

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460741

研究課題名(和文) パーソナルゲノムを用いたメタボリック症候群・動脈硬化の個別化予防に関する研究

研究課題名(英文) Prevention of metabolic syndrome and atherosclerosis by personal genome information

研究代表者

村松 正明 (MURAMATSU, Masaaki)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授

研究者番号：50230008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリック症候群や動脈硬化などの慢性日常性疾患の遺伝子検査の有効性に関して調査した。糖尿病のリスク判定式を感受性遺伝子より作成してその有効性を検討した。その結果、遺伝子単独では予測能力はないが、BMI、血圧を合わせることで発症予測に有効である可能性が示唆された。日常的慢性疾患の遺伝子検査を医師を介して結果回付・説明した場合に、健常者・患者予備軍に対して予防行動を促すかどうか検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：We studied how genetic tests for common chronic diseases, such as metabolic syndrome and atherosclerosis may be useful and be applied for patients health care. We employed 30 GWAS identified DM susceptible variants to construct a risk prediction test by using information from literature and databases. We found that gene test itself may not be not valid for disease prediction, while additional information of BMI and BP will merit the test (C-statistics, AUV=0.707). This prompt us to test whether it is feasible to provide genetic tests for common chronic diseases, under the guidance of medical doctor, and to study whether such session leads to health promotion attitude for the patients.

研究分野：分子疫学

キーワード：遺伝子多型 リスク予測 多因子疾患 生活習慣病 予防行動

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群(肥満、高血糖、脂質異常、高血圧や動脈硬化症などの多因子疾患に関連する感受性遺伝子(遺伝子多型)がゲノムワイド関連解析(GWAS)の手法が確立されたことにより多数同定され、これらを用いたパスウェイ解析が進められている。一方でこれらの遺伝子多型を診断や予防に役に立つのかどうか、その使用可能性に関しては未知である。それにも関わらず、消費者直結型(Direct-To-Consumer: DTC)遺伝子検査により個人が自分のゲノム情報に容易にアクセスできる状況になっており、予防行動に対する有効性を明らかにする必要があった。そこで世界のGWAS研究で明らかにされてきた遺伝子多型情報を日本人集団において再現性を検討し、更に遺伝子-環境因子の交互作用、遺伝子-遺伝子の交互作用について明らかにし、疾患発症予測の検査に使えるかどうかを検討する。研究開始当初の研究動向においては、例えば2型糖尿病の疾患感受性遺伝子の数は50に届き、いずれの遺伝子多型の影響はリスク尤度比(Likelihood Ratio: LR)が1.1~1.5倍と小さく、個々において予測能力は不十分であるが、複数の遺伝子多型のリスクを合算することによってLR=3~4倍程度まで個人の遺伝リスクを評価できるようになっていると考えられていた。これは疾患の遺伝要因の全てを説明するものではないが、この値はすでに予防医学の観点から意味のある値である可能性が考えられた。そこで私たちはGWASで明らかにされた遺伝子を用いて発症リスク遺伝子検査を用いて、(A)日本人のGWAS論文を中心に2型糖尿病におけるリスク関数を考案し、評価すること(B)多因子疾患の遺伝子検査が安全で有効に患者に結果を回付できるか、心理的な反応及び医師のロールモデルを含めて検討をすることにした。

2. 研究の目的

(A)2型糖尿病リスク判定システムの作成および評価。日本人2型糖尿病関連解析の論文から、GWASで関連が明らかにされた一塩基多型を抽出しキュレーションを行う。その結果選択されたSNPsについて既存の論文・データベースから尤度比を算出した。これらの遺伝子情報および国民健康・栄養調査等のデータベース・論文から抽出する。年齢・性・BMIおよび血圧値のリスク因子を取り入れたリスク判定システムを作成し、地域コホートデータと照合して有用性を判定するし、従来のリスク判定法であるTOPICS等と比較・評価することを目的とした

(B)多因子疾患の遺伝子検査結果回付試験近年、成人病あるいは生活習慣病と呼ばれている日常的慢性疾患(common chronic diseases)に対する予防医療の重要性が益々説かれるようになってきている。どのような

健康管理を目指すのが良いのか、そのモデルのひとつにヒトゲノム研究の成果を有効に使うことによる個別化予防医療が注目されている。個別化予防医療によって、より適切な人により有効な予防法を提供することが可能になると考えられる。更には個人が自分自身のDNA情報に基づいて、自分の疾患リスクに対するより良い理解が求められ、それに基づいて疾患にならないような生活習慣、健康管理への行動変容が期待される。個別化予防医療が普及することによって、高額化する医療費を低減させることも期待されている。

これまでヒトゲノム研究の進展により、日常的慢性疾患の発症に関わるコモンSNPを代表とする遺伝子多型(コモンバリエーション)が多数同定されるようになった。これらのコモンSNPはひとつひとつの影響は小さいが(相対リスク:RR=1.1-1.3程度)これらの効果を組み合わせることにより、相対リスクが個別化予防医療の対象として必ずしも無視出来ない(RR=2程度かそれ以上)ものも見出されている。もちろん日常的慢性疾患の発症リスクはコモンバリエーションだけではなく、最近ヒトのエクソーム解析や全ゲノム解析などで明らかになって来ているレアバリエーション、およびエピゲノム変化等との関連もやがては明らかになってくるものと思われる。しかし日常的慢性疾患に関わるこれら全ての遺伝因子を見出すにはまだ時間がかかり、それを待ってはいつまでたっても個人のゲノム情報を用いた個別化予防医療の有効性を評価することは出来ない。

そこでDNA検査を希望する者には、専門医のもとで十分な準備をした上でDNA検査の結果を返却・説明し、受診者がどのように結果を受容し、予防行動を促すか、個別化予防医療への影響・効果を早急に評価する必要がある。アジア人(日本人)におけるコモンSNP検査では、現在提供可能なアジア人(日本人)に関するコモンSNPに基づくゲノム情報に、詳細な家族歴聴取を組み合わせ、専門医がDNA検査結果を患者に開示しコンサルティングを行うことによって、患者の疾患に対する理解や健康観、予防行動など個別化予防医療への影響を明らかにすることを目的とした。

また動脈硬化性疾患の遺伝子解析に関してはイルミナ社DNAChipにおけるSNP解析を継続しており、冠動脈硬化指数、脳動脈硬化指数、全身性動脈硬化指数のパラメータに加えて、腹部大動脈瘤等の幅広い表現形質との関連についての検討を行っている。

そこで多因子疾患の遺伝子検査によるリスク判定を、医師を介して結果回付した時の、健康観・疾病観の変化に関する予備調査を行った。職場検診でリクルートした被験者に先ずアンケートを行い、遺伝子検査を受ける事に不安がない者を選択した。登録した20名

(平均年齢38歳、男9:女11)に改めてインフォームドコンセントを取り、60項目の疾患・体質に関する遺伝子検査を施行した。遺伝子検査前と検査結果回付後にアンケート調査(SF36、B-IPQを元にした質問表)を行い、健康観・疾病観に変化が起こるか検討した。その結果、現在および十年後の健康度および疾病罹患の可能性に関する意識は、遺伝子検査前後で変化がなかった。一方、将来罹患するかもしれない病気をコントロール出来るという意識は向上していた。このことは医療者の元で遺伝子検査を適切に用いれば、被験者の健康へのエンパワーメント向上に資する可能性のあることを示唆している。

遺伝子検査による健康観・疾病観の変化を観察するためのアンケート調査は無事に終了し、調査結果の集計・解析も終了した。その結果、有意に変化している項目も観察出来ている。本研究の中間結果に関しては平成27年度人間ドック学会学術大会にて発表した。また動脈硬化性疾患の遺伝子解析に関しては、腹部大動脈瘤に有意に関連するエクソームSNPをWIPF3およびLIPA遺伝子内に見出し、周辺の解析を進めている。

個人が自分のコモンバリエーション(SNP)による疾患易罹患性を知ることのリスクとベネフィットを東京大学医科学研究所・先端診療部との共同研究の元でアンケート調査・解析・研究した。コモンバリエーションのみに基づく60余の疾患のリスク結果回付を経験ある医師が実施することによって、協力者が自分で疾患の発症・進展をより良くコントロールできるようになるというエンパワーメント効果が観察されることを見出した(“Effective communication along with personal genome profiling: Utility of DNA testing with careful explanation and family history taking”として論文投稿中)。パーソナルゲノムは患者と医師の間の優れたコミュニケーション・ツールとなり得て、今後予防医療推進及び両者の新しい関係の基盤となり得るという感触を得ている。またコケージャンを対象として、同様のアンケート調査を行って、その結果の解析を進めている。一方、日常的慢性疾患のリスク遺伝子が多数同定されているが、罹患率の高い心疾患である心房細動に関するコモンバリエーション研究を行った。GWASで同定されたZFHX3遺伝子多型を高年齢者剖検例によるフェノーム解析を行うと、心房細動との関連が再現されたのみならず、脳梗塞、肺塞栓との相関も見られた。これらのことは病態同士あるいは遺伝子と病態の新しい関係を見出すのにフェノーム解析が有用であることを示唆している。今回行ったのはパイロット研究(n=20)であり、今後更にパーソナルゲノム情報をどのように予防医療に活かしていくか、規模の大きな社会医学研究を展開する必要があると考えられる。またパーソナルゲノム情報にはコ

モン及びレアバリエーション情報があるが、次世代シーケンサーによって容易にレアバリエーションも読み取れるようになった。この中には本人の健康状態に重要なものも含まれている。最近、米国臨床遺伝ゲノム学会では全ゲノム解析(WGS)あるいは全エクソーム解析(WES)において見出される偶発的所見についての見解を表明し、56個のアクションナブルな遺伝性疾患の遺伝子(ACMG56)については本人への情報開示を推奨している。このような結果を回付する研究も必要になってくるものと思われる。

3. 研究の方法

(A) 2型糖尿病リスク判定システム

GWASによる2型糖尿病関連遺伝子の抽出日本人における2型糖尿病のリスク計算方法の作成を行った。世界で行われている2型糖尿病およびその関連フェノタイプによる症例対照研究は全体では約3,000論文・129SNPsが報告されているが、その中から日本人を対象とした研究として286論文・69SNPsまで絞り込む事ができた。そこで、解析結果のP値の分布、サンプルサイズ、何回独立した研究室で再現されているか等で信頼度順にSNPを並び替え、それぞれの論文報告をもとに尤度比(Likelihood Ratio; LR)を計算した。上述の日本人用SNPリストを作った上で、論文から取ってきた数値から算定式を作り、高島コホート研究のデータを用いて検証した。高島コホートとは文部科学省「21世紀COEプログラム」の一環として平成16年度より山形大学医学部が山形県高島町と共同で実施したゲノムコホート研究である。今回は地域住民コホート(n=1263)のデータを元にリスク判定システムの評価を行った。

(B) 多因子疾患の遺伝子検査結果回付試験

(1) 健康診断会場や大学構内、大学に関連している企業に、本研究への協力依頼に関するパンフレットを配布し、希望者は東京大学医科学研究所にメールで連絡するようお願いした。対象は30~40歳台で特に病気を患っていない者とした。メールで連絡をして来たDNA検査希望者に「DNA検査事前アンケート」(資料1)をウェブ上で行い回答をもらった。アンケートで遺伝子検査の結果回付に不安を感じると判断された被験者は除外され、最終的に20名の対象者が選別された。

(2) 選抜された解析対象者には、健康診断結果を持参して東京大学医科学研究所に来院してもらい、そこで専門医に研究に関する説明を受け、インフォームド・コンセントを得た。その後、詳細な家族歴聴取を行った。家族歴は基本的には3親等までの疾患履歴や死因などを聴取すべきであるが、曾祖父の情報を得ることは困難であったので、叔伯父、叔伯母、甥、姪までの情報を得ることとした。家族歴からレアバリエーションが疑われた場合

は、DNA 検査を行わずに遺伝カウンセリング外来を紹介することとした。

(3) 説明同意と家族歴聴取の後、DNA 検査のための唾液採取とアンケート調査「病気の掛かりやすさに対する認識調査(修正疾患認識尺度)-DNA 検査前」を行った。唾液採取には Oragene®・DNA キットを用い、DNA 解析はマイクロアレイ(米イルミナ社 Global Screening Array)を用いて行った。DNA 解析は外注した。遺伝子検査は 64 の疾患リスク(がん、生活習慣病など)4 つの体質(アルコール紅潮反応、食塩感受性高血圧など)2 つの薬剤応答(CYP2C19、CYP3A5)についての遺伝的リスクを、日本人(アジア人)の SNP データに基づいて判定されたものを使用した。

(4) DNA 検査の結果は約 2 か月後に出るので、その後に対象者に再度東京大学医学研究所に来院してもらい、専門医が DNA 検査の結果を説明し、疾患リスク・推奨される予防に関するコンサルティングを行った。その後、アンケート調査「病気の掛かりやすさに対する認識調査(修正疾患認識尺度)-DNA 検査後」を行った。

コモン SNP の結果説明の際には、コモン SNP で予測されるリスク(遺伝要因)のみで疾患の罹りやすさが決まるわけではないこと、肺がんのように、疾患によっては環境要因のリスクの方が遥かに高い場合があること、環境要因のリスクを減らせれば全体として疾患リスクを減らすことができること、に特に留意した。

(5) DNA 検査前後、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年目に追跡調査のアンケートを行った。

また、家族歴聴取でレアバリエーションの存在を疑わせる被験者は存在しなかった。

(6) アンケート調査内容

i) 疾患リスクに対する意識調査

ii) DNA 検査結果開示による病気のリスクに対する認識の変化

iii) DNA 検査結果開示により予防医療効果が期待出来るかもしれないことを示唆する意識の変化

iv) DNA 検査に対する受容(精神的不安等)

v) 予防医療に対するコンプライアンスや、実際の臨床的データやアウトカムなど

DNA 検査の前と後で同一のアンケート調査を行った。評価項目の一部は 5 段階あるいは 10 段階で評価し、そのスコアを DNA 検査前、後で比較し、paired t 検定を行った。

B: フォローアップアンケート

DNA 検査 3 か月後、6 か月後、12 か月後に資料 3 のフォローアップアンケートをメールで送り、生活習慣の改善等に関する結果を返送してもらった。

4. 研究成果

(A) 2 型糖尿病リスク判定システム

日本人用の 2 型糖尿病関連 SNP リストと欧米人用として報告されているものを比較すると、最も信頼度が高いものは日本人・欧米

人共に、最初に GWAS で発見された Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) 遺伝子であることがわかった。また、Top10 を見ると、順位の違いはあるが頻出する SNP は同じである。一方、10 位以降 30 位までを見ると、欧米特異的・アジア特異的な SNP が共通の SNP の中に含まれてきて人種差が歴然としてくる。以上の点を踏まえて、Top10 のみで計算するのであれば欧米人用を適用しても良いが、欧米人用ではオッズ比等が異なることもあり、なるべく日本人用を使用した方が良い事が判かる。

今回評価に使用したのは高島コホートの 1,615 人(男性 724 人、女性 891 人)のデータである。年齢は 61.3 ± 10.2 、BMI は 23.4 ± 3.1 、高血圧(Hyper Tension; HT)は 52.3% で、2 型糖尿病の罹患率は 9.5% であった。その中で、SNP データ・BMI・HT のフェノタイプデータの欠損値のないデータセットを使用し、事後確率値がどのくらい正確に 2 型糖尿病を判別できるのか Receiver Operating Characteristic (ROC) 分析により検証を行った。BMI あるいは HT のみでは pre-test probability と比較してほぼ変わらない。これに 20SNPs を入れると多少上がり、ROC 曲線の下面積(area under the curve; AUC)は 0.707 となり、SNP データを入れると、事後確率値が上昇することが分かった。今回検索した中で 61 歳男性のリスクノモグラムを作成した結果、この症例では、BMI で見ると痩せており、HT も無く糖尿病リスクは減るが、SNP の Genotype ではリスクのある方のジェノタイプがホモとなっている。1 つ 1 つの事前確率・事後確率を見るとリスクが積み上がっており、検査前確率(pre-test probability)では 19% であるが、事後テスト確率(post-test probability of risk)は 32% と、約 1.5 倍 risk が上昇している。そして実際に、この人は痩せていて血圧が低いにもかかわらず糖尿病であった。このように遺伝子検査は個人の疾患リスクを判定するのに有効利用することが可能になると考えられる。

(B) 多因子疾患の遺伝子検査結果回付試験 DNA 検査前と後でのアンケート集計結果より、以下の結果を得た。

(1) 10 年後病気になったとしても、それを自らコントロールできると思うかということについては有意差があった(スコアが 5.75 から 7.1、 $p < 0.01$)。

(2) また、そのような病気にならないようにするためには、遺伝要因よりも環境要因が重要であると被験者は考えるようになっていた(スコアが 4.75 から 6.4、 $p < 0.05$)。

(3) リスクのある疾患に対する理解が有意に高まった(スコアが 5.65 から 8.1、 $p < 0.01$)。上記以外の項目については有意差はなかった。また 1 年後までのフォローアップアンケートの結果では、約 60% の被験者が疾患予防のための生活習慣の改善を行っていることが明らかとなった。

今回の検討は 20 例という限られたものであったため、この結果を一般化するにはさらに対象者を多くして検討する必要がある。また十分な家族歴聴取を行ったが、レアバリエントが見逃されている可能性は残る、しかし、解析結果から、コモン SNP 検査の結果を医師の説明の下で被験者に回付することにより、疾患に対する予防行動に効果があることが示唆された。疾患に対する理解度の上昇、環境要因の疾患リスクに対する重要性、自らの努力による環境リスクの軽減などは、有意差をもって DNA 検査後にスコアが上昇した。またそれが 1 年間のフォローアップ中に継続されることも、今回の DNA 検査の意義ある結果であったと考えられる。DTC のように一方向性の結果回付のみでは、このような結果は得られない可能性があり、医師による対面での結果開示とコンサルティングが有用であると思われる。

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 5 件)

Dechamethakun S and Muramatsu M. Long noncoding RNA variations in cardiometabolic diseases. *J. Hum. Genet.* 2017 62:97-104 査読有 doi: 10.1038/jhg.2016.70

Maeda Y, Sato N, Naka-Mieno M, Mori S, Arai T, Tanaka M, Muramatsu M, Sawabe M. Association of non-synonymous variants in WIPF3 and LIPA genes with abdominal aortic aneurysm: an autopsy study. *J Geriatr Cardiol.* 13:960-967. 2016 査読有 doi: 10.11909/j.issn.1671-5411.2016.12.003.

Zhao C, Ikeda S, Arai T, Naka-Mieno M, Sato N, Muramatsu M, Sawabe M. Association of the RYR3 gene polymorphisms with atherosclerosis in elderly Japanese population. *BMC Cardiovasc Disord.* 14:6 2014 査読有 doi: 10.1186/1471-2261-14-6.

Dechamethakun S, Ikeda S, Arai T, Sato T, Sawabe M, Muramatsu M. Associations between the CDKN2A/B, ADTRP and PDGFD Polymorphisms and the Development of Coronary Atherosclerosis in Japanese Patients. *J Atheroscler Thromb.* 21:680-90 2014 査読有 <https://doi.org/10.5551/jat.22640>

Sato N, Htun NC, Daimon M, Tamiya G, Kato T, Kubota I, Ueno Y,

Yamashita H, Fukao A, Kayama T, Muramatsu M. Likelihood ratio-based integrated personal risk assessment of type 2 diabetes. *Endocr J.* 61:967-88. 2014 査読有 DOI <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ14-0271>

〔学会発表〕(計 4 件)

Zaw KT, Sato N, Ikeda S, Thu KS, Mieno MN, Arai T, Mori S, Furukawa T, Sasano T, Sawabe M, Tanaka M, Muramatsu M. Association of ZFX3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism 日本分子生物学会 2016.12.1 横浜
村松正明 多因子疾患の遺伝子検査がもたらす健康観・疾病観の変化 第 56 回日本人間ドック学会学術大会 2015.7.31 横浜
佐藤憲子 尤度比を用いた 2 型糖尿病の統合的リスク評価 第 59 回 日本人類遺伝学会 2014. 11.20 東京
Muramatsu M, The effect of genetic test for common diseases on the perception of health and illness 生命医薬情報学連合大会 2014.10.2 仙台

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村松 正明 (MURAMATSU, Masaaki)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：50230008

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

佐藤 憲子 (SATO, Noriko)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授

研究者番号：70280956

大門 真 (DAIMON, Makoto)

弘前大学・医学部内分泌代謝内科・教授

研究者番号：20241698

沢辺 元司 (SAWABE, Motoji)

東京医科歯科大学・大学院保健衛生学研究科・教授

研究者番号：30196331

山下 直秀 (YAMASHITA, Naohide)

東京大学医科学研究所・先端診療部・教授

研究者番号：90174680

(4)研究協力者

()