JS5-6

遺伝子解析からの高血圧研究の展望

竹内史比古
国立国際医療研究センター(NCGM)研究所

http://www.fumihiko.takeuchi.name

第43回日本高血圧学会総会
2021.10.16　＠オンライン

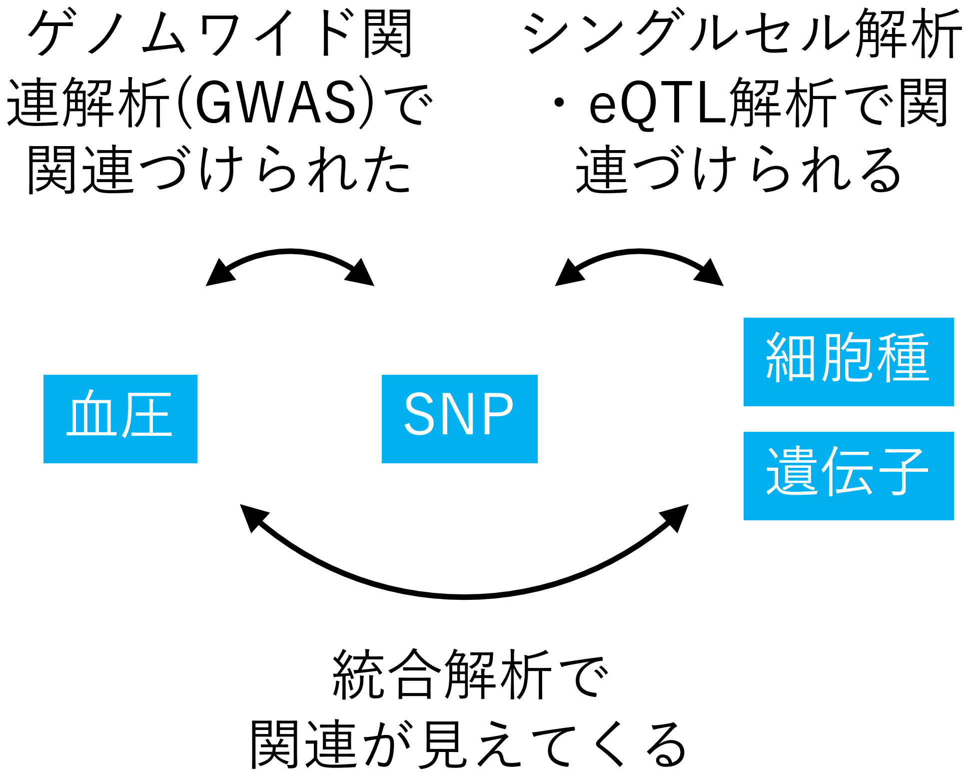
様式1-A 学術集会口頭発表時申告すべきＣＯＩ状態がない時

ＣＯＩ開示

発表者名:竹内史比古

演題発表に関連し、発表者らに開示すべき
ＣＯＩ関係にある企業などはありません。

要約



例. 近位尿細管における*AGT*発現が血圧に影響していると推測される

- ヒト大規模オミックス解析により、血圧制御に関する細胞種・遺伝子の仮説が探索できるようになってきた。
- モデル動物実験をデザインするヒントになる。

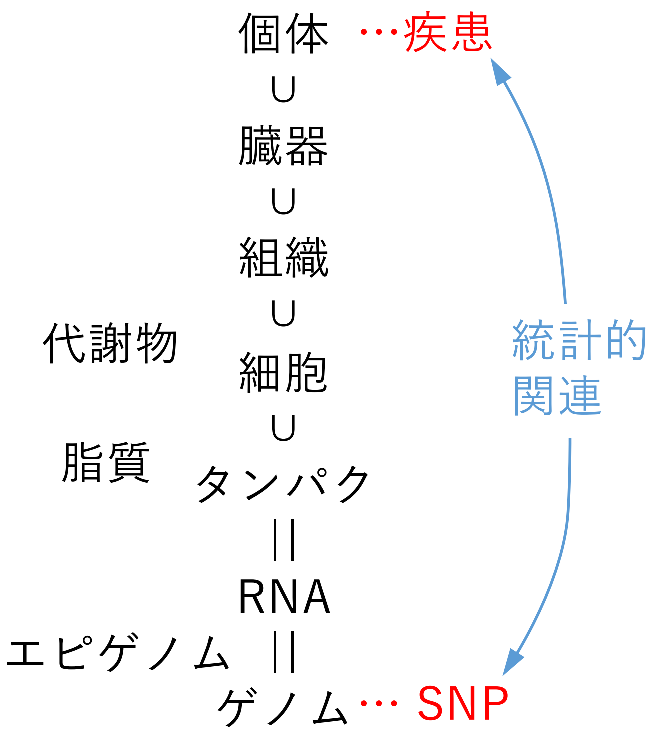
ゲノムワイド関連解析（GWAS）

GWASからの展開

- Enrichment解析
  ＝GWAS+シングルセル解析
- Colocalization解析
  ＝GWAS+eQTL解析

関連解析

- 目的
  - DNA変異により、その病気の罹り易さが変わる遺伝子（疾患感受性遺伝子）を見つける
- 疾患と一塩基多型（SNP）に着目
  - 生体階層構造の両端に離れている
  - 統計的関連（相関）が、ヒトでの因果関係を示唆する
  - 中間は、ブラックボックスとしてよい
- 関連解析
  - 疾患と関連するSNPを見つける
  - 関連SNPの位置にある遺伝子が、疾患感受性遺伝子のはず



ゲノムワイド関連解析（GWAS）

- 目標
  - ゲノムワイドに、ありふれた（頻度 ≥1%）SNPs全てについて疾患との関連を検定する
- 計測
  - 各被験者で、代表的なSNPsをマイクロアレイで測定し、残りのSNPsの情報は補完
- 統計解析
  - SNPsは6×10^6個あるが、染色体上で近傍のものは相関している（連鎖不平衡）ので、統計的に独立なものは正味10^6個
  - 約10^6回の多重検定を行うので、擬陽性を抑えるために、有意水準を $0.05/10^6 = 5 \times 10^{-8}$ と厳しくしないといけない。ゲノムワイド有意とよぶ
  - 検出力を上げるためには、罹患者・健常者を数千人～数万人調べる必要がある

ゲノムワイドに網羅的に調べる
↓
有意水準を厳しくする
↓
多数のサンプルが必要

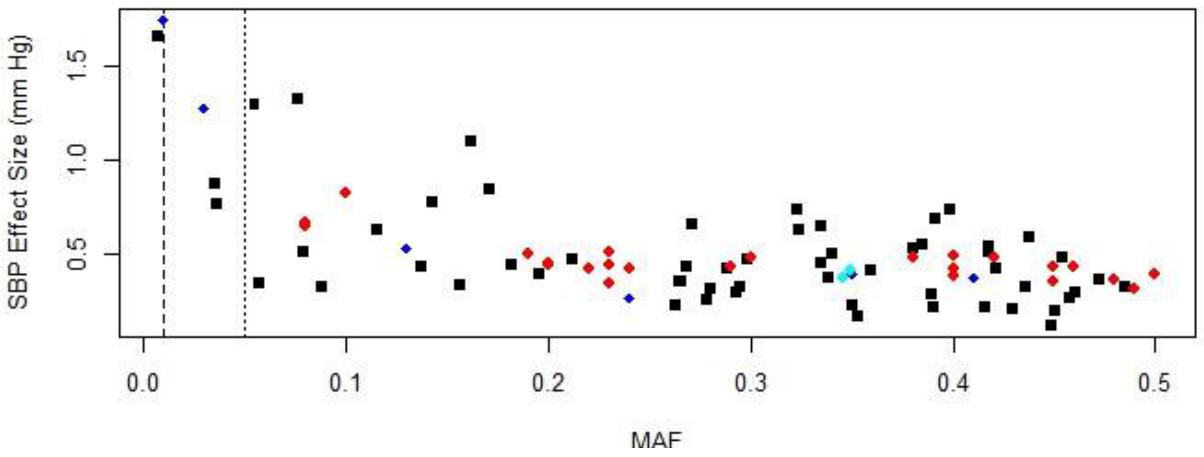
血圧の大規模GWAS

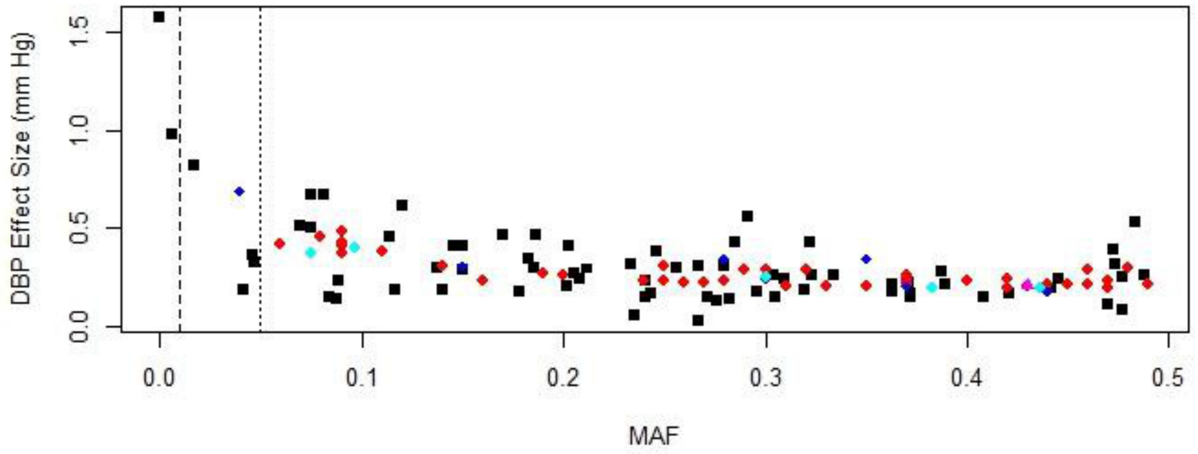
Study	Publication	年	スクリーニング症例数 [万人]				追試症例数 [万人]	ゲノムワイド有意なSNPsの数	新規SNPsの数
			欧米	東アジア	南アジア	アフリカ			
WTCCC	Nature 447:661	2007	0.5					0	0
Global BPgen	Nat Genet 41:666	2009	3				11	8	8
CHARGE	Nat Genet 41:677	2009	3				3	8	8
AGEN-BP	Nat Genet 43:531	2011		2			3	10	5
ICBP	Nature 478:103	2011	7				13	29	16
COGENT	Am J Hum Genet 93:545	2013				3	10	5	3
iGEN-BP	Nat Genet 47:1282	2015	4	3	3		22	35	12
CHD Exome+, ExomeBP, GoT2D	Nat Genet 48:1151	2016	17		3		16	51	30
CHARGE+ Exome	Nat Genet 48:1162	2016	12			2	18	70	31
Cardio-Metabochip	Nat Genet 48:1171	2016	20				14	66	17
GERA	Nat Genet 49:54	2017	9	0.7		0.3		75	39
UK Biobank	Nat Genet 49:403	2017	14				19	107	32
AGEN-BP	Nat Commun 9:5052	2018		13			16	92	19
UK Biobank	Nat Genet 50:1412	2018	76				25	535	535
MVP	Nat Genet 51:51	2019	46				47		261

血圧関連遺伝子座は合計1016箇所

GWAS有意なSNPの効果は弱い

- SNPの効果は弱く、SBPで0.15〜1 mmHg程度





Nat Genet 49:403

血圧GWASで分かったこと

- 本態性高血圧の遺伝的成因は、個々には効果の微弱な遺伝的多型が、相当多く組み合わさっている
- 遺伝率 ＝ 形質分散を遺伝で説明できる割合
- ゲノムワイド有意に達しないものも含めた、SNPs全体の遺伝率
    - SBP 16% [Nat Genet 50:746]
    - 高血圧罹患　32% [Nat Genet 48:980]
    - 血縁者で推定した遺伝率と一致

- 環境、遺伝×環境相互作用も血圧に影響している
    - SNP×飲酒 [PLoS ONE 13:e0198166]
    - SNP×喫煙 [Am J Hum Genet 102:375]
    - SNP×教育 [Mol Psych 26:2111]
- 遺伝子の効果≠SNPの効果
    - *ACE*や*AGT*のknock-outマウスでは数十mmHgの変動
    - 標的薬も同様

ゲノムワイド関連解析（GWAS）

GWASからの展開

- Enrichment解析
  ＝GWAS＋シングルセル解析
- Colocalization解析
  ＝GWAS＋eQTL解析

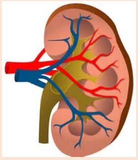
GWASで解明できたこと

次に解明したいこと

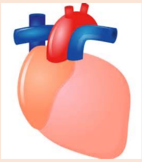
個体…疾患
∪
臓器
∪
組織
∪
細胞
∪
タンパク
||
RNA
||
ゲノム…SNP

ゲノムワイド関連解析

個体…疾患
∪



臓器
∪
組織
∪
細胞
∪
タンパク
||
RNA



臓器
∪
組織
∪
細胞
∪
タンパク
||
RNA

臓器
∪
組織
∪
細胞
∪
タンパク
||
RNA

||
ゲノム…SNP

どの組織・細胞種でSNPが影響？

ゲノムワイド関連解析（GWAS）

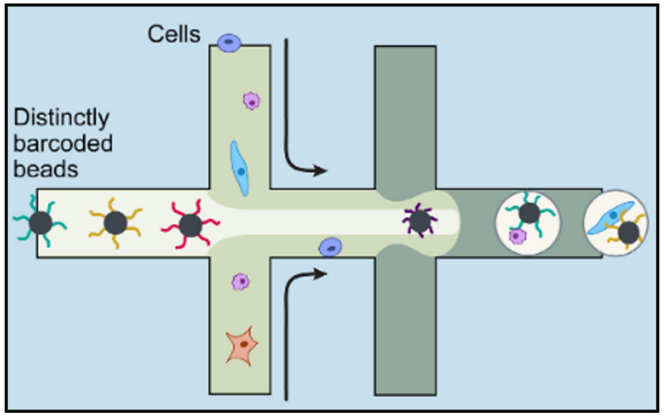
GWASからの展開

- Enrichment解析
  =GWAS+シングルセル解析
- Colocalization解析
  =GWAS+eQTL解析

シングルセル解析：細胞(種)ごとの遺伝子発現計測

エマルジョン法

1. 組織の細胞をバラバラにする
2. 10^3細胞を個別にアッセイできるエマルジョンを作る
   1. 油の中に水滴があるサラダドレッシング
   2. 各水滴中には、細胞が1個、バーコードビーズが1個
3. 水滴毎に遺伝子発現を測定
   - RNA-seq
   - ATAC-seq
   - バーコードにより細胞が区別できる



https://www.singlecellcourse.org

Enrichment解析
=GWAS+シングルセル解析

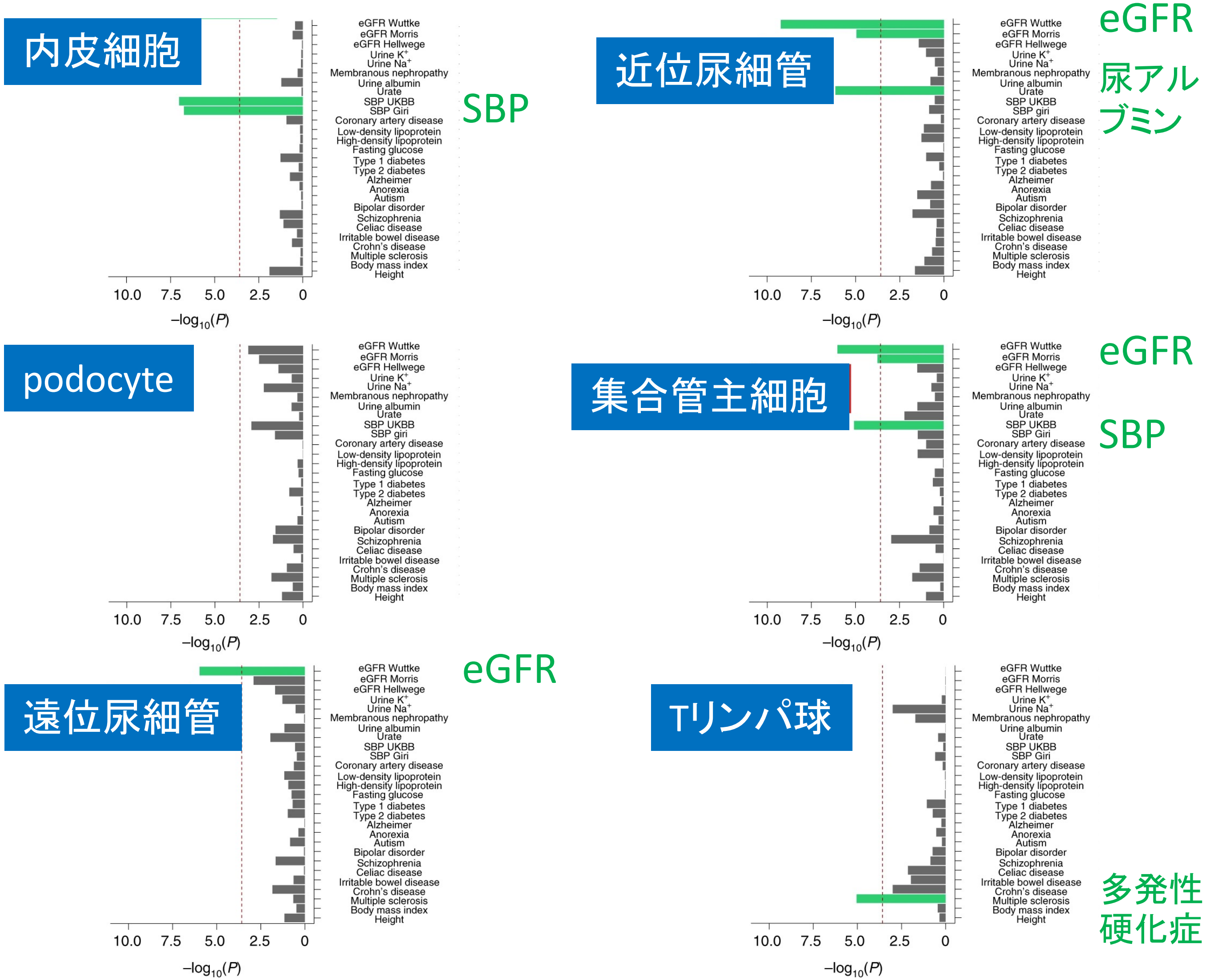
- 用いるデータ

人数	血圧	SNP	遺伝子発現	
			組織	細胞種
10^6人	GWAS			
500人				
1人				シングルセル解析

- 考え方
  - 血圧GWASで有意なSNPsが、遺伝子XとYに集中(enrich)している
  - 遺伝子XとYは、細胞種Aで特異的に発現している

➔細胞種Aは血圧を制御しているだろう

Enrichment解析：
腎機能, 血圧を制御する腎臓細胞種



- 腎機能(eGFR)を制御
  - 近位尿細管
  - 遠位尿細管
  - 集合管主細胞
- 血圧(SBP)を制御
  - 内皮細胞
  - 集合管主細胞

[Nat Genet 53:1322]

ゲノムワイド関連解析（GWAS）

GWASからの展開

- Enrichment解析
  ＝GWAS+シングルセル解析
- Colocalization解析
  ＝GWAS+eQTL解析

eQTL解析

eQTL解析

- 特定の組織・細胞種において、遺伝子発現と関連するSNPsを探索する

人数	血圧	SNP	遺伝子発現	
			組織	細胞種
10^6人				
500人		eQTL解析		
1人				

正確には、現在は、★は

- 組織のeQTL解析
- シングルセル解析

から補完している

人数	血圧	SNP	遺伝子発現	
			組織	細胞種
10^6人				
500人		eQTL解析		★補完
1人				シングルセル解析

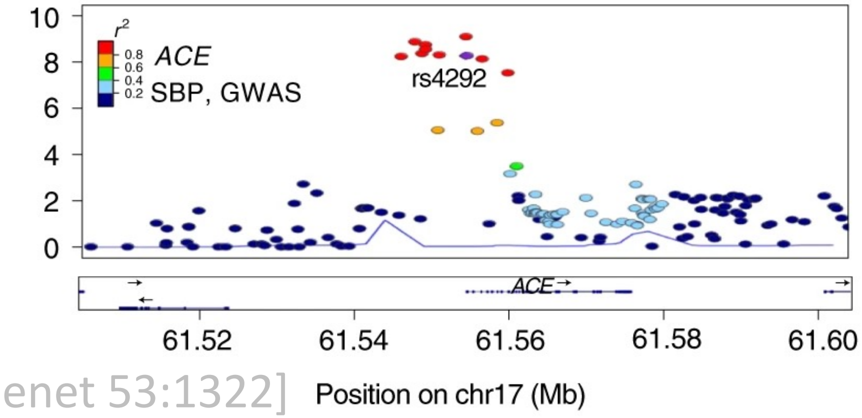
Colocalization (TWAS)解析 ＝GWAS+eQTL解析

- 用いるデータ

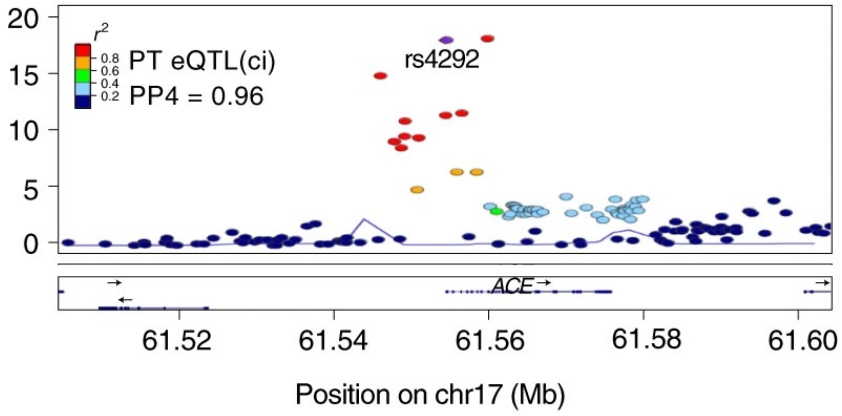
人数	血圧	SNP	遺伝子発現	
			組織	細胞種
10^6人	GWAS			
500人		eQTL解析		
1人				

- 考え方
  - ㋑ 血圧と関連するSNPs
  - ㋺ 細胞種Aで遺伝子Xの発現に関連するSNPs
  - ㋑と㋺が一致するなら、細胞種Aで遺伝子Xが血圧を制御しているヒントになる

㋑ 血圧と関連するSNPs



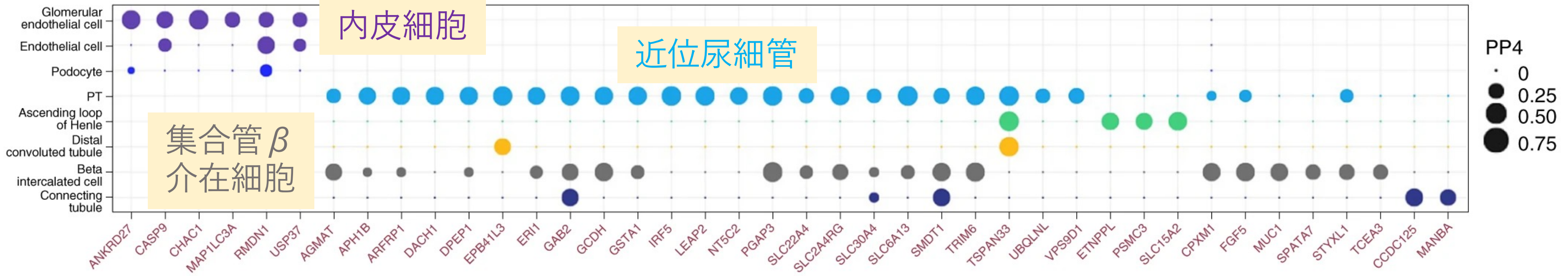
㋺ 近位尿細管で*ACE*の発現に関連するSNPs



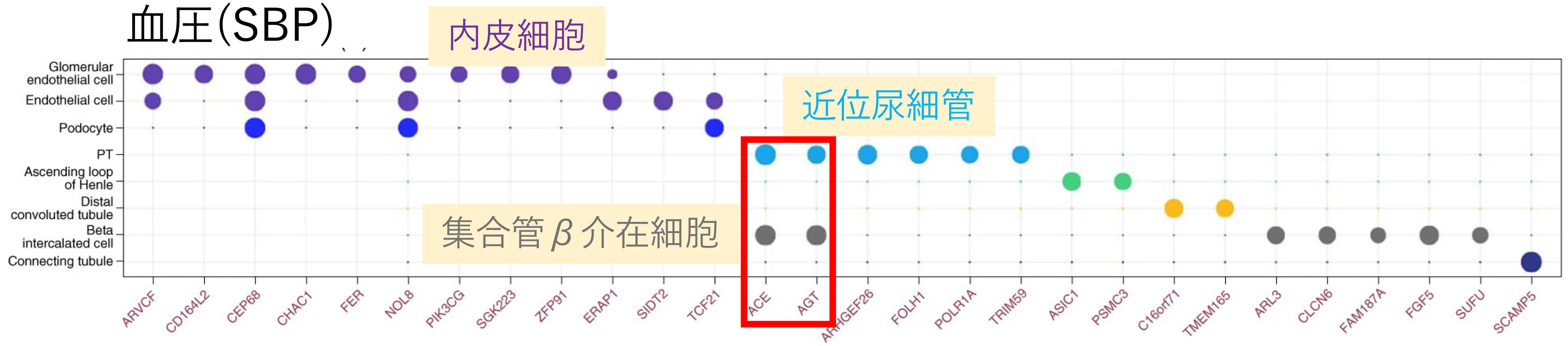
[Nat Genet 53:1322]

Colocalization (TWAS)解析：腎機能, 血圧と関係する腎臓細胞種と遺伝子

腎機能(eGFR)



血圧(SBP)



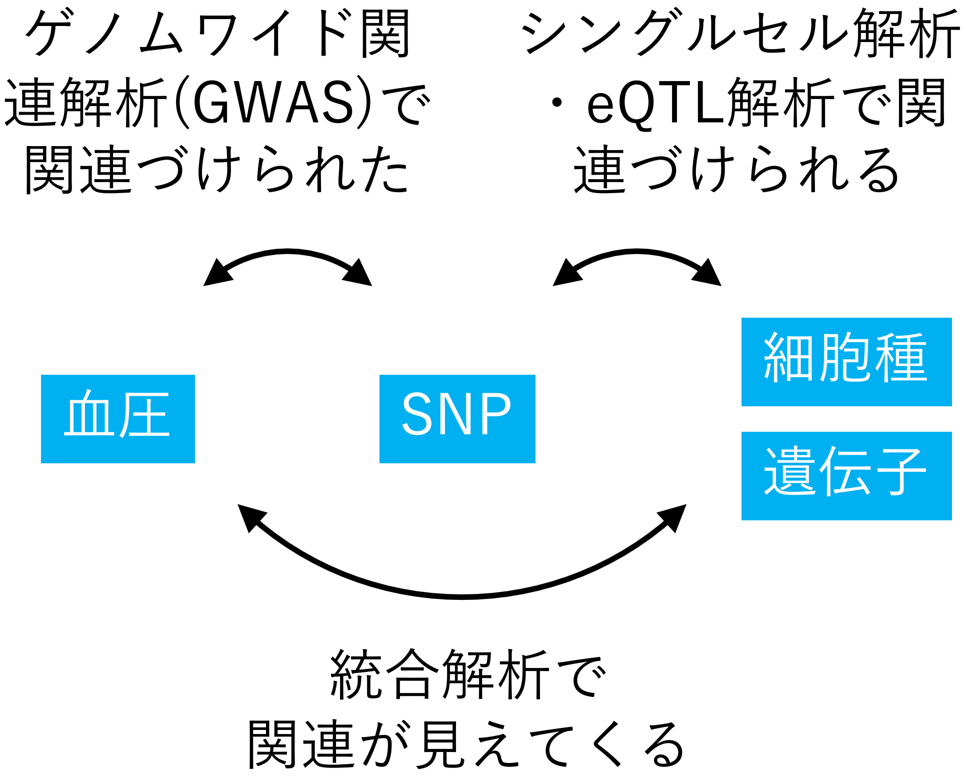
血圧に関係するものの中に

- 近位尿細管, 集合管β介在細胞における*ACE*
- 同じく、*AGT*

➔ 組織レニン・アンジオテンシン系

[Nat Genet 53:1322]

要約



例. 近位尿細管における*AGT*発現が血圧に影響していると推測される

- ヒト大規模オミックス解析により、血圧制御に関する細胞種・遺伝子の仮説が探索できるようになってきた。
- モデル動物実験をデザインするヒントになる。