

研究題目 Non-coding 領域における乾癬関連 SNP の解析

研究組織

研究代表者：沖 真弥（九州大学大学院 医学研究院）

共同研究者：竹本龍也・沢津橋俊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

乾癬は皮膚が慢性的に角化して発疹を生じ、脱毛や痒みなども伴う自己免疫疾患であり、日本人では約 1,000 人に一人が発症するといわれる。遺伝的な要因も大きいと、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) もさかんになされているが、他の疾患同様、一塩基多型 (marker SNP) の多くが non-coding 領域に存在するため、乾癬との因果関係はほとんど説明できていないのが現状である。

申請者は、世界中で報告されたほぼ全ての ChIP-seq データを収集、計算、分析したデータを Web サービスとして公開している (ChIP-Atlas; <http://chip-atlas.org>; Oki et al 2018 *EMBO Rep*)。ここに収録された 700 種類以上の転写因子を含む、約 4 万件の human ChIP-seq データを活用し、さまざまな疾患関連 SNP に対する enrichment 解析をおこなったところ、乾癬の marker SNP 周辺には血球分化や炎症反応に重要な転写因子が顕著に結合し、本疾患が自己免疫疾患であることと矛盾しない結果を得た。興味深いことにこれら複数の転写因子は、marker SNP の連鎖不平衡領域内で集中的に結合する「hotspot」を形成していた。このような hotspot は様々な転写因子を結合し、遺伝子発現制御に必須と考えられるため、本研究ではその機能解析のための予備的な実験を行なった。

[1-2]研究の方法・経過

乾癬の GWAS で同定された non-coding SNP の連鎖不平衡領域において、複数の転写因子が集中的に結合する hotspot を数十箇所見出した。それらのマウス相同部位を 20 箇所特定し、それらを CRISPR/Cas9 システムで欠失させるための guide RNA を設計した。これらを Cas9 タンパク質とともにマウス受精卵にエレクトロポレーションし、in vitro で胚盤胞まで発生させ、その genomic PCR で欠損効率を確認した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

マウスでも相同な hotspot 20 箇所のうち、両アレルを欠損したものが 9 ライン、片アレルを欠損したものが 8 ライン、欠損が確認されなかったものが 3 ライン存在した。今後は両アレルを欠損したマウスを作出し、皮膚の肥厚や炎症などの表現型を解析する。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

これまで、乾癬と関連する non-coding SNP がいくつも見つまっているが、それらがなぜ発症につながるのか？というメカニズムはほとんど分かっていない。このことは乾癬だけでなくその他の疾

患についても同様である。本研究では多くの転写因子を結合する hotspot に着目し、その欠損マウスを作出することにより、non-coding 領域に変異をもつ乾癬モデルマウスの作出が期待できる。またこの研究手法はその他の疾患についても応用できるため、non-coding SNP に起因する発症メカニズムの解明を一気に進めることができる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

1) [雑誌]

Oki S*, et al. ChIP-Atlas: a data-mining suite powered by full integration of public ChIP-seq data. EMBO Rep. 19(12):e46255. 2018. (* Corresponding author)

Lizio M, et al. (13 名中 9 番目) Update of the FANTOM web resource: expansion to provide additional transcriptome atlases. Nucleic Acids Res. 47(D1):D752-D758. 2019.

Mochizuki K, et al. (11 名中 7 番目). Repression of Somatic Genes by Selective Recruitment of HDAC3 by BLIMP1 Is Essential for Mouse Primordial Germ Cell Fate Determination. Cell Rep. 24(10):2682-2693. 2018.

Anan K, et al. (15 名中 11 番目). LSD1 mediates metabolic reprogramming by glucocorticoids during myogenic differentiation. Nucleic Acids Res. 46(11):5441-5454. 2018.

2) [書籍]

Oki S and Ohta T. ChIP-Atlas: Database for visualization and use of public ChIP-seq data. In: Abugessaisa I and Kasukawa T eds, Practical Guide to Life Science Databases, Springer Nature, in press

[3-2]学会発表

沖 真弥. 公共 ChIP-seq データをフル活用し、遺伝性疾患の解明や創薬に挑む. 質量分析インフォマティクス研究会 (招待), 東京, 2019/3/19

沖 真弥. 公共 ChIP-seq データと疾患関連 SNP の統合解析. 第 41 回日本分子生物学会年会 (招待), 横浜, 2018/11/28

沖 真弥. 公共 ChIP-seq データをフル活用し、遺伝性疾患の解明に挑む. 第 16 回 JCGG シンポジウム (招待), 東京, 2018/11/26

沖 真弥. ChIP-seq とプロテオーム: 公共データをつないで使う. トーゴの日シンポジウム 2018 (招待), 東京, 2018/10/5

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

Hotspot の欠損が確認されたラインについては今後、変異マウスの作出を行う。また欠損できなかったものについては guide RNA を再設計し、欠損効率の再確認とマウス作出を進める。