

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293144

研究課題名(和文) 地域住民を対象としたエピゲノム疫学研究基盤の構築

研究課題名(英文) Construction of an epigenetic epidemiology database for a population cohort

## 研究代表者

松原 達昭 (MATSUBARA, Tatsuaki)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：30209598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：わが国の健康増進対策として、循環器疾患、糖尿病といった生活習慣病の発症予防と重症化予防の徹底が重視されている。その遂行には、疫学基盤の構築が必須となるが、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と考えられる生活習慣病については、ゲノム/エピゲノム疫学研究の推進が肝要である。本研究において、エピゲノムワイド関連研究と一塩基多型の統合解析による血漿レジスチン濃度調節機構、新規の高血圧関連遺伝子座の同定とDNAメチル化の役割、等が判明した。今後も、われわれのコホートにおける基本健診を含む診療情報、遺伝子情報等を集積し、質の高いエピゲノム疫学研究基盤の構築を図る予定である。

研究成果の概要(英文)：Recently, basic goals for implementation of National Health Promotion have been announced. Matters of significance included prevention of onset and progression of life-style related diseases. These show multifactorial inheritance patterns, due to complex interactions among genetic and environmental factors. In order to contribute to investigation of such complex disorders in genetic/epigenetic epidemiology, we have performed genome- and epigenome-wide association studies (GWAS and EWAS).

For example, we have measured genome-wide DNA methylation levels and performed an EWAS for plasma resistin levels in a Japanese cohort. We carried out an international collaborative investigation, suggesting that DNA methylation may be involved in regulatory pathways linking common genetic variants with blood pressure.

Based on such knowledge, we intend to construct an epigenetic epidemiologic database with disease-susceptibility gene mapping and functional genomics to help control life-style related diseases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：エピゲノム疫学 ゲノム疫学 地域住民コホート 生活習慣病 糖尿病 高血圧 心筋梗塞 遺伝子解析

### 1. 研究開始当初の背景

わが国の新たな健康増進対策として、平成24年7月、21世紀における第2次国民健康づくり運動(健康日本21(第二次))が策定された。その期間は平成25~34年度であり、生活習慣病の予防やこころの健康など5分野53項目の目標が設定され、健康寿命の延伸と健康格差の縮小などが盛り込まれた。基本的な方向として、生活習慣病の発症予防と重症化予防の徹底(ここでは、がん、循環器疾患、糖尿病、慢性閉塞性肺疾患の4疾病が取り上げられている)が重視されている。

循環器疾患、糖尿病といった生活習慣病は、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と考えられている。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くリスクの約半数は遺伝因子によることが明らかにされ、遺伝子配列の違いがわかれば、個別化医療が可能になると理解されてきた。しかし、遺伝子は、環境曝露による後天的ゲノム修飾を受けて、その発現や機能が決定されることが判明しつつあり、ゲノムの後天的修飾を含めたきわめて複雑な統合的解析が生活習慣病の疫学的研究に求められることとなってきた。すなわち、循環器疾患、糖尿病といった生活習慣病のゲノム/エピゲノム疫学研究の推進は、国の方針にも合致し時宜にかなったものと考えられる。

### 2. 研究の目的

近年、ゲノムワイド関連解析(GWAS)により多くの疾患感受性遺伝子が報告され、遺伝因子の機能的意義の解明が期待されている。しかし、GWASで得られる複数の遺伝素因を用いた発症予測を試みても、生活習慣病の遺伝的背景のうち、10%前後しか説明できないと言われている。すなわち、生活習慣病の発症には環境因子も重要であり、塩基配列の変化によらないエピゲノム制御が注目されている。

本研究の目的は、後天的ゲノム修飾が生活習慣病の発症に如何なる影響を与えるかについて、主にゲノムDNAメチル化を解析し、地域住民を対象としたエピゲノム疫学の基盤を構築することにある。

### 3. 研究の方法

われわれは、縦断研究コホートとして、健康管理体制の確立した企業従業員コホート(男性3,486名、年齢35~63歳)および、名古屋市住民コホート(男性1,712名、女性2,236名、年齢50~75歳)を構築した。これら対象者の定期的に行われている基本健診(腹囲を含む身体測定、血圧、尿検査、血液生化学検査、心電図、胸部X線等)の結果、GWASで得られた一塩基多型(SNP)情報に加えて、HumanMethylation450を用いたパイロシーケンス法ゲノムワイド網羅的DNAメチル化解析(エピゲノムワイド関連解析

(EWAS))を実施し、これらの成績を統合的に解析した。

### 4. 研究成果

(1)レジスチンはヒトでは単球/マクロファージにおいて発現し、インスリン抵抗性を惹起すると考えられているサイトカインであり、また、糖尿病患者の血管障害との関連も指摘されている。しかし、レジスチンの血中濃度の調節機構および遺伝子発現についての詳細は明らかにされてはいない。そこで、血漿レジスチン濃度に対するエピゲノム制御を検討するために、名古屋市住民コホートのうち191名の男性非糖尿病患者に対して、Illumina Infinium HumanMethylation450アレイを用いてDNAメチル化状態を観察した。関連が検出されたメチル化サイトについて、レジスチンをコードする*RETN*遺伝子の発現量、*RETN*遺伝子のプロモーターSNPとの関連を評価した。その結果、*RETN*遺伝子のプロモーターに位置するDNAメチル化サイトcg02346997がゲノムワイド有意水準に達し、単球における*RETN*遺伝子と負の関係を示した。また、*RETN*遺伝子のプロモーターSNP rs3219175のマイナーアレルと負の相関を呈した。本研究において、エピゲノム情報、SNP情報などを統合的に解析した結果から、*RETN*プロモーターSNPは、近傍のメチル化サイトにおけるDNAメチル化レベルを介して単球における発現量に影響を及ぼし、血中レジスチン濃度を調節している可能性が示唆された。

(2)心筋梗塞等の冠動脈疾患発症には脂質異常症、糖尿病、高血圧等いくつかの危険因子が指摘されているが、家族歴も重要な因子である。そこで、心筋梗塞の遺伝要因を解明するために、われわれのコホートも含めた国際共同研究が実施された。まず、国内の221家系における、心筋梗塞を含む冠動脈疾患の罹患同胞対についてSNPデータを収集し、GWASによって2p13を見出した。ついで、心筋梗塞罹患同胞対発端者と対照群のSNPデータを用いたロジスティック回帰解析により、*ALMS1*プロモーター領域が心筋梗塞と有意に関連することが明らかとなり、さらに、日本人および韓国人において、*ALMS1*プロモーター領域のSNPが若年発症心筋梗塞と関連することが示された。また、*ALMS1*遺伝子をシークエンスシエクソン1内のグルタミン酸リピード多型が見出され、若年発症心筋梗塞と関連することが確認された。

(3)高血圧は心血管疾患の危険因子であり、本邦における疫学研究結果をもとに検討された全死亡原因でも、高血圧は喫煙に次いで重要な因子であると報告された。従来より高血圧の発症に遺伝が関与していることは認識されており、高血圧の遺伝的機序を探索することは喫煙の課題であると考えられる。今回、国際共同研究として、約32万人を対象

に、人類横断的 GWAS による、新規の高血圧関連遺伝子座について検討した。本研究により、新たに 12 の高血圧/血圧関連遺伝子座が同定され、責任遺伝子の推定を試みたところ、血管平滑筋機能および腎機能に関わる遺伝子群が関与していることが示唆された。さらに、その機序として、DNA メチル化の役割が大きいことが示された。

(4) 上記の成果も踏まえて、今後も、われわれのコホートにおける基本健診を含む診療情報、GWAS/EWAS を駆使した遺伝子情報等を集積し、さらに質の高いエピゲノム疫学研究基盤の構築を図る予定である。

#### 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 61 件)

Wen W, Yamamoto K(56 番目), Yokota M (他 74 名、59 番目), et al : Genome-wide association studies in East Asians identify new loci for waist-hip ratio and waist circumference. *Scientific Reports* 6:17958, 2016. 査読有  
DOI: 10.1038/srep17958.

Nakatochi M, Ichihara S (2 番目), Yamamoto K(3 番目), Naruse K(8 番目), Matsubara T (11 番目), Yokota M (他 6 名、12 番目), et al : Epigenome-wide association study suggests that SNPs in the promotor region of *RETN* influence plasma resistin level via effects on DNA methylation at neighbouring sites. *Diabetologia* 58:2781-2790, 2015. 査読有  
DOI: 10.1007/s00125-015-3763-9.

Kato N, Yamamoto K (63 番目), Ichihara S (101 番目), Matsubara T (118 番目), Yokota M (他 240 名、228 番目), et al : Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nature Genetics* 47:1282-1293, 2015. 査読有  
DOI: 10.1038/ng.3405.

Hata M, Matsubara T (12 番目), Naruse K (他 10 名、13 番目), et al : Transplantation of cultured dental pulp stem cells into the skeletal muscles ameliorated diabetic polyneuropathy: therapeutic plausibility of freshly isolated and cryopreserved dental pulp stem cells. *Stem Cell Research and Therapy* 6:162, 2015. 査読有  
DOI: 10.1186/s13287-015-0156-4.

Tsuda T, Matsubara T (他 9 名、10 番目),

et al : Assessment of in-stent restenosis using high-definition computed tomography with a new gemstone detector. *Circulation Journal* 79:1542-1548, 2015. 査読有  
DOI: 10.1253/circj.CJ-14-1344.

He M, Yamamoto K (68 番目), Yokota M (他 89 名、71 番目), et al : Meta-analysis of genome-wide association studies of adult height in East Asians identifies 17 novel loci. *Human Molecular Genetics* 24:1791-1800, 2015. 査読有  
DOI: 10.1093/hmg/ddu583.

Saw W-Y, Yamamoto K (10 番目), Yokota M (他 11 名、11 番目), et al : Mapping the genetic diversity of HLA haplotypes in the Japanese populations. *Scientific Reports* 5:17855, 2015. 査読有  
DOI: 10.1038/srep17855.

Takeuchi F, Yamamoto K (3 番目), Yokota M (他 9 名、4 番目), et al : Heterogeneous effects of association between blood pressure loci and coronary artery disease in east Asian individuals. *Circulation Journal* 79:830-838, 2015. 査読有  
DOI: 10.1253/circj.CJ-14-0841.

Harada K, Matsubara T (他 13 名、13 番目), et al : The different association of epicardial fat with coronary plaque in patients with acute coronary syndrome and patients with stable angina pectoris: Analysis using integrated backscatter intravascular ultrasound. *Atherosclerosis* 236:301-306, 2014. 査読有  
DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.007.

Ito Y, Matsubara T (他 11 名、12 番目), et al : Long-term effects of spironolactone in peritoneal dialysis patients. *Journal of American Society of Nephrology* 25: 1094-1102, 2014. 査読有  
DOI: 10.1681/ASN.2013030273.

Miyajima S, Naruse K (2 番目), Matsubara T (他 10 名、13 番目), et al : Periodontitis-activated monocytes/macrophages cause aortic inflammation. *Scientific Reports* 4:5171, 2014. 査読有  
DOI: 10.1038/srep05171.

Kumagai S, Matsubara T (他 8 名、11 番目), et al : Impact of chronic obstructive pulmonary disease on composition of left main coronary artery plaque with intermediate stenosis. *International Journal of*

Cardiology 174:865-866, 2014. 査読有  
DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.04.223.  
Harada K, Matsubara T (他 13 名、14 番目), et al: Impact of abdominal and epicardial fat on the association between plasma adipocytokine levels and coronary atherosclerosis in non-obese patients. *Atherosclerosis* 237:671-676, 2014. 査読有  
DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.014.

Wu Y, Yamamoto K (37 番目), Yokota M (他 49 名、47 番目), et al: A meta-analysis of genome-wide association studies for adiponectin levels in East Asians identifies a novel locus near *WDR11-FGFR2*. *Human Molecular Genetics* 23:1108-1119, 2014. 査読有  
DOI: 10.1093/hmg/ddt488.

Mahajan A, Yamamoto K (306 番目), Yokota M (他 330 名、310 番目), et al: Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. *Nature Genetics* 46:234-244, 2014. 査読有  
DOI: 10.1038/ng.2897.

Hata M, Naruse K (2 番目), Matsubara T (他 9 名、12 番目), et al: Mechanical stretch increases the proliferation while inhibiting the osteogenic differentiation in dental pulp stem cells. *Tissue Engineering: Part A* 19: 625-633, 2013. 査読有  
DOI: 10.1089/ten.tea.2012.0099.

Lee JY, Yokota M (27 番目), Matsubara T (30 番目), Yamamoto K (他 35 名、32 番目), et al: A genome-wide association study of a coronary artery disease risk variant. *Journal of Human Genetics* 58:120-126, 2013. 査読有  
DOI: 10.1038/jhg.2012.

Sato B, Matsubara T (他 14 名、15 番目), et al: Indoxyl sulfate, a uremic toxin, and carotid intima-media thickness in patients with coronary artery disease. *International Journal of Cardiology* 163:214-216, 2013. 査読有  
DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.06.094.

Suzuki S, Matsubara T (他 8 名、9 番目), et al: Impact of the circadian rhythm on microvascular function in patients with ST-elevation myocardial infarction. *International Journal of Cardiology* 168: 4948-4949, 2013. 査読有  
DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.07.106.

Kamoi D, Matsubara T (他 11 名、12 番

目), et al: Sirolimus- vs. paclitaxel-eluting stent to coronary intervention in dialysis patients. *International Journal of Cardiology* 165:533-536, 2013. 査読有  
DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.09.078.

⑳ Inoue Y, Matsubara T (他 12 名、9 番目), et al: Post-stress perfusion abnormalities detected on myocardial perfusion single-photon emission computed tomography predict long-term mortality after elective abnormal aortic aneurysm repair. *Circulation Journal* 77: 1229-1234, 2013. 査読有  
DOI:http://doi.org/10.1253/circj.CJ-13-0017

㉑ Suzuki S, Matsubara T (他 11 名、12 番目), et al: Long-term outcome of drug-eluting vs. bare-metal stents in patients with acute myocardial infarction subgroup analysis of the Nagoya Acute Myocardial Infarction Study (NAMIS). *Circulation Journal* 77: 2024-2031, 2013. 査読有  
DOI:http://doi.org/10.1253/circj.CJ-13-0017

㉒ Ishii H, Matsubara T (他 7 名、8 番目), et al: Serum albumin and C-reactive protein levels predict clinical outcome in hemodialysis patients undergoing endovascular therapy for peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 227: 130-134, 2013. 査読有  
DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2012.11.034

㉓ Ando H, Matsubara T (他 17 名、14 番目), et al: Differences in tissue characterization of restenotic neointima between sirolimus-eluting stent and bare-metal stent: integrated backscatter intravascular ultrasound analysis for in-stent restenosis. *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging* 14:996-1001, 2013. 査読有  
DOI: 10.1093/ehjci/jet003.

㉔ Sato B, Matsubara T (他 12 名、12 番目), et al: Relation of plasma indoxyl sulfate levels and estimated glomerular filtration rate to left ventricular diastolic function. *American Journal of Cardiology* 111: 712-716, 2013. 査読有  
DOI: 10.1016/j.amjcard.2012.11.025.

㉕ Ichihara S (1 番目), Yamamoto K (2 番目), Ichihara G (6 番目), Matsubara T (23 番目), Yokota M (他 25 名、30 番目), et al: Identification of a

glutamic acid repeat polymorphism of ALMS1 as a novel genetic risk marker for early-onset myocardial infarction by genome-wide linkage analysis. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 6: 569-578, 2013. 査読有  
DOI:10.1161/CIRCGENETICS.111.000027.

研究者番号：20378326

市原 学 (ICHIHARA, Gaku)  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号：90252238

〔学会発表〕(計 82 件)

中枋昌弘, 市原佐保子 (2 番目), 山本健 (3 番目), 成瀬桂子 (8 番目), 松原達昭 (11 番目), 横田充弘 (他 6 名、12 番目) 他: エピゲノムワイド関連研究と一塩基多型 (SNP) の統合解析による血漿レジスチン濃度調節機構の解明. 第 26 回日本疫学会学術総会, 米子コンベンションセンター (鳥取県米子市末広町), 2016.1.22.

Ichihara S (1 番目), Matsubara T (3 番目), Yamamoto K (4 番目), Yokota M (他 1 名、5 番目) et al: M1118-genome-wide DNA methylation of myocardial infarction. American Heart Association, Scientific Sessions 2015, Orlando(USA), 2015.11.9.

Nakatochi M, Ichihara S (2 番目), Yamamoto K (3 番目), Naruse K (8 番目), Matsubara T (11 番目), Yokota M (他 6 名、12 番目) et al: Epigenome-wide association study suggests that SNPs in the promotor region of *RETN* influence plasma resistin level via effects on DNA methylation at neighboring sites. American Society of Human Genetics Annual Meeting 2015, Baltimore(USA), 2015.10.9.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 達昭 (MATSUBARA, Tatsuaki)  
愛知学院大学・歯学部・教授  
研究者番号：30209598

(2) 研究分担者

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

成瀬 桂子 (NARUSE, Keiko)  
愛知学院大学・歯学部・准教授  
研究者番号：30387576

(3) 連携研究者

山本 健 (YAMAMOTO, Ken)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：60274528

市原 佐保子 (ICHIHARA, Sahoko)  
三重大学・地域イノベーション学研究科・准教授