要　　約

報告番号	甲 (乙) 第　　号	氏　名	小　倉　洋　二

主 論 文 題 名

A Functional SNP in *BNC2* Is Associated with Adolescent Idiopathic Scoliosis
（思春期特発性側弯症の発症に関与する*BNC2*遺伝子内のSNPの発見）

（内 容 の 要 旨）

思春期特発性側弯症（Adolescent idiopathic scoliosis: AIS）は多因子遺伝病である。これまでに、Case 1033例とControl 1473例を用いて、ゲノムワイド相関解析（Genome-wide association study: GWAS）を行い、有意な相関を持つ2つの一塩基多型（Single nucleotide polymorphism: SNP）、rs11190870とrs6570507を同定した（Takahashi *et al*. Nat Genet 2011, Kou *et al*. Nat Genet 2013）。しかし、AISの病態解明や予測モデルの作成のためには、さらに多くのSNP、疾患感受性遺伝子の同定が必要である。本研究の目的は、サンプルを追加投入し、新たなSNP、疾患感受性遺伝子を発見し、AISの発症機序を明らかにすることである。

対象は10-18歳でAISと診断された患者とAISを発症していない人のサンプルをコントロールとして用いた。GWASには、Illumina Human 610k Genotyping BeadChipとIllumina Human OmniExpress Genotyping BeadChipの2つのgenotyping platformを用いた。両platformで、対象としているSNPが異なるため、imputationの統計手法を用いて約400万個のSNPについて遺伝子型を推定し、メタ解析を行った。これらのSNPについてコクラン・アーミテージ法で相関を調べた。

Case 2109例、Control 11140例に対してGWASを行った。先に同定したrs11190870 、rs6570507のP値はそれぞれ2.1×10^{-38}、2.8×10^{-9}とゲノムワイドレベルの有意な相関の基準、$P < 5.0 \times 10^{-8}$を満たすことが再現された。さらに$5.0 \times 10^{-8} < P < 1.0 \times 10^{-7}$を満たす27個の候補SNPに対して、GWASに用いたサンプルとは別のCase 958例、Control 3551例で相関を確認し、このうち、1つのSNP、rs3904778で再現性が確認され、そのP値は4.5×10^{-6}であった。GWASの結果と統合したP値は5.1×10^{-11}で有意な相関を示した。他人種での再現性を確認するために、中国人のAIS患者1268人と健常者1173人で相関解析を行ったところ、P値は1.1×10^{-3}で日本人の結果と統合すると最終的なP値は2.5×10^{-13}であった。

本SNPがどのようにAIS発症に影響するかを確認するために、機能解析を行った。本SNPはBNC2遺伝子の第3イントロンに存在する。rs3904778以外にも同程度のP値をもつSNPは3つあり、いずれも第3イントロンに存在することが分かった。これらの4つのSNPのうち、どのSNPがfunctional SNPであるのかを確認するために、ルシフェラーゼアッセイを行った。すると、4つのSNPのうち、rs10738445のみがエンハンサーとして働くことがわかった。EMSAとsupershiftの実験を行い、YY1という転写因子がrs10738445のreference alleleには結合しないのに対して、risk alleleにのみ結合することを発見した。一連のin vitroの解析から、YY1がrs10738445の塩基変化により、rs10738445周囲の配列に結合しやすくなり、BNC2遺伝子の発現を増やすことを明らかにした。次にBNC2遺伝子の機能解析を行った。BNC2遺伝子は脊髄、軟骨、骨で高発現していた。BNC2遺伝子の発現増加がAIS発症に関与するという仮説が得られたため、zebrafishを用いて、BNC2を過剰発現させたところ、側弯症が発症した。分子レベルでのAISの発症機序の解明は世界で初めてであり、今後の新たな治療法の開発や、予測モデルの開発に有用である。