

令和元年6月14日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K13217

研究課題名（和文）血中HDLレベルを規定するCausal SNPの探索とその機能解析

研究課題名（英文）Search and functional analysis of causal SNPs regulating blood HDL level

研究代表者

會田 雄一（Aita, Yuichi）

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：60752152

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：血中HDLレベルを規定するcausal SNPの探索を目的に、TFEL scan法を用いてapoAIのプロモーター領域のSNPを解析した。まず、2つの異なるルシフェラーゼレポーターベクターの一方にプロモーター領域の参照配列を、もう一方に同じ領域でSNPを1つだけもつ配列を挿入し、これらをヒト細胞株にコトランスフェクションしてルシフェラーゼ活性の比率を評価した。次に、スクリーニングで選出されたSNPの部位に結合する転写因子を同定するためにTFEL scan法を用いた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

同定された転写因子をヒト細胞株で過剰発現したところ、内因性のapoAI遺伝子の発現が増加した。apoAIのプロモーター領域にあり、転写活性に影響を与えるSNPと、この部位に結合してapoAI遺伝子の発現を制御する転写因子を同定した。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of searching causal SNPs which regulate blood HDL level, the TFEL scan method was used to analyze SNPs in the promoter region of apoAI. First, a reference sequence of the promoter region was inserted into one of two different luciferase reporter vectors and a sequence having only one SNP in the same region was inserted into the other vector. These vectors were co-transfected into human cell lines to evaluate the ratio of luciferase activity. Next, the TFEL scan method was used to identify transcription factors that bind to SNPs selected by screening.

研究分野：応用健康科学

キーワード：生活習慣病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

米国で広く行われている DTC 遺伝学的検査 (Direct-to-Consumer Genetic Testing) が近年、日本国内においても開始され、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) によって得られた知見に基づいて消費者が自身のゲノムを検査できるようになった。現在までに、どの lead SNP (ゲノム上で目印となる一塩基多型) がどのような疾患や形質と関連しているかという情報は国内外で蓄積されてきたが、「この塩基の置換が原因である」といった真に機能を有する causal SNP の情報はまだ充分ではない。今後、より正確な情報を消費者に届けるためには、causal SNP の探索とその機能解析が必要になる。

一方、理化学研究所が主宰する国際研究コンソーシアム「FANTOM」の第5期の成果が発表され、GWAS によって見出された lead SNP がエンハンサーやプロモーターに位置していることが明らかになった。これらの遺伝子制御部位に causal SNP が位置することで疾患や形質がもたらされるメカニズムを解明することは、生命現象の解明という点からも重要である。

2. 研究の目的

本研究では、善玉コレステロールとして知られる HDL コレステロールを血液中で輸送している「高密度リポタンパク質 (HDL)」に着目し、その主要構成タンパク質であるアポリポタンパク質 A-I (apoA1) を対象とした。

3. 研究の方法

まず、apoA1 遺伝子のプロモーターに位置する SNP の中から、転写活性に影響を与える causal SNP の探索を試みた。2つの異なるルシフェラーゼレポーターベクターの一方にプロモーター領域の参照配列を、もう一方に同じ領域で SNP を1つだけもつ配列を挿入し、これらをヒト細胞株にコトランスフェクションしてルシフェラーゼ活性の比率を評価した。次に、転写因子だけをゲノムワイドに網羅した発現ライブラリー「Transcription Factor Expression Library (TFEL)」を独自に構築し、見出された causal SNP が位置する DNA エlement に結合する転写因子の同定を進めた (図1、図2)。

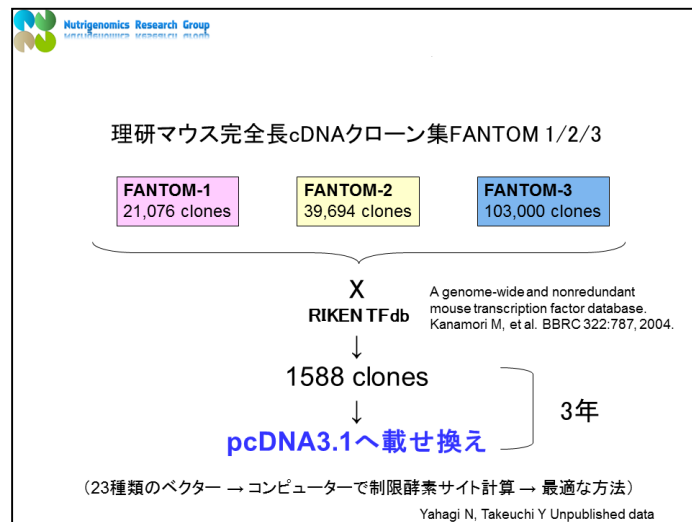


図1 網羅的転写因子発現ライブラリーTFELの構築

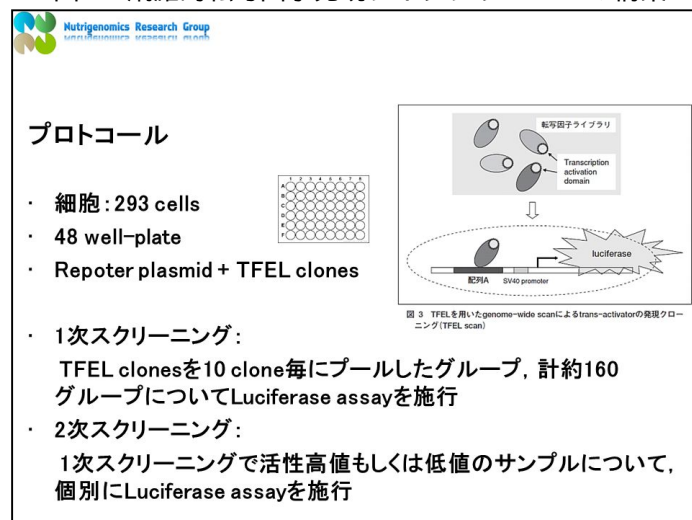


図2 TFEL scan法

4. 研究成果

apoA1 遺伝子のプロモーターに位置する SNP の中から、転写活性に影響を与える causal SNP を見出した。そして TFEL scan 法を用いて、見出された causal SNP が位置する DNA エLEMENT に結合する転写因子を同定した。この転写因子をヒト細胞株で過剰発現したところ、内因性の apoA1 遺伝子の発現が増加した (図 3)。

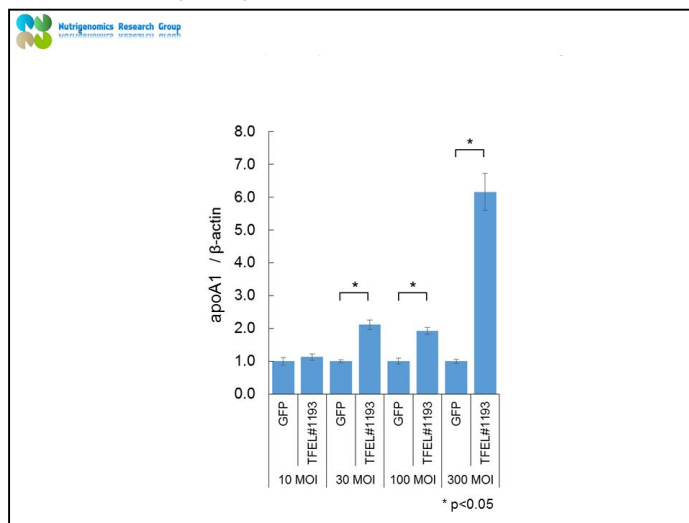


図 3 HepG2 細胞での機能解析

HepG2 細胞はヒト肝臓由来の細胞株であり、肝臓の代替モデルとして使用されている。アデノウイルスベクターによって遺伝子導入したところ、コントロールの「GFP」に比べて転写因子「TFEL#1193」は apoA1 遺伝子の発現を増加させた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

Murayama Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Aita Y, Mehrzad Saber Z, Wada N, Li E, Piao X, Sawada Y, Shikama A, Masuda Y, Nishi-Tatsumi M, Kubota M, Izumida Y, Miyamoto T, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sugano Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyu H, Kawakami Y, Shimano H. Glucocorticoid receptor suppresses gene expression of Rev-erb (Nr1d1) through interaction with the CLOCK complex. *FEBS Lett* 593: 423-432, 2019. 査読有

DOI: 10.1002/1873-3468.13328

Piao X, Yahagi N, Takeuchi Y, Aita Y, Murayama Y, Sawada Y, Shikama A, Masuda Y, Nishi-Tatsumi M, Kubota M, Izumida Y, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sugano Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyu H, Kawakami Y, Shimano H. A candidate functional SNP rs7074440 in TCF7L2 alters gene expression through C-FOS in hepatocytes. *FEBS Lett* 592: 422-433, 2018. 査読有

DOI: 10.1002/1873-3468.12975

Sawada Y, Izumida Y, Takeuchi Y, Aita Y, Wada N, Li E, Murayama Y, Piao X, Shikama A, Masuda Y, Nishi-Tatsumi M, Kubota M, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sugano Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyu H, Kawakami Y, Kadowaki T, Shimano H, Yahagi N. Effect of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibition on weight loss is partly mediated by liver-brain-adipose neurocircuitry. *Biochem Biophys Res Commun* 493: 40-45, 2017. 査読有

DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.09.081

Nishi-Tatsumi M, Yahagi N, Takeuchi Y, Toya N, Takarada A, Murayama Y, Aita Y, Sawada Y, Piao X, Oya Y, Shikama A, Masuda Y, Kubota M, Izumida Y, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sekiya M, Iizuka Y, Kawakami Y, Kadowaki T, Yamada N, Shimano H. A key role of nuclear factor Y in the refeeding response of fatty acid synthase in adipocytes. *FEBS Lett* 591: 965-978, 2017. 査読有

DOI: 10.1002/1873-3468.12620

[学会発表](計 18 件)

會田雄一, 矢作直也, 武内謙憲, 朴賢英, 呼延宜人, 和田亘弘, 李恩旭, 村山友樹, 沢田義一, 志鎌明人, 升田紫, 泉田欣彦, 関谷元博, 中川嘉, 松坂賢, 川上康, 島野仁. TFEL scan 法を用いた apoA1 遺伝子プロモーターの SNP 解析. 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2018.

6 . 研究組織

記載する事柄はない。

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、研究者個人に帰属されます。