

## DNA チップ技術をめぐる話題

西野 輔翼

京都府立医科大学大学生化学教室

### はじめに

ポスト・ヒトゲノム計画の世紀が始まろうとしている中で、色々な新しい取り組みがミレニアムプロジェクトとして展開されている。特に、生体調節因子の作用を解析するに当たって、ゲノム科学を基盤とした研究に重点が置かれるようになり、これまでとは質的に異なった進展がみられるようになってきたことは注目すべきことであろう。例えば、食品中に含まれている機能性因子が作用を発現する機構を明らかにしようとする場合、これまでであればその発現のパターンが個人個人によって異なることを考慮に入れて研究を進めることなど不可能であったが、今ではそれが当然であり、一つのトピックにさえなっている。そして、いわゆる「オーダーメイド医療」への応用を視野にいった研究を展開することが可能な世紀に移行しようとしているのである。

このような研究を支える技術の一つが DNA チップ技術であるが、その応用範囲の広さは特筆すべきことであり、現在多方面から注目されていることもうなずける。本稿では、この分野における話題の一部を紹介したい。

### 生体調節因子の作用発現解析における DNA チップ技術の応用

生体調節因子の作用機序を解析するに当たって遺伝子発現への影響をみることは重要な課題であることはいうまでもないが、これまでであれば標的とする遺伝子を一つ一つ選択して別々に解析しなければならなかった。しかし、DNA チップ技術を用いると一度に多数の遺伝子の発現に対する効果を解析できる。

例えば、カンキツ類に含まれているカロチノイドである  $\beta$ -クリプトキサンチン（大腸がんの予防に有効である可能性があり、現在我々の研究グループが特に注目しているカロチノイドである）の遺伝子発現への影響を DNA チップ技術を利用して解析したところ、多数の遺伝子の発現に対して影響を与えることが明らかとなった。同様の解析を他のカロチノイドを用いて行くと、 $\beta$ -クリプトキサンチンによる遺伝子発現への影響とは異なったパターンがみられることも明らかとなった。

また、これらの発現パターンは条件が少し異なるだけでも複雑に変動することも明らかとなった。これは当然予測されることであったわけであるが、実際に予測どおりのデータが始めているのである。その理由としては遺伝子発現の制御がネットワークを組んで微調整されていることが重要な要因と考えられる。

一つの食品因子グループについて解析するだけでも、このように複雑系としてとらえるべきであることが明らかとなったわけであり、多くの食品群を摂取する中で解析を行う場合には、極めて膨大な動きをとらえる必要がある。いずれにしてもこれまでのような単純化による理解という研究方法論は根本的に見直さざるを得ない世紀が到来したといえることができる。

これから膨大なデータが集積することになるが、このような状況下で今後必須となるのはゲノム科学に基盤をおいた生体調節因子の作用機序に関するデータベースの構築であり、ITの活用によるインフォマティクスはこの研究分野においても避けて通ることはできない。現時点では、その対応は不十分であるが、日本はこの分野で十分リードできる素材をもっており、重要課題として取り上げるべきであろう。そして、このようなデータとNMRを活用した画像解析をはじめとするデータとの対応関係を明らかにしていくことが、これまでにはなかった全く新しい展開として期待されることである。

### ボランティアの協力を得て行う研究

前述のように複雑系での生体調節因子の機能解析の推進が必須であることがこれまでになかったほどはっきりと認識されるようになったわけであるが、この流れをさらに先へ進めていけば「オーダーメイド医療への応用」などの目標を達成できるはずである。特に、個人個人に最適な条件（例えば、どの機能性食品因子を利用し、どれだけの量を摂取すればよいのか、などの条件）を決定するために必要なデータベースを構築するためには、ゲノム科学を基盤とする研究プログラムを進めることが必須である。

一例として、我々が現在取り組んでいる大腸がん予防のためのオーダーメイド機能性食品の

開発について紹介し、問題点や今後の課題について述べたい。このプロジェクトを進めるに当たっては、まず、大腸がんの発生をトータルでとらえることが重要であるが、がんの発生病因と抑制要因のバランスおよびそれらに対する感受性の個人差 [single nucleotide polymorphism (SNPs, 一塩基多型) が大きな要因と考えられている] によってがんが発生するか否かが決まるととらえるとよい。がん予防のための機能性食品はここでいう抑制要因に当てはまることになる。

さて、大腸がん予防の場合、食品因子の活用が十分期待できるため、我々は特に注目している。そして、取りあえず、モデル化合物としてビタミンDおよびその前駆体を取り上げ、大腸がん予防へ応用していくためのプロジェクトを進めている。その理由は、社会的に大きな問題となっている欧米型食事による大腸がんの発生率増加という現象において、ビタミンD欠乏が大きな増悪因子となることが明らかになっていることにある。特に、ビタミンDの効果発現に個人差があることへの対応ができるようになれば、オーダーメイドのがん予防への道が開かれることになるため、重点課題として取り組むことにした。

その一環としてビタミンDリセプター (VDR) のSNPsについて研究を開始している。VDRのバリエーションは、ビタミンDの効果発現を修飾すると予測され、相対的ビタミンD欠乏の状態を引き起こす場合もあると考えてよい。事実、VDRの多型と大腸がんとの連関に関する研究としては、RFLP解析による小規模な疫学的研究（いわゆる、ボランティア研究）が既に実施されており、それを考慮にいれて、連関を確認するための大規模ボランティア研究をまずはじめに計画した。

このような大規模な研究を実施するために

2000年11月9日受理

別刷請求先 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465 京都府立医科大学化学教室 西野輔翼

は、ハイスループットの解析方法を開発する必要がある。そこで、DNA チップ技術を用いた SNP 解析方法を活用することを検討した。その結果、単純なハイブリダイズによる方法であればハイスループットを達成でき、しかも安価に実行できることを確認することができた。

この方法では当然のことであるがバックグラウンドが高くなるという問題が発生することが予測されるため、まずはじめにこの点をクリアする必要がある。幸いなことに、チップにはりつける検出用オリゴヌクレオチドの長さを 11 mer にすればバックグラウンドはほとんどなくなるということが証明され、この問題は解決できた。

次に、検出用オリゴヌクレオチドを作製するためには VDR の SNPs 部位の塩基配列が明らかになっている必要があるが、これまでその報告がなかった。そこで、日本人における SNPs 部位配列のシーケンス解析を実施した。具体的には、まず、ヒトゲノムのデータベースから、対象となっている RFLP 部位がどこに位置しているのかを検索した。その結果、2 箇所の候補が見い出されたので、その部位を中心にシーケンス解析を実施した。そして、最終的にターゲットとなる SNPs を決定し、その部位の配列を明らかにすることができた。さて、これで DNA チップの設計の準備は整ったわけであるが、今後はもう少し迅速な方法をとれるように工夫する必要がある。例えば、公表された SNPs データベースを活用することによって以上のような準備は簡単にできるはずである。

ところで、VDR のバリエーションに関するボランティア研究を DNA チップ技術を応用して実施する場合、それのみでは効率が悪すぎる。当然その他の大腸がん関連 SNPs を同時に解析し、それらの相互干渉を追いかけることが可能であるという点を生かすことを考えるべきであろう。そうすることによって研究の新たな展開につながることも研究の効率を高めることにも直結することは明らかである。そこで、VDR 遺伝子に加えて、さらに九つの遺伝子

(すなわち、APC, ATM, p16, p53, PML, PMS2, TGFR2, Catenin beta 1, および E-cadherin) における SNPs についても研究対象として加えることにした。現在、これら 10 種類の遺伝子の SNPs を解析するための DNA チップの設計がほぼ完了したところである。

このように開発した独自の DNA チップを用いて、大腸内視鏡検査専門外来の受診者を対象に、SNPs 解析を実施する。当然のことであるが、このような研究を実施するに当たっては、倫理委員会の承認を受ける必要がある。既に 2 施設で申請を提出し、審査が始まったところである。

ところで、ボランティアの協力に関する点であるが、このようにプライバシー保護のために適確な方策をとることが義務付けられており、この点が大きなハードルとなっている。全日本共通の SNPs 研究用 DNA バンクの設立などがこの問題を解決してくれるはずである。

## おわりに

食品に含まれる活性成分などの生体調節因子による遺伝子発現調節に関する解析や、効果発現における個人差を決定している要因として重要な SNPs の解析などへ DNA チップ技術が活用できることを示すとともに、その問題点や今後の課題について述べた。

ゲノム科学に基盤を置いた科学はもっともっと広い範囲で展開できることはいままでもない。

例えば、DNA アレイ技術に関しては、次のような応用が可能である。すなわち、DNA チップを用いた塩基配列の決定は、既に実用化可能な段階に到達している。特に解析する対象が膨大な場合、従来の方法では時間がかかりすぎるといった問題があったが、DNA チップを用いた遺伝子の塩基配列決定方法であればこの問題を解決することができることが実証され、注目されている。多数の遺伝子組み替え体に関して目的とする遺伝子の塩基配列を決定し、比較

する場合には威力を発揮するであろう。また、遺伝子組み替え産物の環境に与える安全性を検討する場合にも応用可能である。例えば、従来種の産物と遺伝子組み替え産物との遺伝子発現を解析・比較して、そのパターンに差が少なければ少ないほど新たな危険性が発生する確率は

少ないと判定する方法が提案されている。

以上、ゲノム科学に基盤を置いた研究の一部を紹介した。いずれもこれまでにはなかった新しい展開が始まったばかりの分野であるが、将来 NMR を活用した医学分野との交流を期待したい。

## Topics of DNA Chip Technology

Hoyoku NISHINO

*Department of Biochemistry, Kyoto Prefectural University of Medicine  
Kawaramachi-Hirokoji, Kamigyo-ku, Kyoto 602-8566*

DNA chip technology is becoming one of the most fundamental methods used in the human genome project. A wide-range analysis of gene expression becomes possible with this method. The possibility of DNA chip technology being used as an analysis method of single nucleotide polymorphisms (SNPs) should receive special attention. Due to the importance of SNPs analysis in the development of custom-made medicines, DNA chip technology can play a very important role in this new field. If the relationship between DNA chip technology and NMR science proceeds in the future, it will be useful in developing a new field of medicine.