

疾患ゲノム情報と組織特異的マイクロ RNA 発現情報の 統合により、関節リウマチのバイオマーカーを同定

キーワード：マイクロ RNA、ゲノムワイド関連解析、ビッグデータ分析・活用、バイオマーカー

【研究成果のポイント】

- ◆ 疾患ゲノム情報と組織特異的マイクロ RNA^{※1} 発現情報を統合するインシリコ・スクリーニング^{※2} 手法を開発
- ◆ マイクロ RNA が組織特異的発現を介して数多くの疾患の発症に関与していることを解明し、関節リウマチ^{※3} の発症に関わる複数のマイクロ RNA をバイオマーカーとして同定
- ◆ マイクロ RNA と疾患病態の機能解析の加速と、マイクロ RNA のバイオマーカーや核酸創薬におけるスクリーニングに貢献すると期待

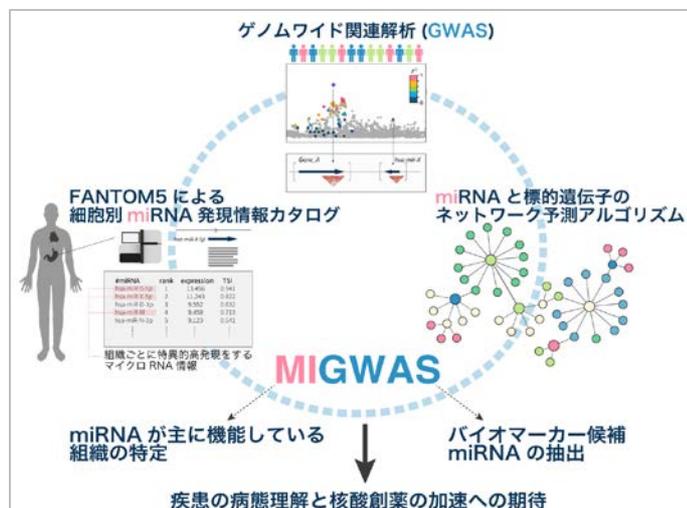
❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科(IFReC 免疫統計学兼任)の岡田随象教授らの研究グループは、大規模ゲノムワイド関連解析^{※4} 手法と、FANTOM5 コンソーシアムが構築したマイクロ RNA 組織特異的発現カタログデータを統合するインシリコ・スクリーニング手法を開発し、マイクロ RNA が組織特異的に作用することで数多くのヒト疾患の発症に関与していることを明らかにしました。

また、自己免疫疾患の一つである関節リウマチを対象に、患者由来サンプルでの実証実験を行い、関節リウマチの発症に関わる複数のマイクロ RNA (hsa-miR-93-5p, hsa-miR-106b-5p, hsa-miR-301b-3p, hsa-miR-762) をバイオマーカーとして同定することに成功しました。

これまでの研究で、マイクロ RNA が数多くの疾患に関与していることが示唆されてきました。しかし、疾患ゲノム情報を利用して網羅的にマイクロ RNA の関与を示すことは困難でした。岡田教授らの研究グループは以前、ゲノムワイド関連解析結果と、マイクロ RNA ネットワークをスーパーコンピューター上で統合するデータ解析手法を発表していました。

今回この手法を発展させ、さらに細胞組織特異的マイクロ RNA 発現情報と統合的解析を行う、**インシリコ・スクリーニング手法 MIGWAS** の開発に成功しました(図)。MIGWAS の開発により、マイクロ RNA が生体内のどの組織で機能して、どの疾患の発症に関与しているかを明らかにしました。本研究成果により、**マイクロ RNA と疾患病態の機能解析の加速と、マイクロ RNA のバイオマーカーや核酸創薬におけるスクリーニングに貢献することが期待されます。**



MIGWAS の概要
 新たに開発されたゲノムワイド関連解析と組織特異的マイクロ RNA 発現情報を統合するインシリコ・スクリーニング手法

❖ 研究の背景

ノンコーディング RNA^{※5} の一種であるマイクロ RNA (miRNA)は、コーディング RNA^{※6} であるメッセンジャーRNA (mRNA)と結合することで特定の標的遺伝子の転写産物の翻訳を調節します。近年、自己免疫疾患や悪性腫瘍など多くのヒト疾患においてマイクロ RNA の関与が注目され、バイオマーカーや創薬対象としての研究が進展してきました。マイクロ RNA の遺伝情報も私達の DNA の一部に組み込まれており、ゲノムワイド関連解析の実施により遺伝子と疾患の関連が次々に明らかになってきたことと同様、マイクロ RNA のゲノム情報から疾患への関与も推定できることが期待されます。しかしながら、ヒトゲノム配列上でマイクロ RNA をコードする領域が非常に短いことや、周囲に多数の遺伝子が存在する複雑なゲノム構造などから、疾患ゲノム情報を活用して網羅的にマイクロ RNA の関与を示すことはこれまで困難でした。さらに、世界に先駆けてマイクロ RNA のヒト細胞での発現情報をカタログ化した理化学研究所(予防医療・診断技術開発プログラム、生命医科学研究センター)の FANTOM5 コンソーシアムの研究結果からは、マイクロ RNA の発現量が組織に依存して著しく異なり、非常に組織特異的に機能することが判明していました。組織特異的な mRNA 発現情報やエピゲノム情報と、ゲノムワイド関連解析の結果の統合解析により多因子疾患の病態がこの数年で次々に明らかになってきた現状を考えると、マイクロ RNA による組織特異的な疾患発症機序の解明が求められていました。

❖ 本研究の成果

研究グループではこれまでに、ゲノムワイド関連解析の結果とマイクロ RNA-標的遺伝子ネットワークをスーパーコンピュータ上で統合する、データ解析手法を開発していました(Okada Y et al. *Sci Rep* 2016)。今回、解析対象を 50 万人 49 疾患の大規模ゲノムワイド関連解析へと広げ、さらに理化学研究所(予防医療・診断技術開発プログラム、生命医科学研究センター)が主導する FANTOM5 グループが構築した 179 のヒト細胞における網羅的マイクロ RNA 発現情報を組み入れる**網羅的なマイクロ RNA のインシリコ・スクリーニング手法 MIGWAS(miRNA enrichment in GWAS)**の開発に成功しました。MIGWAS の開発により、**疾患の発症に関与するマイクロ RNA の同定に加え、どの組織でどのマイクロ RNA が働いているかが明らかになりました**。例えば、バセドウ病、全身性エリテマトーデス、クローン病等の自己免疫疾患の発症に関与するマイクロ RNA は免疫細胞で多く機能しており、心筋梗塞などの冠動脈疾患や LDL コレステロールに関与するマイクロ RNA は脂肪細胞で多く機能していることが示されました。

臨床サンプルを用いた実証実験として、関節リウマチ患者 30 名と健常者 33 名から得られた末梢血単核細胞からマイクロ RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いてマイクロ RNA の発現量を網羅的に検討する miRNA-seq 解析^{※7}を実施しました。MIGWAS の関節リウマチのゲノムワイド関連解析への適用によるインシリコ・スクリーニング結果と、miRNA-seq 解析結果を統合することで、**関節リウマチの発症に関わる複数のマイクロ RNA (hsa-miR-93-5p, hsa-miR-106b-5p, hsa-miR-301b-3p, hsa-miR-762)の同定に成功**しました。特に、同定したマイクロ RNA の一つである hsa-miR-762 は、免疫細胞で特異的に発現し、かつ関節リウマチ患者群において健常者群と比較して高い発現量を示したことから、**関節リウマチの発症を予測するバイオマーカーとしての臨床応用が期待**されます。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究成果により、**マイクロ RNA の生体内の各組織での機能や、その異常により疾患が引き起こされる機序の解明が加速することが期待**されます。脂質異常症といった一部の疾患では、すでにマイクロ RNA を用いた核酸製剤による治療が臨床応用されています。さらに多くの疾患で**マイクロ RNA による診断や創薬を行う試みに対しても、MIGWAS を用いたインシリコ・スクリーニングの活用がバイオマーカーや創薬標的の同定に貢献**することが期待されます。

❖ 用語説明

※1 マイクロ RNA

ノンコーディング RNA の一種。配列長が 20–25 塩基と短く、特定の標的遺伝子の発現の調節に関与する。マイクロ RNA は、自身の末端の配列と部分相補的な配列をもつ標的遺伝子の mRNA と結合することで、その遺伝子の翻訳の阻害を行う機能をもつ。

※2 インシリコ・スクリーニング

コンピューター上のアルゴリズムやプログラムを用いてデータ解析をすることで創薬対象物質などのスクリーニングを行うこと。インビボ(生体内)やインビトロ(試験管内)に対し、コンピューター(シリコンチップ上)で解析を行うことから名付けられた。

※3 関節リウマチ

自己免疫疾患(病原体を体内から排除するために機能している免疫システムが、自分の体を攻撃することで発症する病気)の一つで、関節の炎症と破壊を生じる疾患。国内に約 70~80 万人の患者がいると推定されている。

※4 ゲノムワイド関連解析(genome-wide association study; GWAS)

ヒトゲノム配列上に存在する数百万カ所の遺伝子変異とヒト疾患との発症の関係を網羅的に検討する、遺伝統計解析手法。数千人~百万人を対象に大規模に実施されることで、これまで 1000 を超えるヒト疾患に対する遺伝子変異が数多く同定されている。

※5 ノンコーディング RNA

転写後、タンパク質へ翻訳されずに機能する RNA の総称。その大きさにより、small RNA と長鎖ノンコーディング RNA に大別される。

※6 コーディング RNA

転写後、タンパク質へ翻訳される RNA の総称。

※7 miRNA-seq 解析

次世代シーケンサーを用いて、マイクロ RNA の発現量を定量化する測定方法。マイクロアレイ技術を用いた従来の測定方法と比較して、より多くのマイクロ RNA の発現量を、より正確に定量化することが可能となる。

【研究者のコメント】 <岡田随象 教授>

ゲノムワイド関連解析に代表されるヒト疾患ゲノム情報と、マイクロ RNA に代表されるゲノミクス情報の分野横断的な統合は、大規模ゲノム・エピゲノム情報の適切な解釈と社会実装に不可欠と考えられています。本研究は、これまで疾患ゲノム解析研究を主導してきた岡田教授らのチームと世界に先駆けて網羅的ゲノミクスデータを構築してきた理化学研究所(予防医療・診断技術開発プログラム、生命医科学研究センター)FANTOM5 コンソーシアムが共同研究を行うことにより達成することができました。すべての共同研究者の方に感謝を申し上げます。

❖ 特記事項

本研究は、日本医療研究開発機構(AMED) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患実用化研究分野)「疾患ゲノム情報を活用した自己免疫疾患における核酸ゲノム創薬の推進」の一環として行われ、理化学研究所(予防医療・診断技術開発プログラム、生命医科学研究センター)が主導する FANTOM5 コンソーシアム、大阪大学大学院医学系研究科 熊ノ郷淳教授(呼吸器・免疫内科学)、大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門、大阪大学大学院医学系研究科 バイオインフォマティクスイニシアティブの協力を得て行われました。

❖ 掲載情報

【掲載誌】 *Nucleic Acids Research* (2018年11月8日 オンライン掲載)

【タイトル】 “Integration of genetics and miRNA-target gene network identified disease biology implicated in tissue specificity.”

【著者】 Saori Sakaue, Jun Hirata, Yuichi Maeda, Eiryu Kawakami, Takuro Nii, Toshihiro Kishikawa, Kazuyoshi Ishigaki, Chikashi Terao, Ken Suzuki, Masato Akiyama, Naomasa Suita, Tatsuo Masuda, Kotaro Ogawa, Kenichi Yamamoto, Yukihiko Saeki, Masato Matsushita, Maiko Yoshimura, Hidetoshi Matsuoka, Katsunori Ikari, Atsuo Taniguchi, Hisashi Yamanaka, Hideya Kawaji Timo Lassmann, Masayoshi Itoh, Hiroyuki Yoshitomi, Hiromu Ito, Koichiro Ohmura, Alistair Forrest, Yoshihide Hayashizaki, Piero Carninci, Atsushi Kumanogoh, Yoichiro Kamatani, Michiel de Hoon, Kazuhiko Yamamoto, and Yukinori Okada*.

(* 責任著者)