

Adjustment of cell-type composition minimizes systematic bias in blood DNA methylation profiles derived by DNA collection protocols

Yuh Shiwa^{1,2}, Tsuyoshi Hachiya^{1,2}, Ryohei Furukawa², Hideki Ohmomo², Kanako Ono², Hisaaki Kudo³, Jun Hata^{4,5}, Atsushi Hozawa⁶, Motoki Iwasaki⁷, Koichi Matsuda⁸, Naoko Minegishi³, Mamoru Satoh^{1,2,9,10}, Kozo Tanno¹¹, Taiki Yamaji⁷, Kenji Wakai¹², Jiro Hitomi^{13,14}, Yutaka Kiyohara¹⁵, Michiaki Kubo¹⁶, Hideo Tanaka¹⁷, Shoichiro Tsugane⁷, Masayuki Yamamoto^{18,19}, Kenji Sobue^{20,21}, Atsushi Shimizu^{2#}

志波 優^{1,2}、八谷剛史^{1,2}、古川亮平²、大桃秀樹²、小野加奈子²、工藤久智³、秦 淳^{4,5}、寶澤 篤⁶、岩崎 基⁷、松田浩一⁸、峯岸直子³、佐藤 衛^{1,2,9,10}、丹野高三¹¹、山地太樹⁷、若井建志¹²、人見次郎^{13,14}、清原 裕¹⁵、久保充明¹⁶、田中英夫¹⁷、津金昌一郎⁷、山本雅之^{18,19}、祖父江憲治^{20,21}、清水厚志^{2#}

¹岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構 メガバンク・データ管理部門

²岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構 生体情報解析部門

³東北大学 東北メディカル・メガバンク機構 バイオバンク部門

⁴九州大学 大学院医学研究院 病態機能内科学

⁵九州大学 大学院医学研究院 附属総合コホートセンター

⁶東北大学 東北メディカル・メガバンク機構 予防医学・疫学部門

⁷国立がんセンター がん予防・検診研究センター 予防研究部

⁸東京大学 医科学研究所ヒトゲノム解析センター シークエンス技術開発分野

⁹岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構 地域連携・医療情報 ICT 部門

¹⁰岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生体情報解析部門

¹¹岩手医科大学 医学部 衛生学公衆衛生学講座

¹²名古屋大学 大学院医学系研究科 予防医学

¹³岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構 副機構長

¹⁴岩手医科大学 医学部 解剖学講座

¹⁵九州大学 大学院医学研究院 環境医学

¹⁶理化学研究所 ゲノム医科学研究センター 多型解析技術開発チーム

¹⁷愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部

¹⁸東北大学 東北メディカル・メガバンク機構 ゲノム解析部門

¹⁹ 東北大学 大学院医学系研究科

²⁰ 岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構 機構長

²¹ 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 神経科学研究部門

<概要>

コホート研究^{*1}は医学研究のなかでもデータの精度・信頼度が高いため、近年の個別化予防・個別化医療の実現に必須の研究分野です。コホート研究では生体試料の数が精度に影響するため、できるだけ多くの参加者の方に協力いただく必要があります。日本では我々東北メディカル・メガバンク機構（東北 MM；東北大学東北 MM、岩手医科大学いわて東北 MM）の他、久山町研究（久山）、多目的コホート研究（JPHC）、日本多施設共同コホート研究（J-MICC）、バイオバンク・ジャパン（BBJ）をはじめとする、多くのコホート研究が進められています。

ゲノムコホート研究では収集した血液あるいは血液から抽出した DNA を保存していますが、採血から DNA 抽出までの手順（DNA 収集プロトコール）は各コホートで異なります。ゲノム多型解析^{*2}では、DNA 収集プロトコールの違いが研究結果に与える影響は非常に小さいと考えられますが、いわて東北メディカル・メガバンク機構が研究対象としている DNA のメチル化^{*3}は環境により変化することが知られているため、DNA 収集プロトコールの違いが研究結果に影響を与えることが考えられます。しかし、これまで DNA 収集プロトコールの違いが DNA メチル化解析の結果に与える影響について、十分な知見はありませんでした。そこで、我々の研究グループでは、今後のゲノムコホート研究において国内の各コホートが連携して DNA メチル化解析を実施するために、DNA 収集プロトコールの相違が DNA メチル化解析に与える影響について詳細な解析を行いました。

まず、先に挙げた久山、JPHC、J-MICC、BBJ の各コホートから DNA 収集プロトコールの情報を提供いただきました。東北 MM の手法を加え、類似した手法をまとめると 21 種類もの異なる DNA 収集プロトコールがあることがわかりました。そこで、採血管の種類、輸送温度や時間を比較検討し、4 つの代表的な DNA 収集プロトコールを選択しました。続いて、岩手医科大学内でボランティアの方に協力して頂き、採血後すぐに DNA を抽出したコントロール試料を加えた 5 種類の DNA 収集プロトコールを用いて血液から DNA を抽出しました。

メチル化マイクロアレイを用いた DNA メチル化解析の結果、同一個人・同一日に採取した血液でも DNA 収集プロトコールが異なると DNA メチル化に差が生じていることが示されました。この原因をさらに調べたところ、DNA 収集プロトコールの相違により、血液に含まれる細胞の種類分布（細胞組成）に変化が生じていることがわかりました。つまり、異なるコホートで収集した生体試料を用いて DNA メチル化解析を行うことは難しいということです。そこで、我々は測定した DNA メチル化情報から元の血液に含まれていた細胞組成を推定し、その情報を用いて DNA 収集プロトコールによる DNA メチル化の差を補正する手法を開発しました。これにより、コホートによって異なる DNA 収集プロトコールで集められた血液由来 DNA を相互利用できるようになり、コホート同士が連携して統合解析が行えることが示されました。

<まとめ>

本研究において、DNA 収集プロトコールの相違が DNA メチル化に影響を与えうることを世界で初めて明らかにし、その影響を補正して解析を行う手法も同時に確立しました。今後、各コホートで集めた生体試料を用いた DNA メチル化解析に本研究の成果を応用し、病気と関連のある DNA メチル化の変化ならびに病気の発症前に変化する DNA メチル化を見つける方法について研究を進め、個別化予防・個別化医療の実現を目指します。

*1 コホート研究

コホート研究は、ある集団内における疾病の発生確率を遺伝的素因や生活習慣、環境の違い等で識別する医学研究の 1 つです。さらに、遺伝子（ゲノム）の配列の違いやオミックス情報を要因の一つとして加えて行うのがゲノムコホート研究です。

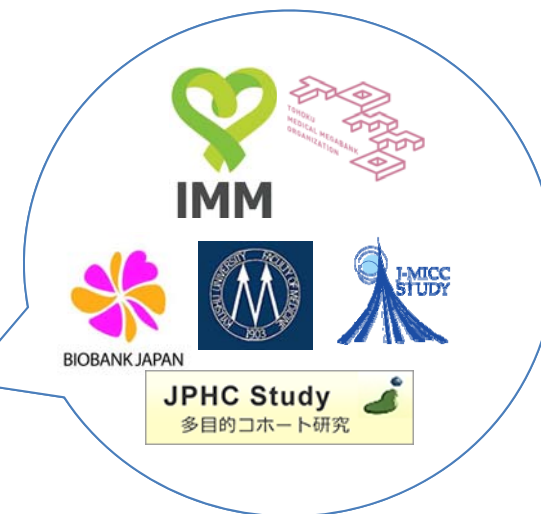
*2 ゲノム多型解析

ゲノム配列を DNA マイクロアレイや次世代型シーケンサーを用いて決定し、個人毎に異なる配列を調べる手法。日本では東北 MM が昨年 1070 人のゲノム多型を公開している。

*3 DNA メチル化

DNA のメチル化とは、DNA の遺伝暗号である A・T・G・C の 4 文字 (塩基) の中の主に C (シトシン) 塩基にメチル基 (-CH₃) が結合し、遺伝子の働きを調節する仕組みの一つです。DNA のメチル化の異常は、がんや生活習慣病など様々な疾患に関わっており、現在注目を集めている研究分野です。

異なる機関で集められた血液(生体試料)は、異なる方法で収集されていたため状態が異なり、DNAメチル化解析のために相互に利用することが困難でした。



IMMではこのDNAメチル化の差は、生体試料の中の細胞の組成が変化していることが原因であることを突き止め、バイオインフォマティクスの手法で補正する方法を確立しました。

この補正方法を使うことで日本のコホート研究で保存している検体を相互に利用できるようになり、今後のコホート連携を加速することができるようになりました。

