

## 研究題目 Non-coding 領域における炎症性腸疾患関連 SNP の解析

### 研究組織

研究代表者：沖 真弥（京都大学大学院 医学研究科）

共同研究者：竹本龍也（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、全てのラインにおいて両アレルまたは片アレルを欠損したマウスを作出した。今後は全てのラインのホモ欠損マウスを作出し、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出することにより、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

Pecori, F., et al. (11 名中 8 番目) (2021). A defined glycosylation regulatory network modulates total glycome dynamics during pluripotency state transition. *Sci. Rep.* 11.

Yoshizaki, K., et al. (12 名中 4 番目) (2021). Paternal age affects offspring via an epigenetic mechanism involving REST/NRSF. *EMBO Rep.*

Hirayama, M., et al. (11 名中 4 番目) (2020). FTO Demethylates Cyclin D1 mRNA and Controls Cell-Cycle Progression. *Cell Rep.* 31.

Miyamoto, Y., et al. (17 名中 9 番目) (2020). Genetic loss of importin  $\alpha 4$  causes abnormal sperm morphology and impacts on male

fertility in mouse. *FASEB J.* 34, 16224-16242.

#### [3-2]学会発表

沖 真弥, Data-driven and technical approaches to understand spatial gene regulation, 第 43 回日本分子生物学会年会, 2020/12/3, (招待)

沖 真弥, ChIP-Atlas: 公共 ChIP-seq データを利活用できる, 第 43 回日本分子生物学会年会, 2020/12/2, (招待)

沖 真弥, ChIP-seq ビッグデータを統合解析し、薬剤の作用機序解明に迫る, 京都大学「医学領域」産学連携推進機構 / 一般社団法人芝蘭会 産学情報交流会, 2020/9/10, (招待)

沖 真弥, ChIP-Atlas の使い方と使われ方, 第 9 回生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2020), 2020/9/3, (招待)

沖 真弥, 空間的な遺伝子発現制御のしくみを探る, 第 9 回生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2020), 2020/9/2, (招待)

#### [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、ホモ変異マウスの作出を行う。また腸炎の発症が見られない場合は、DSS (デキストラン硫酸ナトリウム) を中程度に投与し、発症リスクの底上げを図る。