

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26660244

研究課題名(和文) 新規統計手法を用いた疾患の犬種差を生み出す原因遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of genes causing canine breed differences in disease susceptibility by a new analysis method

研究代表者

桃沢 幸秀 (Momozawa, Yukihide)

独立行政法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・研究員

研究者番号：40708583

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：イヌの疾患発症リスクを高める遺伝子変異を同定することは獣医療の向上には非常に重要である。本研究では、網羅的にそのような遺伝子変異を同定するために、疾患発症率の犬種差に着目し、新規解析手法を開発した。続いて、40犬種についてゲノム全体にわたる17万個の遺伝子頻度情報を集積すると共に、80疾患についての各犬種の疾患率情報を入手し、その解析手法を適用した。その結果、これまでに疾患の発症リスクの犬種差とゲノムワイド有意に関連を示す遺伝子変異を8個同定した。

研究成果の概要(英文)：It is very important for veterinary medicine to identify genetic variants associated with disease risk. For this purpose, we developed a new method focusing on breed differences in disease susceptibility. We also collected frequency information of genetic variants over canine whole genome in 40 breeds and disease susceptibility of each breed for 80 diseases. Finally, we applied the new method to these dataset and newly identified eight genome wide significant associations between genetic variants and disease susceptibility.

研究分野：動物遺伝学

キーワード：イヌ ゲノム 疾患 犬種差 SNP 統計

1. 研究開始当初の背景

イヌの全ゲノム配列が2005年に報告され、ゲノム全体の遺伝子変異十数万個を一度に解析可能なSNPチップの出現により、イヌの疾患のゲノム解析は大きな転換点を迎えた。以前報告したオールドイングリッシュシープドックの原発性線毛機能不全症や、ゴールデンレトリバーの先天性魚鱗癬のように、イヌの疾患について原因遺伝子変異の同定の報告が増加している。このように疾患の発症リスクを大きく向上させる遺伝子変異がひとたび同定されると、交配前に遺伝子検査を実施することで、疾患発症リスクを抑制する雌雄の組み合わせを検討することが可能となる。また、同定された遺伝子変異をもとに、どういった遺伝子の異常がその疾患の発症に繋がっているのかそのメカニズムを解明することも可能となる。

これまで原因遺伝子が報告された疾患の多くは、ひとつの遺伝子上に存在する変異が原因となり発症する単一遺伝子疾患であるが、複数の遺伝子や環境が相互に疾患発症に影響を及ぼす多因子疾患についても、同じように疾患発症に繋がる成果が期待されている。イヌは、疾患毎に発症率の高い好発犬種が存在することが知られている。このように犬種により疾患発症率が大きく異なることは、その疾患には遺伝的要因が大きく寄与していることを強く示唆し、ゲノム解析による原因遺伝子の同定が期待される。しかし、これまでのところその成果は限られたものになっている。

その主な理由として、イヌには多くの犬種が存在することが考えられる。ヒトの多因子疾患において頻用され大きな成果をあげているゲノムワイド関連解析(GWAS)は、ゲノム全体の中から、疾患群・健康群間において遺伝子頻度の差が大きい遺伝子変異を同定する手法である。しかし、疾患との関係がなくとも犬種間には遺伝子頻度差が存在する。そのため、複数の犬種を混ぜて解析を行うと、同定された遺伝子頻度差が真に疾患との関連を示したのか、犬種差を反映しただけのものか区別ができない。そのため、基本的には一疾患一犬種毎の解析が必要である。GWASでは一般的に、同一犬種から100頭以上の疾患個体、健康個体を収集する必要があるが、多くの犬種の中から特定の一犬種に絞り、診断の精度を一定に保ちながらその個体数を収集することが困難である点が、GWASを様々な疾患に適応していく上で大きな問題となっている。

2. 研究の目的

このような背景を元に、疾患発症リスクに関わる遺伝子変異を網羅的に同定するために、明確に存在しながらも上記の理由でゲノム解析で使用されることがなかった疾患発症率の犬種差に着目した。この解析では、個々の個体について解析するのではなく、各

犬種を一つのグループとして取り扱う。たとえば、ある疾患発症リスクを上昇させる遺伝子変異Aが存在する場合、その疾患発症率が高い犬種において、遺伝子変異Aのリスクアレルの頻度が高く、逆に発症率が低い犬種はリスクアレルの頻度が低いことが想定される。そのため、リスクアレルの頻度とその疾患の発症率の関係は図1のように正の相関関係にあると想定される。

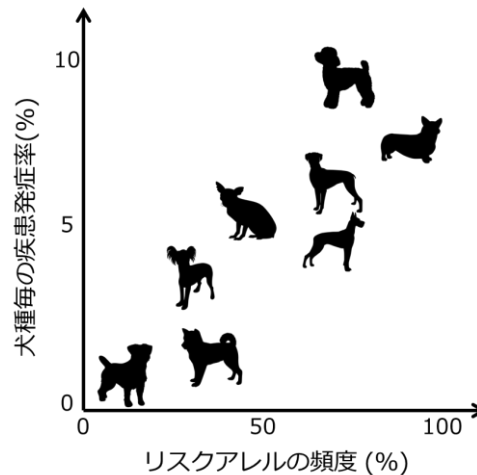


図1：リスクアレルの頻度と犬種毎の疾患発症率の関係

このような関係をゲノム全体から同定するためには、ゲノム全体にわたる犬種毎の遺伝子頻度情報、各疾患について犬種毎の疾患発症率情報が必要である。これらの情報を収集した上で、ゲノムワイドに有意な相関関係が認められる遺伝子変異と疾患の関係を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 40犬種のゲノム全体の遺伝子頻度情報の作成

これまでの研究において、ゲノム全体17万個の遺伝子変異についての遺伝子頻度情報を30犬種について収集している。本研究では、日本で飼育頭数が多い10犬種130頭について、血液のサンプリングを行った。続いて、その血液からゲノムDNAを抽出し、17万個の遺伝子変異についてその遺伝子型を決定した。

最新のリファレンスゲノム配列であるCanFam 3.1に基づき、全データの統合を行った。遺伝子変異情報を元に全個体間で遺伝的距離を算出し、系統樹を作成した。各個体の犬種情報と系統樹の関係から、混血や近親と考えられるサンプルについては以降の解析から除外した。最終的に、全遺伝子変異について犬種毎の遺伝子頻度の計算を行った。

(2) 80疾患の犬種ごとの疾患発症率情報の入手

動物の保険会社より、本解析に用いる80疾患についての犬種毎の発症率情報を入手した。

(3) ゲノムワイド解析の実施

上記で得られた 40 犬種についてのゲノム全体の遺伝子頻度情報と、各疾患について犬種毎の疾患発症率情報を元に、ゲノムワイド解析を実施した。遺伝子変異毎に、各犬種の遺伝子頻度と疾患発症率の関係について解析を行った。そして、得られた関係についてゲノムワイドに有意であるか評価するために、permutation 法を使用した。

4. 研究成果

(1) 40 犬種のゲノム全体の遺伝子頻度情報の作成

10 犬種 130 頭について、17 万個の遺伝子変異の解析を行った。その解析データの信頼性を確かめるために、すでにデータを所有している 2 頭について再度解析を行った。その結果、どちらについても 99.9%以上の遺伝子型一致率が認められ、本データの非常に高い信頼性が示唆された。

イヌのリファレンス配列 CanFam3.1 のプラスストランドに基づき、既存の 30 犬種のデータとの統合を行った。続いて、統合された遺伝子型情報を元に全個体間で遺伝的距離の算出を行い、系統樹の作成を行った。全 40 犬種のデータについて、各サンプルの犬種情報との比較解析により、混血や近親であることが疑われる個体を除外した。

最終的に、40 犬種についてゲノム全体の遺伝子頻度情報を作成した。

(2) 80 疾患の犬種ごとの疾患発症率情報の入手

動物の保険会社より各犬種の 80 疾患についての疾患発症率情報を入手した(例: 図 2)。

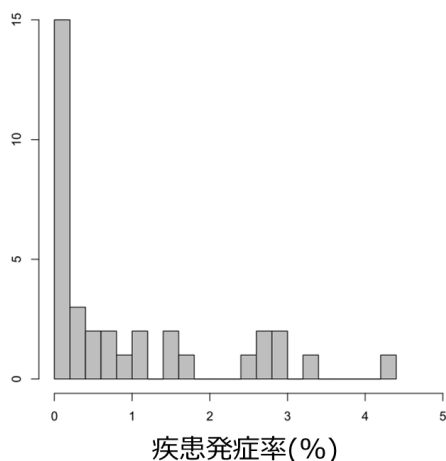


図2：犬種毎の疾患発症率の分布

(3) ゲノムワイド解析の実施

これらの情報を組み合わせて、各疾患発症率の犬種差に関わる遺伝子変異をゲノム全体から明らかにするために、permutation 法を組み合わせたゲノムワイド関連解析手法

を構築した。

疾患発症率の犬種差とゲノムワイドに有意な関連を示す疾患-遺伝子変異の組み合わせを 8 個同定した。そのうち、最も強い関連を示したものを例として記述する。

この疾患は図 2 のように発症率の犬種差が明確であり、およそ 2/3 の犬種は一年間に発症する個体の割合は 1%未満であるが、犬種によっては 2~4%にも達する。このような疾患発症率の犬種間のばらつきと強い相関関係をもつ遺伝子変異を同定するために、ゲノム全体の 17 万個の遺伝子変異について解析を行った。その結果、一つの遺伝子変異で図 3 のような関連がゲノムワイド有意に認められた ($P = 7.2 \times 10^{-10}$)。この遺伝子変異は、他の形質との関連もすでに報告されている。そのため、イヌの各犬種を作出する過程において、その形質の育種選抜に付随してこの疾患発症率の上昇が引き起こされたことを強く示唆する結果であった。

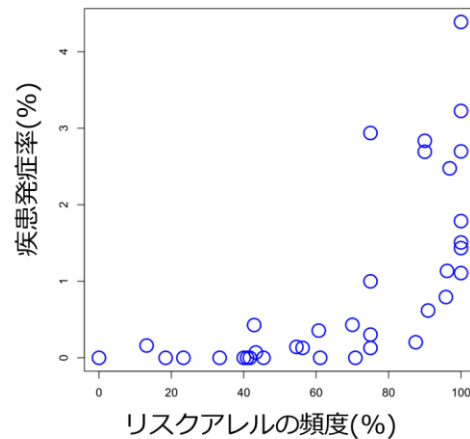


図3：ゲノムワイドに有意な関連が認められた例

(4) 今後の予定

本研究により、疾患発症率の犬種差に関わる遺伝子変異が 8 個同定された。今後は、これらの遺伝子変異が、単一犬種内では実際にどの程度疾患のリスクに影響を与えているか、多個体を収集して評価を行う予定である。

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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

招待講演

- (1) 桃沢幸秀、イヌのゲノム研究 -ゲノムが変える獣医療の未来-、神戸大学 インターゲノミクスセミナー研究会、神戸大学 (兵庫県神戸市)、2015 年 1 月 28 日
- (2) 桃沢幸秀、臨床医がゲノムワイド解析を

活用する方法、岐阜大学比較がんセンター 比較腫瘍学セミナー、岐阜大学(岐阜県岐阜市)、2014年11月7日

[その他]

ホームページ等

http://www.riken.jp/research/labs/ims/genotyping_dev/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桃沢 幸秀 (YUKIHIDE MOMOZAWA)

理化学研究所、統合生命医科学研究センター、
研究員

研究者番号：40708583