

高齢者脳ドック検診のご案内

拝啓 久山町の皆様方におかれましては、お元気でお過ごしのこととお喜び申し上げます。

わが国では、高齢人口が急速に増え、5人に1人が65歳以上という超高齢社会を迎えています。そして現在、ご高齢の方々における日常活動の低下、認知症、うつ病などの健康障害や病気が大きな課題となっています。九州大学と久山町健康福祉課は、1985年より7年に一度の間隔で、高齢者の方々を対象にした「高齢者調査」を行って高齢者の方々の健康問題を調べ、それを予防に役立てる取り組みを行っています。

2012年度の「高齢者調査」では、65歳以上の住民の皆様は、頭部MRI検査を中心とした「脳ドック検診」を行うことになりました。この頭部MRI検査では、症状のない小さな血管の詰まり（かくれ脳こうそく）や小さな出血（かくれ脳出血）、脳の血管のつまりかけ（血管の狭窄）、血管のこぶ（動脈瘤）、脳の萎縮などを調べることができます。つまり今回の検診では、このような脳や脳血管のわずかな変化を早期発見するとともに、体や心の状態を調べ、皆様の様々な病気の予防に役立てることを目的としています。

ご自分の健康を守り、久山町で明るく元気な高齢社会を作るために、ぜひ「脳ドック検診」を受診されますようご案内いたします。

ご多忙の折恐縮ですが、別紙《脳ドック検診について》の説明をよくお読みになり、《申込用紙》および《問診表》を返信用封筒でご返送ください。

なお、諸事情により脳ドック検診を受診されない方は、《受診されない方へのアンケート》にご記入の上、ご返送くださいますようよろしくお願いいたします。

敬具

平成24年3月

九州大学大学院医学研究院 環境医学分野

教授 清原 裕

*本検診の対象は、平成24年4月1日現在満65歳以上の方々に、対象となられる方全員にご案内を差し上げております。

平成24年4月1日現在で65歳未満の方は、この検診は受診できませんのでご了承ください。

《脳ドック検診について》

(1) 検診内容

- ① 頭部MRI 検査（所要時間：30分程度）
手術で体内に金属がある場合などは、当日MRI 検査を受けることが出来ないこともあります。
- ② 脳機能検査（質問に答えたり、簡単な作業をしたりします）
- ③ 生活状態、睡眠、気分などについてのアンケート調査
- ④ 運動機能検査（歩行速度や筋力の測定）

以上の内容で検査の所要時間は約1時間程度になります。

(2) 検診申し込み方法

別紙の《申込用紙》および《問診表》にご記入の上、青色の返信用封筒に入れて返送してください。

- 検診日：平成24年5月28日～9月30日までの指定された1日間（要予約）
- 地区により検診を行う日程が異なります。別紙の《申込用紙》に記載している地区別の検査日程をご覧ください。希望する期間、曜日、時間帯（複数回答可）をお答えください。
- 《申込用紙》をもとに検査日と時間を決定し、後日郵便でお知らせします。検査日の都合が悪い方は調整いたしますのでお早めにご連絡ください。

(3) 検診当日

- ・ 検査はヘルスC&Cセンターで行います。正面玄関フロアにお越しください。頭部MRI 検査はMRI専用検診車で行います。
- ・ 検査は一人ずつ順番で行います。検査がスムーズに行えるよう予約時間の15分前までにおいでください。

(4) 検診に関する費用

本検診の費用は九州大学が負担いたしますので、検査費用は無料です。

※ 脳ドック検診について何か分からないことがありましたら、お気軽にご連絡ください。

連絡先：ヘルスC&Cセンター内 九州大学久山町研究室
電話番号 092-652-3032（月曜日～金曜日の10時～16時）

《申込用紙》

<ご連絡先>

ご住所：久山町大字 (久原・山田・猪野) 番地

ご氏名： _____ 生年月日：M・T・S _____ 年 月 日

電話番号： _____

ご希望の期間、曜日、時間帯をお選びください。これをもとに検査日と時間を決定します。

A. ご希望の期間を選んで、[] の中に番号をご記入ください。

猪野・草場・東久原在住の方 → 第1希望[] 第2希望[] 第3希望[]

- ① 5月28日(月)～6月10日(日) ② 7月9日(月)～7月22日(日)
③ 8月20日(月)～9月2日(日)

上久原・中久原・下久原在住の方 → 第1希望[] 第2希望[] 第3希望[]

- ④ 6月11日(月)～6月24日(日) ⑤ 7月23日(月)～8月5日(日)
⑥ 9月3日(月)～9月16日(日)

上山田・下山田在住の方 → 第1希望[] 第2希望[] 第3希望[]

- ⑦ 6月25日(月)～7月8日(日) ⑧ 8月6日(月)～8月19日(日)
⑨ 9月17日(月)～9月30日(日)

B. ご希望の曜日をご記入ください。(※ 曜日希望がなければ、ご記入は不要です)

第1希望：[] 曜日、 第2希望：[] 曜日、 第3希望：[] 曜日

C. ご希望の時間帯に○をつけてください。

- ① 午前 (8～12時) ② 午後 (12～16時) ③ どちらでもよい ④ その他の時間帯 (時頃)

<返信用封筒に入れてご返送ください。締切日：4月31日>

《問診表》

MRI 検査は強い磁力を用いた検査なので、金属類・補聴器等の電子機器・磁気カード類を身に着けておられますと、故障やケガの原因になることがあります。そのため、場合によっては検査ができないこともあります。

MRI 検査を安全に受けて頂くため、以下の質問事項にお答えください。

「はい」または「いいえ」または「わからない」を○で囲んでください。

1. MRI 検査を受けたことがありますか。

【 はい ・ いいえ ・ わからない 】

2. 体内に金属や人工物を入れる手術などを受けたことがありますか。

【 はい ・ いいえ ・ わからない 】

※ 「はい」を選ばれた方は、その理由をお答えください（○をつける）。

- ① 心臓ペースメーカー ② 人工関節 ③ 脳や心臓のステント
④ 人工内耳 ⑤ 脳動脈クリップ ⑥ 避妊リング
⑦ 人工眼球 ⑧ シャント手術 ⑨ 心臓の人工弁
⑩ その他（ ）

3. 手術以外の原因で体の中に金属が入っていますか。

例) 金属片・弾丸など

【 はい ・ いいえ ・ わからない 】

4. 刺青^{いれずみ}（眉毛のアートメイクなども含む）がありますか。

※ 刺青(いれずみ)やアートメイクなどは変色したり、やけどの恐れがあります。

【 はい ・ いいえ ・ わからない 】

5. 閉所恐怖症（狭いところが苦手）ですか。

【 はい ・ いいえ ・ わからない 】

《脳ドック検診を受診されない方へのアンケート》

今回、何らかの事情で脳ドック検診を受診されない方は、その理由をお教えてくださいますようお願い申し上げます。お手数ですが、下の項目についてご記入のうえ、返信用封筒でご返送ください。

*あてはまる番号に○印をつけてください

- 1) 入院中または施設入所中のため
(病院・施設名 _____)
- 2) C&C センターまで行くことがむずかしいから
(寝たきり・一人では行けないなど)
- 3) 現在、通院中のため
(病院・施設名 _____)
- 4) 受けたくないから
- 5) その他 (ご自由にお書きください)

ご住所：久山町大字(久原・山田・猪野) _____ 番地

ご氏名： _____ 生年月日：M・T・S _____ 年 _____ 月 _____ 日

電話番号： _____ (代筆者 _____)

＜ご記入の上、返信用封筒でご返送ください＞

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究
分担研究報告書

一般住民における認知症の病理学的病型分類と動向

分担研究者 岩城 徹
(九州大学大学院医学研究院神経病理学分野・教授)

研究要旨 一般住民における認知症病型の近年の動向を調査するために、久山町研究で剖検によって確定診断された認知症の病型別頻度を調べた。1986年から2003年まで（18年間）の認知症連続剖検205例と、2005年から2012年まで（最近8年間）の認知症連続剖検97例の病理診断に基づく各認知症別の頻度を比較検討した。その結果、この間の顕著な変化としてアルツハイマー病(AD)の増加と脳血管性認知症(VD)の減少が目立った。性別にみると男性の認知症は調査当初はVDが最も多かったが、近年VDが著明に減少し、ADが増加してVDを上回っていた。女性の認知症でもADが更に増加し、VDが減少していた。その他に異常タウ蛋白質の蓄積について、より精度の高い統計解析を可能にするために数理形態解析ソフトのMatlabを用いた定量的データ解析プログラムを開発した。

A. 研究目的

本研究の目的は剖検脳の病理診断によって認知症の分類の精度を高め、一般住民における認知症の病理学的病型分類と動向を明らかにする事にある。

1) 久山町研究では1985年から認知症調査を開始している。そこで近年の認知症病型の動向をより詳細に検討するために、1986年から2003年まで（18年間）の認知症連続剖検205例と、2005年から2012年まで（最近8年間）の認知症連続剖検97例の病理診断を比較検討した。

2) 病理組織所見の定量的評価が神経変性疾患の診断に重要であるが、タウ蛋白質陽性病変について従来は異常タウ蛋白質の脳における広がりを見るBraakの分類を用いて半定量的に段階評価していた。しかし異常タウ蛋白質の蓄積に関連するリスク因子解明で、これまでの統計解析では有意なリスクが見出せていない。そこでより精度の高い統計解析を可能にするために数理形態解析ソフトのMatlabを用いてタウ病変の定量的データ解析プログラムを開発することを目指した。

B. 研究方法

1) 認知症の病理学的病型分類

病理診断にはHE染色とKlüver-Barrera染色に加えて、平野銀染色およびリン酸化タウ蛋白免疫染色(AT8抗体)とAβ免疫染色を行った。アルツハイマー病(AD)の病理学的変化は、老人斑の評

価はCERAD criteria、神経原線維変化については、Braak and Braak ステージ分類に基づいて行った。レビー小体型認知症(DLB)は2005年改訂の臨床・病理診断基準を用いた。

2) タウ蛋白質陽性病変の定量的解析法

免疫組織化学染色は、抗リン酸化タウ蛋白抗体(AT8)を用いた。顕微鏡用デジタルカメラ(画素数192万画素1600×1200pixels)にて対物レンズ20倍で撮影し、JPEG形式のデジタル画像として保存した。MATLAB®は、プログラミング、アルゴリズム開発、データの可視化等の目的のために開発された汎用の数値解析用ソフトウェアであり、プログラミング言語の一種である。MATLABのプログラミング言語はインタプリタ方式であり、データ解析のための関数やToolboxと呼ばれるパッケージが充実しているため、C、C++、Fortranなど伝統的なプログラミング言語よりも短時間で独自の解析プログラムを開発することができる。本研究ではMATLABで色空間変換、K-meansクラスタリングを組み合わせた画像解析アルゴリズムを作成した。

C. 研究結果

1) 認知症の病理学的病型分類

1986年から2003年までの認知症連続剖検205例と、2005年から2012年までの認知症連続剖検97例の病理診断を比較検討した(図1)。1986年か

ら2003年においては、ADが73例(35.6%)で最も多く、次に脳血管性認知症(VD)59例(28.8%)であった。以下、DLBが3番目に多く、次にその他の中に含まれる神経原線維型認知症と続いた。ADとVDに関しては、それぞれが他の認知症を混合した病理診断を検討しても、ADが52.7%でありVDの42.9%を上回った。2005年から2012年においても、ADは52例(53.6%)であり最も多かった。2003年までと比較すると、ADは35.5%から53.6%と顕著な増加を示していた。一方でVDは13.4%であり、2003年までの28.8%と比較すると大幅に減少していた。ADの上昇またVDの減少は、それぞれ他の認知症を混合した病理診断においても同様の傾向であった。臨床的なADの有病率は1998年の時点で既に有意な上昇傾向を示している(Sekita A, et al. Acta Psychiatr. Scand. 122(4): 319-325, 2010)。2005年から2012年までの近年の剖検診断による検討でADの病理診断率が更に高くなっており、臨床的に指摘されていたADの有病率の上昇傾向は持続している可能性が高い。

性差別の病理診断の検討も行った(図2)。1986年から2003年において、男性ではVDの病理診断率が44.9%と最も高かった。次いでADの26.9%であった。一方女性においてはADが41.7%と最も多く、次いでVDが18.9%であった。2005年から2012年においては、男性ではADが38.2%と上昇しVDの11.8%を上回り最も多くを占めていた。VDは2003年までの44.9%から著明に低下していた。女性においてはADが61.9%で最も多く、2003年までの41.7%から更に増加していた。VDに関しては2012年までにおいては14.3%であり軽度の低下をしめた。ADの病理診断率は近年になり急速に上昇しており、その傾向は男女どちらにもみられた。VDは男女共に減少しているが、特に男性においてその減少が目立っていた。

2) タウ蛋白質陽性病変の定量的解析法

タウ陽性物の定量化にあたり、各タウオパチー症例の病理写真からタウ陽性物の抽出を行うアルゴリズム(アルゴリズム名:colorseg, color segmentation)を作成し、MATLABを用いてプログラミングを行った。まず、病理写真をMATLABに読み込ませ、写真のRGB色空間をL*a*b*色空間に変換した。これにより、視覚的な色の違いをデータ化することが可能となる。組織写真のすべての色情報はa*座標およびb*座標に存在し、写真はa*値およびb*値をもつことになる。この写真の色情報をK-means法により、ユークリッド距離を算出し、3つに分類した。これにより、写真が色分けされ、タウ陽性物を抽出することが可能となった。次に、この画像のRGB色空間をHSV色空間に変換し、彩度、明度を限局することにより細胞核

を除去してタウ陽性物抽出画像を得た。

次に、colorsegでタウ陽性物を抽出した画像から、タウ陽性物を定量化するアルゴリズム(アルゴリズム名: iro, identification of round objects)を作成した。画像を白黒画像に変換し、形態学関数を使用して、対象オブジェクトに属さないピクセルを除去した。この画像から、タウ陽性物の面積、周囲長を測定し、円形度を計算した。また、タウ陽性物の形が円、楕円、線状に近似できることに着目し、半径(長径、短径)を測定し、離心率、扁平率を計算した。円形度、離心率、扁平率の3つの指標を計算することにより、神経原線維変化(NFT)、ニューロピルスレッド、嗜銀性顆粒などのタウ陽性物の形状、大きさによる違いを定量化した。また、MATLABを用いて計算データをヒストグラムや散布図に表示した。実際にMATLABで得られた代表的なタウオパチー(AD、ピック病、嗜銀顆粒性認知症)の特徴を図3に示す。散布図にはADのNFTが円相当半径 $4.4\mu\text{m}$ 以上の範囲で表すことができる。また、円相当半径の小さい範囲では嗜銀性顆粒とニューロピルスレッドが多い。

久山町研究における連続剖検例211例(1998年から2003年)の大脳各部位の病理標本についてリン酸化タウ免疫染色、平野銀染色、 β アミロイド免疫染色の作製を終了している。そこでまず海馬のCA1領域におけるタウ免疫染色についてMATLABを用いて定量的データを抽出した。NFTの定量的データに関して年齢を横軸にして散布図に示す(図4)。概ねBraak stageの程度とNFTの数値に相関関係が見られるが、例外も多いことが見てとれる。

以上の成果を米国神経科学会(Neuroscience 2012)で発表した。

D. 考察

厚生労働省の発表によると、2012年の認知症の人は305万人(65歳以上人口の9.9%)で、2025年には470万人(同12.8%)まで増えることが推定されている。今回の認知症の病型別頻度を見ても近年は男女ともADの増加が顕著である事が示された。これまでの我々のADの脳病変に重点を置いた研究の成果として、生活習慣病関連因子である耐糖能異常と脂質代謝異常の両方が老人斑の形成を通して、ADの病態に関与している可能性を示した。これは本研究班における疫学と病理学の融合によるユニークな取組みによる成果であるといえる。さらに病理疫学の有用性を展開するため、老人斑や神経原線維変化などの病理所見をより定量的に評価するために病理組織標本のデジタル画像から病変を自動的に抽出し、定量化するコンピュータープログラムを開発することが

必要である。本年度の成果としてタウ病変の自動定量化ソフトを開発し、それを久山町研究の脳病理データベースに応用してみた。これまでタウ病変の危険因子の探索目的には広がり重点を置いた Braak stage を用いたが、統計学的に有意な生活習慣病関連因子が見出されていない。図4の結果にも示すように、統計学的な探索のためには、タウ病変に関する定量的連続数値を用いる事が重要であろう。今後、一般住民の検診データからリスクを評価するためには脳の部位ごとにタウオパチーの種類を区別した定量的なデータを揃える必要があると考えている。

E. 結論

一般住民における認知症病型の近年の動向を調査するために、久山町研究で剖検によって確定診断された認知症の病型別頻度を調べ、近年男女ともにVDの割合が減少し、ADが顕著に増加して、男性でもADがVDを上回っていることが明らかとなった。さらに異常タウ蛋白質の定量的データ解析プログラムを開発した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Honda H, Sasaki K, Minaki H, Masui K, Suzuki SO, Doh-Ura K, Iwaki T. Protease-resistant PrP and PrP oligomers in the brain in human prion diseases after intraventricular pentosan polysulfate infusion. *Neuropathology* 32: 124-132, 2012
2. Omoto M, Suzuki SO, Ikeuchi T, Ishihara T, Kobayashi T, Tsuboi Y, Ogasawara J, Koga M, Kawai M, Iwaki T, Kanda T. Autosomal dominant tauopathy with parkinsonism and central hypoventilation. *Neurology* 78: 762-764,

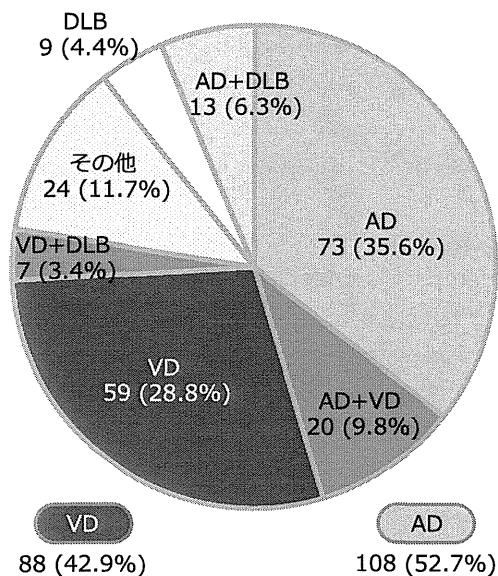
2012

3. Masui K, Nakata Y, Fujii N, Iwaki T. Extensive distribution of glial cytoplasmic inclusions in an autopsied case of multiple system atrophy with prolonged 18 years clinical course. *Neuropathology* 32: 69-76, 2012
4. 岩城 徹. Alzheimer 病危険因子としての耐糖能異常. *医学のあゆみ* 242: 604-605, 2012
2. 学会発表
 1. Honda H, Okamoto T, Hamamoto Y, Hamasaki H, Suzuki S. O., Iwaki T. Computational morphological analyses of abnormal tau deposits in human brains. *Neuroscience* 2012, New Orleans 2012. 10
 2. 若宮富浩、藤井直樹、佐々木健介、本田裕之、古谷博和、鈴木諭、岩城徹. 左脳優位の萎縮を示し、皮質基底核症候群を呈した Alzheimer 病の剖検例. 第 53 回日本神経病理学会, 新潟 2012. 6
 3. 本田裕之、石井亮太郎、伊東恭子、中川正法、伏木信次、岩城徹. V180I CJD の剖検例における特異なプリオン蛋白沈着パターン. 第 53 回日本神経病理学会, 新潟 2012. 6
 4. 濱崎英臣、本田裕之、鈴木諭、岩城徹. アルツハイマー病脳における c-Met の発現変化. 第 35 回日本分子生物学会, 福岡 2012. 12

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

A. 1986年~2003年 (205例)



B. 2005年~2012年 (97例)

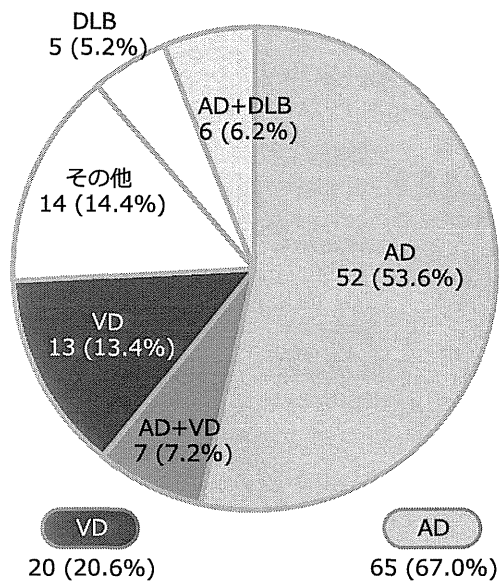
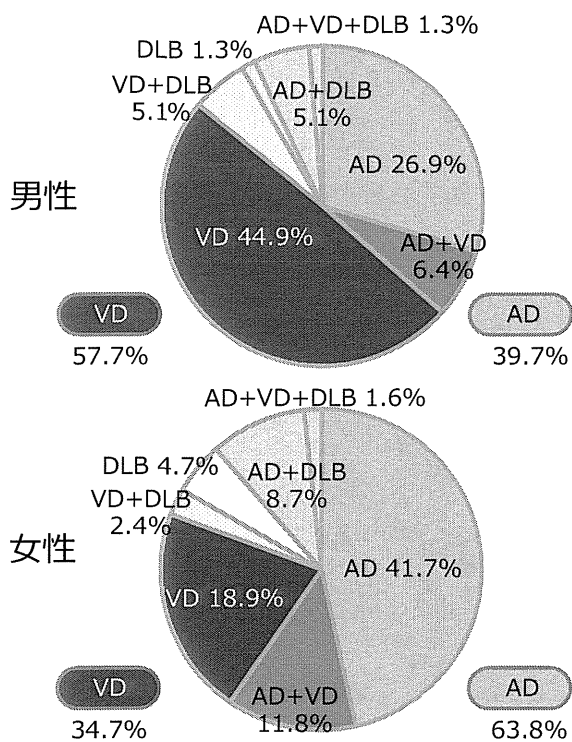


図1 認知症連続剖検例の病型別分類

AD: アルツハイマー病, DLB: レビー小体型認知症, VD: 脳血管性認知症

A. 1986年~2003年



B. 2005年~2012年

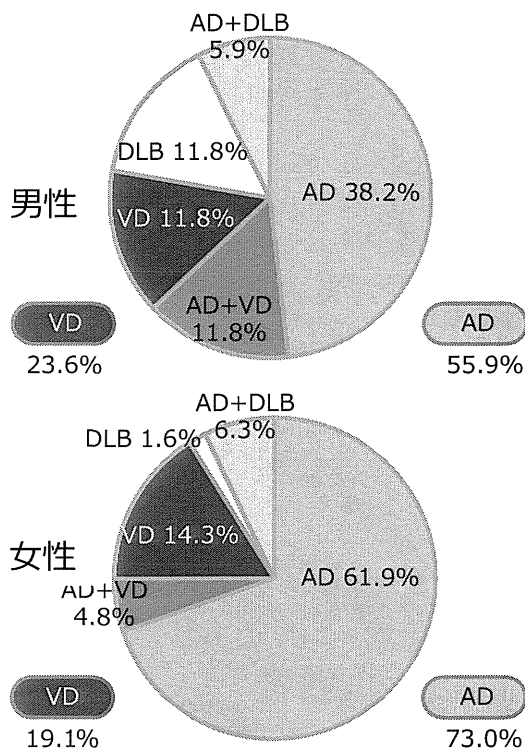


図2 認知症病型別分類の性差別頻度

AD と VD の推移に注目するために、その他の認知症を除外しグラフを作成している。

AD: アルツハイマー病, DLB: レビー小体型認知症, VD: 脳血管性認知症

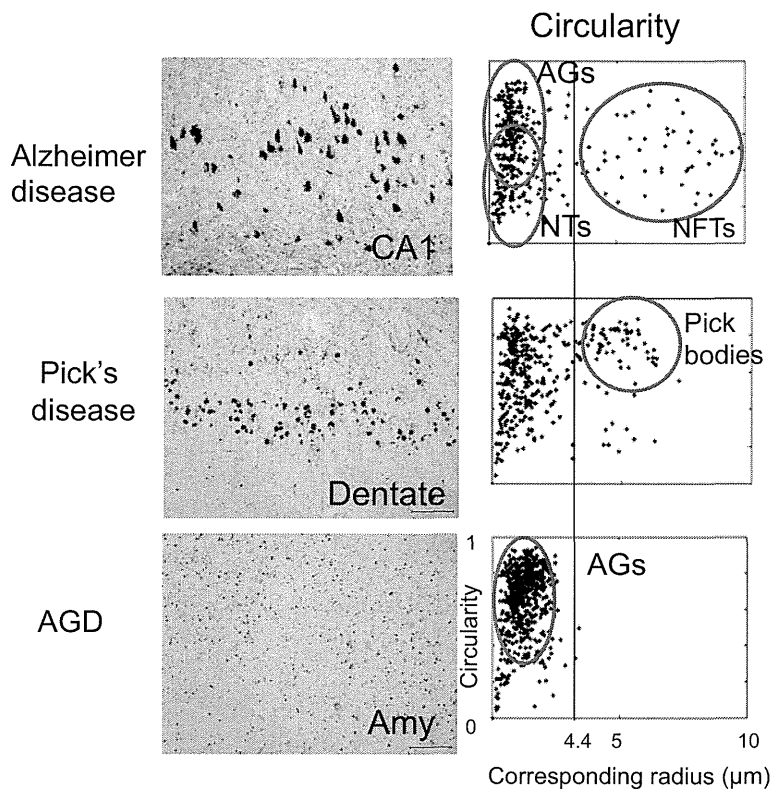


図3 タウ蛋白質に対する免疫組織化学染色とタウ陽性物を円形度と半径によって表した散. AG: argyrophilic grain, AGD: 嗜銀顆粒性認知症, NFT: neurofibrillary tangle, NT: neuropil thread

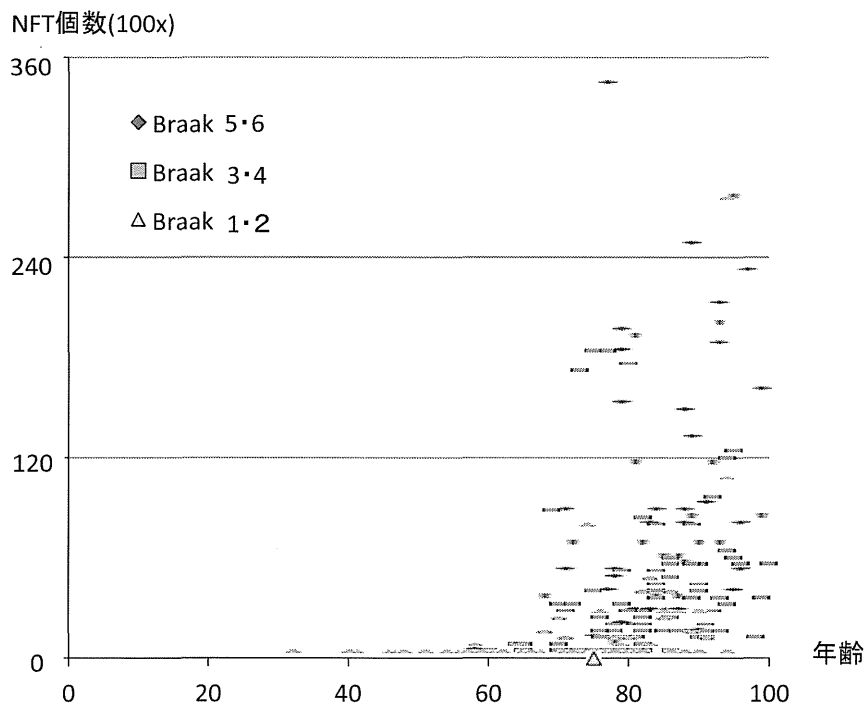


図4 海馬 CA1 における神経原線維変化(NFT)の年齢による定量的評価 Braak stage ごとに分けて表示している.

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究
分担研究報告書

アルツハイマー病の遺伝的危険因子の解明に関する研究

分担研究者 中別府 雄作
(九州大学生体防御医学研究所・教授)

研究要旨 アルツハイマー病(AD)患者剖検脳の遺伝子発現プロファイリングから、ADの病理変化が脳におけるインスリン不応答を引き起こす可能性が示唆されたことを受けて、3xTg-ADマウスモデルにおける脳内インスリンシグナリングの異常、肥満および糖代謝異常の原因となることを明らかにするとともに、認知機能がミトコンドリア機能維持により改善される可能性を示した。

A. 研究目的

アルツハイマー病(AD)をはじめとする認知症の発症・進展に関連する遺伝子群をマイクロアレイ解析により同定し、その発症・進展への関与とメカニズムの解明を目指す。

B. 研究方法

(1) 久山町の剖検脳を用いたAD患者剖検脳の遺伝子発現プロファイリングの解析を継続。(2) ADモデル動物(変異型マウス*PsI*遺伝子、ヒトの変異型APPおよびTAUトランスジーンを持つ3xTg-ADマウス)における認知機能とインスリン不応答の関連の解析。(3) ヒトミトコンドリア転写因子TFAMトランスジーン(hTFAM)による3xTg-ADマウスの認知機能とインスリン不応答の改善効果の解析。

(倫理面への配慮)

九州大学ヒトゲノム遺伝子解析倫理審査専門委員会に承認された研究計画に従っている。動物実験及び組換えDNA実験は九州大学動物実験委員会及び遺伝子組換え実験安全委員会に承認された研究計画に従い、行っている。

C. 研究結果

(1) 今年度に新たにADと病理診断された5例の剖検脳サンプルの前頭葉、側頭葉、海馬についてRNAを調製し、QUALIRTY CHECKを行ったが、5例すべてのRNAのRIN値が6.7以下と低く、マイクロアレイ解析に供することが不可能であった。(2) 3xTG-AD(全ホモ接合)マウス(13ヶ月齢)において、Non-Tgコントロールマウス、3xTG-AD(*PsI*ホモ接合、APP/TAUトランスジーンヘミ接合)マウスよりも著しい短期記憶維持機能と学習能力の低下が観

察された。12ヶ月齢の(全ホモ接合)マウスにおいて、PCSK1とインスリンの脳内発現の顕著な低下を認め、視床下部における α -MSH発現低下、体重増加、膵臓ランゲルハンス島の β 細胞の増加を認めた。膵臓ランゲルハンス島の β 細胞の軽度の増加、体重増加、摂食量の増加、さらに空腹時血糖値の増加を12ヶ月齢の3xTG-AD(*PsI*ホモ接合、APP/TAUトランスジーンヘミ接合)マウスにおいて確認した。(3) 13ヶ月齢のnon-Tgコントロール、3xTG-AD(*PsI*, APP/TAUトランスジーン:全ヘミ接合)、hTFAMを導入した3xTG-AD/hTFAM(*PsI*, APP/TAU/hTFAMトランスジーン全ヘミ接合)マウスのモリス水迷路の解析から、hTFAM導入により短期記憶維持機能と学習機能の優位な改善が認められた。さらに、5ヶ月、13ヶ月齢いずれにおいても肥満の抑制が認められた。脳組織の病理解析から β アミロイド沈着の減少と酸化ストレスマーカーの8-oxo-dGの蓄積の低下を認めた。

E. 結論

3xTg-ADモデルマウスでは、 β アミロイド産生の増加およびNFTの原因となる変異型TAUの発現によりADの病理変化が最初に誘導されるが、今回の解析からこのAD病理変化の下流で脳内のインスリンシグナリングの異常、さらに膵臓の異常や肥満、糖代謝異常が引き起こされることが明らかになった。

ヒトのAD脳において顕著な発現低下を認めたインスリン産生に不可欠なPCSK1は3xTg-AD脳でも顕著な発現低下を示している。この事実から、ヒト脳においてもADの病理変化が先に脳内インスリン抵抗性を引き起こし、さらに糖尿病などによるインスリン抵抗性によってその進行が加速

される可能性が強く示唆された。

hTFAMトランスジーンを導入によって3xTg-ADモデルに見られるインスリン抵抗性に関連する肥満や β アミロイド沈着、酸化ストレスなどのAD病理変化の改善を伴い、認知機能も改善されたことより、ミトコンドリア機能の維持によりADの進行を制御できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yutsudo N, Kamada T, Kajitani K, Nomaru H, Katogi A, Ohnishi YH, Ohnishi YN, Takase KI, Sakumi K, Shigeto H, Nakabeppu Y. fosB-Null Mice Display Impaired Adult Hippocampal Neurogenesis and Spontaneous Epilepsy with Depressive Behavior. *Neuropsychopharmacology*, 2013 (in press)
2. Takaku S, Yanagisawa H, Watabe K, Horie H, Kadoya T, Sakumi K, Nakabeppu Y, Poirier F, Sango K. GDNF promotes neurite outgrowth and upregulates galectin-1 through the RET/PI3K signaling in cultured adult rat dorsal root ganglion neurons. *Neurochem Int* 62: 330-339, 2013
3. Sheng Z, Oka S, Tsuchimoto D, Abolhassani N, Nomaru H, Sakumi K, Yamada H, Nakabeppu Y. 8-Oxoguanine causes neurodegeneration during MUTYH-mediated DNA base excision repair. *J Clin Invest* 122: 4344-4361, 2012
4. Sampath H, Vartanian V, Rollins MR, Sakumi K, Nakabeppu Y, Lloyd RS. 8-Oxoguanine DNA Glycosylase (OGG1) Deficiency Increases Susceptibility to Obesity and Metabolic Dysfunction. *PLoS ONE* 7: e51697, 2012
5. Murakami Y, Ikeda Y, Yoshida N, Notomi S, Hisatomi T, Oka S, De Luca G, Yonemitsu Y, Bignami M, Nakabeppu Y, Ishibashi T. MutT homolog-1 attenuates oxidative DNA damage and delays photoreceptor cell death in inherited retinal degeneration. *Am J Pathol* 181: 1378-1386, 2012
6. Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 324256, 2012

2. 学会発表

1. Yusaku Nakabeppu. Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains. 11th Surugadai International Symposium, Tokyo, 2012. 7. 31
2. Sugako Oka, Masaaki Hokama, Julio Leon, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiro Sakumi, Yusaku Nakabeppu. Obesity and altered expression of genes related to Diabetes-mellitus in Alzheimer's disease mouse model. 第35回日本神経科学大会, 名古屋, 2012. 9. 18
3. Julio Leon, Masaaki Hokama, Sugako Oka, Kunihiro Sakumi, Daisuke Tsuchimoto, Yusaku Nakabeppu. Synergistic interaction between insulin and other growth factors modulates their neuroprotective functions. 第35回日本神経科学大会, 名古屋, 2012. 9. 18
4. Sugako Oka, Masaaki Hokama, Julio Leon, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiro Sakumi, Yusaku Nakabeppu. Alzheimer's disease mouse model exhibits altered expression of genes related to diabetes-mellitus with obesity, 日本遺伝学会第84回大会, 福岡, 2012. 9. 25
5. Julio Leon, Masaaki Hokama, Sugako Oka, Erika Castillo, Kunihiro Sakumi, Daisuke Tsuchimoto, Yusaku Nakabeppu. Cooperative neuroprotection by insulin and neurotrophic factors. 日本遺伝学会第84回大会, 福岡, 2012. 9. 25
6. Sugako Oka, Masaaki Hokama, Julio Leon, Daisuke Tsuchimoto, Kunihiro Sakumi, Yusaku Nakabeppu. Obesity and altered expression of genes related to diabetes mellitus in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012. 12. 11
7. Yusaku Nakabeppu, Zijing Sheng, Sugako Oka). Oxidative damage in brain genomes and neuroprotective mechanisms. 第90回日本生理学会大会, 横浜, 2013. 3. 27

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究
分担研究報告書

アルツハイマー病発症におけるミトコンドリアゲノムと
ミトコンドリア機能の関連についての探索

分担研究者 康 東天
(九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野・教授)

研究要旨 ミトコンドリアに由来するアルツハイマー病(AD)の分子病態を解析し、治療に繋げるために、ミトコンドリアの分解機構に着目する。通常、細胞に障害を与える異常ミトコンドリアを分解する事により、細胞の健全性を保っていると言われている。我々はマイトファジーにより異常ミトコンドリアを積極的に取り除き、神経細胞の脱落を防ぐことが、ADの予防や緩和に繋がると考えている。しかしながら、その分子機構は殆ど分かっておらず、本研究では線虫のRNA干渉法を通して、ヒト遺伝子を明らかにする。

A. 研究目的

ミトコンドリアはATP合成など様々な細胞活動に関与しているが、活性酸素を産生し、遺伝子や細胞器官に傷害を与えてしまう。活性酸素による障害はミトコンドリア自身にも及び、その機能異常は神経変性疾患、糖尿病、癌などさまざまな疾患の原因となる。アルツハイマー型老年認知症の原因として種々の可能性が提唱されているが、ミトコンドリア機能不全の関与が疑われている。ミトコンドリアの機能異常は、エネルギー不足から生じる神経細胞の活動低下、神経細胞の変性、活性酸素による細胞活動の阻害などを引き起こす。こうした異常がアルツハイマー型認知症の原因もしくは増悪因子と考えられる。本研究期では、これまでに行ってきたミトコンドリアの恒常性維持機構の研究を応用し、ミトコンドリアの品質管理である分解機構とアルツハイマー型認知症の発症との関連を明らかにし、最終的には症状軽減、発症予防を目指している。

ミトコンドリアの分解機構には、プロテアーゼによって特定の部位を分解する系と、オートファジーによってミトコンドリア全体を分解する系があり、我々はオートファジーによる分解系に着目している。この系には、障害を持ったミトコンドリアを選択的に分解する“マイクロ・オートファジー（マイトファジー）”と、ミトコンドリアの周囲の基質やオルガネラごと分解する“マクロ・オートファジー”の二つの経路がある。両経路ともヒトにおおげぶ分子メカニズムは殆ど分かっておらず、研究が先行している酵母と比べても見

かっている遺伝子は半分程度である。そこでまずは、スクリーニングよりオートファジーによるミトコンドリア分解に関わる遺伝子を見つけ出す事を目的として研究を行う。

B. 研究方法

- (1) オートファジーによるミトコンドリアの分解機構を解明するため、蛍光タンパク質 Keima (励起波長が pH 依存的に変化する) を用いてオートファジーを特異的に検出する系を開発する。
- (2) Keima 発現線虫で RNA ノックダウン・ライブラリーを用いて、オートファジー関連遺伝子のスクリーニングを行う。
- (3) 線虫で特定した遺伝子のヒト・ホモログ遺伝子が、ヒト培養細胞でもミトコンドリアの分解に関与しているか調べる。
- (4) ヒトで特定した遺伝子の機能解析を行う。線虫にはアルツハイマー症のモデル株があるので、特定した遺伝子を発現させることによってレスキューできるか確認する。
- (5) ヒトで特定した遺伝子を特異抗体(もしくは、タグ付き抗体)で免疫沈降し、共沈降してきたタンパク質群をプロテオミクスの手法を用いて同定する。同定した結合タンパク質から、ヒトにおけるミトコンドリア分解に関連する因子の全体像をつかんでいく。

(倫理面への配慮)

本研究は非脊椎動物及び培養細胞を用いるため特記すべき事項は存在しない。

C. 研究結果

オートファージによるミトコンドリアの分解にはミトコンドリアだけを分解する経路（マイトファジー）と、他のオルガネラや基質ごと分解する経路（マクロ・オートファジー）があり、Keimaを使った検出方法で両方の活性を調べる事が可能になった。マクロオートファジーによるミトコンドリア分解に関与する遺伝子のスクリーニングを行った。そして、16,257の遺伝子のノックダウンを行い211個の遺伝子を特定した。次に、この211個の遺伝子をオートファゴソームの膜タンパク質LC3の発現を利用した古典的なオートファージ検出法で調べた。62個の遺伝子がオートファゴソーム膜の形成に影響を与えてた。これらの遺伝子の内46個はヒト・ホモログ遺伝子であった。

線虫で特定した遺伝子のヒト・ホモログがオートファジーに関与しているか調べるために、Keima発現HeLa細胞でのsiRNAノックダウンによるスクリーニングを行った。上記のLC3スクリーニング陽性の62個と、陰性ながらオートファジーとの関与が考えられる32個の遺伝子を調べた。現在、半分の遺伝子の調べ終わっており、数個の遺伝子がオートファジーとの関与が示唆されている。

D. 考察

オートファージ遺伝子は酵母では30数種類が見つかっているが、ヒトや哺乳動物では20個以下である。本研究のスクリーニングによって、新規の遺伝子が見つかる可能性が高い。その遺伝子を解析する事より、ミトコンドリア品質管理に関する、新たな発見になると考えられる。また、期間内にマイトファージ遺伝子のスクリーニングを行う事は出来なかったが、検出系を完成させる事はできたので、今後スクリーニングを行い、ヒトのミトコンドリア分解機構の解明に繋がると期待される。

E. 結論

研究の目的である、アルツハイマー病におけるミトコンドリアの品質管理に関するは、始まったばかりである。期間内にミトコンドリア分解に関する遺伝子を特定するには至らなかったが、その足掛かりとなる検出系を開発しスクリーニングも始まっている。本研究は、ヒトにおけるミトコンドリア分解機構を解明し、ミトコンドリアとアルツハイマー型認知の関係性を明らかにする上で重要な成果となるであろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Uchiumi, T., Tanamachi, H., Kuchiwaki, K., Kajita, M., Matsumoto, S., Yagi, M., Kanki, T., Kang, D. Mutation and functional analysis of ABCC2/multidrug resistance protein 2 in a Japanese patient with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatol Res*, 2013 (in press)
2. Nakanishi, N., Fukuoh, A., Kang, D., Iwai, S., Kuraoka, I. Effects of DNA lesions on the transcription reaction of mitochondrial RNA polymerase: implications for bypass RNA synthesis on oxidative DNA lesions. *Mutagenesis* 28, 117-123, 2013
3. Matsuda, T., Kanki, T., Tanimura, T., Kang, D., Matsuura, E. T. Effects of overexpression of mitochondrial transcription factor A on lifespan and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys Res Commun* 430, 717-721, 2013
4. Yagi, M., Uchiumi, T., Takazaki, S., Okuno, B., Nomura, M., Yoshida, S. I., Kanki, T., Kang, D. p32/gClqR is indispensable for fetal development and mitochondrial translation: importance of its RNA-binding ability. *Nucleic Acids Res* 40, 9717-9737, 2012
5. Wollen Steen, K., Doseeth, B., M, P. W., Akbari, M., Kang, D., Falkenberg, M., Slupphaug, G. mtSSB may sequester UNG1 at mitochondrial ssDNA and delay uracil processing until the dsDNA conformation is restored. *DNA Repair (Amst)* 11, 82-91, 2012
6. Uchiumi, T. & Kang, D. The role of TFAM-associated proteins in mitochondrial RNA metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1820, 565-570, 2012
7. Takazaki, S., Abe, Y., Yamaguchi, T., Yagi, M., Ueda, T., Kang, D., Hamasaki, N. Arg 901 in the AE1 C-terminal tail is involved in conformational change but not in substrate binding. *Biochim Biophys Acta* 1818, 658-665, 2012
8. Oba, T., Yasukawa, H., Hoshijima, M., Sasaki, K., Futamata, N., Fukui, D., Mawatari, K., Nagata, T., Kyogoku, S., Ohshima, H., Minami, T., Nakamura, K.,

- Kang, D., Yajima, T., Knowlton, K. U., Imaizumi, T. Cardiac-specific deletion of SOCS-3 prevents development of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 59, 838-852, 2012
9. Morimoto, N., Miyazaki, K., Kurata, T., Ikeda, Y., Matsuura, T., Kang, D., Ide, T., Abe, K. Effect of mitochondrial transcription factor a overexpression on motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis model mice. *J Neurosci Res* 90, 1200-1208, 2012
 10. Matsumoto, S., Uchiumi, T., Tanamachi, H., Saito, T., Yagi, M., Takazaki, S., Kanki, T., Kang, D. Ribonucleoprotein Y-box-binding protein-1 regulates mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) protein expression after serum stimulation through binding to OXPHOS mRNA. *Biochem J* 443, 573-584, 2012
 11. Matsumoto, S., Uchiumi, T., Saito, T., Yagi, M., Takazaki, S., Kanki, T., Kang, D. Localization of mRNAs encoding human mitochondrial oxidative phosphorylation proteins. *Mitochondrion* 12, 391-398, 2012
 12. Kurihara, Y., Kanki, T., Aoki, Y., Hirota, Y., Saigusa, T., Uchiumi, T., Kang, D. Mitophagy plays an essential role in reducing mitochondrial production of reactive oxygen species and mutation of mitochondrial DNA by maintaining mitochondrial quantity and quality in yeast. *J Biol Chem* 287, 3265-3272, 2012
 13. Hirota, Y., Kang, D., Kanki, T. The physiological role of mitophagy: new insights into phosphorylation events. *Int J Cell Biol* 2012, 354914, 2012
 14. Fujino, T., Ide, T., Yoshida, M., Onitsuka, K., Tanaka, A., Hata, Y., Nishida, M., Takehara, T., Kanemaru, T., Kitajima, N., Takazaki, S., Kurose, H., Kang, D., Sunagawa, K. Recombinant mitochondrial transcription factor A protein inhibits nuclear factor of activated T cells signaling and attenuates pathological hypertrophy of cardiac myocytes. *Mitochondrion* 12, 449-458, 2012
 15. Fang, J., Uchiumi, T., Yagi, M., Matsumoto, S., Amamoto, R., Takazaki, S., Yamaza, H., Nonaka, K., Kang, D. Dihydroorotate dehydrogenase is physically associated with the respiratory complex and its loss leads to mitochondrial dysfunction. *Biosci Rep*, 2012 (in press)
 16. Fang, J., Uchiumi, T., Yagi, M., Matsumoto, S., Amamoto, R., Saito, T., Takazaki, S., Kanki, T., Yamaza, H., Nonaka, K., Kang, D. Protein instability and functional defect by mutations of dihydroorotate dehydrogenase with Miller syndrome patients. *Biosci Rep* 32, 631-639, 2012
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究（認知症対策総合研究事業）
アルツハイマー病の危険因子の解明と予防に関する大規模ゲノム疫学研究
分担研究報告書

日本人におけるアルツハイマー病関連遺伝子の探索

分担研究者 久保 充明
(理化学研究所ゲノム医科学研究センター・副センター長)

研究要旨 九州大学精神科および関連施設において収集されたアルツハイマー病 (AD) 患者 827 例と理化学研究所ゲノム医科学研究センターが保有する対照群 8,238 例を用いて、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) を実施した。イルミナ OmniExpress チップを用いて 73 万 SNP を測定した結果、APOE 遺伝子領域に非常に強い関連が認められた。新たな AD の関連遺伝子を同定するため、APOE 遺伝子以外の領域の上位 SNP について独立したサンプル集団を用いて再現性の検討を行ったが、再現性はみられなかった。そのため、今回用いた検体の APOE 遺伝子型のタイピングを行い、APOE 遺伝子型での調整、および階層化による解析を行ったが、ゲノムワイド有意水準に到達する AD の関連遺伝子を同定することはできなかった。rs1992269, rs802571, rs11613092 については、統合 P 値が 1×10^{-5} 未満であり、示唆的領域と考えられた。

A. 研究目的

アルツハイマー病 (AD) は、環境要因と遺伝要因が発症に関与する多因子疾患である。これまでに APOE 遺伝子を含め、いくつかの関連遺伝子が同定されている。しかし、そのほとんどは欧米人のデータであり、遺伝的背景の異なる日本人において遺伝要因を探索することは極めて重要である。

そこで、我々は、日本人における AD の関連遺伝子を同定するため、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) を実施した。

B. 研究方法

九州大学病院精神科および 21 の関連施設において 827 例の AD 患者サンプルが収集された。この AD 群と理化学研究所ゲノム医科学研究センターが保有する対照群 8,238 例の DNA サンプルを用いて、AD 関連遺伝子の同定を目的とした GWAS を実施した。SNP のタイピングには、73 万 SNP を搭載したイルミナ社の OmniExpress ビーズチップを用いた。

種々の品質管理フィルターをパスした AD 群 816 例および対照群 7,992 例を用いて関連解析を実施した (Figure 1)。なお、AD 群・対照群間の年齢および性別分布に大きな偏りが認められたため、関連解析はすべて性及び年齢を調整し評価した (Figure 2)。さらに、AD 群・対照群において APOE の遺伝子型のタイピングを行い、APOE の遺伝子型

を調整した関連解析、また APOE の遺伝子型 (E4 アレルの有無) で層別した関連解析を実施した (Figure 3)。AD は、環境要因と遺伝要因が発症に関与する多因子疾患である。これまでに APOE 遺伝子を含め、いくつかの関連遺伝子が同定されている。しかし、そのほとんどは欧米人のデータであり、遺伝的背景の異なる日本人において遺伝要因を探索することは極めて重要である。

そこで、我々は、日本人における AD の関連遺伝子を同定するため、ゲノムワイド関連解析を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究で用いたサンプルは、すべて研究機関において文書による同意が取得されており、各倫理審査委員会において承認を受けている。

C. 研究結果

種々の品質管理フィルターをパスした約 60.3 万 SNP について、関連解析を実施した結果、APOE 遺伝子領域に $P=9.0 \times 10^{-22}$ (オッズ比 4.0) の非常に強い関連を認めた (Figure 4)。APOE 遺伝子領域以外には、ゲノムワイドレベルの有意水準を満たす SNP は認められなかった。次に、GWAS にて $P < 10^{-3}$ を示した 541 SNP を選択し、既報の AD 関連遺伝子領域を除外した後、SNP 間の連鎖不平衡を考慮して、再現性研究の候補 SNP 346 SNP を選択した。これらの SNP について、協力研究機関に

において収集された独立した AD 症例を用いて再現性を検討した。再現性研究にて 25SNP が $P < 0.05$ を示したが、Bonferroni 補正後の有意水準である $P < 1.4 \times 10^{-4}$ を満たすものはみられず、GWAS セットとの統合でもゲノムワイドレベルの有意水準を満たす SNP は認められなかった (Table1)。ただし rs1992269 (Chr18p11) の統合 P 値は 1×10^{-5} 未満であり示唆的領域と考えられた。次に今回用いた AD 群・対照群のすべてのサンプルにおいて、APOE の遺伝子型のタイピングを行い、APOE の遺伝子型を調整した関連解析、また APOE の遺伝子型 (E4 アレルの有無) で層別した関連解析を実施した (Figure3)。GWAS セットにおいて、APOE 遺伝子型による調整、E4 アレル保有群のみでの解析、E4 アレル非保有群のみでの解析をおこなったところ、それぞれ 53SNP、47SNP、35SNP が $P < 1 \times 10^{-4}$ を示した (Figure4, 5, 6)。SNP 間の連鎖不平衡を考慮して、それぞれ 37SNP、32SNP、29SNP について、再現性研究を行ったが、Bonferroni 補正後の有意水準を満たすものはみられず、GWAS セットとの統合でもゲノムワイドレベルの有意水準を満たす SNP は認められなかった (Table2, 3, 4)。

ただし、E4 アレル保有群の解析において、rs802571 (CNTNAP2 領域) と rs11613092 (TAOK3/SDS3 領域) は統合 P 値が 1×10^{-5} 未満であり示唆的領域と考えられた。

D. 結論

日本人においても APOE 遺伝子は強力な AD 関連遺伝子であることが確認されたが、APOE 遺伝子以外にゲノムワイドレベルの有意水準を満たす AD 関連遺伝子を同定することはできなかった。rs1992269, rs802571, rs11613092 については示唆的領域と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohara T, Ninomiya T, Hirakawa Y, Ashikawa K, Monji A, Kiyohara Y, Kanba S, Kubo M. Association study of susceptibility genes for late-onset Alzheimer's disease in the Japanese population. *Psychiatr Genet* 22: 290-293, 2012
2. Kumasaka N, Aoki M, Okada Y, Takahashi A, Ozaki K, Mushiroda T, Hirota T, Tamari M, Tanaka T, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M. Haplotypes with Copy Number and Single Nucleotide Polymorphisms in CYP2A6 Locus Are Associated with Smoking Quantity in a Japanese Population. *PLoS One* 7: e44507, 2012
3. Hirota T, Takahashi A, Kubo M, Tsunoda T,

- Tomita K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Tanaka S, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Okumura K, Ogawa H, Ikeda S, Noguchi E, Sakamoto T, Hizawa N, Ebe K, Saeki H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Takeuchi S, Furue M, Nakamura Y, Tamari M. Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. *Nat Genet* 44: 1222-1226, 2012
4. Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, Kato N, Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, Mbarek H, Tokunaga K, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Soluble MICA and a MICA Variation as Possible Prognostic Biomarkers for HBV-Induced Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 7: e44743, 2012
 5. Hara M, Higaki Y, Taguchi N, Shinchi K, Morita E, Naito M, Hamajima N, Takashima N, Suzuki S, Nakamura A, Ohnaka K, Uemura H, Nishida H, Hosono S, Mikami H, Kubo M, Tanaka H. Effect of the PPARG2 Pro12Ala Polymorphism and Clinical Risk Factors for Diabetes Mellitus on HbA1c in the Japanese General Population. *J Epidemiol* 22: 523-531, 2012
 6. Okada Y, Sim X, Go MJ, Wu JY, Gu D, Takeuchi F, Takahashi A, Maeda S, Tsunoda T, Chen P, Lim SC, Wong TY, Liu J, Young TL, Aung T, Seielstad M, Teo YY, Kim YJ, Lee JY, Han BG, Kang D, Chen CH, Tsai FJ, Chang LC, Fann SJ, Mei H, Rao DC, Hixson JE, Chen S, Katsuya T, Isono M, Ogihara T, Chambers JC, Zhang W, Kooner JS; The KidneyGen Consortium; The CKDGen Consortium, Albrecht E; The GUGC consortium, Yamamoto K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Kato N, He J, Chen YT, Cho YS, Tai ES, Tanaka T. Meta-analysis identifies multiple loci associated with kidney function-related traits in east Asian populations. *Nat Genet* 44: 904-909, 2012
 7. Shiraishi K, Kunitoh H, Daigo Y, Takahashi A, Goto K, Sakamoto H, Ohnami S, Shimada Y, Ashikawa K, Saito A, Watanabe S, Tsuta K, Kamatani N, Yoshida T, Nakamura Y, Yokota J, Kubo M, Kohno T. A genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for lung adenocarcinoma in the Japanese population.

- Nat Genet 44: 900-903, 2012
8. Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, Boroevich KA, Hosoda F, Nguyen HH, Aoki M, Hosono N, Kubo M, Miya F, Arai Y, Takahashi H, Shirakihara T, Nagasaki M, Shibuya T, Nakano K, Watanabe-Makino K, Tanaka H, Nakamura H, Kusuda J, Ojima H, Shimada K, Okusaka T, Ueno M, Shigekawa Y, Kawakami Y, Arihiro K, Ohdan H, Gotoh K, Ishikawa O, Ariizumi S, Yamamoto M, Yamada T, Chayama K, Kosuge T, Yamaue H, Kamatani N, Miyano S, Nakagama H, Nakamura Y, Tsunoda T, Shibata T, Nakagawa H. Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators. Nat Genet 44: 760-764, 2012
 9. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K. Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. Nat Genet 44: 511-516, 2012
 10. Onouchi Y, Ozaki K, Burns JC, Shimizu C, Terai M, Hamada H, Honda T, Suzuki H, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Suzuki Y, Yasukawa K, Ebata R, Higashi K, Saji T, Kemmotsu Y, Takatsuki S, Ouchi K, Kishi F, Yoshikawa T, Nagai T, Hamamoto K, Sato Y, Honda A, Kobayashi H, Sato J, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Murata Y, Sasago K, Takahashi A, Kamatani N, Kubo M, Tsunoda T, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T; Japan Kawasaki Disease Genome Consortium, Abe J, Kobayashi T, Arakawa H, Ichida F, Nomura Y, Miura M, Ikeda K, Hara T, Fukazawa R, Ogawa S, Hamaoka K; US Kawasaki Disease Genetics Consortium, Newburger JW, Baker AL, Rowley AH, Shulman ST, Melish ME, Mason WH, Takahashi M, Tremoulet AH. A genome-wide association study identifies three new risk loci for Kawasaki disease. Nat Genet 25; 44: 517-521, 2012
 11. Tanikawa C, Urabe Y, Matsuo K, Kubo M, Takahashi A, Ito H, Tajima K, Kamatani N, Nakamura Y, Matsuda K. A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population. Nat Genet 44: 430-434, 2012
 12. Akamatsu S, Takata R, Haiman CA, Takahashi A, Inoue T, Kubo M, Furihata M, Kamatani N, Inazawa J, Chen GK, Le Marchand L, Kolonel LN, Katoh T, Yamano Y, Yamakado M, Takahashi H, Yamada H, Egawa S, Fujioka T, Henderson BE, Habuchi T, Ogawa O, Nakamura Y, Nakagawa H. Common variants at 11q12, 10q26 and 3p11.2 are associated with prostate cancer susceptibility in Japanese. Nat Genet 44: 426-429, 2012
 13. Okada Y, Kubo M, Ohmiya H, Takahashi A, Kumasaka N, Hosono N, Maeda S, Wen W, Dorajoo R, Go MJ, Zheng W, Kato N, Wu JY, Lu Q; GIANT consortium, Tsunoda T, Yamamoto K, Nakamura Y, Kamatani N, Tanaka T. Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations. Nat Genet 44: 302-306, 2012
 14. Low SK, Takahashi A, Cha PC, Zembutsu H, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA. Hum Mol Genet 21: 2102-2010, 2012
 15. Nakagawa H, Akamatsu S, Takata R, Takahashi A, Kubo M, Nakamura Y. Prostate cancer genomics, biology, and risk assessment through genome-wide association studies. Cancer Sci 103: 607-613, 2012
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし

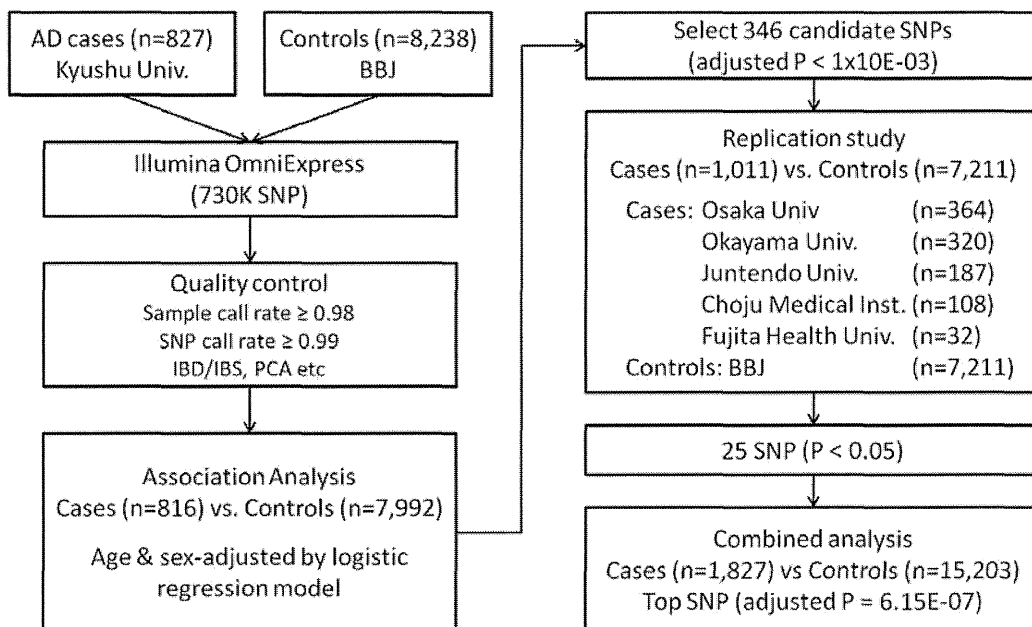


Figure 1. Study design 1

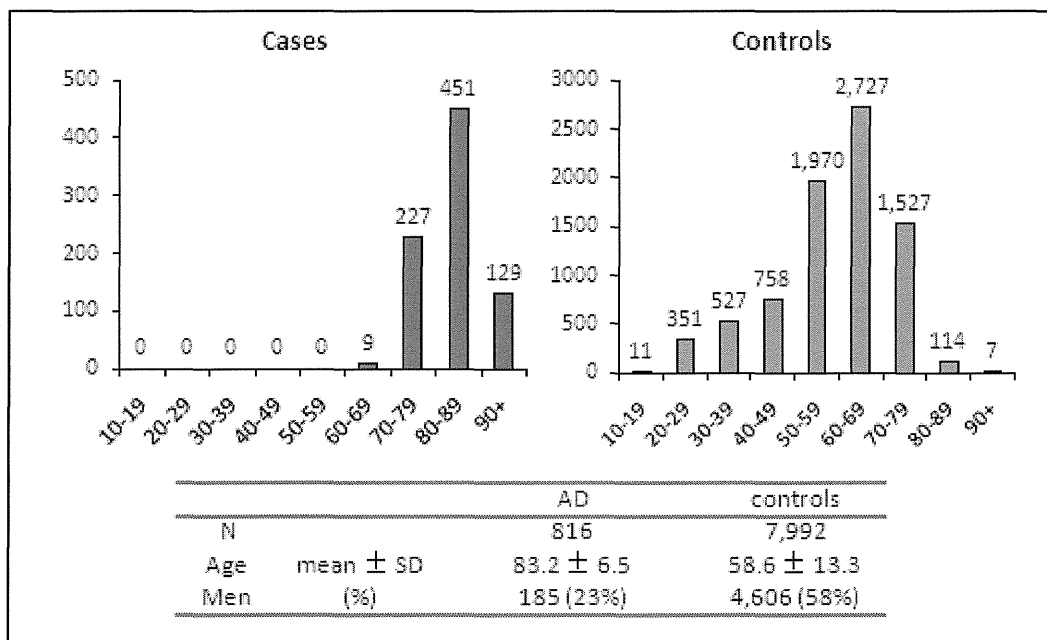


Figure 2. Age and sex distributions of samples used in GWAS.

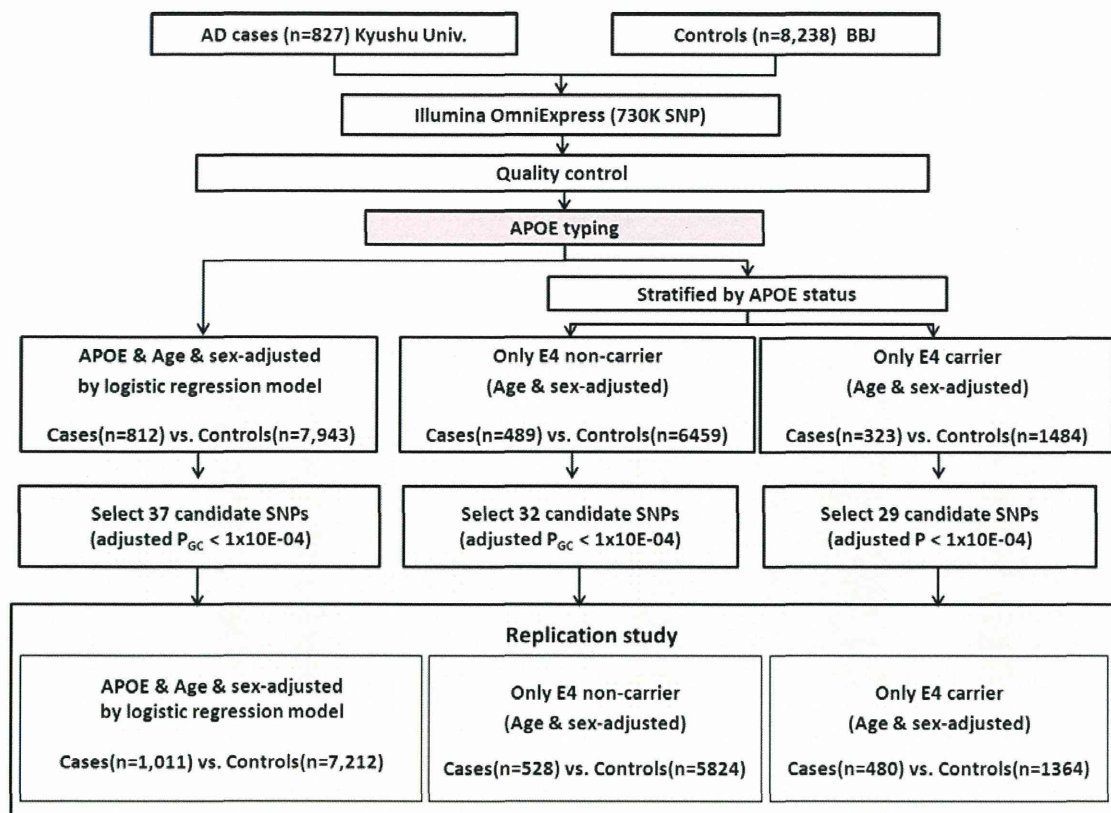


Figure 3. Study design 2

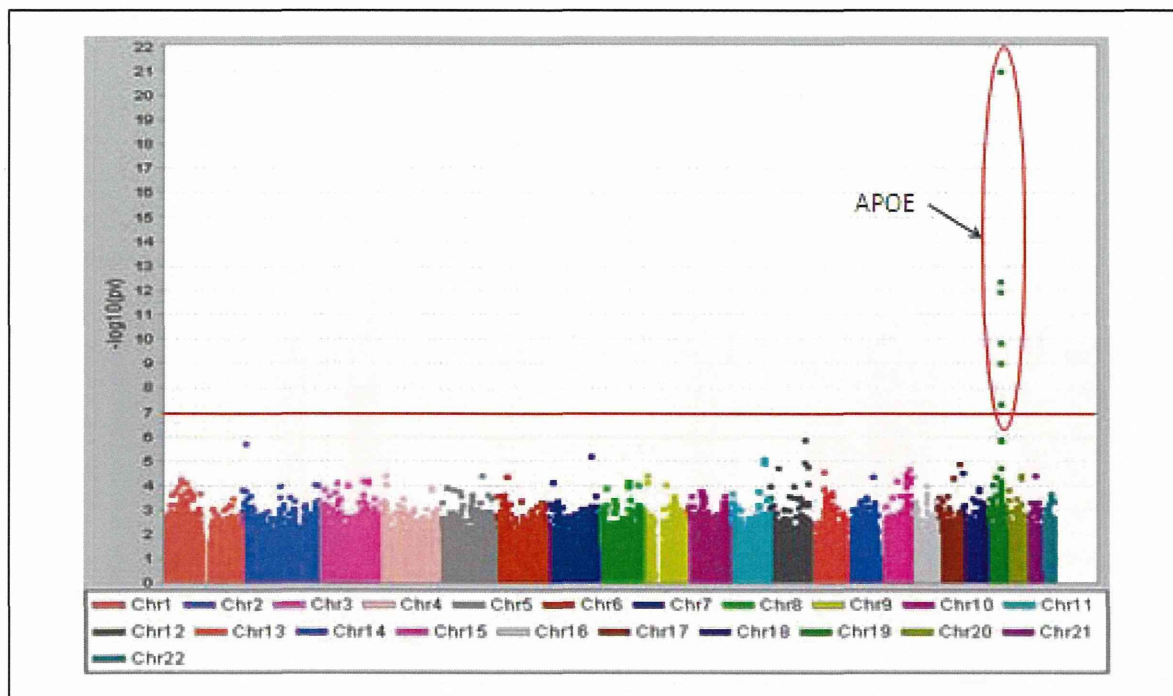


Figure 4. Manhattan plot for GWAS (All sample, Age & Sex adjusted)