



このご講演は2017年5月13日に行われた全脊柱連第20回総会時に池川志郎博士が20周年記念講演として行われたものです。大変むづかしい内容を何とか我々が理解できるようにとジョークを交えながら話された、先生のあたたかいお気持ちの伝わってくる内容です。ゆっくり読んでいただくと、ああそういうことかと分かってきてうれしくなりますから、是非ゆっくり読んでくださいね。(といっても、X ◎ O ? X O ?? . . . よくこんなことがぱっぱ出てくるんですね～ . . . 同じ人間なのに～～ 事務局)

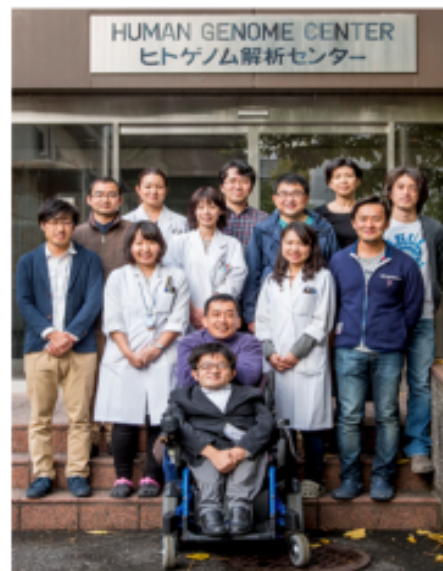
ゲノムから靭帯骨化症へ

-頸椎後縦靭帯骨化症の原因遺伝子、RSPO2の発見-

池川志郎

理化学研究所
統合生命医科学研究センター
骨関節疾患研究チーム

<http://www.riken.jp/lab-www/OA-team/research.html>



ゲノム (genome)

生物の生命活動を規定するプログラム

生物が持つ遺伝情報のセット

DNAの塩基 (G, A, T, C)の配列からなる『遺伝暗号』

30億の文字で書かれた本

‘Book of Life’

(百科事典 約1,000冊分)

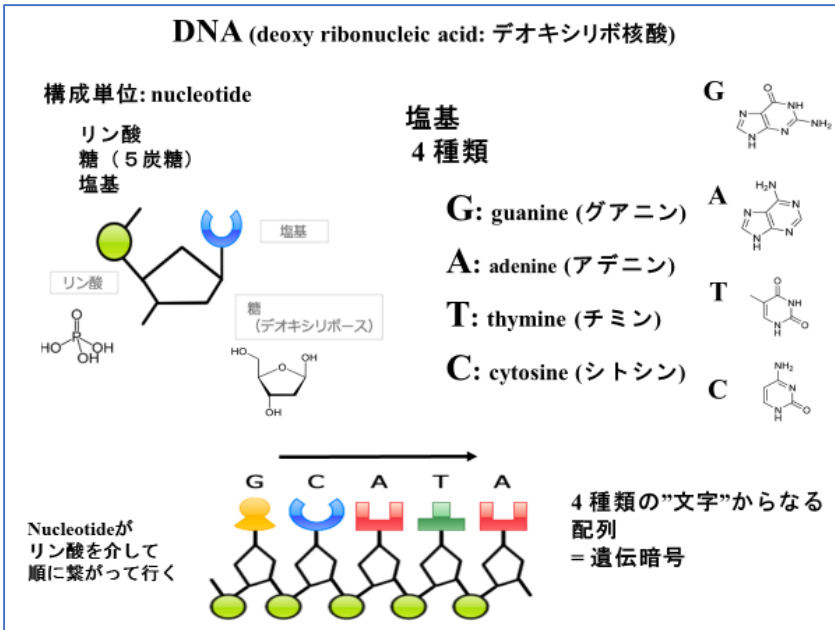
父と母贈呈

『理研(理化学研究所)』って、ご存じですか？ スパイ事件、新しい原子、ニホニウム、後、小保方さん？ 今日小保方さんの話はしません。STAP細胞だけじゃなくて理研はいろんなことをやっていて、医学の研究もやっています。私はゲノムというものを使って病気の研究をやっています。今日は病気、みなさんの病気、OPLL、後縦靭帯骨化症の話させていただきます。

ゲノムからこの病気に挑もうというのが私

のやっている仕事です。

では、まずゲノムって何か ということなんですけども、 わかりますか？ ゲノムって何でしたっけ？ ゲノムとは何か。どうですか？



遺伝子。ゲノムとは遺伝子である？ ちよっと違う。

ゲノムって、難しくいうと『生命、生物の生命活動を規定しているプログラム』です。生物がもっている遺伝情報のワンセット。お父さんから1コピー、お母さんから1コピー、計2コピーのプログラムです。遺伝子の集合体と考えてもえればいいです。

じゃあ、遺伝子って、何でしたっけ？

覚えている人……。中学・高校で習いましたよね、生物で。 遺伝子とは何か？？

遺伝子って暗号です。コード。 DNA=デオキシリボ核酸でできた暗号です。 DNA の構成単位は3つです。 リン酸と糖(五炭糖=リボース)、それと塩基、この3つの要素でできています。

塩基は4種類です。G、A、T、C - グアニン、アデニン、チミン、シトシン。 高校の生物1の授業、思い出しました？ この4つ、これが遺伝暗号。ヌクレオチドがリン酸を介して順番に繋がっていきます。G A C T という4つの文字、この文字からなる並びができてきます。それがずーっと繋がってきて、これが暗号を形成しています。どんな暗号かという、基本的にはタンパク質のアミノ酸の配列、これを決めています

例えば ATG だと メチオニンというアミノ酸、GGC だとグリシンというアミノ酸、というふうに、ひとつひとつのアミノ酸を指定する。アミノ酸が繋がったのがタンパク質です。たとえばコラーゲンであったり、トリプシン消化酵素であったり、そういうタンパク質を合成する暗号を形成しています。

暗号は簡単です。3つの塩基の配列。例えば ATG。 例えば TAT。 その3つがひとつのアミノ酸を指定しています。3文字セットで1つのアミノ酸。 ということで、3文字、それぞれ4通りあるから $4 \times 4 \times 4 = 64$ 個のコードがあるということになる。これが 20 種類のアミノ酸と、アミノ酸をつくるのをやめましょうという暗号 = ストップコードに対応しています。例えば TTT といったらフェニルアラニン、TCC といったらセリンというアミノ酸に対応する。こういう単純な暗号です。

そのゲノム、さっき言った G、A、T、C の塩基の並び、これがずっと続いていると言いましたけども、そのゲノムの塩基の数、あなたのプログラムのコードの文字の数って、どれくらいだと思いますか？ 3 万個ぐらい？ もう一声、30 万？ いや、私のプログラムは複雑だと、そんな簡単に書いてあるわけない、こんな紙で書き切れないぐらい、300 万？ 30 億？

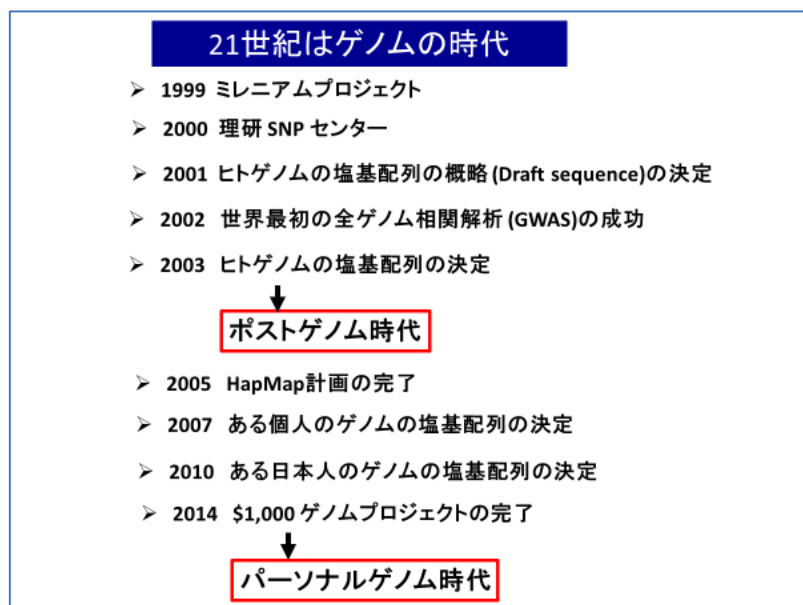
そうです。 30 億の文字で書かれているあなたのコード、あなたのプログラム。 GATCGATC.....30 億、ずーっと並ぶ。お父さんから 30 億、お母さんから 30 億。それであなたができています。

じゃあ、これは実際どれくらいの数なのか？ ちよっと考えてみましょう。紙と鉛筆もっていただいて、1文字1ミリで G、A、T、C と書いてみてください。30 億ってどれくらいかという、こんな計算になります。

一個1ミリですから30億個=30億ミリ。10ミリ=1センチ、100センチ=1メートル、1000メートル=1キロメートル。ですから、3000キロメートル、ずーっと並ぶこととなります。枕崎から電車に乗ってずーっと3000キロメートルってどれくらいまでいくか。JRに乗って3000キロ、ずーっとGATCGATC…と1ミリずつ書いていってどこまでいくのかということ、どうですか？

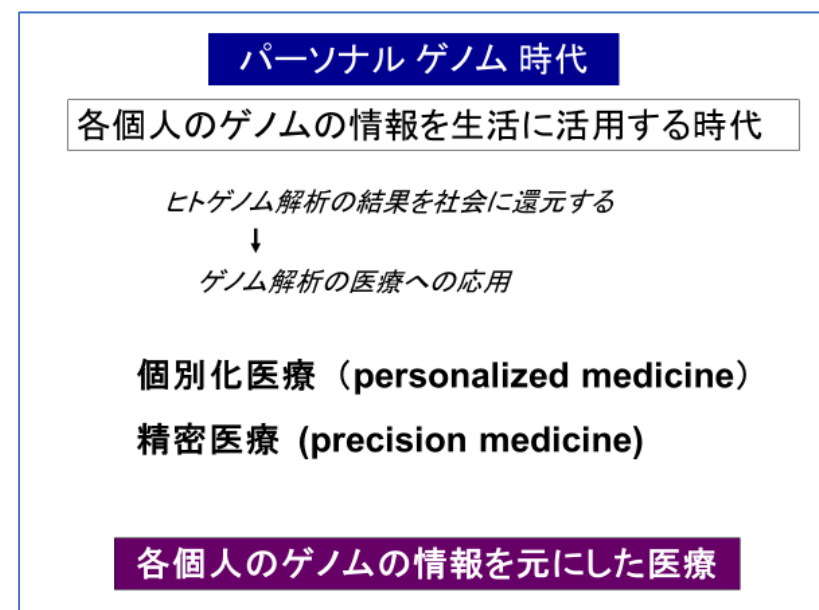
いきなり聞かれてもわかりませんよね。わかんない。わっかんない。正解です。「稚内！」。そうなんです。枕崎からJRに乗って稚内まで、3111キロあるんだそうです。日本列島の端から端まで行くぐらいあなたのDNAの暗号ってずっと続いているんです。だからあなたって「複雑！」なんです、私はそうでもないんですけど…大阪ぐらいで止まっています。

じゃあ、なんでゲノムなのか、なんで今そんなモノを研究するのか ということなんですけれど…



21世紀はゲノムの時代です。21世紀の直前にミレニアムプロジェクトというものが始まりました。日本の国家プロジェクトです。科学でもって日本国を盛り上げようというプロジェクト。2000年に我が理研のゲノムセンターができました。そして2003年には早くもヒトゲノムの塩基配列、さっき言った30億の標準配列というのがもう決まっちゃいました。ヒトゲノム計画の成果です。ですから今スマホですとかパソコンですとかでヒトのゲノム配列がフリーで、誰でも簡単に見れます。

ということで、もうこのへんで2000年のまんなかぐらいで、『ポストゲノム時代』ということになりました。もうゲノムは分かったと。それからさらに国際メガプロジェクトというのがあって、クリントンさんやブレアさんがもの



凄いお金をかけて、日本もかなりのお金をかけて、ゲノムをどんどん計画を進めてきました。そしてここ2007年に、ある個人のゲノム配列、これがもう決まっちゃった。2010年には日本人に関して、誰かわからないとされているある日本人のゲノムの塩基配列が読まれました。ヒトゲノム計画で決めたのはみんなのゲノム配列の集合、人類の代表の標準ケースなんですけれど、ここではもう1人1人の、あなたの、わたしの30億のゲノム配列というものが読まれるような時代になっちゃいました。

そして、このへんで、千ドルゲノムプロジェクトというものが始まりました。3年前ですね、千ドルゲノムプロジェクトも2014年に終わっちゃいました。これどんなプロジェクトかという、千ドルで、あるひとりのヒトのゲノム配列、私のあなたの配列も読んであげましょう。そういう技術革新やりましょうというプロジェクトです。今や個人個人のゲノムが分かりますからパーソナルゲノム時代ということになりました。

千ドル、高いと思います？ 安いと思います？ あなたのプログラムは千ドルで分かる。先週だと 1 ドル 115 円ぐらいだから 11 万円ちょっとでああなたの遺伝子全部読めちゃうという時代です。

『次世代シーケンサー』というのを 10 台ぐらい並べて使うと、情報解析の時間を除けばだいたい 3~4 日ぐらいです。トータルでも 2~3 週間ぐらいかな。どれだけ人件費をかけるかです。それでゲノム配列は読めてしまいます。と言う事で、もう我々はパーソナルゲノム時代にいます。

ゲノム情報をどのように医学・医療に生かしていくか？

ゲノムで分かる(分かり得る)こと

感受性/成り易さ(発症リスク)
進行

重症度

治療に対する反応、治療効果の個人差

薬物治療: 消炎鎮痛剤, ヒアルロン酸治療

理学療法: 運動など

再生医療: 移植細胞の性能、ホスト組織の状態

疾患感受性
遺伝子

それはどんな時代か？ 各個人個人のゲノムの情報を生活に活用する時代です。ヒトゲノム解析の結果を社会に活用する。一番の活用の仕方は、当然、医療です。自分の生物としてのプログラムが分かるわけです。そのプログラムの異常が病気になる。じゃあ、そのプログラムを知れば病気の原因が判るんじゃないか。医療にもどんどんこういうゲノム情報をつぎ込んでいこうという動きが進んでいます。

この言葉聞いたことありますよね。個別化医療、パーソナライズド・メディシン Personalized Medicine。オバマさんが言

いだしたプレジジョンメディシン、精密な医療、正確な医療。この通り、もう、各個人のゲノム情報をもとにした医療がすでに始まっています。

もう『パーソナルゲノム時代』ですから、例えば、ある人のことを本当に知りたかったら、今一番どうすればいいか。私でもあなたでも、誰かある人のことを本当に知りたかったら、一番安くいい方法は？ この人のゲノム情報を読んでしまえばいい。だって 10 万円ちょっとです。私立探偵雇うより安いです。私立探偵雇って、この人を 1 週間ずっとつけまわしても、どこで何しているか、ちょっと分からないですよ。

ゲノム情報はもう巷に溢れています。例えば、遺伝子検査、聞いたことあります？ スマホ、パソコンをお手元にお持ちの方、一杯いますよね。ググって(Google で調べて)みてください。キーワード、「遺伝子検査」とやってみてください。何件ぐらいヒットすると思います？ 5 択です。A. 1 万件、B. 10 万件、C. 100 万、D. もう一声・・・ ちなみに池川志郎ってやると 3000 件ぐらいしかでません。「遺伝子検査」、昨日やったらこれだけ出ました。1600 万件。それくらいもう遺伝子検査って世の中に出回っています。

パーソナルゲノム時代。いわゆるダイレクト・トゥー・コンシューマー・テスト (Direct To Consumer test: DTC)、直接、検査会社と患者さん(消費者)が行う医療関係のテストで、お医者さんと関係なく遺伝子検査もできちゃいます。外国のいろんな企業、日本のいろんな企業が遺伝子検査やってくれます。ガンや生活習慣病、親の識別、体質診断など簡単にやってくれます。スマホからちょこちょこっと情報入れて、オンライン決済でお金払うと唾液のキットを送ってきます。それに検体を入れて返すと、パスワードを送って来るから、ネットでちょこちょこっとやると、はい、あなたのガンになる率は 30% 出て出ます。おまけに、そうです、レポートまでくるからもうお医者さんなんかいらぬ。高畑先生の講演なんか聞かなくてもいいって彼らは言います。生活改善のアドバイスまでしてくれる。有名人がいろいろ。こんなことをやっているからこの人、都知事選に負けちゃう。

私はもと整形外科だったんですが、その整形外科の世界にも DTC、一杯広まっています。ガンの遺伝子、

これは当たり前ですね、ガンは誰が考えたって遺伝子の病気だから。でも、骨粗鬆症や関節リウマチ、変形性膝関節症、椎間板ヘルニア、そんな遺伝子を診断すると某社はいいます。

内情はどうか？ 私が研究している椎間板ヘルニアですとか、変形性膝関節症、側弯症とかのテストをしてみると、遺伝子多型を1つ調べれば遺伝子診断できちゃうって会社のパンフレットに書いてあります。簡単。ひとつか2つ遺伝子を調べれば、どれぐらい、ぎっくり腰、ヘルニアになるか分かっちゃう。ほんとうなら、OPLLもそのうち検査項目にのるようになるかもしれません。

私、怒っています。なぜかという、この遺伝子、この遺伝子・・・みんな私がみつけました。私の許諾なくこんなことをやっています。私は論文にはっきり書きました。これひとつだけ見つけたんでは分かりませんよ、これは多遺伝子病、複数の遺伝子からなる病気ですから、こんなひとつの遺伝子では説明できるような病気じゃないですよ、と。私のみつけた大事な遺伝子、勝手に使って、勝手に商売しているからすごく怒っています。新聞にもはっきり書いたんですけど、これだけやっても分かりませんよと。だってそんなに病気って単純じゃないですよ。

ゲノムの情報、これをどのように医学・医療に活かしていくかということなんですが・・・。ゲノムで分かることはこれくらいです。ガンの感受性、進行、進むか進まないか、それから重症度、悪くなるかならないか、それから治療に対する効果、そういうのも今、分かるようになりました。抗がん剤が典型ですね。あらかじめ遺伝子のタイプが決まれば、もうその薬、効く効かないがほとんど分かっちゃいます。ですから、この薬のタイプが効く人に入れれば副作用なくて済みます。余計な副作用がない。医療費も節約できます。

私が主にやっているのは、疾患感受性遺伝子といって、病気の発症のリスク、なりやすさを決めるような遺伝子、OPLLになりやすい遺伝子、これを探しています。

病気と遺伝に関してはいろいろ概念の変化がありました。遺伝病って2種類、2カテゴリあります。

1つは、単一遺伝子病というやつです。これみなさんがぱっと思いつく、『普通の』遺伝病です。狭い意味での遺伝病です。非常に稀な病気、例えば骨形成不全症、軟骨無形成症と言った疾患。骨形成不全症は骨が薄くなっちゃって、ちょっと転んだだけでもポキッと簡単に折れちゃう。かわいそうな病気です。軟骨無形成症もそうです。私みたいに胴長短足になって足が伸びなくて小さくなって、大人になっても身長が1メートル30センチぐらいしかない。こんな病気です。ですから誰がみてもああ病気だな、大変だなというそんな感じの病気の人です。いわゆるメンデル式の遺伝をします。疾患遺伝子という強い遺伝子があって、その遺伝子に異常があれば病気になります。遺伝子に異常がなければ病気にならない。単純な遺伝をします。

たとえばこんな病気です。生まれた時に死んじゃうような非常にシビアな病気とか、小さい時から全然成長がないとか、そういう病気です。でもみなさん頑張ってます。芸能界で頑張っている人もいます。アスリートとして頑張っている人も。プロレス、ボディスラム、私、できません。こういう遺伝病って昔からよく知られています。絵になんかも一杯書いてある。これ有名なベラスケスの絵です。スペインの王宮を書いたやつ。ちゃんとそういう人も社会の一員だということで、とりあげています。

単一遺伝子病に対して、もう1つの種類の遺伝病はこれです、多因子遺伝病。もしくは多遺伝子遺伝病。名前の通りです。1つの遺伝子だから単遺伝子、こちらは関係する遺伝子が一杯あるから多因子遺伝病。具体的にどんな病気かという、ありふれた疾患、生活習慣病、これはみんな多因子遺伝病です。例えば骨粗鬆症、変形性関節症、肥満、後縦靭帯骨化症、これみんな多因子遺伝病。頻度は非常に高いです。

たとえば高血圧、全人口の30%ぐらいです。血圧、私も140ぐらいでちょっと降圧剤を飲んでます。

多因子遺伝病の遺伝子は感受性遺伝子。疾患を決定するのではなくて、なりやすさ、感受性を決める弱い遺伝子です。ですからいわゆる危険因子、リスクファクターと考えてください。

単純化するとこういうことです。単遺伝子病って、王国みたいな感じ。偉い王様がいて、非常につよいインシアチブをもつ。ある会の会長が OPLL の研究に協力するんだといったら、みんなわーっときまる。専制君主。これが単一遺伝子病です。ですから病気の原因、非常に簡単です。

Complex trait

多因子遺伝病の『遺伝』は 複雑である

一方多因子遺伝病の方は合議制です。病気か病気でないか、中学高校のクラスで議事やっているようなもんです。いろんな意見、勝手な意見がでる。みんなの意見の総和でなんとなく決まっている。それが多因子遺伝病と考えてください。ですから、遺伝、病気になるかならないか、非常に複雑です。どっかの国の政治みたいな。でも、こういう多因子遺伝病は非常に多いです。みなさんがよく知っているような誰でもなるような病気、これが多因子遺伝病です。

ゲノム科学のおかげで医学が進歩して病気

の概念が変わったんだーと思っている方いると思うんですが、間違い。実はそんなことはみんな知っていたわけです。高血圧、肥満、そういう病気に遺伝の要素があるということは。例えばガン、うちの家系はガン家系です、といいますよね。うちのおじいちゃん、しおっからい味噌汁飲み過ぎて高血圧なっちゃったから、俺もぼちぼちヤバイよね。気をつけて減塩しようーなんて言ってますよね。いろんな病気、いろんなありふれた病気が遺伝することって、みんな誰でもうすうす知ってたわけですよ。あたりまえですね。ゲノムは、ツーコピー。お父さんからワンコピー、お母さんからワンコピー貰ってるわけだから、1/2 はどっちと同じ。血縁者が似なければおかしいです。となりのおじさんに似ていたら問題ですね。

病気（疾患）と遺伝／遺伝子：“遺伝性”疾患とは		
	単一遺伝子病 (単因子遺伝病)	多遺伝子遺伝病 (多因子遺伝病)
疾患	狭義の“遺伝病” 軟骨無形成症、骨形成不全症	“ありふれた”疾患、生活習慣病 高血圧、糖尿病、肥満、 骨粗鬆症、関節リウマチ、変形性関節症
頻度	まれ	全人口の数-数10%
遺伝形式	メンデル式	?
遺伝子	疾患遺伝子	疾患感受性遺伝子
遺伝子の 影響力	決定因子	危険因子

問題は多因子遺伝病の遺伝が複雑だったからです。だから遺伝が分かりにくかったのです。じゃあどういふふう

が……

ひとつのモデルです。多因子遺伝病ですから遺伝子、一杯あります。遺伝子が 6 つあるとしましょうか。5 人の人でこの遺伝的な要因、遺伝子の影響がどういふふうになるか、ちょっと計算してみましょう。

多因子遺伝病における遺伝子（感受性遺伝子）の影響

被検者：	risk				
	A	B	C	D	E
遺伝子					
G1	4	2	1	2	1
G2	1	2	1	1	1
G3	1	2	1	4	1
G4	1	2	4	2	1
G5	1	2	4	1	1
G6	1	2	4	1	1
Total risk	4	64	64	16	1

様々なモデルが考えうるが、ここでは、個々の遺伝子 (X1-6) が独立にリスクを増すとした

個々の遺伝子の影響力だけをみていたのでは、疾患の真の発症のリスクは、わからない

A があなた(増田さん)、 B があなた(太田さん)、 C があなた(渡辺さん)、 D があなた(片山さん)・・・そんな感じです。1 人 1 人リスクを決める。1 つ多因子遺伝病のリスク遺伝子を持っていると2 倍になる。みんな2個、遺伝子をもっていますから、ついてない人はリスク遺伝子を2つ持っていて $2 \times 2 = 4$ 倍、リスクが高くなる。すなわち、ローリスクの人は 1 倍(1 点)、中程度リスクの人は 2 倍(2点)、ハイリスクの人は 4 倍(4点) とリスクの判定が出来る。ここで、A さん、遺伝子 1、G1 に関してはハイリスクです。4 点。C さんあまりない。1 点しかない。同じことを

全ての遺伝子について順番に全ての人で調べてみます。

遺伝子 G2、 A さん、あまりリスクをもっていない。B さんはそこそこのリスク、C さんはあまりリスクもっていない。というようなかんじ。かけ算モデルで遺伝子が効いていくと考えます。そうするとAさんのトータルの遺伝的なリスクは、 $4 \times 1 \times 1 \times 1 = 4$ です。最初の G1 はハイリスクだったんですけど、あとはあまりリスクがないからトータルリスク 4 点ということになります。一方 B さんはみんな真ん中ぐらい。かけ算すると、64 点になります。かなりのハイリスク。C さん、最初がいいです。最初はローリスク、ローリスク、ローリスクときて、あとの方はみんなハイリスク ハイリスク・・・でかなりのリスクになっています。ついてる人はこんなふうにしてローリスク、あまりリスクが高くない。この人に比べて、D さんに比べて 16 分の 1 しかない。この病気、たとえば OPLL になる可能性は低い・・・なんてことになります。

言いたいことは、1つ1つの遺伝子をみていったら全然わからない。この遺伝子だけみると、Aさんでハイリスク、BさんCさんローリスクなんですけど。でも、多因子遺伝ですから全部の遺伝子あわせて考えてみると、Cさんってじつはすごくリスクが高いなんてことになる。

ということで私、さっき怒ったんです。遺伝子 1 つだけみても分からない、でしょう？遺伝子1つだけみて、OPLL リスク分かるかといったら、分からないです。これだけみたら A さんハイリスクですけど、でも本当は A さんローリスクだった。

言いたいことは、全ての遺伝子、関係する沢山の遺伝子がありますからそれをみんな見つけて考えていかないと全然真実は分からない。たとえば OPLL の会の意見を聞きましょう、このへんだけの話を聞いて、ふんぶん分かったと。東京へ帰ったら、全然みなさん他の人は違うことを考えている。なんてことになりかねない。それと一緒にです。ぜんぶトータルで考えないとダメです。

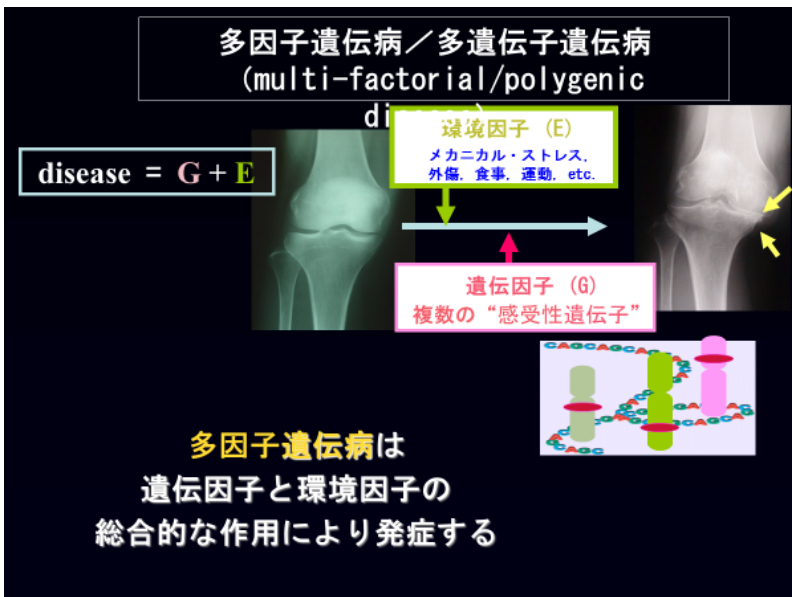
こんなおかしなことを巷の遺伝子診断ではやっています。この遺伝子だけみて、あ、この人危ないと。いうのはダメです。本当は、こうです。すべての遺伝子のリスクを総合的に判断する。

多因子遺伝病における遺伝因子と環境因子の影響 Effect of genes & environments in polygenetic disease

		各因子の与えるrisk				
被検者:		A	B	C	D	E
遺伝因子	G1	4	2	1	2	1
	G2	1	2	1	1	1
	G3	1	2	1	4	1
	G4	1	2	4	2	1
	G5	1	2	4	1	1
遺伝 risk		4	32	16	16	1
環境因子	E1	1	2	1	2	2
	E2	1	2	1	1	4
	E3	1	1	1	4	2
	E4	1	1	1	2	2
	E5	1	1	1	1	4
環境 risk		1	4	1	16	128
Total risk		4	128	16	256	128

それから、本当の本当は、もっと複雑です。なぜなら、多因子遺伝病は遺伝因子とそれから環境因子、その相互作用、それで決まります。病気って遺伝だけでは決まりませんよね。さっきお話あったように、環境因子、これも大事です。環境因子も各個人によって違いますよね。タバコ沢山吸う人もいる、ご飯を沢山食べる人もいる、私みたいに貧乏でお米食べれないような人もいます。みんな環境因子、一人一人違っていています。そして、多因子遺伝病ですから遺伝因子と環境因子のトータルの作用ではじめてその人の病気のなり易さというのが決まっていくということ

ですから、なかなか正確なリスクを知るのは難しい。でも、ひとつひとつ見つけていけば必ずここは分かると思っています。



環境因子、例えばメカニカル・ストレス、食事、外傷、そういったもの。それと遺伝子、複数の遺伝子の相互作用で初めて病気になります。多因子遺伝病のなりやすさが決まっていくということになります。

それ、当たり前ですよ。様々な形質が、親から子へ、子から孫へ伝わっていくわけです。でも遺伝子だけで全てが決まる訳ではないですよ。だって兄弟いるけれどみんな横綱になったかといったらそうじゃないですし、彼なんか幕下ぐらいで消えちゃったし。でも、家族は似ますよね、いいことも悪いことも似ますよね。運動神経がいい、力が強い、肥満体質、女癖が悪い、いいことも悪いことも似ちゃいます。病気も似ちゃいます。

では、どうやって遺伝をしらべるか？ このゲノムから病気を突き詰めていくか？

私はこの『遺伝子多型』というものを武器に仕事をしています。知っていますか？ 遺伝子のバリエーション。これです。30億×2のシーケンス GATC の配列、これをみんながみんな、全く同じ配列を持っているわけではありません。当たり前ですよ。みんな

遺伝子多型 (Genetic polymorphism)

ゲノムの塩基配列の個人差

遺伝子多型の頻度：各個人間で ~ 0.1%

遺伝子多型の種類

- 置換
SNP
- 欠失
挿入
- くり返し配列の長さの違い
VNTR、microsatellite (CA repeat)



同じ配列だったら同じプログラムだったら、みんな同じものができちゃいますから。みんな同じ顔になっちゃ

います。気持ち悪いですね。パッと見てみんな私の顔が見えたら、恐ろしくてしゃべる気にならないです。

そう、ヒトのゲノムの塩基配列、少しずつ違うところがあります。多様性がある。個性がある。こんなふうに、お父さんからみんなワンコピー、お母さんからワンコピー、ゲノムもらっていますけれど、個人個人で少しずつ違うところがある。これが遺伝子多型です。塩基配列のちょっとした違い。ちょっとした違いのおかげでみんな少しずつ違うわけです。頭の悪い人もいれば頭のいい人もいるし、綺麗な人もいればあまり綺麗でない人もいます。それはみんな塩基配列がちょっと違うから。でも同じ人間です。

ここでまた質問。では、その遺伝子多型って、どれくらいあると思いますか？ 私とあなたとお隣の方と、どれくらい違うと思いますか？ A. 0.1%、B. 1%？隣の人をもう1回よくみて、100に1つ、C. 3%、D. 10%、オッケー？ 正解は A です。0.1%=1000に1つ。あなたとあなたと、あなたと私、1000に一個ずつ違う。塩基配列、ほとんど一緒です。

相関解析

遺伝子多型を用いた疾患感受性遺伝子の同定

日常の臨床/目の前の患者さんから

多因子遺伝病 (Common disease、生活習慣病) へ挑戦

遺伝子配列のタイプとしてはいろいろあります。あるものがなくなったりとか、別の塩基になっているとか、いろいろタイプがあるんですが、一番大事なのはこれです。一塩基多型 (SNP: Single Nucleotide Polymorphism)。1つの塩基、たとえば G が、別の1つの塩基たとえば T に変わる、1番単純なタイプの遺伝子多型。この遺伝子多型を用いた相関解析という方法で、私は病気の遺伝子を見つけようとしています。

日常の、診察室の目の前の患者さんから出発する、そういう方法です。みなさんの情報をもとに病気の遺伝子を調べていきます。

やりかたは簡単です。まず表現型、病気なのか病気でないのか、患者さんなのか違うのかこれを一人一人、決める。病気は何でもいいです。高血圧でも肥満でも、もちろん OPLL でも。正確に診断して、病気プラスかマイナスか調べていく。

それから次にやることは、遺伝子のタイプを決めます。あなたは AA 型、あなたは CC 型というふうに、先程言った遺伝子多型、ゲノムの配列の個人の少しずつの違い、これを順番に調べていく。そして、それを最終的に

患者さんと患者でない人でどれくらい差があるのか統計的にチェックをする。

もし遺伝子が病気の遺伝子だったら、当然、患者さんの方に多いですね。病気に関係なければ患者であろうが患者でなかろうが、違いはないはずですね。ということで統計をやっただけで、これは病気に関係があるかないかということが分かる。

相関解析 (association analysis)

表現型 (病気の有無) と遺伝子型 (遺伝子多型のタイプ) の対応

	遺伝子多型		
	G/G	G/A	A/A
表現型 (OPLL)			
+	90	420	490
-	10	180	810

$$\text{統計: } \chi^2 = \sum \frac{(\text{観測値}_i - \text{期待値}_i)^2}{\text{期待値}_i}$$

患者に多い
遺伝子多型を探す

その時の問題は、非常に沢山のサンプルを集めることが必要になります。やっている統計は簡単です。病気がどうか、酒飲みの遺伝子だったら酒飲みかどうか。酒飲む人と飲まない人で遺伝子を調べてみれば分かるわけです。

相関解析の検出力 (Power)はサンプル数 (N)に依存する

N=100			N=200		
病気	遺伝子多型		病気	遺伝子多型	
	+	-		+	-
+	10	90	+	20	180
-	5	95	-	10	190
P = 0.17			P = 0.057		

病気+のひとの 10%、病気-のひとの 5%にみられる遺伝子多型

N=500			N=1,000		
病気	遺伝子多型		病気	遺伝子多型	
	+	-		+	-
+	50	450	+	100	900
-	25	475	-	50	950
P = 0.0026			P = 0.000022		

数は力なり!

1000 人だと、偶然にそんなことが起こる確率は 0.00000...です。偶然に起こる確率、こんなに少ないんだから、それは偶然じゃないでしょうということになります。

後縦靭帯骨化症

OPLL:

Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the spine

のゲノム解析

ということで、こういう研究には数が大事です。一人二人調べたんでは分からない。ということで、沢山の患者さんと沢山の医者さんの協力が必要です。そしてその協力を、ここにいるみなさんにやっていただきました。どうもありがとうございました。みなさんのおかげでここまでお話できるほど研究がうまくいきました。

そして、沢山の医者さんに手伝っていただきました。本当にありがとうございます。高畑先生どうもありがとうございます。一番やってくれたのは辻先生。はるばる北海道までやって来て、患者さんのみなさんを説得してくださいました。皆さん、びっくりしましたよね、手足が痺れて病院行ったら、いきなり血液を取ってゲノムを調べるという話をされる。何されるのかみんなびっくりしちゃうような、途方もない話。彼、ちゃんと患者さんに話をしてくれて、一杯サンプルを集めてくれました。おかげで、さっき示したような問題がクリアされました。

戸山班で 1530 ぐらい、3 年ぐらいの間に集めてくださいました。わずか 3 年でこんな

脊柱靭帯骨化症に関する調査研究班(戸山班)

OPLL遺伝子解析グループ

東京医科歯科大学・九段坂病院	川端茂徳・進藤重雄
岡山医療センター	竹内一裕
東京大学	谷口優樹
鹿児島大学	前田真吾
大阪大学	柏井将文・海渡貴司
自治医科大学	星地重都司
福井大学	中嶋秀明
富山大学	川口善治
京都大学	藤林俊介
弘前大学	田中利弘
新潟大学	渡辺慶
高知大学	木田和伸
山口大学	寒竹司
名古屋大学	伊藤全哉
滋賀医科大学	森幹士
大阪南医療センター	海渡貴司
浜松医科大学	小林祥
久留米大学	山田圭
杏林大学	高橋雅人
北海道大学	高畑雅彦

慶應大学 (GWAS事務局)

辻崇
千葉一裕
松本守雄
戸山芳昭

に集まったのはみなさんのおかげです。本当にありがとうございました。単に血液を集めただけでなくて、いろんな臨床のデータ、これもいただきました。これがないとさっきいったように複雑な遺伝と環境の関連、分からないですから、こういうデータが非常に必要です。

Quality & Quantity		施設	サンプル
戸山班で収集した OPLL サンプル		慶應義塾大学	392
		九段坂病院	129
		東京医科歯科大学	118
		岡山医療センター	93
		東京大学	91
		大阪大学	73
		自治医科大学	63
		福井大学	62
		富山大学	53
		京都大学	51
		鹿児島大学	51
		北海道大学	50
		弘前大学	43
		新潟大学	40
DNA		山口大学	33
		高知大学	32
		鹿児島赤十字病院	31
		名古屋大学	30
		滋賀医科大学	23
		大阪南医療センター	22
		浜松医科大学	20
		久留米大学	15
		杏林大学	15
		合計	1,530
臨床データ			
		性別	
		年齢、X線診断時年齢	
		頸椎 OPLL 数	
		BMI	
家族歴			

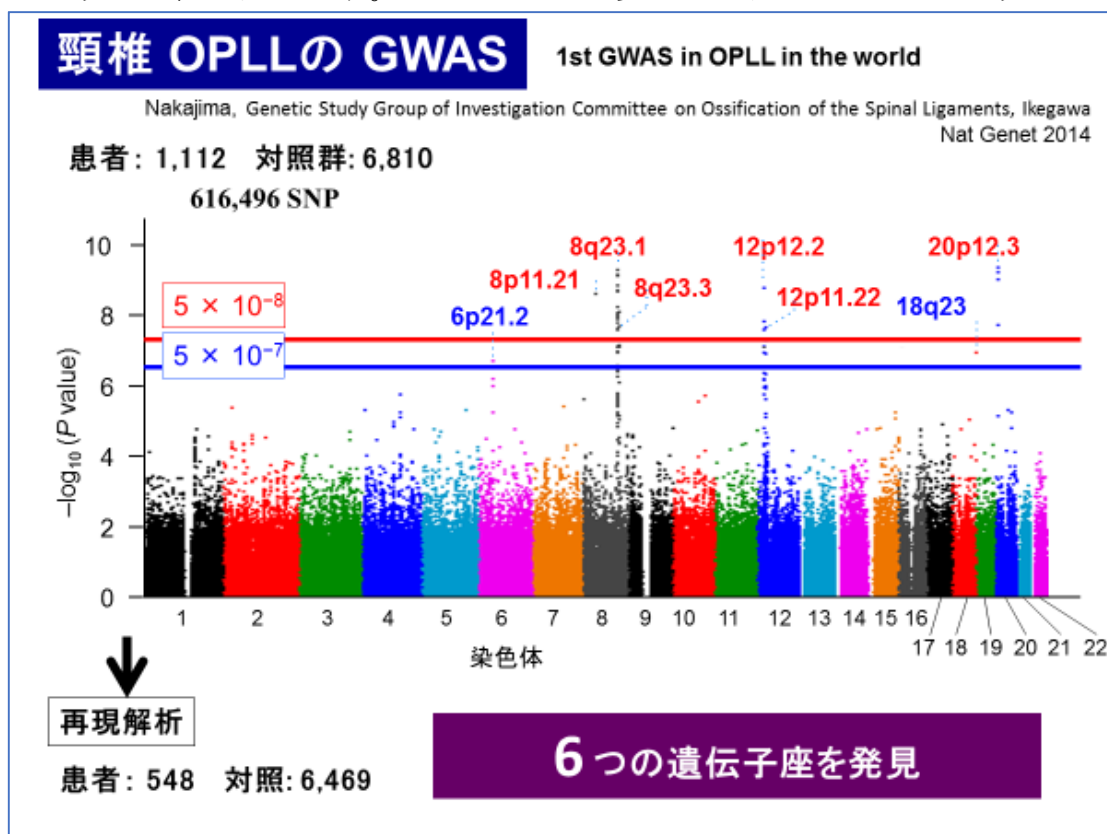
その後私がやったことは単純なことです。頂いた検体の中の遺伝子の GATC の配列を調べる。

どの遺伝子を追うか、2 つやり方があります。1 つは知識に基づくアプローチ、この遺伝子が怪しいと決めて調べていくやり方。見込み捜査ですね。病気の遺伝子探して要するに警察官、探偵さんの犯罪捜査です。患者の遺伝子を見つけようということです。ですからこれかなと決めて、遺伝子を調べる。でもこれ、なかなか当たらない。だって 30 億ですから。枕崎から稚内までずーっと探さないといけないわけです。なかなか当たらないで

す。

今の流行りはこちら、ゲノムスキャンというやつです。GWAS (Genome Wide Association Study) と英語でいいます。ゲノムを全部調べちゃう というやり方です。

ゲノム、大きいです。30 億です。大変です。枕崎から稚内です。でもその中のどこかにしか遺伝子の異常ってないです。その外には絶対ないです。ですから全部調べれば必ずみつかると。じゃあ枕崎から稚内まで一歩一歩、ずーっと歩いていけば必ずちゃんと調べれば見つかるんじゃない？ 所々調べるよりいいよねというのが今のやり方です。テクノロジーの進歩のおかげでそれができるようになりました。



そういうやり方を世界で一番最初にやったのが、我が理研です。2002年に最初に心筋梗塞で成功しました。今はもう誰でもできます。そして、OPLLでもやりました。

これがその結果です。ひとつひとつの点がさっきいった SNP の結果です。ここに 12 と書いてあるのは P のマイナス 12 乗、そんな偶然の確

率は 0.00000000001、---絶対それは偶然じゃないよというすごい値です。6 つぐらい病気が強い相関を示すことが分かりました。この中に OPLL の悪者の遺伝子があるということを報告しました。

GWASでの相関の発見 ≠ 遺伝子の発見

問題は、この相関解析の結果を出すと、みなさん、遺伝子が見つかったと喜んでくださるんですが、学問的に正確にいうと、相関をみつけたということは遺伝子をみつけたということではないです。残念ながら遺伝子そのものを見つけたのではなくて、遺伝子が存在しているだいたいの領域を見つけた ということになります。

先程の犯罪の捜査、探偵の話で言うと、犯人自体を見つけたというわけではないんです。犯人居場所、大体このへんにいるよね、というのを見つけたというだけです。あそ

この暴力団事務所のあるところに犯人がいると。でも、その中には怪しいやつ一杯いますから、どいつが本当にこの凶器でグサッと OPLL という犯罪の犯行をやったかというのは分かりません。ですから本当の犯人を、相関解析の後、捜さないといけません。

GWAS後の研究の道筋

GWAS



どうやって遺伝子を見つけるのか？

疾患と相関する SNP (Landmark SNP) の発見

連鎖不平衡 (LD: linkage disequilibrium): 同等の相関を持つ一群の SNP が存在

Statistic analysis (LD mapping, etc)



Landmark SNP と同等の相関を持つ一群の遺伝子多型の同定

疾患感受性多型の候補(候補多型)を決定

Dry experiment (big data analysis)



候補多型の機能、そのアレルによる違いを推定

コドン、転写、スプライシング、その他？

Wet experiment (hypothesis driven)



候補多型のアレルによる機能の違いを証明



疾患感受性遺伝子多型、疾患感受性遺伝子の発見

目下、相関を見つけてからその後の仕事を一生懸命やっています。学問的なことで非常に難しいことですが、今いったとおり、ひとつひとつ証拠をみつけていって、その中にいる犯人はこいつなんだ と、みつけようとしているわけです。

今回、その一つを見つける事が出来ました。その話をさせていただきます。

実際の 8 番の染色体の相関のある領域のデータです。この中には、同じくらい強い相関を示す SNP が、ほらこのように一杯あります。ですからこの中のどれが本当の原因なのか、犯人なのかこの段階では分からない。ではどうするのか、ひとつひとつその場所を調べて行きます。

この 8 番の染色体の領域の中の遺伝子を見てみると、3 つぐらいの遺伝子があるということが分かります。SNP がこの遺伝子のどれかに影響を及ぼして何か悪さをしているんだらう、OPLL の原因になっているのだ

ろうということがわかります。その遺伝子の中に RSPO2 (R-spondin 2) というのがありました。これが非常に怪しい。おいぼれ刑事池川、怪いなと思いました。なぜかという、RSPO2、元々骨とか軟骨の発生に関係するということが分かっていました。骨軟骨の形成を促進したり抑制したりする、骨の成長に関係する成長

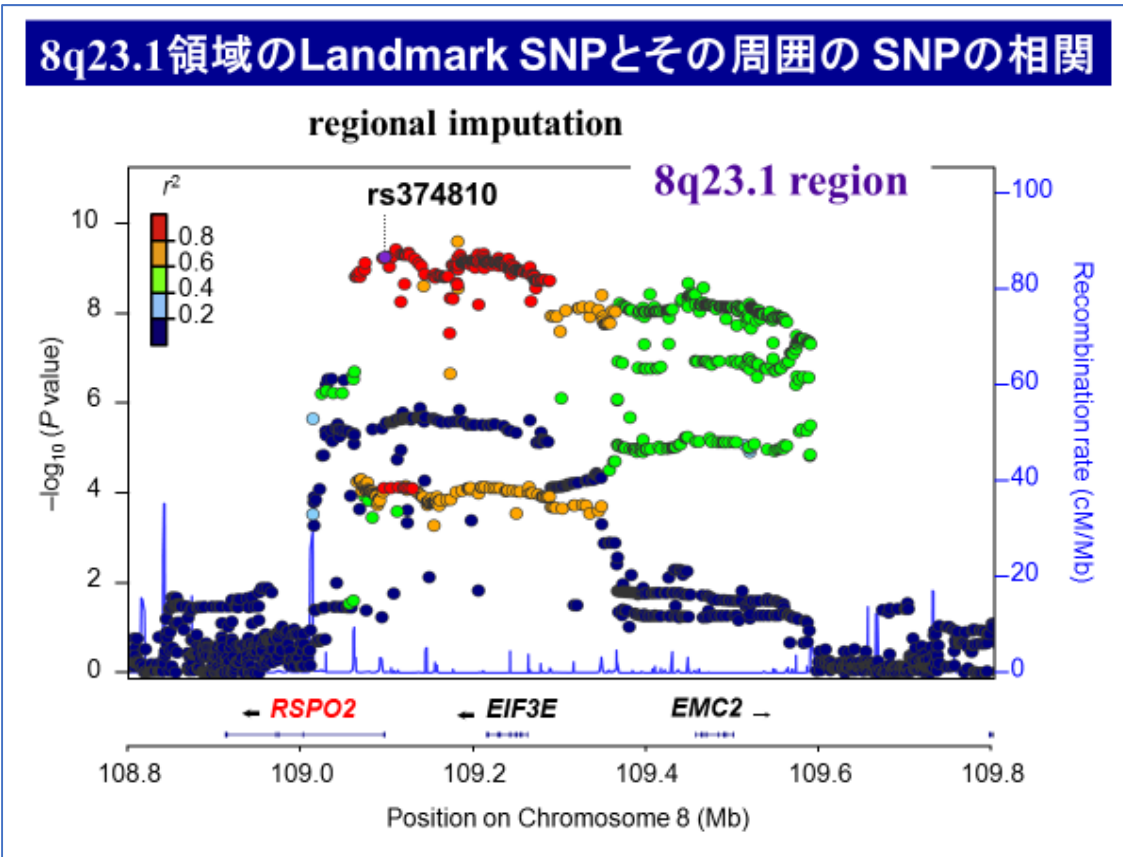
因子ということが元々この RSPO2 について分かっていた。じゃあ本当にそうか？以下、犯人捜しです。

犯人だったらまず犯行現場にいないといけないですよ。RSPO2 というのは OPLL に関係するような組織に本当に存在するのかを調べました。すると、隣の遺伝子はどんなところにもまんべん

なく出ているのですが、RSPO2 というのは、確かに靭帯ですとか、骨ですとか、軟骨ですとか、OPLL に関係があるような組織に一杯出ていることが分かりました。ということでこいつ、やっぱり怪しい。

次に、問題の相関の高い領域をよくみてみました。すると、RSPO2 の上流のところ、いわゆるプロモーター領域といって、遺伝子の量を調節するところに、この問題の SNP の相関があることが分かりました。やっぱりこいつに何か関係しそう。

遺伝子の異常って2つのカテゴリーがあります。質の問題と量の問題



RSPO2: R-spondin 2

細胞外分泌タンパク

骨・軟骨の発生に関する成長因子

Wnt/ β -catenin シグナルを増強 (co-activator)

骨・軟骨での機能

骨芽細胞形成を促進

骨芽細胞の石灰化を促進

軟骨形成を抑制



遺伝子の異常

質の問題
量の問題

遺伝子の量の調節

プロモーター

エンハンサー

です。遺伝子の蛋白が変わってなにか違う働きをすとか働きが強くなったり弱くなったり、そういうのが質の問題。もうひとつは量の問題は、遺伝子の量が減っちゃうとか増えちゃうとかということです。遺伝子の量の調節をするそういうゲノムの部位があります。プロモーターとかエンハンサーというものです。

例えば、私が仕事しないという問題がある。仕事しないのはなぜかという、私が歳とってきて、私の部品がガタがでてくる、といった質の問題かもしれません。一方、私の仕事量が

減ったから私の研究室の仕事が減っちゃった。仕事量が減ったのは私を支えてくれたプロモーター、私の上の課長さんがどうも最近サボって私をしっかり仕事させない。私を助けてくれるエンハンサー、秘書みたいな助けてくれる人がいなくなる。で、仕事ができなくなる。

今ビッグデータというのをを使ってパソコンから簡単にとれるデータが一杯あります。それを使って、RSPO2という遺伝子の領域を調べてみました。確かに軟骨での遺伝子、発現、量に関係することが分かりました。じゃあ発現をしっかり調べてみようということで、実際に RSPO2の発現がどうなっているかをヒトの細胞で調べてみました。SNPのタイプによって本当に発現の量が違うのか、これを調べました。問題の相関がみつかった SNPには TとCの2つタイプがあります。Cが病気の人に多い、いわゆるリスクタイプの SNP。みんな2つ SNPもっていますよ。ですから TT型の人と TC型の人と CC型の人、3種類。リスクを沢山持っている CC型の人、中程度の TC型と、持っていない TT型。それによって遺伝子の発現がどう変わるかとみていくと、このように、CCを持っている人は発現が少ないことが分かりました。ですから Cのリスク SNPは RSPO2の発現、遺伝子の量をどうも減らしちゃうみたいです。これによって RSPO2があまり出ない、沢山ない。じゃあ

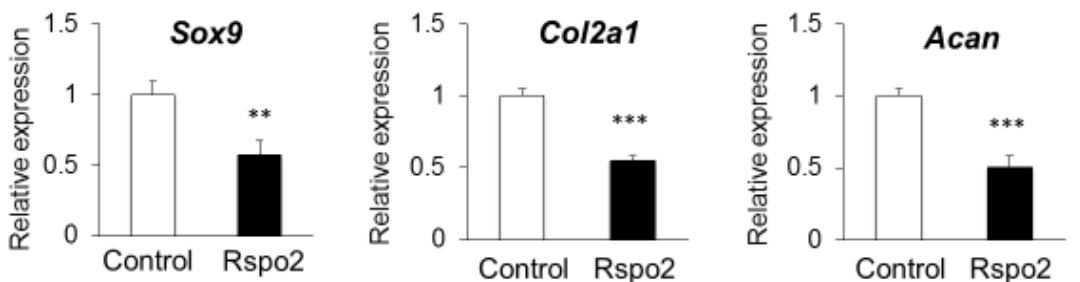
RSPO2がないとなぜ悪いのか。

そこで RSPO2の機能を調べにきました。軟骨に関係ありそうだとということで、軟骨の分化、軟骨の分裂が遅くて軟骨ができていく上で RSPO2ってどういう影響を与えたかを調べてみました。

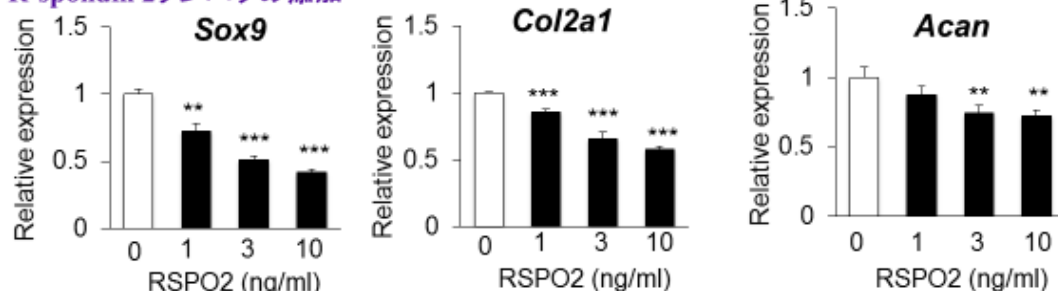
R-spondin 2 の軟骨分化に対する影響

ATDC5 cells

Rspo2 過剰発現



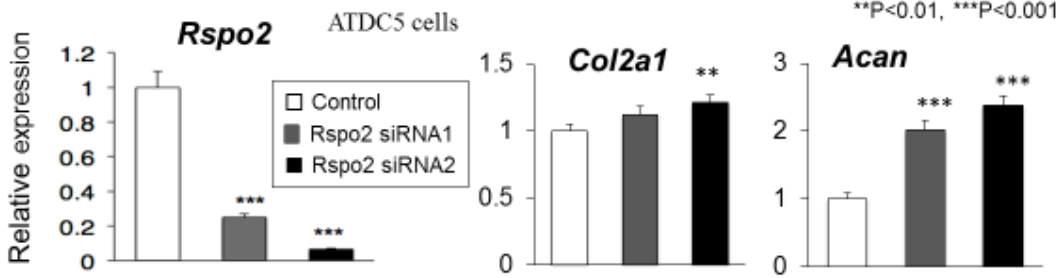
R-spondin 2タンパクの添加



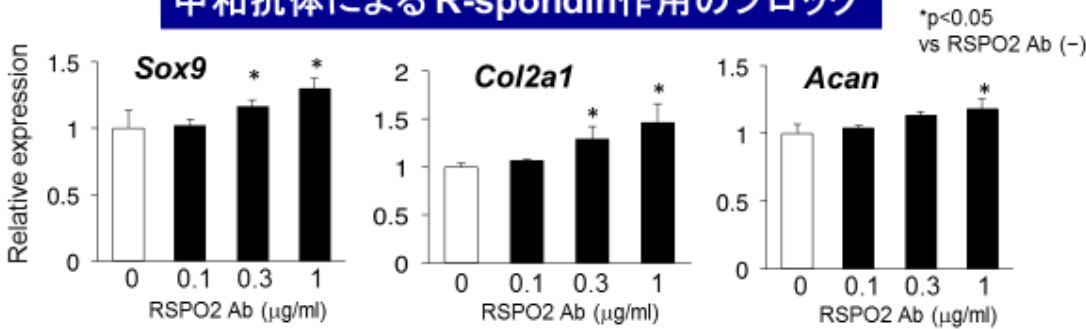
R-spondin 2 は軟骨の初期分化を抑制する

Rspo2 の機能の解明

R-spondin 2 の軟骨分化に対する影響: knock down



中和抗体による R-spondin 作用のブロック



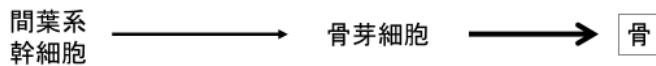
R-spondin 2 の機能阻害で、軟骨の初期分化が亢進する

RNAi という方法があります。遺伝子をノックダウン、遺伝子を減らしちゃう、そういう手法。RSPO2 の遺伝子をこういうふうに量を減らしてやるとどうなるか。AGC 1、アグリカン、これは軟骨の遺伝子です。2型コラーゲン、これも軟骨の遺伝子。RSPO2 を減らしてやるとこれらの軟骨遺伝子が上がります。同じように

骨化の様式(骨のでき方)には2通りある

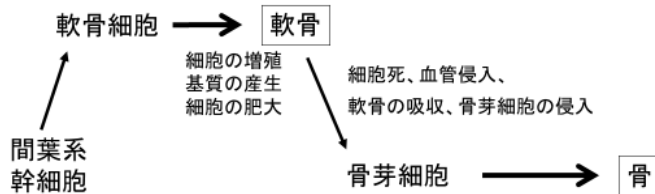
膜性骨化

直接、骨ができる



内軟骨骨化

まず、軟骨ができる
それが骨に置き換わる



抗体を使って、RSPO2 の働きを中和してダメにしてやります。するとやはり同じように軟骨の分化のマーカーの遺伝子が上がる。すなわち、RSPO2 を抑えてやると軟骨の分化が上がる。

じゃあ逆に RSPO2 を上げてやるとどうなるのか? やってみました。遺伝子を過剰発現させてやって RSPO2 をがーんと上げてやると、先ほどのアグリカンや II 型コラーゲンという軟骨のマーカー、こんどはがーんと下がります。別の方法、今度は RSPO2 をタンパク質にしてみました。同じです。やっぱり軟骨のマーカーは下がります。軟骨の分化は下がる。RSPO2 は軟骨の分化を抑えるそういう役割をしていることが分かりました。

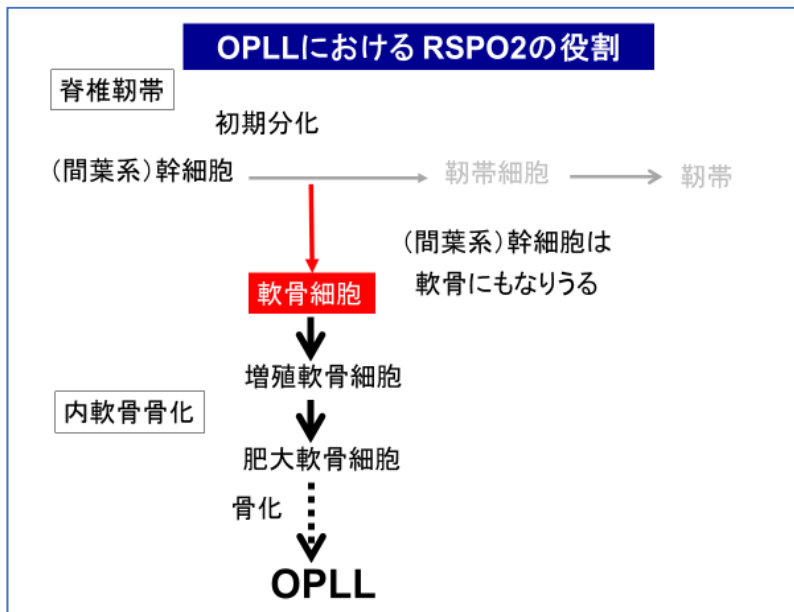
OPLL における RSPO2 の役割

脊椎靭帯



脊椎靭帯の再生

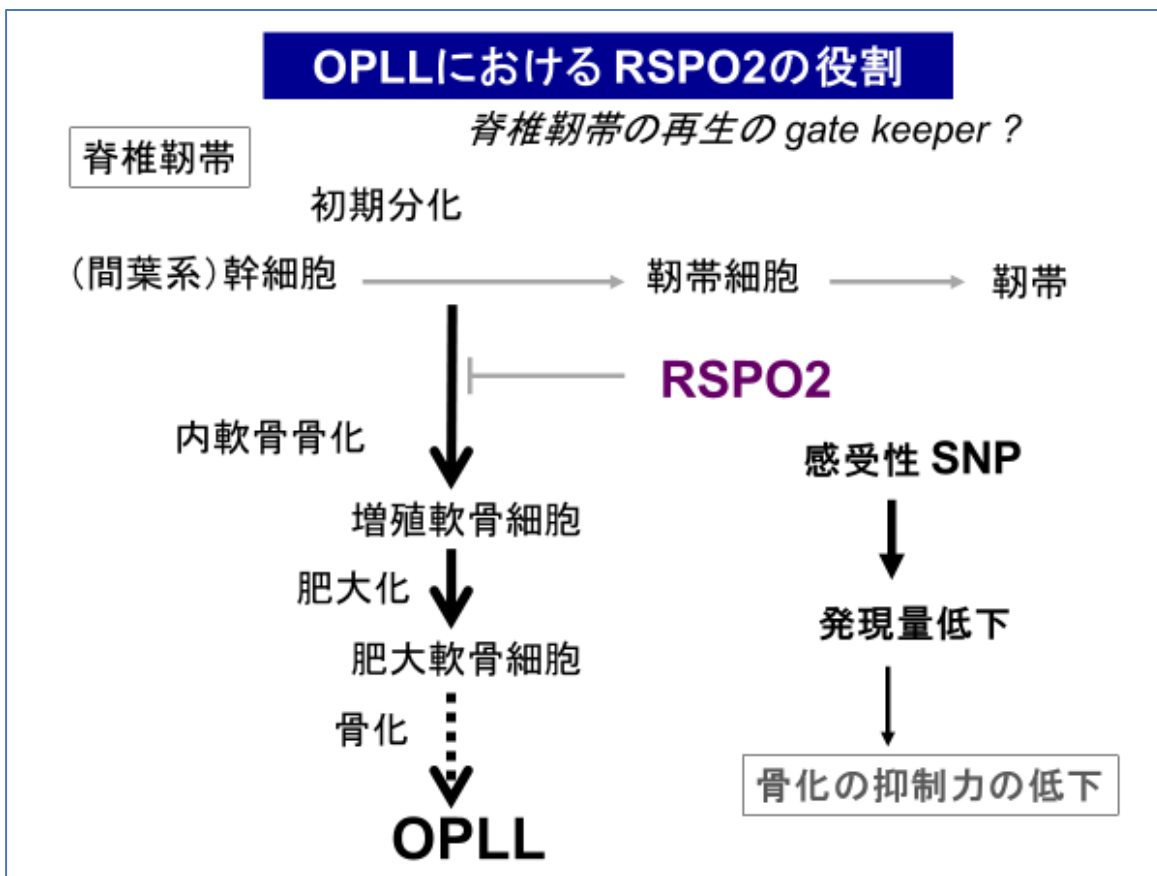
骨のでき方には二通りあります。1つは膜性骨化というやつです。未分化の間葉系幹細胞、これは iPS 細胞と同じく、何にでもなる細胞、万能細胞です。骨とか靭帯とか軟骨の中での万能細胞、だから中程度の万能細胞です。膜性骨化というのは万能細胞の間葉系幹細胞から直接、骨芽細胞という骨を作る細胞ができる。そういう骨の作り方です。



骨を作る細胞が直接できてそれが骨を作る。単純なやり方です。

もう1つの骨のでき方は内軟骨骨化。聞いたことありますか？ 名前の通りです。まず軟骨ができる。そしてそれが骨に置き換わる。そういう複雑な骨のでき方です。内軟骨骨化ではどういうふうになるかというと、万能細胞の間葉系幹細胞はまず軟骨細胞になります。これが軟骨の細胞を増やして、さきほどいったアグリカンやⅡ型コラーゲンのような基質を作って、軟骨を作る。軟骨として場所取りをする。そのできた軟骨

を壊しちゃって、吸収して、そこに骨を作る骨芽細胞が入ってきて、骨をつくる。こういう複雑なやり方をします。そして、OPLLは、これまでの研究で、この内軟骨骨化の異常があるということが報告されています。



じゃあそのRSPO2の役割、OPLLにおいてどんな役割をしているのかというと、脊柱の靱帯、これは再生しないといけないです。当たり前ですね、人の組織、だんだんへたってきますから。怪我をしたら傷みますよね。そのままだったらダメになるから当然再生して新しいものを作りなおさな

いといけないですよ。じゃあその再生どうやって起るのかといたら、間葉系幹細胞が靱帯の細胞へ分化をして、そして靱帯を作ってくれる。これでちゃんと再生をする。怪我をしても元通り治るわけです。

でも、さきほどからお話をしているように、この間葉系幹細胞というのは万能細胞です。ですから靱帯にもなりますけれど、軟骨にもなれる。ここに分かれ道があります。人生の分かれ道。高校へ行くか就職するかみたいな。軟骨細胞になっちゃったらどうなるかというと、軟骨細胞はどんどん増えて肥大して、さきほどお話ししたような内軟骨骨化を起こしちゃう。すると最終的には靱帯のところに内軟骨骨化でできたOPLLができてきちゃう。

RSPO2は、さきほどお話したように、その軟骨の分化を抑制しています。我々は間葉系幹細胞の初期の分化の所でRSPO2が軟骨細胞になるのを抑えていると考えています。ここをブロックしてやれば当然正しい道の靭帯細胞になるから、靭帯ができて、ちゃんとした靭帯として後縦靭帯は再生される。でもこのところで道を間違っちゃってここ(軟骨への分化)をうまく抑えてくれないと、こっち(靭帯)へいくものがこっちへ行っちゃって、異所性骨化が起こってOPLLができてしまう。こういうモデルを考えています。

そして問題の遺伝子多型は何をしているかという、RSPO2の量を減らしてしまいますから、その骨化の抑制の力、これが減っちゃうので、どんどんどんどんこっち(靭帯)じゃなくてこっちのOPLLへの誤った方への道を増やしていく。そういうふうに考えています。

ですから、RSPO2を賦活して、しっかり分化を止めて、ゲートキーパーというんですが、ちゃんと門番してもらって、こっちへいっちゃダメだよとパシッと止めてくれるようにしてあげれば正しい道へ行ってOPLLにならないと考えて、今、治療方法を考えています。

実際、研究はもう少し複雑なところまで分かっています。RSPO2の上流にCEBPBという転写因子があることが分かっている、実は問題の感受性の遺伝子多型というのはこの転写因子の結合力を抑えていることが分かっています。結合が下がるとプロモーターの活性が下がって、先ほどお話したようにRSPO2の発現が下がる。Wnt/ β -カテニン・シグナルというのを通じて働いているということも分かっています。ですからこの経路の中のどこかアタックし易いところを見つけて薬を作っていければ—というふうに考えています。

以上、ゲノムの時代のOPLL研究についてお話をしました。OPLLをゲノムからどういうふうにアプローチしていくか。ポイントは、ゲノムによるOPLL研究は現実の患者さんでの事実を元にした臨床研究であること。そう、みなさんの協力、これがなにより肝要です。

本日はご清聴ありがとうございました。