The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of 187 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) among 41 Candidate Genes for Ischemic Heart Disease in the Japanese Population
Author(s)	大西, 洋三
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41798
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【89】

氏　　名	大西洋三（おおにしようぞう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　15294　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	Identification of 187 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) among 41 Candidate Genes for Ischemic Heart Disease in the Japanese Population （虚血性心疾患に関与する41候補遺伝子の187単塩基多型の同定：日本人における検討）
論文審査委員	（主査） 教授　武田　裕 （副査） 教授　堀　正二　　教授　荻原　俊男

論文内容の要旨

【目的】

近年、疾患発症や薬物感受性に遺伝的背景が関与するという報告が多くなされている。虚血性心疾患は代表的な生活習慣病であるが、SNPを基盤とした遺伝的要因も直接的にあるいは生活習慣に対する感受性を介して発症や予後に強く影響することが凝固因子や葉酸代謝酵素の遺伝子解析から示唆されている。しかし、虚血性心疾患は多因子疾患であり、発症の基盤となるSNPも多数存在することが予想される。その解析は、虚血性心疾患の予防、治療にきわめて重要である。しかし、従来の報告のすべては既知の遺伝子における既知のSNPを用いた検討である。遺伝子の解析は未だその総数の1割にも達しておらず、従来の既知のSNPを用いた方法では虚血性心疾患に関連する遺伝子の同定は不可能である。そこで我々は、東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターとの共同研究により、全ゲノムにわたる虚血性心疾患関連遺伝子のスクリーニングを開始した。本研究の目的は、虚血性心疾患を対象とした、全ゲノムにわたるassociation studyを行う基盤となるSNPを同定し、密なSNP地図を作成することである。

【方法】

1．大阪地区の心臓救急病院24施設で組織する大阪急性冠症候群研究会（OACIS）に平成10年度に登録された急性心筋梗塞患者895例中188例よりgenomic DNAを抽出した。対象はgenomic DNAを抽出した患者のうち無作為に選出した48例である（96クロモソーム）。

2．対象のgenomic DNAを3人分ずつ（計6クロモソーム）等量を混合し16グループに分類した。

3．心筋梗塞の発症に関連すると考えられる候補遺伝子を選択し、そのエクソンとエクソンより1kb上流の5′フランク領域を解析できるようにPCRプライマーおよびシークエンスプライマーを作成した。

4．16グループのgenomic DNAをテンプレートとして各遺伝子領域についてダイレクトシークエンスを行った。

5．各グループは6クロモソームを有するため、シークエンスデータ上に遺伝子多型の存在部位ではその多型頻度に比例したシグナル強度を認めた。これにより、遺伝子多型の同定と、その大まかな多型頻度を算出できた。

【成績】

1．心筋梗塞の発症に関与すると考えられる41遺伝子についてSNPの検索を行った。

2．検索範囲は合計約120kbであり、その内訳は5′フランク領域25.8kb、エクソン領域56.8kb、イントロン領域35.4kb、3′フランク領域1.8kbであった。

3．200種類の遺伝子多型を同定した。そのうち187種類（93.5%）がSNPであった。SNPは641bpに1つの割合で同定できた。

4．SNPは55種類が5'フランク領域、7種類が5'非翻訳領域、52種類が翻訳領域、64種類がイントロン領域、8種類が3'非翻訳領域、1種類が3'フランク領域であった。

5．翻訳領域で同定した52種類のSNPのうち26種類はアミノ酸の変化を伴うSNPであった。

6．凝固因子coagulation factor V遺伝子では20kb離れたSNPにおいて有意に連鎖不平衡の状態を認めた。

7．白人（Caucasian）において血栓症と関連すると報告されている凝固因子coagulation factor Vの遺伝子多型Q506Rは認めなかった。逆に、白人ではほとんど報告のないthrombomodulinプロモーター領域の遺伝子多型－33A>Gの多型頻度は12%と高頻度であった。

【総括】

1．我々は、全ゲノム領域にわたる心筋梗塞関連遺伝子スクリーニングの準備として、日本人における遺伝子多型の特徴を検討し、約600塩基対に1つのSNPを同定した。

2．Coagulation factor VにおけるSNPの同定の結果、約20キロ塩基対の物理的距離が離れていても有意に2つの遺伝子多型は連鎖しており、15万SNP（30億塩基対／20キロ塩基対）の同定により全ゲノムにわたる連鎖不平衡を用いたassociation studyの施行が可能と考えられた。

3．SNPの存在部位および頻度は人種により差があり、本邦独自のSNP地図の作成が必要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

虚血性心疾患は生活習慣病と位置付けられているものの、その発症・進展に遺伝的要因が関与することは明かである。しかし、虚血性心疾患では複数の遺伝的要因が複雑に関与すると予測されているため、遺伝的要因を解明するためには全ゲノムにわたる広汎な解析が必要である。全ゲノムにわたる広汎な解析には、遺伝子マーカーとして膨大な数の遺伝子多型、特に単塩基多型を同定し用いる必要がある。そのためには事前に単塩基多型が、どのような場所に多く存在し、どのような特徴をもつかを把握する必要がある。しかし、単塩基多型の特徴を日本人において検討した報告はない。本研究は、日本人における単塩基多型の特徴を検証する目的で遂行された。体系的に120kb という広範囲なスクリーニングを行った結果、単塩基多型が平均640bpに1つの割合で存在すること、日本人では欧米で報告されている単塩基多型とは異なる単塩基多型を有することを明らかにしている。かかる成績は、本邦独自の単塩基多型地図が必要であることを示唆している。また、互いに20kb離れた単塩基多型においても連鎖不平衡が維持されていることを明らかにしている。すなわち、平均20kb毎、つまり15万単塩基多型を同定することにより連鎖不平衡の原理を用いた全ゲノムにわたる遺伝的要因の解析が可能であることを示唆している。本研究は、日本人において単塩基多型の特徴を明らかにした最初の報告であり、遺伝的要因の解析の基盤として不可欠である。本研究は今後の全ゲノムにわたる広汎な遺伝子解析に大きく貢献し、博士（医学）の学位授与に値するものと考える。