレイにより探索し、それらの統合失調症発症への関与を関連解析により検討した。PCP急性投与ラットの脳の5部位から単離したトータルRNAのマイクロアレイ解析を行い、90個のアノテーションされた遺伝子と21個のESTにおいて、PCP投与による発現量の変化を観察した。同一処理別個体から独立に単離したトータルRNAを用いた定量的RT-PCRにより、上記遺伝子中12個の遺伝子につきPCP投与による発現量の変化が確認された。2倍以上の発現量変化が確認された10個の遺伝子のうち7個につき、統合失調症感受性遺伝子の候補として関連解析を行った。主にHapMapのデータベースより tag SNP pickerによって *PLAT* に6個、*BTG2* に3個、*DUSP1* に3個、*ADAMTS1* に6個、*NR4A1* に4個、*PTGS1* に2個、*PDE4* に6個のSNPを選択した。これらのSNPについて、罹患群304検体と健常群304検体を用いてタイピングを行った。FDR法による補正後、*PLAT*、*PDE4*、*NR4A1* のハプロタイプ頻度において、統合失調症との有意な関連を見いだした。さらに大規模サン

ル (約2,200ペアの罹患群, 健常群サンプル) による確認のための関連解析を行い, *PDE4* および *PLAT* の SNP について有意差を認め (*PDE4*: $p = 0.007$, *PLAT*: $p = 0.026$, $p = 0.010$), またハプロタイプ (*PDE4*: $p = 6.8 \times 10^{-12}$, *PLAT*: $p = 0.015$) についても有意な関連を確認した。これらの遺伝子は日本人統合失調症の発症に関与していることが示唆された (投稿中)。

b. 関連遺伝子のノックアウトマウスによる解析

先にグルタミン酸受容体遺伝子群についての系統的な関連解析を行い, AMPA 型グルタミン酸受容体 4 型 (GluR4) 遺伝子である *GRIA4* の多型と統合失調症との関連を見出した。本遺伝子の統合失調症や, 高次脳機能への関わりを明らかにするために, GluR4 の 4 個の細胞膜ドメインのうち 2 個をコードしているエクソン 12 を欠損させたノックアウトマウスを樹立した。GluR4 は海馬で生後間もない時期に GluR2 を含む AMPA 型グルタミン酸受容体をシナプス膜へとリクルートするとの報告がある。そこで免疫組織染色法により, GluR4 変異型 (− / −) マウスの海馬・小脳における GluR1 や GluR2 の発現分布を調べたが, 変異型マウスと野生型マウスとの間に大きな違いは観察されなかった。さらに, 記憶や空間学習能力に関わることが知られている長期増強 (LTP) についてマウスの海馬スライスを用いて電気生理学的解析を行った。しかし変異型マウスと野生型マウスとで少なくとも海馬 CA1 領域においては有意な変化が見られなかった。次に, 包括的行動テストを施行したところ, T 字型迷路試験では変異型マウスの空間作業記憶がわずかながらも向上していることが観察された。またバーンズの円形迷路試験では, 変異型マウスの空間参照記憶の保持能力は維持されていたが, 空間参照記憶の獲得能力が損なわれていることがわかった。以上の結果から, GluR4 サブユニットが作業記憶と参照記憶の両方に関与していることが示唆された。さらに, 統合失調症のエンドフェノタイプの 1 つと考えられているプレパルス抑制の障害について検討した。このプレパルス抑制は, 音刺激に対する驚愕反応が, その直前に驚愕反応を引き起こさない程度の弱い音刺激を与えることによって抑制される現象である。これは感覚運動情報制御機能を反映しており, 統合失調症ではこれが障害されることが知られている。変異型マウスではプレパルス抑制が, 野生型マウスに比べ有意に低下していた。また統合失調症患者でも観察されている, NMDA の阻害剤である MK-801 への感受性が亢進していることを示唆する結果も得られた。以上の結果から, GluR4 がプレパルス抑制の障害を示す精神疾患や, 空間記憶を初めとした認知機能に関与していることが考えられた (Sagata et al., 2010)。

B. 遺伝性痙性対麻痺の分子基盤の解明

遺伝性痙性対麻痺 4 型は, 緩徐進行性の痙性対麻痺を主徴とする常染色体優性遺伝形式をとる神経変性疾患である. 遺伝性痙性対麻痺の中で最多とされ, 2 番染色体にある *SPAST* 変異により起きることが知られている. これまでに *SPAST* の点変異・欠失変異・重複変異などが報告されている. 2 割程度にエクソンの欠失が関与するとされているが, その欠失範囲同定をしているものは少ない. 久留米大学病院にて見出された常染色体優性遺伝性痙性対麻痺 1 家系についての遺伝子変異同定を試みた. 対象は痙性対麻痺罹患 10 人を含む 11 人の家系内構成員およびその配偶者 3 人の合計 14 人である. まずは 2 番染色体上の 26 個のマイクロサテライトマーカーを用いて連鎖解析を行ったところ, *SPAST* が位置する 2p23-p21 の領域に最大多点 LOD 値 2.643 を認めた. そのため, *SPAST* の全エクソンの変異検索をダイレクトシーケンス法にて行ったが, 遺伝子変異は見られなかった. そこで, エクソン欠失の可能性を考え, *SPAST* の全エクソンについてのコピー数をリアルタイム PCR 法にて調べた. その結果エクソン 1~エクソン 4 の欠失を見出した. ついで *SPAST* の上流に隣接している *DPY30* のコピー数についてもリアルタイム PCR 法により解析を行った. その結果, *DPY30* のエクソン 1~エクソン 3 の欠失を見出した. われわれはさらに多数のプライマーの組み合わせにより, 欠失範囲が約 64 kb であることを明らかにした. 本家系は *SPAST* のエクソン 1 の完全欠失を明らかにした初めての報告である (Miura et al., 2011).

C. 先天性大脳白質形成不全症の分子基盤の解明

先天性大脳白質形成不全症とは中枢神経系のミエリン形成不全を主徴とする稀な小児神経疾患の一群であり, その代表的疾患である Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) は proteolipid protein 1 遺伝子 (*PLP1*) の異常で起る. 当研究室では国内初となった PMD における *PLP1* 変異を報告して以来, PMD が疑われた患者の *PLP1* 解析を研究の一環として行い, 点変異, 重複 (量的効果), 欠失などを含めて 50 数例を同定した. *PLP1* の完全重複では古典型が多いが, *PLP1* の点変異ではその位置と種類は家系ごとに異なり, 重症な先天型 PMD から成人発症の遺伝性痙性対麻痺 2 型 (SPG2) まで幅広いスペクトラムを呈することがわかった (論文準備中). 個々の変異と病態の関係を明らかにすることは治療法の開発やその適応を考える上で極めて重要である. 一方, PMD が疑われた症例の中には通常の方法で *PLP1* 変異が検出できないものも少なからず存在する. そのうち 20 症例について先天性大脳白質形成不全症の別の原因遺伝子 (*GJC2*) を解析したところ, ミスセンス変異のヘテロ接合体 1 例が認められた.

D. 高次脳機能関連遺伝子の進化学的研究

精神疾患関連遺伝子群の集団遺伝学的解析

統合失調症をはじめとする精神疾患は、高次脳機能の障害と考えられる。ヒト系譜における高次脳機能形成の進化過程解明を目指して、統合失調症関連遺伝子群の進化集団遺伝学的解析を行っている。統合失調症は、遺伝的要因の寄与が強い ($\lambda_s = 10$) 複雑疾患であり、多くは青年期までに発症する。その精神症状から、発症者の婚姻、挙子および子供の養育は困難となり、疾患感受性アレルの集団遺伝学的適応度は極めて低いことが期待される。しかし、その罹患率は地域・集団によらずほぼ一定 (1%) である。疾患感受性アレルの集団内での維持機構を解明するために、統合失調症との有意な関連が報告されている多くの遺伝子群の感受性多型の周辺領域および転写開始点上流の遺伝子発現調節領域を対象に、ヒト 98 検体 (日本人 50 検体, ヨーロッパ人 24 検体, アフリカ系アメリカ人 24 検体) とチンパンジー 50 検体についてリシークエンスによる全変異検出を行い、頻度スペクトラム法による自然選択の検出を行っている。今回、代謝型グルタミン酸受容体遺伝子上流領域の解析を行った。代謝型全 8 遺伝子のうちパラログが存在するために PCR による解析の不可能な *GRM5* を除く 7 遺伝子上流領域を対象に、全変異検出を行い中立性の検定を行った。領域全体の解析では、*GRM1* がヨーロッパ人において有意な正の Tajima's *D* を示し (+2.66), 平衡選択が示唆された。またチンパンジーでは *GRM6* において有意な正の *TD* が検出され (+2.52), チンパンジーにおける平衡選択が示唆された。ウィンドウ解析 (ウィンドウサイズ 100 bp, ステップ 20 bp) では、*GRM1* 転写開始点上流 3.7 kb 付近において日本人とヨーロッパ人で *TD* の有意な上昇 (+2.25 (日本人), +2.17 (ヨーロッパ人)) が見出された。いずれの領域もチンパンジーでは有意な自然選択は検出されず、これらの領域はヒト特異的平衡選択の対象となった可能性が示唆された (論文準備中)。

また統合失調症との極めて優位な関連がメタ解析により確認されている遺伝子群のうち、*BDNF*, *COMT*, *SLC18A1* について、関連が報告されている SNP の周辺領域各 7 kb および上流領域 5 kb 及びを対象にグルタミン酸受容体遺伝子群と同様の全変異検出を行った。その結果古くから統合失調症との関連が示唆されてきた *COMT* の非同義 SNP、rs4680 (Val158Met) 周辺領域において、ヨーロッパ人で有意な正の *TD* が観察され (+2.10), 日本人集団とアフリカ系アメリカ人集団においても有意ではないものの同様の傾向 (*TD* = +1.46 (日本人), *TD* = +1.75 (アフリカ系アメリカ人)) が見られた。しかし、チンパンジーにおいては同様の傾向は全く観察されなかった (*TD* = 0.00)。

また、rs4680 の下流約 2 kb の付近のイントロンにもアフリカ系アメリカ人集団で有意な正の *TD* が観察され(+2.14) , 日本人集団とヨーロッパ人集団においても有意ではないものの同様の傾向 (*TD* = +1.98 (日本人) , *TD* = +1.48 (ヨーロッパ人)) が見られた. 以上のことから, *COMT* の rs4680 のアミノ酸多型はヒト特異的な平衡選択で維持されており, 統合失調症に関連する表現型が, そのターゲットになった可能性が示唆された (論文準備中).

業績目録

原著論文

1. N. Sagata, A. Iwaki, T. Aramaki, K. Takao, S. Kura, T. Tsuzuki, R. Kawakami, I. Ito, T. Kitamura, H. Sugiyama, T. Miyakawa, Y. Fukumaki. 2010.
Comprehensive behavioral study of GluR4 knockout mice, implication in cognitive function.
Genes Brain Behav. 9: 899-909.
2. M. Hamamura, H. Ozawa, M. Ozaki, T. Shimazoe, Y. Terada, Y. Fukumaki. 2010.
Repeated administration of methamphetamine blocked cholecystokinin-octapeptide injection-induced *c-fos* mRNA expression without change in capsaicin-induced *junD* mRNA expression in rat cerebellum.
J Neural Transm. 117:1041-1053.
3. T. Tateishi, T. Hokonohara, R. Yamasaki, S. Miura, H. Kikuchi, A. Iwaki, H. Tashiro, H. Furuya, Y. Nagara, Y. Ohyagi, N. Nukina, T. Iwaki, Y. Fukumaki, JI. Kira. 2010.
Multiple system degeneration with basophilic inclusions in Japanese ALS patients with *FUS* mutation. *Acta Neuropathol.* 119: 355-364.
4. N. Suzuki, M. Aoki, H. Warita, M. Kato, H. Mizuno, N. Shimakura, T. Akiyama, H. Furuya, T. Hokonohara, A. Iwaki, S. Togashi, H. Konno, Y. Itoyama. 2010.
FALS with *FUS* mutation in Japan, with early onset, rapid progress and basophilic inclusion.
J Hum Genet. 55: 252-254.
5. T. Matsuoka, N. Fujii, A. Kondo, A. Iwaki, T. Hokonohara, H. Honda, K. Sasaki, S.O. Suzuki, T. Iwaki. 2011.
An autopsied case of sporadic adult-onset amyotrophic lateral sclerosis with *FUS*-positive basophilic inclusions.
Neuropathology. 31: 71-76.

6. S. Miura, H. Shibata, H. Kida, K. Noda, T. Toyama, N. Iwasaki, A. Iwaki, M. Ayabe, H. Aizawa, T. Taniwaki, Y. Fukumaki. 2011.
Partial *SPAST* and *DPY30* deletions in a Japanese spastic paraplegia type 4 family.
Neurogenetics. 12:25–31.
7. K. Umene, Y. Fukumaki. 2011.
Inversion of the L component of the viral genome and replicative intermediates flanked by the L component in naturally occurring herpes simplex virus type 1 isolates devoid of one copy of the inverted repeats of the L component.
Archives of Virology. In press.

学会発表

1. 井上 健, 小坂 仁, 黒澤健司, 高梨潤一, 山本俊至, 岩城明子 (2010,5/20-22).
先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究.
第 52 回日本小児神経学会総会,福岡.
2. 柴田弘紀 (2010, 8/2-5)
統合失調症の原因を進化的手法で探る～天才とナントカは紙一重か?～.
第 12 回日本進化学会大会, 東京.
3. 柴田弘紀, 内田麻衣子, 後藤大輝, 間野修平, 竹中 修, 服巻保幸 (2010, 9/20-23)
統合失調症感受性遺伝子 *COMT* に見出される中立進化からの逸脱.
第 82 回日本遺伝学会大会, 札幌.
4. 藤山りか, 佐野のぞみ, 渡邊健二, 神田ゆう子, 吉留幸一, 岩城明子 (2010, 9/30-10/1).
Pelizaeus-Merzbacher 病患者での嚥下機能評価の経験.
第 36 回日本重症心身障害学会学術集会,東京.
5. 鄧 湘東, 柴田弘紀, 高木宏美, 王 麗香, 黒木俊秀, 中原 辰雄, 橋本喜次郎, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 有波忠雄, 服巻保幸 (2010, 10/27-30)
統合失調症関連候補遺伝子としての PCP 応答遺伝子探索と関連解析.
日本人類遺伝学会第 55 回大会,大宮.
6. 井上 健, 岩城明子, 小坂 仁, 黒澤健司, 高梨潤一, 出口貴美子, 山本俊至 (2010, 10/27-30).
先天性大脳白質形成不全症: 難治性疾患克服研究事業による希少性疾患の統合的研究の推進.
日本人類伝学会第 55 回大会, 大宮.
7. 三浦史郎, 柴田弘紀, 貴田浩司, 野田和人, 岩城明子, 綾部光芳, 相澤久道, 谷脇考恭,

服巻保幸 (2010, 10/27-30)

SPAST および *DPY30* 遺伝子の部分欠失を伴う SPG4 家系.

日本人類遺伝学会第 55 回大会,大宮.

8. 柴田弘紀, 内田麻衣子, 後藤大輝, 間野修平, 竹中 修, 服巻保幸 (2010, 10/27-30)
統合失調症感受性遺伝子 *COMT* に見出される中立進化からの逸脱.
日本人類遺伝学会第 55 回大会,大宮.
9. T. Nii, R. Fujioka, A. Iwaki, S. Hattori, K. Takao, A. Shibata, Nomura, T. Miyakawa and Y. Fukumaki (2010, 12/7-10)
Comprehensive behavioral analysis of mGluR3 knockout mice.
第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸.
10. Y. Liang, Y. Fukumaki, H. Shibata (2010, 12/7-10)
Resequencing of dopamine receptor genes *DRD1* and *DRD2* as schizophrenia susceptibility genes revealed non-neutral process possibly associated with schizophrenia.
第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸.
11. Z. Sun, H. Shibata, Y. Fukumaki (2010, 12/7-10)
Resequencing of *C2orf24* as a schizophrenia susceptibility gene revealed by GWAS with STR markers.
第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸.
12. H. Furuya, T. Arahata, E. I. Araki, N. Fujii, Y. Fukumaki, T. Katagiri. (2010, 12/7-10)
Clinical features and abnormal ALK2 activity in case of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) with an *ALK2* (G356D) mutation.
第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸.
13. H. Shibata, K. Tanaka, K. Watanabe, H. Goto, S. Mano, O. Takenaka, Y. Fukumaki. (2010, 7/31-8/3)
Molecular evolutionary study of the ionotropic glutamate-receptor gene family as schizophrenia susceptibility genes: human-specific balancing selection in *GRIN2B* upstream region.
International Symposium on Biodiversity Sciences "Genome, Evolution and Environment", Nagoya.
14. S. Miura, H. Shibata, K. Noda, Y. Kaku, H. Kida, A. Iwaki, M. Ayabe, H. Aizawa, T. Taniwaki, Y. Fukumaki. (2010, 9/12-15)
A novel type of hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominancy in the lower extremities found in a Japanese descent.
135th Annual Meeting of American Neurological Association, San Francisco, CA, USA.
15. H. Furuya, H. Arahata, N. Fujii, S. Miura, H. Shibata, Y. Fukumaki. (2010, 9/12-15)

Haplotype analysis of fukutin (FKTN) gene in two very mild Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD).

135th Annual Meeting of American Neurological Association, San Francisco, CA, USA.

16. S. Miura, H. Shibata, H. Kida, K. Noda, A. Iwaki, M. Ayabe, H. Aizawa, T. Taniwaki, Y. Fukumaki. (2010, 11/2-6)

Partial *SPAST* and *DPY30* deletions in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia.

60th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Washington, DC, USA.

17. H. Shibata, M. Uchida, H. Goto, S. Mano, O. Takenaka, Y. Fukumaki. (2010, 11/2-6)

Resequencing of the catechol-O-methyltransferase gene, *COMT* revealed non-neutral processes associated with schizophrenia.

60th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Washington, DC, USA.

18. H. Furuya, T. Arahata, E. I. Araki, N. Fujii, Y. Fukumaki, T. Katagiri. . (2010, 11/2-6)

Clinical features and abnormal ALK2 activity in case of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) with an *ALK2* (G356D) mutation.

60th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Washington, DC, USA.