

学 位 論 文 要 旨

氏 名 小金淵 佳江



論 文 題 目

A study of anthropological population genetics
about East Asian specific single nucleotide polymorphism
(東アジア特異的な変異に関する人類集団遺伝学研究)

指 導 教 授 承 認 印

小川

元之



A study of anthropological population genetics about East Asian specific single nucleotide polymorphism

(東アジア特異的な変異に関する人類集団遺伝学研究)

氏名 小金渕佳江

【第1章・緒言】

1000人ゲノムプロジェクトを始めとした世界規模のヒト集団ゲノム解読計画が進み、ゲノム多様性が定量化されてきた。2010年には約1,500万個の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) が報告された。NCBIのSNPデータベース (dbSNP) に登録済みのものに注目すると、その約56%がアフリカ人、ヨーロッパ人、東アジア人で共有されている (図1)。

一方で集団特異的なSNPも存在し、例えば全SNPの約2%が東アジア特異的である (図1)。こうしたSNPには表現型や疾患に関与するものが含まれている。集団のSNPアレル頻度の変動には①突然変異、②移住、③遺伝的浮動、④自然選択が関与しており、これら4つの要因の集団特異的SNP頻度に対する貢献度は集団遺伝学解析により推定することができる。本研究は、東アジア特異的に報告のあるSNPに焦点を当て、その頻度がいかなる要因の影響を大きく受けているか分析し、関連する表現型や疾患の進化的意義を理解することを目的とする。

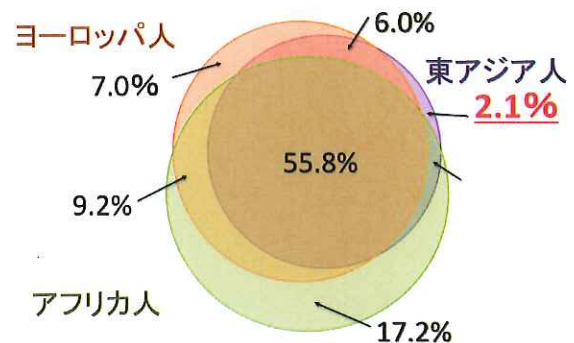


図1 同定されたSNPの割合を表すベン図。1000ゲノムプロジェクト(2010)を改変。

【第2章・アルコール代謝遺伝子 (ADH1B & ALDH2) の日本列島における頻度勾配が生じた要因の解明】

ADH1B遺伝子及びALDH2遺伝子の派生型アレルADH1B*47His、ALDH2*504Lysがそれぞれ東アジア人集団で特異的である。先行研究はこれらのアレル頻度分布が東アジアに偏っていることを自然選択の結果と解釈してきた。日本列島においては、南北端から本州の中央にかけてALDH2遺伝子のアレル頻度の偏り (頻度勾配) が観察される。この頻度勾配が生じた理由を明

らかにする目的で、琉球諸島（沖縄本島と宮古島、石垣島）及び北部九州でサンプリングを行い、*ADH* 遺伝子座と *ALDH2* 遺伝子座で東アジア特異的変異を含む合計 11 個の SNP タイピングを行った。その結果、*ALDH2* の派生型アレル

*ALDH2*504Lys* は琉球諸島より本土日本で高頻度だった（図 2a）。また *ADH1B* の派生型アレル *ADH1B*47His* も、琉球諸島より本土日本で高頻度であった（図 2b）。一方、琉球諸島内では *ADH1B* 派生型アレルが祖先型アレルより高頻度だった

（図 2b）。これまでの人類学や考古学の知見と合わせて考察すると、*ALDH2* 派生型アレルの頻度は約 8 千年前に中国南部で上昇し、約 2～3 千年前の弥生時代頃に大陸からの移民により日本列島にもたらされ、在来民との混血率の違いにより、頻度勾配が生じたと推定された。また、*ADH1B* 派生型アレルの拡散は弥生時代の移住よりも古く、縄文時代が始まった約 1 万 6 千年前頃と推定された。

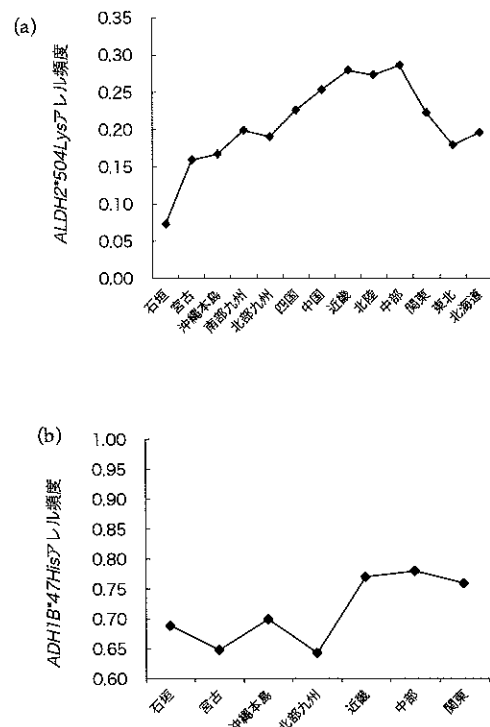


図 2 派生型アレルの頻度分布

【第 3 章・大型遺伝子の NGS 解析に向けた BAC ダブルキャプチャー法の開発】

遺伝的変異の詳細な進化学的解析を行うにはその変異を含む全領域の塩基配列が必須である。しかし、サンガー法で一度に決定できる配列長は 1.0kbp 未満であり、最近では次世代シーケンサー (NGS) を用い、ターゲットキャプチャー法により特定の広範囲のゲノム領域の濃縮を行って塩基配列を決定する方法がよく行われている。本研究では、バクテリア人工染色体 (BAC) をベイト (釣り針) とする BAC ダブルキャプチャー (BDC) 法を考案し最適条件を検討した。また、この新規法と従来法との比較を行った。まずベイト長の長さを 150bp から 850bp の間で作成し、オンターゲット率 (目的領域にマッピングされるリードの割合) を比較した。その結果、ベイト長が 350–750bp のものは他より高いオンターゲット率 (0.30–0.48%) を示した (図 3)。次にキャプチャ

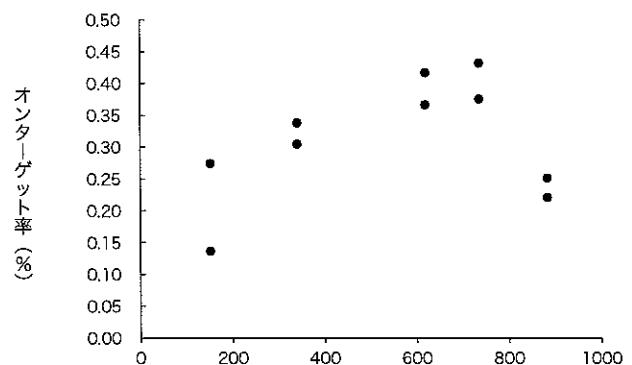


図 3 ベイト DNA 長の分布のピーク値 (bp)

一回数を比較した。その結果、回数が1回の従来法よりも2回のBDC法がより高いオンターゲット率が得られた(図4)。そして、BDC法でのハイブリダイゼーション温度を比較した。その結果、温度45度よりも65度のほうが高いオンターゲット率が得られた。よって、BDC法では長さ350-750bpのベイトを用い、ハイブリダイゼーションを65度で2回行うと従来法よりも高いオンターゲット率が得られた(図5)。今後さらにBDC法と商用製品とのキャプチャー効率の比較を行う。

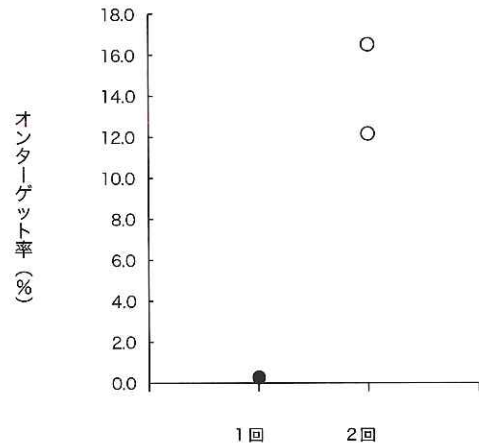


図4 キャプチャー回数の比較

【第4章・もやもや病感受性遺伝子 (*RNF213*) リスク変異の誕生と拡散史の解明】

RNF213 遺伝子の派生型アレルはもやもや病リスク変異であり、これまでに東アジアでのみ報告されている。オッズ率は日本人患者で111.8と特に高い。本研究では配列データをもとにこのリスク変異が生じた時期を推定し、これまで分かっている東アジアの集団形成史の中で、*RNF213* リスク変異の誕生と日本列島への拡散を考察する。

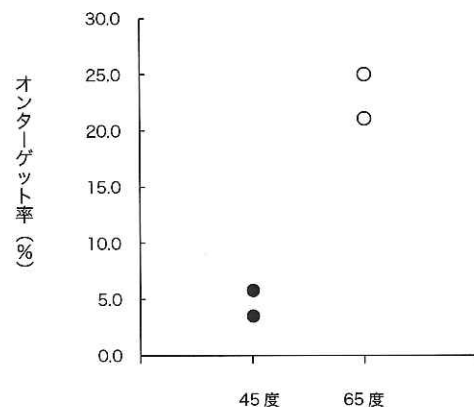


図5 ハイブリダイゼーション温度の比較

まず1000人ゲノムプロジェクトで公開されている日本人集団の配列情報より*RNF213*のリスク変異を含む11個のSNPをマーカーとしたハプロタイプ解析を行った。その結果、リスクアレルをもつハプロタイプは日本人集団のみに見られた。リスク変異が生じたハプロタイプ(ハプロタイプA)は、ヨーロッパ人集団(米国ユタ州のヨーロッパ系アメリカ人:8.6%)と東アジア人集団(日本人:13.5%、中国人:13.6%)で一定頻度存在していた(図6)。またアフリカの



図6 1000ゲノムプロジェクトの配列データを用いた*RNF213*ハプロタイプネットワーク。円の大きさは各ハプロタイプの頻度を表す。青:アフリカ人(ケニアのヨルバ族)、橙:ヨーロッパ人(米国ユタ州のヨーロッパ系アメリカ人)、グレー:中国人(北京)、黄色:日本人(東京)。黒丸は祖先型のハプロタイプ。

特定の民族集団にも非常に低い頻度（ケニアのルーヤ族：0.5%）ではあるが存在していた。すなわち、ハプロタイプ A は出アフリカとともにユーラシア大陸に拡散し、東アジアで偶然このハプロタイプ A にもやもや病リスク変異が生じて現在まで維持されてきたことが示唆された。変異が維持されてきた理由は、もやもや病の表現型が生存に有利だったとは考えにくいこと、またこれまでのプレリミナリな解析ではゲノムに正の自然選択の証拠が見られないことから、人口動態の影響（すなわち偶然）によるものと考えられる。

次に 1000 ゲノムプロジェクトで公開されている日本人集団の配列情報より、リスク変異の誕生時期を Coalescent simulation により推定した。その結果、その年代は 3,306 (+/-2,934) 年前であることが示された。この変異は中国人や韓国人、中国系台湾人にもみられているため、*RNF213* のリスク変異は 3,300 年ほど前に東アジアの集団誕生し、リスクアレルが生じた集団を祖先とする渡来系弥生人が日本列島に移住したことにより、日本列島人集団にリスク変異によるもやもや病が存在すると考えられる。今後さらに北里大学医学部脳神経外科で収集された 24 名のもやもや病患者より *RNF213* の配列情報を明らかにし、さらに詳細な解析を行う。

【結論】

本研究結果は、アルコール関連遺伝子 *ADH1B* と *ALDH2*、もやもや病感受性遺伝子 *RNF213* に見られる東アジア集団で特異的もしくは高頻度である SNP は、東アジア大陸から日本列島へ特定の時期に起こった移住を主要因とし、現在の日本列島でも一定頻度観察されることを示した。これは、日本列島ヒト集団に特異的もしくは高頻度に見られる形質や疾患は、それらの原因となる変異を持った集団が日本列島へ移住したこと、すなわち偶然により持ち込まれて現在まで維持されていることを示唆する。しかしこれらが、日本列島に持ち込まれる以前には自然選択により東アジアで頻度を増した可能性は残されており、より詳細なプロセスは今後の検証課題である。本研究で調査した SNP 以外にも東アジア集団特異的もしくは高頻度な SNP は報告されている。今後はそれらも調査対象とすることにより、東アジアの人類集団の形質や疾患の成り立ちを深く理解できるであろう。