

## 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

炎症性腸疾患は潰瘍性大腸炎とクローン病に大別され、前者は大腸のみ、後者では小腸や大腸をはじめとするさまざまな消化管に慢性的な炎症を起こす。両者ともに遺伝的な要因も大きいため、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) が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、炎症性腸疾患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 800 種類以上の転写因子を含む、約 5 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、炎症性腸疾患の 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

炎症性腸疾患の 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 25 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 25 箇所のうち、両アレルを欠損したものが 10 ライン、片アレルを欠損したものが 10 ライン、欠損が確認されなかったものが 5 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、下痢状の糞便や超組織の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、炎症性腸疾患と関連する

non-coding SNP がいくつも見つかった  
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。このことは炎症性腸疾患だ  
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  
スを作成することにより、non-coding 領  
域に変異をもつ炎症性腸疾患モデルマ  
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

Kaminuma E, et al. (14名中8番目) DDBJ  
Data Analysis Challenge: a machine  
learning competition to predict  
Arabidopsis chromatin feature  
annotations from DNA sequences.  
Genes Genet Syst. 95(1):43-50. 2020.

Honda M#, Oki S#\*, et al. High  
resolution spatial transcriptome  
analysis by photo-isolation  
chemistry. BioRxiv. 2020. (# Co-  
first author, \* Corresponding  
author)

Wu Z, et al. (8名中5番目) Cis-control  
of Six1 expression in neural crest  
cells during craniofacial  
development. Dev Dyn. 248(12):1264-  
1272. 2019.

Yoshizaki K, et al. (12名中5番目)

Paternal age affects offspring's  
behavior possibly via an epigenetic  
mechanism recruiting a  
transcriptional repressor REST.  
BioRxiv. 2020.

#### [3-2]学会発表

沖 真弥. ChIP-Atlas: 公共 ChIP-seq  
データを活用できる. 第42回日本分  
子生物学会年会(招待), 福岡,  
2019/12/3

沖 真弥. ChIP-Atlas をつないで使う.  
トーゴの日シンポジウム2019(招待),  
東京, 2019/10/5

Shinya Oki, et al. High resolution  
spatial transcriptomics method by  
photo-isolation chemistry.  
EMBO/EMBL Symposium: Multiomics to  
Mechanisms - Challenges in Data  
Integration, Heidelberg, Germany,  
2019/9/11

沖 真弥. ChIP-Atlas: 既報 ChIP-seq デ  
ータの統合データベース. 日本プロテ  
オーム学会2019年大会(招待), 宮崎,  
2019/7/26

#### [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。