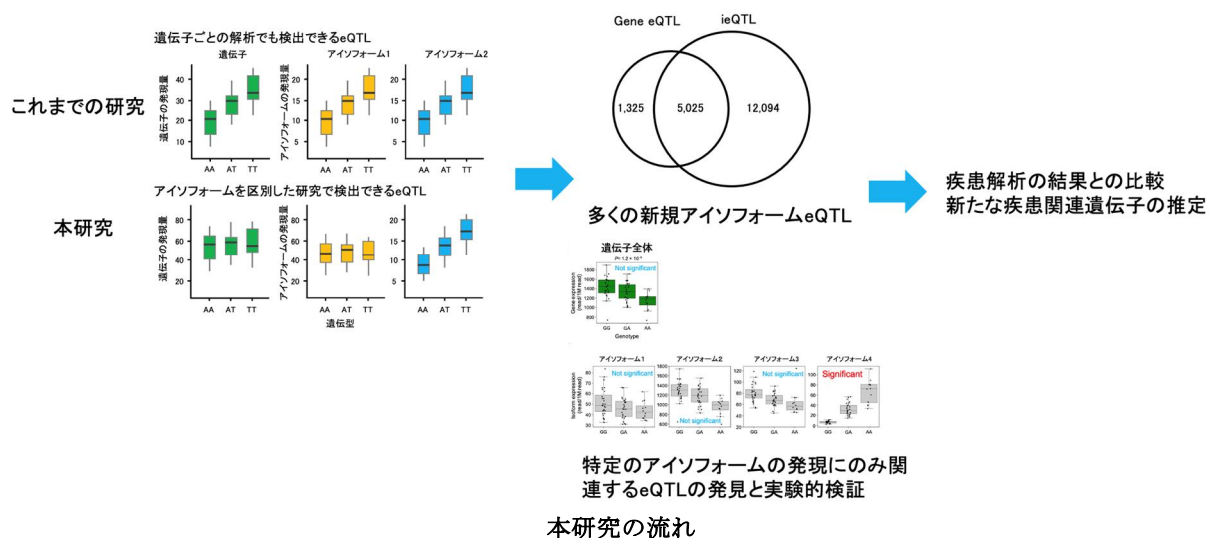


## 日本人集団におけるアイソフォームの発現量に影響する 遺伝的多様性の同定

### 発表のポイント

- ◆本研究では、ロングリードシーケンス技術を用いて健康な日本人 67 人の B 細胞のアイソフォームを解析し、アイソフォームに関する eQTL (ieQTL; isoform eQTL) を同定しました。その結果、17,119 個の ieQTL が発見され、その 70.6% は遺伝子レベルの解析では検出されませんでした。
- ◆ieQTL の特徴を調べたところ、ieQTL はスプライス部位や、特定のヒストン修飾 (H3K36me3、H3K4me1、H3K4me3、H3K79me2 など) に多いことが分かりました。
- ◆ieQTL の中には、疾患に関連することが報告されている遺伝的多様性もあり、疾患発症のメカニズムの理解に貢献すると考えられます。



### 概要

東京大学大学院医学系研究科の名倉祐哉大学院生 (研究当時)、藤本明洋教授らによる研究グループは、アイソフォーム (図 1) (注 1) の発現量と関連する遺伝的多様性 (注 2) を明らかにしました。

本研究では、ロングリードシーケンス技術 (注 3) を用いて健康な日本人 67 人の B 細胞のアイソフォームを解析し、アイソフォームに関する eQTL (ieQTL; isoform eQTL) (注 4) を同定しました (図 2)。その結果、17,119 個の ieQTL が発見され、その 70.6% は遺伝子レベルの解析では検出されませんでした (図 3)。ieQTL の特徴を調べたところ、ieQTL はスプライシングに関係している部位や、特定のヒストン修飾 (H3K36me3、H3K4me1、H3K4me3、H3K79me2 など) に多いことが分かりました。実験的検証により遺伝子から離れた遺伝的多様性がアイソフォームの発現量に影響すること、従来の知見では重要と考えられなかった遺伝的多様性がスプライシングに関与することが確認されました。また、先行研究で発見された疾患リスクに影響する

遺伝的多様性との重なりを調べたところ、遺伝子の eQTL と比較して、ieQTL は疾患リスクに関わる遺伝的多様性の数が多いことが明らかになりました。これらの結果は、人類遺伝学研究におけるアイソフォームの解析の重要性を示唆しています。

本研究では、アイソフォームを区別し、発現量に影響する遺伝的多様性 (eQTL) を検出し、多くの新規 eQTL を同定しました。本研究は新たな疾患関連遺伝子の同定に寄与すると考えられます。

## 発表内容

ヒトには個体間で遺伝的多様性 (DNA 配列の違い) があることが知られています。また、個体間で遺伝子発現量に違いがあることが知られています。個体間で遺伝子発現量の違いをもたらす遺伝的多様性は遺伝子発現量的形質座位 (eQTL; expression quantitative loci) として知られています。eQTL の発見を目指した研究は国内外で多数行われて、人類遺伝学に貢献しています。しかし、これまでのほとんどの研究は遺伝子単位の研究が多く、個々の遺伝子から発現しているアイソフォームを区別した研究はほとんど行われていませんでした。この度、本研究チームはロングリードシーケンス技術と研究チームで開発した解析ソフトウェア (注 5) を用いて、アイソフォームを区別した eQTL の探索を行いました。

本研究では、健康な日本人 67 人の B 細胞を用いて、ロングリードシーケンス技術を用い、アイソフォーム発現量に関連する遺伝的多様性 (アイソフォーム eQTLs (ieQTL; isoform eQTL)) を探索しました。また、比較のため、アイソフォームの発現量を合算し、遺伝子単位の発現量を求め、遺伝子発現量に関連する遺伝的多様性 (gene eQTL) も探索しました。解析の結果、17,119 個の ieQTL が発見され、その 70.6% は遺伝子レベルの解析では見つかりませんでした。さらに、同一遺伝子のアイソフォームを比較したところ、同一遺伝子由来のアイソフォームの発現レベルに異なる影響を及ぼす ieQTL (differential ieQTL) が 1,135 個発見されました。

ieQTL の特徴を調べたところ、ieQTL はスプライス部位 (注 6) や、特定のヒストンタンパク質の修飾がある部位 (H3K36me3、H3K4me1、H3K4me3、H3K79me2 など) に有意に多いことが分かりました。また、differential ieQTL は特にスプライス部位に特に多く存在していました。解析結果を裏付けるため、CRISPR-Cas9 法 (注 7) などを用いて実験的検証を行いました。その結果、遺伝子から離れたゲノム領域がアイソフォーム特異的発現を調節することが示唆されました (図 4)。さらに、*IFI44L* 遺伝子や *GAS2* 遺伝子において、従来知見では重要とみなされていなかった遺伝的多様性がスプライシングに関与することが確認されました。先行研究で発見された疾患リスクに影響する遺伝的多様性との重なりを調べたところ、遺伝子の eQTL と比較して、ieQTL は疾患リスクに関わる遺伝的多様性の数が多いことが明らかになりました。

これらの結果は、人類遺伝学研究におけるアイソフォームの解析の重要性を示唆しています。

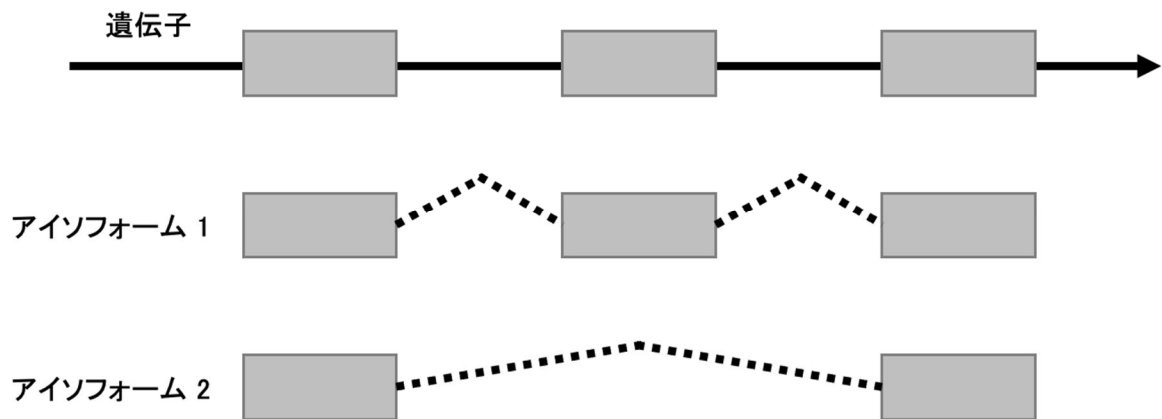
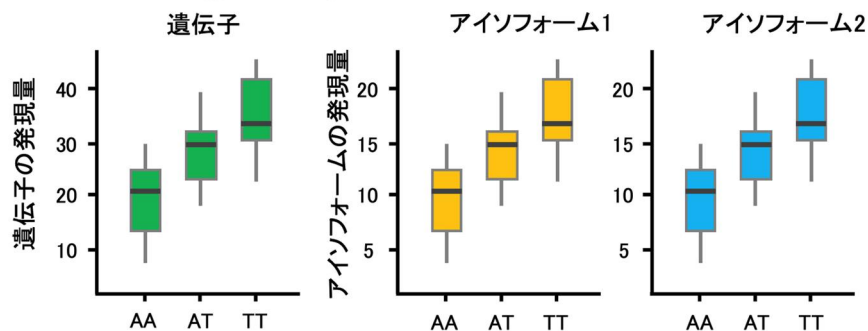


図 1：遺伝子とアイソフォームの関係についての図

同一遺伝子から発現し、エクソンの組み合わせやエクソンの長さが違う mRNA をアイソフォームとよぶ。複数のエクソンからなる遺伝子（上段）からは、エクソンの異なる組み合わせの mRNA (アイソフォーム) が発現しうる。

### 遺伝子ごとの解析でも検出できるeQTL



### アイソフォームを区別した研究で検出できるeQTL

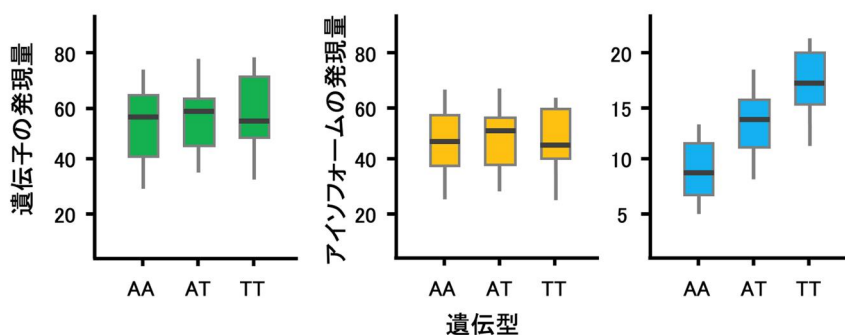


図 2：遺伝子発現量的形質座位 (eQTL) の例

遺伝子発現量の個人差が疾患のリスクに影響することが示されており、eQTL の発見は疾患のメカニズム理解のために重要であると考えられている。従来の研究は主に遺伝子ごとの解析が行われており、同一遺伝子の異なるアイソフォームの発現量への影響する eQTL (ieQTL) はほとんど報告されていなかった。遺伝子ごとの解析で検出可能な eQTL の例；アイソフォームの発現パターンが類似しており遺伝子ごとの解析でも検出可能である（上段）。アイソフォームを区別した解析で検出可能な eQTL の例；アイソフォームの発現パターンが異なっており、遺伝子全体の発現量には違いがなく遺伝子ごとの解析では検出困難であると考えられる（下段）。

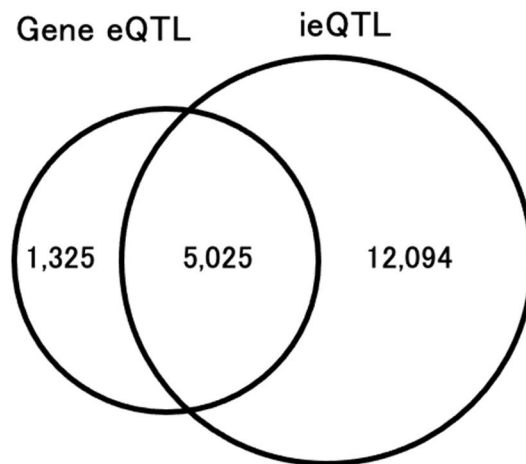


図3: gene eQTL と ieQTL の重なり

17, 119 個の ieQTL が発見され、その 70.6% は従来行われていた遺伝子レベルの解析では検出されなかった。

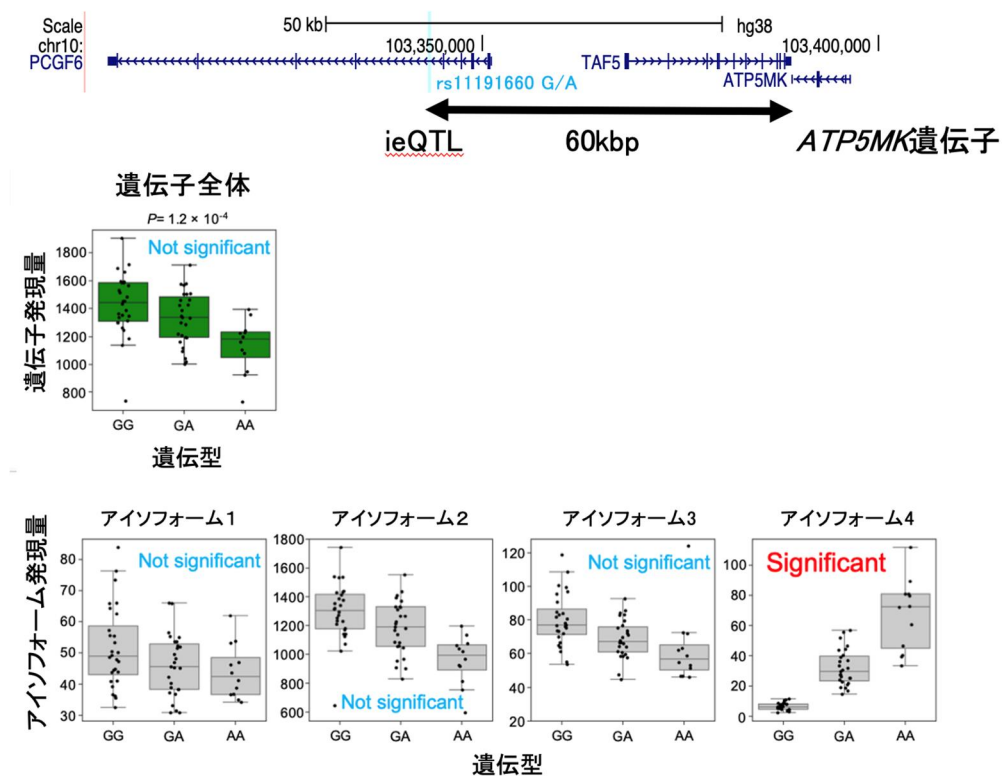


図4: アイソフォーム特異的な eQTL の例

ATP5MK 遺伝子遺伝子において、60kbp (6 万塩基対) 離れた遺伝的多様性が遺伝子全体の発現量とは関連せず特定のアイソフォームの発現のみに関連していた。この結果は CRISPR-Cas9 法を用いた実験でも裏付けられた。

## 発表者・研究者等情報

東京大学大学院医学系研究科

名倉 祐哉 修士課程（研究当時）

藤本 明洋 教授

## 論文情報

雑誌名 : Genome Biology

題名 : Long-read sequencing reveals novel isoform-specific eQTLs and regulatory mechanisms of isoform expression in human B cells

著者名 : Yuya Nagura, Mihoko Shimada, Ryoji Kuribayashi, Ko Ikemoto, Hiroki Kiyose, Arisa Igarashi, Tadashi Kaname, Motoko Unoki, and ○Akihiro Fujimoto

DOI: 10.1186/s13059-025-03583-w

URL: <https://doi.org/10.1186/s13059-025-03583-w>

## 研究助成

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)（課題番号 JP21km0908001、24fk0310522h0003、24fk0310522h0003）、2020 年度武田報彰医学研究助成金の支援により実施されました。

## 用語解説

(注1) アイソフォーム

遺伝子は複数のエクソンとその間のイントロンと呼ばれる部分で構成されており、エクソンがスプライシングによって除かれて、mRNA となりタンパク質の鋳型となる。同一遺伝子から発現し、エクソンの組み合わせやエクソンの長さが違う mRNA をアイソフォームとよぶ。同じ遺伝子から異なるアイソフォームが作られることでタンパク質の機能や役割の多様性が生み出されていると考えられている。

(注2) 遺伝的多様性

遺伝物質である DNA の個人間の違いのこと。ATGC の 4 種類の塩基が連なっている DNA 配列には、塩基の置換、塩基の挿入、塩基の欠失や、塩基の順序の違いなどが存在することが知られている。遺伝的差異は、ヒト一人当たり約 300-400 万個存在すると考えられている。これらの遺伝的多様性はヒトの表現型の違い（皮膚色、髪質など）や病気のなりやすさなどにも関係している。

(注3) ロングリードシーケンシング技術

長い塩基配列を直接決定できるシーケンサーのこと。現在広く使われている次世代シーケンサーは、読み取り長が 100-300 塩基程度であるが、長鎖シーケンサーは非常に長い塩基配列（10 万塩基以上）が直接決定できる。そのため、次世代シーケンサーが苦手とする塩基配列が複雑な領域（相互によく似ている、個人差が極めて大きいなど）の解析に力を発揮すると考えられている。本研究では、現在利用可能な 2 種類の長鎖シーケンサーのうち、Oxford Nanopore 社のシーケンサーを用いた。

(注4) 遺伝子発現量的形質座位 (eQTL; expression quantitative loci)

遺伝子発現の個人差に影響する遺伝的多様性のこと。体質の違いのように、遺伝子の量も個体間で異なっていることが知られている。遺伝子発現量の個人差が疾患のリスクに影響することが示されており、eQTL の発見は疾患のメカニズム理解のために重要であると考えられている。

(注5) 解析ソフトウェア

発現データは膨大でありソフトウェアを用いて解析する必要がある。今回の解析では、人類遺伝学教室が開発した SPLICE ソフトウェアを用いて遺伝子発現量を推定した (Kiyose et al. PLoS Genetics (2022))。

(注6) スプライス部位

イントロンを取り除きエクソンを連結させることをスプライシングとよぶ。ゲノム上でスプライシングの位置は配列によってある程度決まっており、それらの部位はスプライス部位とよばれる。

(注7) CRISPR-Cas9 法

ゲノム編集技術の一つ。ゲノム上の任意の領域を切断することができる。切断されたゲノム領域は細胞内で修復されるが、その際に、塩基の変化が引き起こされることがある。このことを用いて、ゲノムに変異が導入される。本研究では、2箇所を切断し欠失を導入した。

## 問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学大学院医学系研究科

教授 藤本 明洋 (ふじもと あきひろ)

Tel : 03-5841-3692 E-mail : afujimoto@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304 E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp