

拒食症の感受性遺伝子の網羅的同定と機能解析による 発症カスケードの解明

Genome-wide identification of genes for anorexia and their
cascade analysis on disease development by functional study

猪子 英俊 (INOKO HIDETOSHI)

東海大学・医学部・教授



研究の概要

摂食障害は90年代後半より若年層を中心に急増した精神疾患であり、治療法や予後予測法の確立が待ち望まれる。我々は、マイクロサテライトを用いたゲノムワイドな相関解析法により独自に見出した拒食症感受性遺伝子群の機能・ネットワーク解析や、低分子リガンドのデザインを通して、疾患発症の分子機構を解明し、拒食症の治療・予防方策の基盤を構築する。

研究分野：総合・新領域系

科研費の分科・細目 複合新領域

キーワード：摂食障害 マイクロサテライト 相関解析 ネットワーク解析

1. 研究開始当初の背景

摂食障害は、90年代後半より急増した、予後不良の例も存在する深刻な精神疾患である。従来は母子関係が主要因とされてきたが、近年の疫学的研究や、双生児を対象とした遺伝学的研究は、遺伝要因が摂食障害の形成に大きな役割を果たすことを示している。従って、摂食障害の遺伝要因の解明と、見出された遺伝要因を基盤とする病態の解明は、疾患の治療・予防方策を構築する上での重要な課題であった。

2. 研究の目的

我々が開発した3万個のマイクロサテライトを用いたゲノムワイドな相関解析法によって同定した15個の拒食症感受性領域を基盤として、疾患感受性遺伝子を同定する。さらに、それらの機能・ネットワーク解析、疾患モデル動物作成などを通じて疾患カスケードを追求し、発症の分子機構を解明する。さらに、低分子リガンドデザインなどケミカルゲノミクスによる機能評価を行い、拒食症の治療・予防方策の基盤を構築する。

3. 研究の方法

多型の相関解析に加えて、resequencingを行い、強い遺伝的効果を持つ疾患感受性多型を明らかにする。見出された感受性遺伝子の機能・ネットワーク解析は、新たに構築した酵母ツーハイブリッド法を軸とし、疾患モデル作成には、ENU変異精子バンクを活用する。低分子リガンドデザインには、アルファスフ

ェア法等独自の *in silico* 法を駆使する。

4. これまでの成果

(1) 摂食障害感受性遺伝子の遺伝学的解析
独自のマイクロサテライト遺伝相関解析の結果同定された候補領域を対象とした、詳細な SNP 解析、及び、resequencing によって、4個の感受性遺伝子についての詳細な多型情報を得るとともに、新たに1個の感受性遺伝子を見出した。これらのうち4遺伝子については、脳・神経系での機能がある程度予測されているものであり、各々、シナプス小胞開口放出、神経系におけるエンドサイトーシス、神経系における細胞接着、及び、神経細胞の保護に関与する遺伝子であり、また、他の1個は、脳において高い発現を示す細胞死関連因子であった。いずれの遺伝子も、それらの脳・神経系での機能による摂食障害発症への関与が容易に想定されるものであった。また、我々の結果は、元来マイクロサテライトマーカーの利点として予想されていた、強い遺伝的効果を持つものの頻度が低い多型の検出する上での高い有効性を検証した点でも重要である。

(2) 健常人における摂食障害感受性多型の効果

摂食障害と相関する遺伝的多型が、一般的な健常人の体質等の表現型に効果を及ぼす可能性を検討する目的で、健常女子学生を対象とした解析を行った。その結果、テストケースとして解析した1多型が、体型的には、いわゆる「やせ」と関連を持ち、また、心理

学的に「新規性追求」の得点が低い傾向にあることが判明した。この、摂食障害の遺伝要因が健常人の表現型に検出可能な影響を及ぼしていることを示す結果は、摂食障害発症の出発点を探る上で意義深いものである。

(3) 摂食障害感受性遺伝子のマウス変異体の解析

同定した摂食障害感受性遺伝子の個体における機能の解明、疾患との関連の検証、疾患モデル動物作成を目的として、疾患感受性2個について、計4個の点突然変異精子を同定し、4変異については、遺伝的に純化した変異個体を作成した。点突然変異は、とりわけ、うつや統合失調症等の精神疾患の解析に有効であることが期待され、他の1遺伝子のノックアウトマウスとともに、特に、ストレス付加時の行動に焦点を当てて解析を進めている。

(4) 摂食障害感受性遺伝子群の機能・ネットワーク解析

摂食障害感受性遺伝子の分子機能を明らかにし、疾患に関わる生物学的ネットワークを同定すること、さらに、創薬ターゲットとして有望なタンパク質相互作用表面を同定することを目的として、酵母ツーハイブリッド(YTH)法を軸とした相互作用解析を行った。従来法の欠陥を克服した独自システムを用いて、神経伝達物質放出関連遺伝子、及び、神経系エンドサイトーシス関連遺伝子の2感受性遺伝子を対象とした解析の結果、主に、シナプス小胞開口放出・リサイクリングに関与する多数の相互作用因子を同定した。この結果は、摂食障害発症の起点として、シナプス小胞開口放出・リサイクリングが重要な意味を持つ可能性を示唆する。さらに、相互作用因子には、我々が独自に同定した2型糖尿病感受性の神経系特異的エンドサイトーシス関連遺伝子が含まれており、摂食障害と糖尿病の分子的リンクとして興味深い。

5. 今後の計画

遺伝学的解析に関しては、resequencingをより広範に行うことによって、強い遺伝的効果を持つ多型をさらに探索するとともに、それらが健常者の体質に及ぼす効果を精査する計画である。感受性遺伝子の機能・ネットワーク解析に関しては、遺伝的に純化したマウス変異個体の解析を、ストレス付加時の行動、並びに、シナプス小胞開口放出・リサイクリングや、シナプス情報伝達に焦点を絞って進め、個体レベルでの疾患機序の解明を進めるとともに、変異個体の疾患モデルとしての有用性を検証する。また、感受性遺伝子産物が関与する相互作用を FRET、BRET、PCA (Protein Complementation Assay) を用いて生細胞で動的に解析する。一方、同定した相互作用の相互作用表面の詳細なマッピングを行い、この情報を元に結合低分子化合物

の設計を in silico で行い、上の生細胞内相互作用アッセイを用いて化合物の効果を検証する。これらのアプローチによって、摂食障害の形成の分子的・生理学的機序を明らかにするとともに、独自のコンセプトに基づく医薬品シーズの創出を実現し、拒食症・過食症等摂食障害の予防と治療対策の基盤を構築する計画である。

6. これまでの発表論文等

- (1) Mano S, Endo A, Oka A, Ozawa A, Gojobori T, Inoko H: Detecting linkage between a trait and a marker in a random mating population without pedigree record. PLoS ONE 4: e4956, 2009.
- (2) Ohtsuka M, Kimura M, Tanaka M, Inoko H: Recombinant DNA technologies for construction of precisely designed transgene constructs. Curr Pharm Biotechnol. 10: 244-251, 2009.
- (3) HUGO Pan-Asian SNP Consortium, Abdulla MA, Ahmed I, Assawamakin A, Bhak J, Brahmachari SK, Calacal GC, Chen CH, Chen YT, Chu J, De Ungria MC, Delfin FC, Edo J, Fuchareon S, Ghang H, Gojobori T, Han J, Ho SF, Hoh BP, Huang W, Inoko H et al Indian Genome Variation Consortium: Mapping human genetic diversity in Asia. Science 326: 1541-1545, 2009.
- (4) Nakabayashi K, Komaki G, Tajima A, Ando T, Ishikawa M, Nomoto J, Hata K, Oka A, Inoko H, Sasazuki T; Japanese Genetic Research Group for Eating Disorders (JGRED), Shirasawa S: Identification of novel candidate loci for anorexia nervosa at 1q41 and 11q22 in Japanese by a genome-wide association analysis with microsatellite markers. J Hum Genet 54: 531-537, 2009.
- (5) Bahram S, Inoko H: Microsatellite markers for genome-wide association studies. Nature Reviews Genetics 8: 164, 2007.
- (6) Ota M, Fukushima H, Kulski JK, Inoko H: Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Nature Protoc 2: 2857-2864, 2007.

ホームページ等

<http://inoko.med.u-tokai.ac.jp/index.htm>