

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：82406

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22786

研究課題名（和文）分子遺伝疫学解析によるJR血液型の全容解明と痛風の個別化予防に関する研究

研究課題名（英文）Elucidation of the whole picture of JR blood type by molecular genetic epidemiological analysis and its application for personalized prevention of gout

研究代表者

松尾 洋孝（Matsuo, Hirotaka）

防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・分子生体制御学・准教授

研究者番号：00528292

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：世界最大規模となる2500例以上のJr(a-)型の対象者を収集でき、このうち約80%がABCG2遺伝子のQ126Xホモ変異であった。残りの約20%について次世代シーケンサーを使用したABCG2遺伝子の全エクソン配列の解析を行い、10個の変異を見出した。ABCG2タンパク質の抗原性への影響、すなわち細胞膜における発現も消失していることが想定されるため、検出されたABCG2の変異体について評価を行い、3つの変異体を除き膜発現の消失を確認した。同時に、多数例の症例対照研究を実施して、Jr(a-)型に想定される痛風・高尿酸血症のリスクについて解析を進めており、これらの結果を報告する論文を準備中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Jr(a-)型は日本で比較的多く認められる血液型であるが、これまでは大規模な解析があまりなく、正しく診断されていない集団があることが申請者らの予備的な解析から分かっていた。本研究で大規模疫学的解析を実施することで、世界に先駆けて国内外の臨床に役立つ領域横断的な知見を見出した（論文は投稿準備中）。本研究により、これまで疑陰性とされていたもののタイプも明らかになることで、血液型のより正しい診断に役立つことが期待できる。さらに、Jr(a-)型は痛風・高尿酸血症になりやすいことが予測されるが、そのリスク評価により、JR血液型別に、尿酸値や痛風に対するゲノム個別化予防に役立つ研究への発展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Through our research, we had collected more than 2,500 Jr(a-) individuals, and about 80% of which were found to be homozygous Q126X of ABCG2 gene. From the rest 20% population, we genotyped whole exons of ABCG2 gene and identified ten variants. Altered antigenicity, that is, vanished expression to the cell membrane was hypothesized from the evaluation of detected ABCG2 mutants, and we then confirmed the vanishment of membrane expression except for three mutants. At the same time we conducted case-control study with large population and evaluated the risk of gout and hyperuricemia in Jr(a-) population; the results are under manuscript preparation to be submitted.

研究分野：分子遺伝疫学

キーワード：ゲノム個別化予防・医療 血液型 トランスポーター 遺伝子変異 薬物動態 トランスレーショナルリサーチ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

2012年にJR血液型の責任遺伝子(責任抗原)が、ATP binding cassette, member G2(ABCG2/BCRP)であることが *Nature Genetics* 誌で報告されたが(Zelinski et al. *Nat Genet*, 2012, Saison et al. *Nat Genet*, 2012)、研究代表者らはそれに先立ち 2009年に ABCG2 が尿酸の高容量性排泄トランスポーターであり、痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子であることを報告していた(図1: Matsuo, Takada, Ichida et al, *Sci Transl Med*, 2009)。特に ABCG2 の common variant である Q126X (rs72552713) および Q141K (rs2231142)をタイピングすることで、痛風のリスク評価が可能であり、2013年より日本全国の医療機関でABCG2遺伝子検査のオーダーが可能となっている。これは診療機関からオーダーでできる common disease の SNP 検査としてはほぼ始めてであり世界的にも先駆的な例であることから、ゲノム個別化予防・医療に役立つ成果となった。このように、研究代表者らは、痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子 ABCG2 を世界に先駆けて同定しており(Matsuo, Takada et.al. *Sci Transl Med*, 2009)、その遺伝子解析と分子機能解析(図2)に精通しており、この領域において国内外の追随を許さない研究を進展させてきた(Ichida, Matsuo, Takada, et al, *Nat Commun*, 2013, Nakayama et al, *Ann Rheum Dis*, 2017 ほか)。



図1.痛風遺伝子発見に関する新聞記事

朝日、読賣、日経など主要紙の他、NHK ニュース番組などで報道された。発見当初より個人差に基づく予防を視野に研究を推進している。

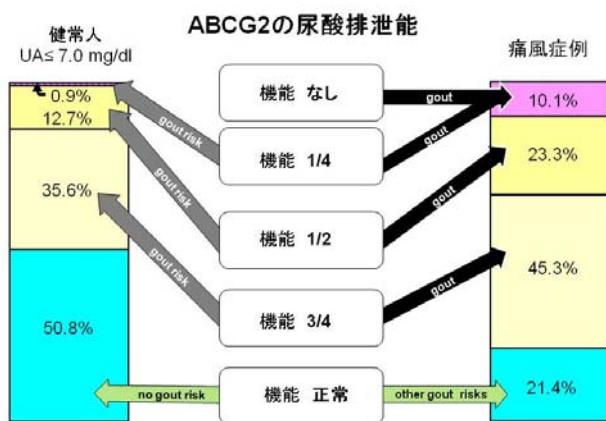


図2.痛風の主病因としての ABCG2 機能低下

しかし JR 血液型はその変異の全容は明らかでなく、また、研究代表者らのこれまでの知見からは JR 血液型の方においては、高尿酸血症や痛風のリスクが著しく高まることが想定されるが、そのエビデンスは未だ示されておらず、ゲノム個別化予防・医療の必要性が極めて高いにも関わらず臨床的にも対策が全くなされていないのが現状であった。

2. 研究の目的

本研究では、まず JR 血液型の大規模分子遺伝疫学的解析によりその遺伝子型タイプの全容を明らかにする。さらに、Jr(a-)型の血液型の対象者の痛風リスクについても、見出された遺伝子型について大規模な痛風症例群と尿酸正常の対照群を対象にあわせて解析する。これにより、JR 血

液型と common disease である痛風という一見関連のなさそうな2つの表現型を対象とした大規模分子疫学解析を実施して、その共通点を明らかにするとともに、その予防医学的な観点からのゲノム個別化医療への応用を目指した研究を実施する。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、研究代表者らが ABCG2 遺伝子解析を実施し、また分担研究者の高田らにより ABCG2 の分子機能解析及び培養細胞における細胞内局在解析を実施する。研究代表者は高田らとの共同研究により、ABCG2 の尿酸トランスポーターとしての生理学的機能のほか、痛風・高尿酸血症における分子病態生理学的意義の解明や神経疾患 (Matsuo et. al. *AnnClin Transl Neurol*, 2015) や消化器疾患 (Matsuo et. al. *Sci Rep*, 2016) との関連についても報告し、この分野において世界をリードする形で研究を推進してきており、この分野において世界の追従を許さない形で研究の体制が整っており、最先端の情報も常に入手できる体制にある。細胞株を用いた in vitro 実験を主体とするが、必要に応じて遺伝子改変マウスを用いた動物実験も実施できる体制にある (Ichida, Matsuo, Takada, et al, *Nat Commun*, 2013)。また、日本赤十字社 (以下、日赤) の研究者と共同研究を進めていることから、世界で最大規模の Jr(a-) 型の対象者が選別されている。これまでの解析では、約 80% が ABCG2 遺伝子の Q126X ホモ変異であることがわかっているが、残りの 20% には変異未同定のものを含めて、その全容は明らかではない。本研究では日赤との共同研究を効率的に実施して、変異未同定の Jr(a-) 型の対象者のゲノムについて、その ABCG2 の全エクソン配列の解析を徹底的に行い、Jr(a-) 型の原因となる ABCG2 遺伝子の変異の全容を明らかにする。Jr(a-) 型の原因となる ABCG2 遺伝子の変異はその輸送機能の消失だけでなく、細胞膜における発現も消失していることが想定されるため、検出された ABCG2 の変異体を培養細胞に強制発現させて、その細胞内の局在 (細胞膜発現の有無) についても評価する。さらに必要に応じて、マウスモノクローナル抗ヒト Jr^a (ABCG2) 抗体を用いた培養細胞の細胞膜での発現解析についてもフローサイトメーターを用いて実施することにより、血清学的手法である血球凝集法による結果と比較検討する。Jr(a-) 型に想定される痛風・高尿酸血症のリスクについては、多数例の case control study を実施して (それぞれ 2000 人以上) で解析する。さらに、ABCG2 は重要な薬物トランスポーターであることから、Jr(a-) 型の薬物動態は健常者と大きく異なっていることが想定される。そのため、Jr(a-) 型の変異による影響を上記の変異体導入細胞株などを用いて解析して、Pharmacogenetics の観点からの効果的な薬剤使用のための知見を得る。これらにより、Jr(a-) 型の方のゲノム個別化予防・医療に役立つ新しい研究を展開する。

4. 研究成果

申請者らが研究対象としてきた痛風患者集団のみならず、日赤の研究者とも共同研究を行うことで、世界最大規模の Jr(a-) 型の対象者を収集できている。この対象者において、約 80% が ABCG2 遺伝子の Q126X ホモ変異であることが見出された。残りの約 20% について次世代シーケンサーを使用した ABCG2 遺伝子の全エクソン配列の解析を行い、10 個の変異を見出した。ABCG2 タンパク質の抗原性への影響を確認するために、これらの変異が引き起こす現象についての解析を行った。Jr(a-) 型の原因となる ABCG2 遺伝子の変異は、その輸送機能の消失だけでなく、細胞膜における発現も消失していることが想定されるため、検出された ABCG2 の変異体を培養細胞に強制発現させて、その細胞内の局在 (細胞膜への発現の有無) について評価を行ったところ、3 個の変異体を除き膜発現の消失を確認した。同時に、多数例の症例対照研究を実施して、Jr(a-)

型に想定される痛風・高尿酸血症のリスクについて解析を進めており、この結果を合わせて現在投稿準備中である。

また、ABCG2は重要な薬物トランスポーターであることから、Jr(a-)型の薬物動態は健常者と大きく異なっていることが想定される。実際に、ABCG2 遺伝子変異は尿酸値の上昇のみならず、血液透析患者の全死因を上昇させるリスクであることも我々は見出しており (Nakashima A, et al. Hum Cell 2020)、この想定を示唆する所見の一つと考えられる。そのため、Jr(a-)型の変異による影響を上記の変異体導入細胞株などを用いて解析して、Pharmacogenetics の観点からの効果的な薬物使用のための知見を得た。これらにより、日本人に多いと予想される Jr(a-)型を持つ集団に対するゲノム個別化予防・医療に役立つ新しい研究を展開する。

本研究で大規模疫学的解析を実施することで、世界に先駆けて国内外の臨床に役立つ領域横断的な知見を見出した (論文は投稿準備中)。本研究により、これまで疑陰性とされていたもののタイプも明らかになることで、血液型のより正しい診断に役立つことが期待できる。さらに、Jr(a-)型は痛風・高尿酸血症になりやすいことが予測されるが、そのリスク評価により、JR 血液型別に、尿酸値や痛風に対するゲノム個別化予防に役立つ研究への発展が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakashima Akio, Ichida Kimiyoshi, Ohkido Ichiro, Yokoyama Keitaro, Matsuo Hiroataka, Ohashi Yuki, Takada Tappei, Nakayama Akiyoshi, Suzuki Hiroshi, Shinomiya Nariyoshi, Urashima Mitsuyoshi, Yokoo Takashi	4. 巻 33
2. 論文標題 Dysfunctional ABCG2 gene polymorphisms are associated with serum uric acid levels and all-cause mortality in hemodialysis patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Cell	6. 最初と最後の頁 559 ~ 568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13577-020-00342-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakayama Akiyoshi, Nakatochi Masahiro, Kawamura Yusuke, Yamamoto Ken, Nakaoka Hirofumi, et al.	4. 巻 79
2. 論文標題 Subtype-specific gout susceptibility loci and enrichment of selection pressure on ABCG2 and ALDH2 identified by subtype genome-wide meta-analyses of clinically defined gout patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 657 ~ 665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2019-216644	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kawamura Y, Nakayama A, Nakatochi M, Yamamoto K, Nakaoka H, Shimizu S, Maehara K, Kirihara M, Koyama T, Hishida A, Shimizu T, Ooyama H, Nagase M, Shirai Y, Toyoda Y, Takada T, Kamatani Y, Ichida K, Wakai K, Inoue I, Okada Y, Shinomiya N, Matsuo H.
2. 発表標題 Subtype Genome-Wide Meta-Analyses of Clinically-Defined Gout Revealed Multiple Subtype-Specific Gout Loci and Enrichment of Selection Pressure on ABCG2 and ALDH2
3. 学会等名 22nd Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2020) Virtual Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山昌喜, 中枋昌弘, 河村優輔, 山本健, 中岡博史, 清水聖子, 小山晃英, 栗木清典, 大山博司, 島ノ江千里, 釜野桜子, 前原一輝, 桐原真奈, 嶽崎俊郎, 松尾恵太郎, 鈴木貞夫, 若井建志, 岡田随象, 四ノ宮成祥, 松尾洋孝
2. 発表標題 病型特異的な痛風関連遺伝子と適応進化の評価: 臨床診断された痛風症例のゲノムワイド関連解析から
3. 学会等名 第31回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山昌喜, 中枋昌弘, 河村優輔, 清水聖子, 清水徹, 大山恵子, 大山博司, 長瀬満夫, 日高雄二, 川口真, 高田龍平, 細谷龍男, 市田公美, 四ノ宮成祥, 松尾洋孝
2. 発表標題 ゲノムワイド関連解析による病型特異的な痛風関連遺伝子の同定と日本人の適応進化
3. 学会等名 第54回日本痛風・尿酸核酸学会総会,
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsuo H, Nakatochi M, Kanai M, Nakayama A, Hishida A, Kawamura Y, Nakajima M, Kamatani Y, Shinomiya N, Yokota M, Wakai K, Okada Y.
2. 発表標題 Genome-wide meta-analysis revealed multiple novel loci associated with serum uric acid levels in Japanese.
3. 学会等名 European Congress of Rheumatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

防衛医科大学校分子生体制御学講座ホームページ http://ndmc-ipb.browse.jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高田 龍平 (Takada Tappei) (90376468)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------