

【目的】 本研究では新型コロナウイルス感染症の重症化における遺伝的リスクの作用機序解明を目的とした。昨今のパンデミックで強調されたように感染時の症状には大きな個人差があり、一塩基多型 (SNP) などの遺伝的要因や環境要因が寄与する。ゲノム解析により多くの SNP について疾患発症リスクとの関連が報告されているが、機能検証はほとんど行われていない。その一因として臨床検体の環境要因によるばらつきや採取できる細胞数の制限がある。本研究ではヒト多能性幹細胞 (iPS 細胞) に初期化することで環境要因を排除し、感染時に最前線で働くプレーヤーであるマクロファージに分化させることで SNP の影響を精査することを目指した。また、iPS 細胞の増殖能やゲノム編集しやすい特徴を活かして作用機序解明を行った。SNP 下流のメカニズムを明らかにすることにより、今後遺伝的リスクを克服する介入法開発につながると考えられる。さらに本研究成果により遺伝的リスクの高い個人をゲノムレベルで特定し、今後の個別化医療の基盤構築に貢献することを目標とした。

【方法】 GWAS 解析により新型コロナウイルス感染により入院するケースと相関があると報告されている SNP のうち、マクロファージで発現する遺伝子近傍の SNP 2 種を対象とした。これらリスク SNP を保有するドナー由来 iPS 細胞を収集し、マクロファージに分化させた。マクロファージの表現型は RNA-seq およびエピゲノム修飾の ChIP-seq により行い、SNP ジェノタイプと相関する特徴を調べた。さらに、メカニズム解析を行うため、SNP 領域のエピゲノム修飾や結合する転写因子を ChIP-seq により明らかにした。また、SNP の機能性証明のため、野生型クローンにリスク SNP を導入し、マクロファージに分化させて表現型解析を行った。

【結果】 本研究で対象とした 2 つの SNP のうち 1 つについては iPS 細胞由来マクロファージにおいて近傍遺伝子への発現変動を認めなかったが、もう 1 つの SNP は近傍の複数の遺伝子発現を低下させた。臨床検体を用いた eQTL 解析では通常数百検体必要であるのに対し、iPS 細胞由来マクロファージを用いた eQTL 解析ではわずか各群 5 検体で有意差を得ることができ、本研究アプローチの感度の高さが強調された。次に、iPS 細胞の増殖させやすい特徴を活用して、iPS 細胞由来マクロファージにおける転写エピゲノム制御を ChIP-seq により解析したところ、複数の遺伝子を含む広いゲノム領域においてエンハンサー活性が落ちていることが明らかになった。さらに、リファレンスクローンをゲノム編集してリスク SNP を導入したところ、リスクアレルを持つクローンの表現型とは逆に周辺遺伝子の発現を上昇させた。この結果から linkage disequilibrium ブロック内の SNP の複雑な相互作用とそれぞれの SNP の機能を精査することの重要性が示された。

iPS 細胞を活用した遺伝的要素の評価システム

