

平成 27 年度オーダーメイド医療の実現プログラム 成果報告書（公開）

研究開発代表者 （所属機関・氏名）	国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 副センター長 久保 充明
研究開発課題名	疾患関連遺伝子等の探索を効率化するための遺伝子多型情報の高度化

1. 研究開発の目的

本課題においては、がん、生活習慣病、アレルギー疾患などに関連する遺伝子を特定し、それらの病気の早期発見や予防法の確立、患者個人の遺伝情報に基づき薬剤による副作用回避のための効率的且つ適切な投薬を行うオーダーメイド医療の実現を目指し、本プログラムで整備されたバイオバンク（東京大学医科学研究所に設置）に収集された DNA サンプル等を用いてゲノム解析を実施し、疾患や薬剤による副作用等に関連する遺伝子群の同定を行う。さらに、日本臨床腫瘍研究グループ（JCOG）の中核機関である国立がん研究センター及び日本小児がん研究グループ（JCCG）に参画する名古屋医療センター、広島大学、埼玉県立小児医療センター、京都大学と連携し、これまで各グループが収集してきた試料を用いてゲノム解析研究を実施し、それぞれの疾患に関連するゲノム異常の発見や遺伝子の同定を目指す。

2. 研究開発の概要

理化学研究所では、本プログラムで整備されたバイオバンクに収集された DNA サンプル等を用いてゲノム解析を実施する。また、ゲノム解析の結果から関連候補領域を特定し、疾患や薬剤による副作用等に関連する遺伝子群を同定する。文部科学省において公募・選定された疾患及び国立病院機構、JCOG、JCCG との連携については、選定された研究実施機関と密に連絡・情報交換を図りつつ、共同で疾患及び薬剤関連遺伝子研究を実施し、解析結果については東京大学医科学研究所で整備するデータ管理バンクに蓄積する。

3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

(a) 遺伝子解析

1) 疾患及び薬剤関連候補領域の特定のためのゲノム解析

平成 26 年度に実施されたバイオバンクサンプルを用いた 1,037 例の全ゲノムシーケンスより得られた遺伝子バリエーションデータの検証として、「2. 統計処理研究」において実施されたゲノムワイド解析用 SNP アレイで得られた SNP データとの一致率を比較するとともに、全 1037 例について 43 遺伝子の翻訳領域約 10 万塩基のターゲットシーケンスを実施し、得られた遺伝子バリエーション情報を比較し、ゲノムワイド解析用 SNP アレイとの比較として約 53 万か所の SNP について遺伝子型の比較を行ったところ、遺伝子型の一致率は 99.97%であった。また、105 か所の SNP において一致率が 95%未満であったため、個々の SNP についてシーケンスデータおよび SNP アレイデータについて検証した結果、約半数は SNP アレイのタイピングに使用する合成された塩基（プローブ）内に他の遺伝子バリエーションが存在することにより SNP アレイのタイピング結果が誤った遺伝子型として測定されており、全ゲノムシーケンスより得られた遺伝子型には問題がないことが判明した。次に、43 遺伝子の翻訳領域約 10 万塩基のターゲットシーケンスデータとの比較では、ターゲットシーケンスにより同定された 755 箇所の遺伝子バリエーション（その

うち 655 か所はアレル頻度が 5%未満)のうち、98.9%にあたる 746 バリエントは全ゲノムシーケンスにおいても同定されていた。両シーケンスで共通で得られた 746 箇所の遺伝子バリエントについて個人別に遺伝子型を比較したところ、99.98%以上の一致率であった。

調整費により、バイオバンク・ジャパンで収集された心筋梗塞例の全ゲノムシーケンス解析として、本年度は 500 例について解析を実施した。平成 28 年度は、引き続き、約 1500 例の全ゲノムシーケンス解析を実施する予定である。

調整費により、遺伝性乳がん卵巣がん症候群 (HBOC) の遺伝子検査の対象となる BRCA1 や BRCA2 をはじめとする 11 遺伝子の翻訳領域を対象とし、バイオバンク・ジャパンによって収集された乳がん患者サンプル 7,146 例、がんの既往・家族歴のない他疾患登録例のサンプル 23,780 例の合計 30,926 例について、11 遺伝子の翻訳領域(約 5 万塩基)のターゲットシーケンス解析を実施した。また、本データの品質管理を目的として、バイオバンク・ジャパンの第 2 コホートとして収集された 1406 例について、1 サンプルあたり約 95 万 SNP のタイピングを実施し、1405 例において理化学研究所が設定する品質管理基準を満たす SNP データを取得した。平成 28 年度は引き続きデータ解析を継続し、11 遺伝子の翻訳領域上に存在する遺伝子バリエントを網羅的に同定し、SNP アレイデータとの比較など品質管理を行った上で、各バリエントの遺伝性乳がんに対するリスクの評価を実施する予定である。

2) 統計処理研究

平成 27 年度は、バイオバンク・ジャパンの疾患検体の SNP データと 3 つのゲノムコホート (JMICC, JPHC, 東北 MMB) から得られたコントロールの SNP データを用いて、痔瘻、歯周病、脳梗塞、脳動脈瘤、骨粗鬆症、緑内障のケースコントロール関連解析を実施した。その結果、脳梗塞において 4 領域、脳動脈瘤において 4 領域、緑内障において 6 領域のゲノムワイド有意に関連する遺伝的座位を同定した。

また、1) で実施された全ゲノムシーケンス解析の結果について、主成分分析による集団構造化解析、identity-by-descent 解析による隠れた近縁構造の解消、ヘテロ接合度解析による異常データの同定、ならびに同じ個体について行われた DNA チップによる SNP データとの一致率解析を行い、1,037 例の全ゲノムシーケンス結果を品質管理済みのデータとして決定した。これを用いて多数のレアバリエントを含む約 2,000 万の遺伝的変異についてデータベースを作成したのち、ハプロタイプ相決定を行い、imputation 解析に用いる日本人特異的参照パネルを構築した。

調整費により、全ゲノムシーケンス解析を実施するため、新たに計算機クラスタを構築し、入札を実施、業者を選定した。

調整費により、これまでバイオバンク・ジャパンに収集された臨床情報をゲノム解析に使えるようにするため、まだデータクリーニングが実施されていなかったがん以外の 34 疾患の経年データを対象に、データクリーニング作業を実施した。

3) 疾患関連遺伝子研究

「メタボリック・シンドローム関連疾患領域」研究班のゲノムワイド関連解析について、2 型糖尿病を中心として東アジア人種の連鎖不平衡構造を応用して GWAS 結果シグナルのターゲット遺伝子の同定ならびに遺伝子制御領域に関する注釈を行うためのバイオインフォマティクス解析を支援した。また、「がん関連疾患領域」研究班のゲノムワイド関連解析について、さらに候補遺伝子を増やすため、大腸直腸癌

を中心として、既存の GWAS 結果とオーダーメイド研究の結果として得られた GWAS 結果との統合的解析（ゲノムワイドメタ解析）を行うための支援を行った。

4) 薬剤関連遺伝子研究

薬物応答性（薬効及び副作用）に関連する遺伝子の全ての遺伝子多型を検出する方法として、100 種類の Pharmacogene（薬物代謝酵素 60 遺伝子、薬物トランスポーター37 遺伝子、その他 3 遺伝子）を選択し、次世代シーケンサーを用いて、これらの遺伝子をコードするエクソン領域のみを選択的に増幅する multiplex PCR 法に基づいたターゲット・リシーケンス法を開発した。これにより、薬物の吸収、分布、代謝及び排泄に密接に関与する遺伝子の機能に大きく影響する遺伝子多型を網羅的に検出することが可能となった。

(b) 多施設共同臨床試験グループとの連携によるゲノム解析研究

1) JCOG/JCCG との連携によるゲノム解析研究

平成 27 年度は、JCCG において収集された小児急性リンパ性白血病・リンパ腫の寛解期検体、小児急性骨髄性白血病の寛解期検体合計 226 例と、小児肝腫瘍の正常肝あるいは正常血液由来検体 120 例の DNA サンプルを受領し、理化学研究所で全ゲノム SNP 解析を実施した。今後、各機関においてゲノム解析データと種々の臨床情報が突合され、有害事象等に関連する遺伝子の探索を目的とした解析が実施される予定である。

平成 26 年度に開始した JCOG 食道がんグループ試料解析研究 JCOG0502A1 について、国立がん研究センターおよび東京大学医科学研究所と連携し、化学放射線療法の早期の有効性（完全奏効割合）に関連するバイオマーカーの探索を行うために、127 人分の FFPE 保存病理組織から抽出した DNA を用いて NGS ライブラリーの作成を行い、エクソームシーケンスを実施した。シーケンスデータから変異探索を行った結果、1つの腫瘍につき平均約 2,800 個の体細胞変異候補が検出され、59 人について TP53 遺伝子の体細胞変異候補を検出した。また、JCOG 大腸がんグループで実施された 4 試験（JCOG0205：1,101 人、JCOG0212：701 人、JCOG0404：1,057 人、JCOG0910：1,564 人）を対象に、東京大学医科学研究所と連携し、JCOG1506A1 の研究実施計画書、説明文書・同意書作成および試料収集について支援を行った。

(c) プログラムの総合的推進

本事業において得られたゲノム解析の膨大なデータを活用した疾患関連遺伝子研究の実施にあたっては、オールジャパン体制を継続し、平成 25 年度に文部科学省の公募により選出された「がん関連疾患領域」、「メタボリック・シンドローム関連疾患領域」、「薬剤反応性領域」、「血清利活用領域」の 4 領域の担当研究機関、平成 26 年度より連携プロジェクトとして開始された 3 つのナショナルセンター（国立がん研究センター、国立精神・神経医療研究センター、国立成育医療研究センター）及び 3 つの臨床研究グループ（国立病院機構、JCOG、JCCG）、平成 27 年度の AMED の公募で治療最適化研究領域として採択された国立成育医療研究センター、国立精神・神経医療研究センター、JCOG、JCCG、京都大学と密接に連携しつつ研究を推進した。