

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390209

研究課題名（和文） 地域住民を対象とした生活習慣病の個別化予防アルゴリズムの
検証的疫学研究研究課題名（英文） Prediction of the genetic risk associated with lifestyle-related
diseases in a population based cohort study

研究代表者

横田 充弘（YOKOTA MITSUHIRO）

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：50201851

研究成果の概要（和文）：

本研究は、①質的にも量的にも優れた大規模集団を対象として可及的多数の候補遺伝子を選択し、症例－対照関連解析により、心筋梗塞症（MI）をはじめとする冠動脈疾患（CAD）、高血圧症等の感受性遺伝子を包括的に同定すること、②遺伝因子－環境因子相互関係の解明、③地域住民を対象とした前向きコホート研究により開発された遺伝子リスク診断アルゴリズムの妥当性を検証すること、を研究戦略として進められている。

研究成果の概要（英文）：

The discovery of genetic risk factors for many common diseases in the past couple of years has been enormously exciting. But we are still in the early stages of this revolution. We know, from studies of families and identical twins, that most diseases like diabetes are highly heritable, with, on average, about 50 percent of the risk attributable to genetics. Yet our genetic analysis has so far discovered less than 10 percent of that hereditary component.

Therefore, the identification of new genomic variations that are associated with common diseases including coronary artery diseases (CADs), type 2 diabetes mellitus, and hypertension have to be made future efforts.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2010年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2011年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	13,200,000	3,960,000	17,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：前向きコホート、地域住民、遺伝子、生活習慣病、ゲノム疫学

1. 研究開始当初の背景

21世紀の医療において、疾病の早期診断（早期発見）と早期治療を目指す早期医療と、

個人個人の遺伝情報に基づいて疾病の発症予防と治療を目指す個別化医療あるいはテーラーメイド医療が中核をなすと考えられ

ている。中でも遺伝情報に基づく個別化予防は、健康寿命の延長、医療費抑制の切り札となることが期待されている。21世紀型個別化予防の実現のためには、疾病の発症に寄与する遺伝子(感受性遺伝子)を探索し、同定することが極めて重要である。

研究代表者らによる「候補遺伝子多型解析によるMIのリスク予測」に関する研究論文が *New Engl J Med* (347: 1916, 2002)にオリジナル論文として掲載された。この論文は2000~2004年の引用件数において、この分野のTop 1%に選ばれている(Thomson, 2005)。さらに、我々の研究は *Circulation*等の国際誌に多数掲載されている。研究の獨創性・新規性が国際的に認められた結果と言える。疾患感受性遺伝子を同定するアプローチは候補遺伝子関連解析、ゲノムワイド連鎖解析及び関連解析など種々あるが、いずれの方法にも長所・短所がある。多面的アプローチが必要と考える。

2. 研究の目的

MI、CADや2型糖尿病(DM)、肥満などの生活習慣病は、遺伝因子と環境因子の相互作用によって発症する多因子疾患である。従来の家族研究や一卵性双生児研究から、ほとんどの生活習慣病が遺伝しやすいこと、平均するとリスクの約50%は遺伝因子によると認識されてきた。しかし、現在までに報告されたリスク遺伝子解析から説明できる遺伝因子は未だ10%未満であろうと考えられている。

従って、生活習慣病の感受性遺伝子を同定するには多面的アプローチが必要である。

本研究では、①MI・CAD罹患同胞対を対象としたゲノムワイド罹患同胞対連鎖解析により、MI責任遺伝子座を同定し、②その領域内に存在する遺伝子(多型)について症例-対照関連解析を実施し、MI感受性遺伝子を同定すること。③症例-対照関連解析の結果から得られたMI感受性遺伝子多型を他の大規模症例-対照集団で、有用性を確認する。

3. 研究の方法

MI・CAD罹患同胞対(227対、457例)を対象として、405個のマイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイド連鎖解析(GWLS)を実施し、5染色体の6領域に候補連鎖領域を得た。領域以外の5領域は、他の論文で報告されていない。さらに、この内の3領域(LOD>2.2)に20マーカーを追加、設定し、連鎖領域の確認と狭小化を実施した。なお、この解析で得られたmax. peak LOD score=2.9である。2番染色体候補連鎖領域に約3,000SNPs(一塩基多型)を設定し、高密度SNPタイピングをMI症例、対照各約500例で実

施し候補感受性遺伝子ALMS1を特定した($p < 0.000001$)。さらに、大規模関連解析を実施している。

4. 研究成果

図1. 罹患同胞対連鎖解析による冠動脈疾患のリスク遺伝子探索(1)

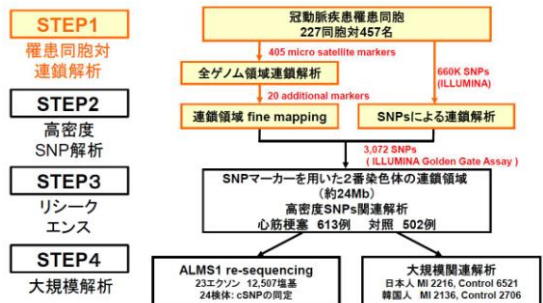


図2. MSマーカー・SNPマーカーを用いた連鎖解析

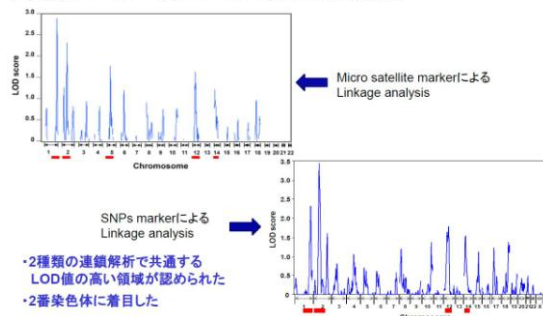


図3. 罹患同胞対連鎖解析による冠動脈疾患のリスク遺伝子探索(2)

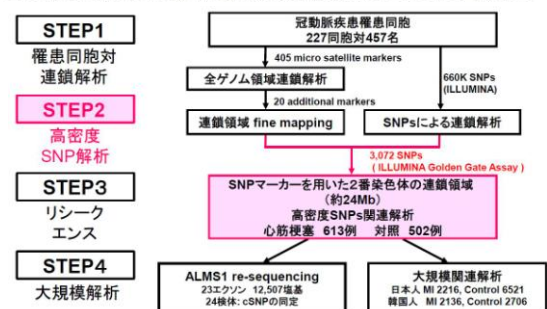


図4. 候補領域の関連解析及びハプロタイプ解析

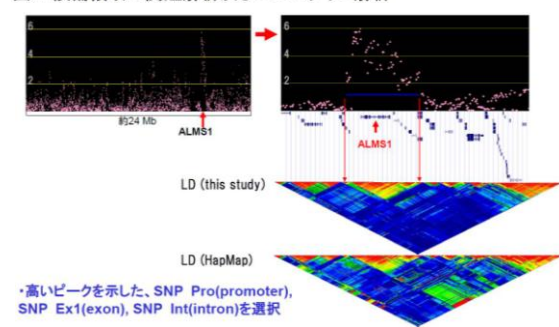


図5. 罹患同胞対連鎖解析による冠動脈疾患のリスク遺伝子探索 (3)

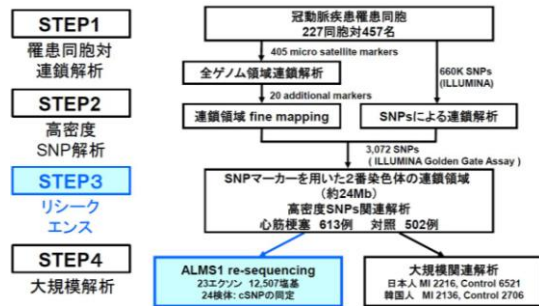


図6. ALMS1遺伝子のre-sequencing

シーケンス対象

- 1) 検体: 24検体 (SNP Pro リスクアレルホモ接合 6検体、ヘテロ接合 10検体を含む)
- 2) ALMS1遺伝子中の23エクソン 12,507塩基

結果

- ・SNP Ex1に加えて、SNP Ex2, SNP Ex3, SNP Ex4の4種のcSNPが同定された (3 SNPがnon-synonymous SNP)
- ・SNP Proは4種のcSNPと強い連鎖不平衡にあった。(r² ≥ 0.8)
- ・SNP Proは6種類のSNPの中で、心筋梗塞と最も強い関連を示した。

ID	function
SNP Pro	promoter
SNP Ex2	cSNP exon 8
SNP Ex3	cSNP exon 8
SNP Ex1	cSNP exon 10
SNP Ex4	cSNP exon 19
SNP Int	intron

赤字: 高密度SNP解析で高い関連を示したSNPs
青字: re-sequencingで認められたcSNPs

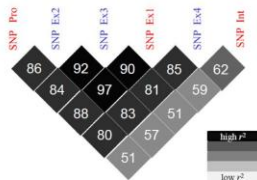
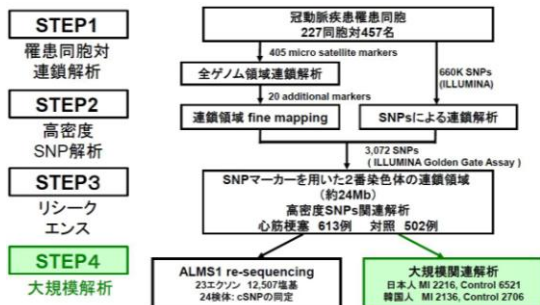


図7. 罹患同胞対連鎖解析による冠動脈疾患のリスク遺伝子探索 (4)



- (1) 日本人における心筋梗塞罹患同胞対連鎖解析を行い、複数の染色体領域において、疾患と連鎖が示唆される領域を確認した。
- (2) 3つのサブグループに分けて解析を行い、すべてのサブグループで高いLOD値が得られた領域と、心筋梗塞を含むサブグループでのみ高いLOD値が得られた領域が認められ、疾患感受性遺伝子の分子機序によりこのような乖離が見られた可能性が考えられた。
- (3) ALMS1遺伝子のプロモータ領域にある多型が、心筋梗塞感受性遺伝子多型である可能性が高い。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計20件)

- ① Huaixing Li, Mitsuhiro Yokota, et al. (他63名、61番目) Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia* 2012;55:981-995 査読有, DOI:10.1007/s00125-011-2370-7
- ② Yoon Shin Cho, Mitsuhiro Yokota, et al. (他66名、36番目) Meta-analysis of genome-wide association studies identifies 8 new loci for type 2 diabetes in East Asians. *Nat Genet* 2012;44(1):67-72 査読有, DOI: 10.1038/ng.1019
- ③ Wanqing Wen, Mitsuhiro Yokota, et al. (他58名、53番目) Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians. *Nat Genet* 2012;44(4):307-312 査読有, DOI:10.1038/ng.1087
- ④ Fumihiko Takeuchi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他23名、3番目) Genome-wide association study of coronary artery disease in the Japanese. *Eur J Hum Genet* 2012;20:333-340 査読有, DOI:10.1038/ejhg.2011.184
- ⑤ Masahiro Nakatochi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他10名、12番目) The ratio of adiponectin to homeostasis model assessment of insulin resistance is a powerful index of each component of metabolic syndrome in an aged Japanese population: results from the KING Study. *Diabetes Res Clin Pr* 2011;92:e61-e65 査読有, DOI:10.1016/j.diabetes.2011.02.029
- ⑥ Daisuke Tanimura, Mitsuhiro Yokota, et al. (他13名、15番目) Relation of a common variant of the adiponectin gene to serum adiponectin concentration and metabolic traits in an aged Japanese population. *Eur J Hum Genet* 2011;19(3):262-269 査読有, DOI:10.1038/ejhg.2010.201
- ⑦ Norihiro Kato, Mitsuhiro Yokota, et al. (他47名、12番目) Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet* 2011;43(6):531-538 査読有, DOI:10.1038/ng.834
- ⑧ Yosuke Kato, Mitsuhiro Yokota, et al. (他7名、9番目) Beneficial effects of growth hormone-releasing peptide on myocardial oxidative stress and left

- ventricular dysfunction in dilated cardiomyopathic hamsters. *Circ J* 2010; 74(1):163-170 査読有,
DOI:10.1253/circj.CJ-09-0378
- ⑨ Mikito Takefuji, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 16 名、17 番目) Mutation of ARHGAP9 in patients with coronary spastic angina. *J Hum Genet* 2010;55(1): 42-49 査読有,
DOI:10.1038/jhg.2009.120
- ⑩ Hiroyuki Asano, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 10 名、12 番目) Plasma resistin concentration determined by common variants in the resistin gene and associated with metabolic traits in an aged Japanese population. *Diabetologia* 2010;53(2):234-246 査読有,
DOI:10.1007/s00125-009-1517-2
- ⑪ Fumihiko Takeuchi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 14 名、5 番目) Blood pressure and hypertension are associated with 7 Loci in the Japanese population. *Circulation* 2010;121:2302-2309 査読有,
DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.904664
- ⑫ Hisashi Umeda, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 8 名、9 番目) Frequency, Predictors and Outcome of Stent Fracture After Sirolimus-Eluting Stent Implantation. *Int J Cardiol* 2009;133(3):321-326 査読有,
DOI:org/10.1016/j.ijcard.2007.12.067
- ⑬ Hisashi Umeda, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 7 名、8 番目) Safety and efficacy of 2.5-mm sirolimus-eluting stent implantation at lower deployment pressure in very small vessels (<2.5mm). *Coron Artery Dis* 2009;20(2):163-168 査読有,
DOI:10.1097/MCA.0b013e328329dc20
- ⑭ Masaaki Miyachi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 12 名、11 番目) Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertension* 2009;53:701-707 査読有,
DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.127290
- ⑮ Keiko Hayashi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 9 名、10 番目) Xanthine oxidase inhibition improves left ventricular dysfunction in dilated cardiomyopathic hamsters. *J Card Fail* 2009;14(3):238-244 査読有,
DOI:10.1016/j.cardfail.2007.11.001
- ⑯ Kazumasa Unno, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 12 名、13 番目) Relation of functional and morphological changes in mitochondria to myocardial contractile and relaxation reserves in asymptomatic to mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2009;30(15):1853-1862 査読有,
DOI:10.1093/eurheartj/ehp184
- ⑰ Xian Wu Cheng, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 12 名、13 番目) Mechanism of diastolic stiffening of the failing myocardium and its prevention by angiotensin receptor and calcium channel blockers. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54(1):47-56 査読有,
DOI:10.1097/FJC.0b013e3181ab371d
- ⑱ Ken Harada, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 10 名、11 番目) Beneficial effects of torasemide on systolic wall stress and sympathetic nervous activity in asymptomatic or mildly symptomatic patients with heart failure: Comparison with azosemide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;53:468-473 査読有,
DOI:10.1097/FJC.0b013e3181a717f7
- ⑲ Takashi Yamada, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 10 名、12 番目) Long-term administration of nifedipine attenuates cardiac remodeling and diastolic heart failure in hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2009;615:163-170 査読有,
DOI:10.1016/j.ejphar.2009.05.028
- ⑳ Ricardo Gelpi, Mitsuhiro Yokota, et al. (他 11 名、10 番目) Genetic inhibition of calcineurin induces diastolic dysfunction in mice with chronic pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(5):1814-1819 査読有,
DOI:10.1152/ajpheart.00449.2009

[学会発表] (計 1 件)

- ① Mitsuhiro Yokota
The ratio of serum adiponectin level to homeostasis model assessment of insulin resistance is a powerful index of metabolic syndrome in an aged Japanese population: results from the KING Study international academy of cardiology 15th world congress on heart disease. 2010 年 7 月 26 日
VANCOUVER, BC, CANADA

[産業財産権]

- 出願状況 (計 9 件)

- ①名称：心筋梗塞のリスク検査法
発明者：横田充弘
権利者：同上
種類：特許
番号：PCT/JP2011/076738
出願年月日：23年11月19日
国内外の別：国外
- ②名称：メタボリック症候群又はその構成疾患の評価
発明者：横田充弘、谷村大輔
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：特願 2011-503572
出願年月日：23年5月30日
国内外の別：国内
- ③名称：メタボリック症候群又は心血管疾患のリスク検査法及びリスク検査用キット
発明者：横田充弘、谷村大輔
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：特願 2010-525575
出願年月日：22年12月10日
国内外の別：国内
- ④名称：心筋梗塞のリスク検査法
発明者：横田充弘
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2010-259925
出願年月日：22年11月22日
国内外の別：国内
- ⑤名称：心筋梗塞のリスク検査法
発明者：横田充弘、浅野展行
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：特願 2010-521603
出願年月日：22年11月22日
国内外の別：国内
- ⑥名称：心筋梗塞のリスク診断方法
発明者：山田芳司、横田充弘
権利者：財)名古屋産業科学研究所
種類：特許
番号：欧州分割出願 10004882.6
出願年月日：22年5月7日
国内外の別：国外
- ⑦名称：メタボリック症候群又はその構成疾患の評価
発明者：横田充弘、谷村大輔
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：PCT/JP2009/005508

出願年月日：21年10月21日
国内外の別：国外

- ⑧名称：メタボリック症候群又は心血管疾患のリスク検査法及びリスク検査用キット
発明者：横田充弘、谷村大輔
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：PCT/JP2009/003609
出願年月日：21年7月30日
国内外の別：国外
- ⑨名称：心筋梗塞のリスク検査法
発明者：横田充弘、浅野展行
権利者：横田充弘
種類：特許
番号：PCT/JP2009/003445
出願年月日：21年7月22日
国内外の別：国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横田 充弘 (YOKOTA MITSUHIRO)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：50201851

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

松原 達昭 (MATSUBARA TATSUAKI)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：30209598
成瀬 桂子 (NARUSE KEIKO)
愛知学院大学・歯学部・准教授
研究者番号：30387576
平敷 安希博 (HIRASHIKI AKIHIRO)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10418741
野田 明子 (NODA AKIKO)
中部大学・生命健康科学部・教授
研究者番号：80252287
井澤 英夫 (IZAWA HIDEO)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号：80402569