

Systematic Expression Profile Analysis and its Application to Personalized Medicine

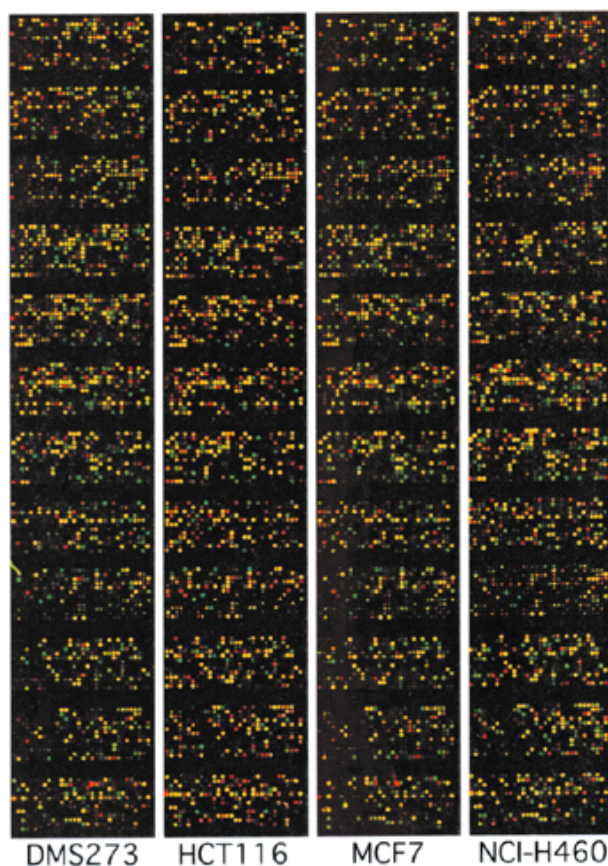
種々の疾患や刺激に対する体系的な遺伝子発現動態 データベースの構築とオーダーメイド医療への応用

プロジェクトリーダー 中 村 祐 輔

東京大学 医科学研究所 教授



4種類のがん細胞株に対するマイクロアレー解析



1. 研究の目的

生活習慣病などを含めた多くの成人疾患は、食事・生活環境・ストレスなどさまざまな外的要因や内的要因によって、正常な生命活動の維持に必要な遺伝子の働きにアンバランスをきたしたために生じたものであると理解することができます。近年、ゲノム研究は非常に急速に進み、ヒトゲノムに記された30億の遺伝暗号の全解明もほぼ終了しかけています。しかしながら、その機能単位である10万種類の遺伝子については、cDNA断片に関する膨大な配列情報が蓄積されつつあるものの、それらの遺伝子がどのような機能を持った蛋白をコードしているのかはもちろん、どの細胞で、どの時期に、どのレベルで発現しているかといった情報は依然として限られています。したがって、ゲノム上の数万種類に及ぶ遺伝子に関して、いつ、どこで、どれだけの遺伝子が発現しているかを体系的に検索し、遺伝子の働きを調節している機序を明らかにすることができれば、生命の調節機構の解明につながるのみならず、それと対比させる形で、どのようなアンバランスが疾患の発症につながっているのかが明らかとなり、科学的かつ詳細な疾患発症機序の解明に寄与することは確実と考えられます。これらの成果は、画期的な薬剤開発や新規の診断法の開発などに繋がり、社会的に大きな貢献をするものと期待されます。本研究プロジェクトの具体的な目標は(1)ヒトの正常な細胞や組織における遺伝子発現量の体系的解析、(2)病的状態での細胞や組織における遺伝子発現量の体系的解析、(3)発現情報調節システムの解明を通して病気の発症の原因となる遺伝子群の解明を行うことです。

2. 研究の内容

マイクロアレー法は、多数の遺伝子の発現情報を一度の実験によって得ることができるため、これまでの解析法に比して膨大な遺伝子発現情報に基づいて、生命現象や病態を考えることができるという画期的な遺伝子解析手法です。複雑な生命現象や千差万別な病態像を単一や少数の遺伝子の働きだけで説明することは不可能であり、ネットワーク的な遺伝子調節の考え方を取り入れることによって、今までは把握することのできなかった現象の理解が一気に進むものと期待されます。現在、独自でヒトの数万種類に及ぶ cDNA バンクを構築し、これらを利用して DNA マイクロアレーを作成し、遺伝子発現情報解析を行っているのは、我が国ではわれわれの研究チームだけです。10万種類のヒト遺伝子のうち、依然として90%以上の遺伝子についてはその機能が未知である現状を鑑みて、疾患の発症に関連する重要な遺伝子を探索するためには、できるだけ多くの遺伝子を体系的に解析する体制の構築が極めて重要です。現時点では、機能既知の遺伝子約7000種類を含む21,000種類の遺伝子をマイクロアレーを用いて解析することが可能ですが、本プロジェクトでは、さらに多数の種類にわたるcDNAを調整することによって、4万種類以上の機能未知の遺伝子を含め5万種類の遺伝子群から有用遺伝子を探索する体制を整えます。cDNAを調整する際には、実験のバックグラウンドをできるだけ抑えるため、反復配列やポリA配列を除く形で12組織から得られたmRNAを利用して直接cDNAを合成します。これらのcDNAサンプルをマイクロアレースポットターを利用してスライドガラス上に整列固定化します。ヒトの正常な細胞や組織からRNAを抽出し、対象サンプルと異なった色素で標識化し、それらをプローブとして適当な条件でマイクロアレー上のサンプルとハイブリダイゼーションを行い、体系的・網羅的な遺伝子発現量解析を行い、これらをもとに発現情報データベースを構築します。また、これと平行して、種々の患者の病変部（癌組織や動脈硬化病変）をインフォームドコンセントを得た上で採取し、病的状態での細胞や組織における遺伝子発現量の体系的解析を行います。マイクロアレー解析には、通常、数～十マイクログラムのmRNAが必要とされますが、極微量な臨床試料を材料として利用する場合や培養細胞を利用する場合には、このような量のmRNAを得ることは容易ではありません。そこで、このような試料から発現情報を得るために、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）法とT7RNAポリメラーゼによるRNA増幅技術法を確立します。現時点では、数百個の細胞を用いたマイクロアレー解析は可能ですが、種々の器官や組織が多種類の細胞から構成されており、それぞれの種類の細胞の性質を発現情報を応用して解析することを考えると、数十個、できれば、単一細胞からの発現情報を得る技術が不可欠であり、これらの技術の確立を目指します。また、種々の細胞株に対して、物理的・化学的な刺激（さまざまな薬剤の添加、紫外線や放射線刺激、低酸素など）を与え、これらによって生ずる遺伝子発現変化のデータをあわせて収集します。これら多数の体系的な発現情報解析を行うことによって、膨大な遺伝子発現情報を獲得し、機能がすでにわかっている遺伝子と疾患の発症との関連を明らかにしたり、機能未知の遺伝子の中から知的財産となりうべき疾患関連遺伝子を見つけだします。これらの研究成果は病気を起こす機序の解明につながり、原因（エビデンス）に基づく画期的な新規薬剤の開発を推進する基盤情報を提供することになります。また、抗がん剤の効果とがん細胞における遺伝子発現データの比較によって、抗がん剤投与前の効果予測診断法の確立を目指します。

3. 研究の体制

期 間：2000年4月～2005年3月

構 成：プロジェクトリーダー1名、コアメンバー2名（東京大学医科学研究所・ヒトゲノム解析センター・ゲノムシーケンス解析分野・荒川博文助手、古川洋一助手）で構成されています。
実施場所：東京大学医科学研究所・ヒトゲノム解析センター

