

Fig. 5 次世代シーケンサーデータの参照配列へのマッピング

何重にも重複して読む，参照配列へ貼り付けることにより，正確な塩基配列解読と多型および変異の判定を行う。

のように疾患解析に応用するのであろうか。

### 1. 単一遺伝子疾患

単一遺伝子疾患の病因遺伝子探索については，困難な課題に直面するようになってきていた。それは，1990年代の代表的な疾患ポジショナルクローニングと異なり，疾患遺伝子座を絞り込むのに適した大家系は多くなく，したがって，候補領域の絞り込みが十分できないために，これまでのゲノム解析技術では病因遺伝子の同定が著しく困難な疾患が数多く残されている（例えば遺伝性の筋萎縮性側索硬化症やパーキンソン病では50～75%以上が未解明である）。

この問題を克服するためには，候補領域の絞り込みが十分でなくても，いかにすれば家族例の小家系または孤発例だけでも，次世代シーケンサーを駆使した網羅的なゲノム配列解析により，病因遺伝子の同定が可能であると思われる。このようなエクソーム解析により，2010年に，稀なメンデル遺伝病であるミラー症候群<sup>11)</sup>や歌舞伎症候群<sup>12)</sup>を皮切りに，単一遺伝性疾患の遺伝子同定が相次いでいる。

神経疾患では，家族性パーキンソン病の *VPS35* 遺伝子<sup>13)</sup>，家族性筋萎縮性側索硬化症の新規遺伝子 *profilin* *1*<sup>14)</sup>，近位筋優位の遺伝性運動感覚ニューロパチー (HMSN-P) の疾患遺伝子 *TRK-fused gene (TFG)*<sup>15)</sup>

などがエクソーム解析によって新規に同定された。

しかしながら，例えば1家系の兄弟例をエクソーム解析しても，共通する一塩基変化 (single nucleotide variation: SNV) は200～300個ほどあるので，連鎖解析などの位置情報や，または症状の非常に似たある程度の数の症例数が必要である。

### 2. 孤発性多因子疾患

先に述べたように孤発性疾患については，SNPを用いたGWASによる研究が進められている。GWASは成果をあげているものの，見出される疾患感受性遺伝子のオッズ比は1.1～2.0程度と小さく，それらは遺伝要因全体の一部しか説明できず，疾患の病態機序全体の理解が進んでいない。パーキンソン病におけるゴーシェ病遺伝子のように multiple rare variants が疾患発症に関与する場合，このような rare variants の検出は，GWASでは理論上，限界があり（頻度の高いSNPしか用いていないため），リシーケンシングが必要となる。対象とすべき候補遺伝子が明らかかな場合は，従来型のサンガーシーケンシングで対応できるが，候補遺伝子が明らかでない場合，全ゲノム，全エクソームを対象としたリシーケンシングが必要となる。

次世代シーケンサーが実用化されたことから，このような rare variants の検出が十分可能になるものと期待

されている。今後は、多数例の患者、対照の全ゲノム、全エクソームシーケンスが行われ、rare variant に対してもゲノムワイドに症例対照関連解析を行い同定することがなされるであろう (low frequency variant genome-wide association)。つい最近、アルツハイマー病患者 261 人、対照 504 人のエクソーム、全ゲノムシーケンスから、*TREM2* rare variants のヘテロ接合体がアルツハイマー病のリスクになることが報告された<sup>16)</sup>。

## おわりに

孤発性の神経疾患のメカニズム解明にあたっては、その疾患のメンデル遺伝型の原因遺伝子の研究成果が大きく貢献してきた。今後は、次世代シーケンサーによる未知のメンデル遺伝型遺伝子の同定のみならず、孤発性神経疾患そのものにおいて、第 2 世代の大規模な GWAS や、次世代シーケンサーを用いて疾患の発症に与える効果サイズの大きい rare variant 解析から、新規の感受性遺伝子が同定され、新しい機序、創薬の手がかりがみつかる可能性がある。

さらに、SNP チップやリシーケンスにより全ゲノム的に薬剤効果に関与する多型が数多く同定され、それらを組み合わせて搭載したカスタムの薬剤効果判定チップの臨床応用が期待される。

今後、髪の毛 1 本から全塩基配列が携帯型のシーケンサーで決定できるという時代になるであろう。その場合には、本特集で述べられる倫理的課題がよりクローズアップされてくる。さらに、その先には、パーソナルゲノム医療という新しい分野、すなわち、患者 1 人 1 人のパーソナルゲノムの解析に基づき、最適な診断と治療、予防を実現するという、近未来の医療パラダイムの実現が期待されよう。将来的には、現在の医療行為を、患者のゲノム配列を読まずに行っていた、と評する時代が来るかもしれない。

## 文 献

- 1) Callaway E: Alzheimer's drugs take a new tack. *Nature* 489: 13-14, 2012
- 2) Goemans NM, Tulinius M, van den Akker JT, Burm BE, Ekhardt PF, et al: Systemic administration of PRO051 in Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 364: 1513-1522, 2011
- 3) Taniguchi-Ikeda M, Kobayashi K, Kanagawa M, Yu CC, Mori K, et al: Pathogenic exon-trapping by SVA retrotransposon and rescue in Fukuyama muscular dystrophy. *Nature* 478: 127-131, 2011
- 4) Tsuji S: Genetics of neurodegenerative diseases: insights from high-throughput resequencing. *Hum Mol Genet* 19(R1): R65-70, 2010
- 5) Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, et al: Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 41: 1303-1307, 2009
- 6) International Parkinson Disease Genomics Consortium; Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, Sharma M, Sheerin UM, et al: Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet* 377: 641-649, 2011
- 7) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorf LA, et al: Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461: 747-753, 2009
- 8) Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, et al: Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 66: 571-576, 2009
- 9) Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, et al: Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 361: 1651-1661, 2009
- 10) Mazzulli JR, Xu YH, Sun Y, Knight AL, McLean PJ, et al: Gaucher disease glucocerebrosidase and  $\alpha$ -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 146: 37-52, 2011
- 11) Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, Bigham AW, Tabor HK, et al: Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet* 42: 30-35, 2010
- 12) Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, Hannibal MC, McMillin MJ, et al: Exome sequencing identifies *MLL2* mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nat Genet* 42: 790-793, 2010
- 13) Vilariño-Güell C, Wider C, Ross OA, Dachsel JC, Kachergus JM, et al: VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 89: 162-167, 2011
- 14) Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, Keagle PJ, Sapp PC, et al: Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 488: 499-503, 2012
- 15) Ishiura H, Sako W, Yoshida M, Kawarai T, Tanabe O, et al: The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement. *Am J Hum Genet* 91: 320-329, 2012
- 16) Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, et al: *TREM2* variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 368: 117-127, 2013

特集

## 1. 神経変性疾患のゲノム・遺伝学研究

## 孤発性パーキンソン病のリスク遺伝子

佐竹 渉, 戸田 達史

## 1. はじめに

パーキンソン病 (PD) 症例の 95% は孤発性発症であるが, 5% は家族性 (その一部はメンデル遺伝性) に発症する. PD 多発家系の連鎖解析などから少なくとも 6 つのメンデル遺伝性 PD 原因遺伝子が明らかにされ, ミトコンドリア障害, 酸化ストレス障害の病態への関与に加え, 新たにユビキチン・プロテアソーム系の機能低下, つまり蛋白分解異常からドパミン細胞死に至る経路の重要性が示された (Farrer, 2006).

一方で, 21 世紀のゲノム科学の進展にともなって, 孤発性に発症する多因子疾患の疾患リスク遺伝子の探索が実現可能となった. PD においては, 患者の大多数を占める孤発性 PD は多因子疾患であると考えられ, 孤発性 PD の疾患リスク遺伝子の発見を目指した研究が行われている. 我々は孤発性 PD

の大規模なゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い, 4 つの PD リスク遺伝子を発見した (Satake et al., 2009). またゴーシェ病遺伝子も PD 発症に関与するまれな多型 (rare variant) として注目されている. 本稿ではこれらのデータを中心に, PD の発症リスク遺伝子について概説する.

## 2. 多因子遺伝性疾患としての孤発性パーキンソン病とリスク遺伝子

単一遺伝性疾患 (いわゆる遺伝病) とは異なり, 症例的には大多数 (95%) の孤発性 PD は, 生活習慣病と同じく多因子遺伝性の疾患であり, 1 つ 1 つは影響力の弱い複数の遺伝因子 (おそらく数十個からなる) と環境因子が組み合わさることによって発症すると考えられている. アイスランド国民を対象とした大規模な疫学的調査で, PD 患者の同胞 (兄弟姉妹), 子供, 甥姪は, 一般集団より, それぞれ 6.7, 3.2, 2.7 倍発症しやすいと報告された. つまり, 本疾患の  $\lambda_s$  (同胞発症危険率, 多因子疾患の遺伝素因の強さをはかる目安に使われる) は 6.7 ということになる. 患者の夫あるいは妻の発症率は高くはなく, PD の発症には遺伝因子が強く影響していることが示された (Sveinbjornsdottir et al., 2000).

Risk genes for sporadic Parkinson's disease

Wataru Satake, Tatsushi Toda

神戸大学大学院医学研究科 神経内科/分子脳科学 [〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1]

Division of Neurology/Molecular Brain Science, Kobe University Graduate School of Medicine (7-5-1 Kusunoki-chou, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan)

これらの発症に関わる遺伝子を「疾患リスク遺伝子」といい、それぞれがリスクを1.3倍くらいあげるような影響力（疾患感受性）をもつ。一塩基多型（SNP）などが代表的であり、これは正常にも存在し患者で有意に多い、というような所見となる。単一遺伝性PDの原因遺伝子と異なり、ほとんどの患者がこの「疾患リスク遺伝子」に関係する。

PDのリスク遺伝子を発見するため、ここ10年間、多くの研究がなされてきたが、アルツハイマー病におけるApoE4多型のような確実に発症リスクを高める遺伝因子はなかなか確認されていなかった。2009年時点まで、ゲノムワイド有意水準 ( $P < 5 \times 10^{-7}$ ) を満たす確実なものは、 $\alpha$ -synucleinの3'非翻訳領域 (Mizuta et al., 2006) とゴーシェ病遺伝子GBA (後述) の2つの遺伝子のみであった。

### 3. パーキンソン病の大規模ゲノムワイド関連解 (GWAS)

そこで筆者らは、世界最大規模の患者対照集団を用いて、56万個の一塩基多型 (SNP) によるゲノムワイド関連解析と、2つの独立な再現研究を行い、PDのリスク遺伝子を明示しようとした (Satake et al., 2009)。検体は、国立精神神経センター (村田部長)、順天堂大 (服部教授)、香川県立中央病院 (山本部長) を中心とする国内11施設からなるコンソーシアム (図1) で収集され、総数としては患者2,011検体、対照18,381検体を用いた。

まず、GWASステージとして、患者1,078検体、対照2,628検体について、それぞれ56万種類のSNP型を決定した。検体およびSNPについて、厳格な品質管理 (IBS検定による非日本人・かくれた血縁者の抽出、SNPや検体のジェノタイプ成功率・マイナーアレル頻度・ハーディーワインバーク平衡の検討) を行った。これらの品質管理フィルターを通過した、高品質な、患者988検体、対照2,521検体の、435,470種のSNPのジェノタイプをもちいて、Cochran-Armitage trend検定による患者・対照群間の有意差検定を行った。GWASステージの検定では、 $P < 5 \times 10^{-7}$  のゲノムワイド有意水準を超える遺伝子

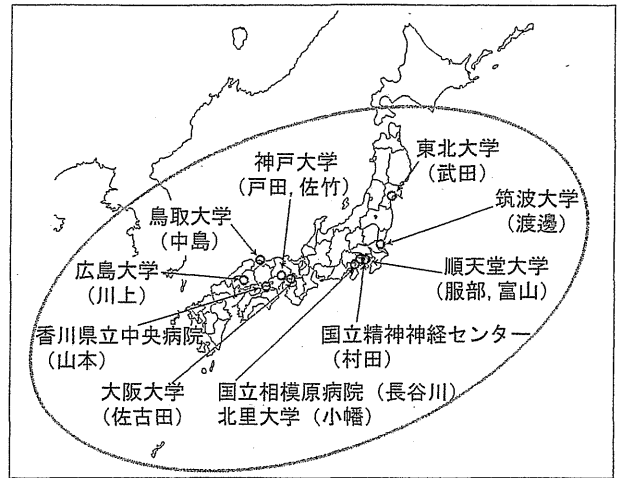


図1. パーキンソン病DNAを収集している国内の11施設のコンソーシアム  
2,000人以上の患者さんに協力していただき、ゲノムDNAをあつめた

は $\alpha$ -synucleinのみであった (図2a) もの、その一方で、Quantile-Quantile解析からは、 $\alpha$ -synuclein以外の領域のSNPにおいても、帰無仮説のもとで予想される $\chi^2$ 統計量分布からの、有意、かつ強力なインフレーションを観察した (図2b)。このことは、これらインフレートしたSNPの中に、真なるリスク遺伝子座が存在していることを意味している。

そこで、GWASステージでPD発症との関連を示すp値上位から337個のSNPについて、2つの独立した患者・対照検体セットでも有意かを検証する再現研究を行った。これら2つの再現研究でもPD発症との関連を示したSNPについて、さらに、全検体 (PD 2,011検体、対照 18,381検体) のジェノタイプデータを用いて、Cochran-Mantel-Haenzel検定によるメタ解析を行ったところ、絶対的な有意水準  $P < 5 \times 10^{-8}$  をクリアする4つのPDリスク遺伝子座がハイライトされた (図3) (Satake et al., 2009)。

### 4. 日本人GWASで発見された孤発性PDのリスク遺伝子

われわれは、2つの新しいPD感受性座を、1q32 (PARK16と命名、 $P = 1.52 \times 10^{-12}$ , 図3a) と4p15 ( $P = 3.94 \times 10^{-9}$ , 図3b) に発見した。1q32領域は、3つの遺伝子 (NUCKS1, RAB7L1, SLC41A1) を含

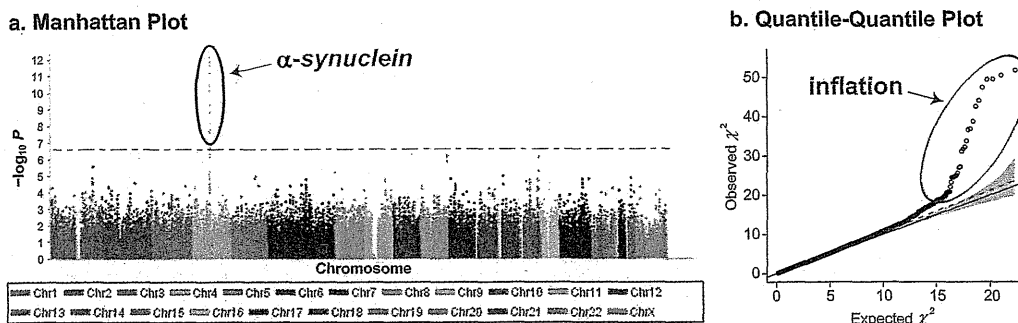


図2. ゲノムワイド関連解析 (GWAS) ステージの結果  
 パーキンソン病患者 988 人・対照 2,521 人の, 435,470 種の SNP ジェノタイプ  
 グ型を判定し, 患者対照間で有意差検定を行った。  
 a. Manhattan Plot. 1つの点が1つのSNPをあらわし, 435,470個の点がうって  
 ある。横軸は染色体上の位置, 縦軸は有意差検定統計値の対数値 ( $-\log P$ )。つ  
 まり上へいくほど, 患者・対照間で SNP 型の頻度の差が大きいことをしめす。GWAS  
 ステージでは, *alpha-synuclein* のみがゲノムワイド有意水準 ( $P < 5 \times 10^{-7}$ , 点線) を  
 クリアした。  
 b. Quantile Quantile Plot. これも, ひとつの点がひとつのSNPをあらわす。横軸が,  
 帰無仮説のもとでの有意差検定統計値 ( $\chi^2$  値) の期待値, 縦軸が実際の観察値。本  
 研究では, Inflation が認められる SNP が存在し (青丸), これらの中に, 真なるリ  
 スク遺伝子が存在することが予想された。

連鎖不平衡ブロックであった。また, 4p15 領域  
 に存在するのは, *BST1* のみであった。さらに, 常  
 染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子である,  
*alpha-synuclein* (4q22,  $P = 7.35 \times 10^{-17}$ , 図 3c) と *LRRK2*  
 (12q12,  $P = 2.72 \times 10^{-8}$ , 図 3d) の領域を同定した  
 (Satake et al., 2009)。\* *alpha-synuclein* は, 我々も以前報  
 告した確実なPDリスク遺伝子である (Mizuta et  
 al., 2006)。また, 本研究で初めて, *LRRK2* 領域の  
 ありふれた多型が, ゲノムワイド水準でPDと感受  
 性をもつことが示された。

*PARK16* は, 3つの遺伝子 (*NUCKS1*, *RAB7L1*,  
*SLC41A1*) を含むが, 発現量の形質座解析から,  
*NUCKS1* が最も有力な責任遺伝子であると考えた。  
*NUCKS1* は, コンセンサスリン酸化サイトをふく  
 む核タンパクであるが, 神経系における機能は, 未  
 知であり, 新たなPD発症のパスウェイを開拓する  
 可能性がある (Ostfold et al., 2001)。

*BST1* は, 細胞内  $Ca^{2+}$  貯蔵からの  $Ca^{2+}$  放出を誘  
 発するサイクリックADPリボースの形成を触媒す  
 る酵素であり (Yamamoto-Katayama et al., 2002),  
 最近提唱されている, ドパミン細胞死の  $Ca^{2+}$  スト  
 レス説に関わる可能性がある (Surmeier, 2007)。ま  
 た, 免疫・炎症への機序も報告されており興味深い

(Kaisho et al., 1994)。これらは, これまでのPD病  
 態ストーリーにないまったく新規の遺伝子であり,  
 従来説にとらわれず, 新規なものを同定できるとこ  
 ろに, ゲノム解析の強みがある。

*LRRK2* の関連のピークは, 上流領域であるので  
 (図 3d), プロモーター活性に影響を及ぼしている  
 かもしれない。これらは, 新たな治療ターゲットと  
 しても注目される。

### 5. PD リスク遺伝子の白人再現研究と 人種間での相違

次に, 我々は, 我々と併行して, 白人のPDの  
 GWAS研究を行っていた米独のグループと, データ  
 を交換した。彼らの研究では, *alpha-synuclein* 領域,  
*tau* 領域のみに, PD感受性が検出されていた  
 (Simón-Sánchez et al., 2009)。そこで, 我々の発見  
 した *PARK16*・*BST1*・*LRRK2* の再現研究を依頼し  
 たところ, *PARK16* と *LRRK2* のPD感受性は強く  
 再現された。*BST1* については, 当初彼らの研究で  
 は再現されなかったものの, その後の彼らによるさ  
 らに大規模な関連解析研究で再現された。それ以後  
 も, 日本人GWASで発見された4遺伝子座 (*PARK16*,

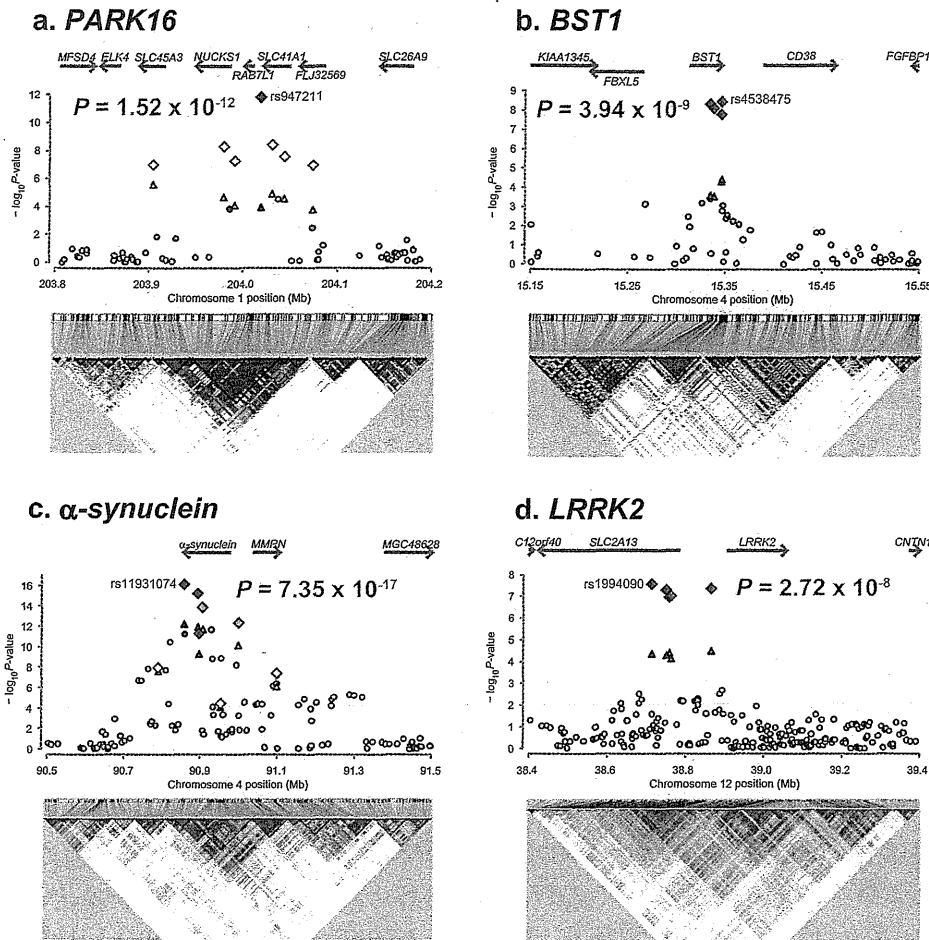


図3. 日本人の孤発性パーキンソン病患者 2,011 検体, 対照 18,381 検体を解析し, 同定された4つのパーキンソン病リスク遺伝子座  
 このうち2つ (PARK16 (a), BST1 (b)) は全くの新規領域であった. 残り2つは, 常染色体優性遺伝性パーキンソニズムの原因遺伝子  $\alpha$ -synuclein (c), LRRK2 (d) を含む領域が同定された. 1つの点は1つの SNP, 縦軸は  $-\log P$  をしめし, すなわち上にいくほどその SNP の PD 感受性が強いことをしめす.

BST1,  $\alpha$ -synuclein, LRRK2) の PD 感受性の再現報告が相次いでおり, 現在では, これら4遺伝子座は, 東アジア人・白人共通の, 確実な PD リスク遺伝子と考えられるに至っている (表1).

一方で, 我々は, 米独のグループをはじめ多くの白人の PD 関連解析で PD リスク遺伝子として検出されている *Tau* 遺伝子座の PD 感受性の再現を試みたが, 日本人ではまったく再現されなかったが (Satake et al., 2009), このことは PD のゲノム背景の人種間の不均一性を考える上で示唆にとむ. *tau* 変異は言わずと知れた FTDP17 の責任遺伝子であるが, この遺伝子座には *tau* などの複数の遺伝子を含む 900 キロ塩基の領域の逆位多型 (H1 と H2) が

存在する. H1 がもともと存在していたところに, 逆位多型 H2 が, 中東近辺で発生し, 北側 (ヨーロッパ) へほぼ選択的に拡散したとされており (Stefansson et al., 2005), つまり, 東アジア人にはそもそも H2 は存在しない. 白人の PD の関連解析では, H1 が PD リスク, H2 が PD 保護的であると報告しているが, われわれは, H2 を持たないのである (Satake et al., 2009).

### 6. 孤発性 PD リスク遺伝子とメンデル遺伝性 PD 遺伝子の共通性

日本人 GWAS で同定された4つの PD リスク遺

表 1. 日本人 GWAS で同定された 4 つの PD リスク遺伝子座に関する、白人集団での主な再現研究の結果

<i>PARK16</i>	
$P = 7.29 \times 10^{-8}$	(Sanchez et al., Nature Genet 2009)
$P = 1.00 \times 10^{-12}$	(IPDGC & WTCCC, PLoS Genet 2011)
$P = 1.27 \times 10^{-7}$	(Do et al., PLoS Genet 2011)
$P = 8.00 \times 10^{-10}$	(Lill et al., PLoS Genet 2012)
<i>BST1</i>	
$P = 1.79 \times 10^{-6}$	(Saad et al., HMG 2011)
$P = 1.85 \times 10^{-8}, 2.43 \times 10^{-9}$	(IPDGC, Lancet 2011)
$P = 2.3 \times 10^{-5}$	(Do et al., PLoS Genet 2011)
$P = 1.87 \times 10^{-10}$	(Lill et al., PLoS Genet 2012)
<i><math>\alpha</math>-synuclein</i>	
$P = 2.24 \times 10^{-16}$	(Sanchez et al., Nature Genet 2009)
$P = 7.90 \times 10^{-26}, 4.23 \times 10^{-23}$	(IPDGC, Lancet 2011)
$P = 2.82 \times 10^{-8}$	(Saad et al., HMG 2011)
$P = 2.29 \times 10^{-19}$	(Do et al., PLoS Genet 2011)
$P = 6.06 \times 10^{-65}$	(Lill et al., PLoS Genet 2012)
<i>LRRK2</i>	
$P = 1.55 \times 10^{-5}$	(Sanchez et al., Nature Genet 2009)
$P = 3.23 \times 10^{-8}, 1.06 \times 10^{-8}$	(IPDGC, Lancet 2011)
$P = 1.6 \times 10^{-4}$	(Do et al., PLoS Genet 2011)
$P = 6.44 \times 10^{-15}$	(Lill et al., PLoS Genet 2012)

日本人 GWAS からの 4 つの PD リスク遺伝子座の PD 感受性は、白人の研究でも繰り返し再現され、東アジア人・白人共通の、確実な PD リスク遺伝子であると考えられている。

伝子のうち 2 つは、メンデル遺伝性 PD の原因遺伝子であった。このことは、孤発性 PD の発症に、常染色体優性遺伝性 PD の原因遺伝子が、密に関係していることを明示した。原因変異により常染色体優性遺伝性 PD を引き起こす遺伝子は、そのありふれた多型を通して、典型的 PD の遺伝リスク（遺伝因子）となったことは興味深い。このような関係は、PD を超えて、ほかの疾患に対しても、あてはまるのかもしれない (Satake et al., 2009)。

### 7. まれな多型 (rare variant) と ゴーシェ病遺伝子 *GBA*

ゴーシェ病は、常染色体劣性遺伝性疾患で、リソソーム内酵素 *GBA* (グルコセラブロシダーゼ) の変異による酵素活性低下により、グルコシルセラミドをセラミドに分解できず、グルコシルセラミドが体内に蓄積し、肝脾腫、貧血、出血傾向、骨疾患な

どを引き起こす脂質代謝異常症である。一見、PD とはなんの関係もない疾患ではあるが、1990 年代後半から、PD 症状を合併するゴーシェ病患者の存在や、ゴーシェ病家系内に PD 患者が多発するとの報告が散見されていた。そこで、Aharon-Peretz らは、ユダヤ人の PD 患者について *GBA* 変異の頻度を調べたところ、孤発性 PD 群では、*GBA* 変異のヘテロ保因者が対照群に比べ有意に多く、*GBA* が孤発性 PD のリスク遺伝子であることを報告した (Aharon-Peretz et al., 2004)。その後、この研究の再現研究が世界中で行われ、東京大学辻省次教授らと筆者ら研究室の共同研究グループも、*GBA* 変異が、日本人でも PD 感受性をもつことを示す (Mitsui et al., 2009) と同時に、世界多施設共同研究に参画、アメリカ人、フランス人、ポルトガル人、台湾人などを含む、計約 10,000 人の患者対照集団とのメタ解析により、原著のユダヤ人に限らず、どの人種でも *GBA* 遺伝子はリスクとなり、平均オッズ比は 5 であり、確実な PD リスク遺伝子であることが示された (Sidransky et al., 2009)。*GBA* の基質であるグルコシルセラミドの蓄積により、神経毒性をもつとされる可溶性  $\alpha$ -synuclein オリゴマーが増加すること、可溶性  $\alpha$ -synuclein オリゴマーの増加により *GBA* の ER-Golgi 輸送が阻害されることによりさらに *GBA* 活性が低下し、可溶性  $\alpha$ -synuclein オリゴマーのさらなる増加につながる、といったポジティブフィードバックの経路が最近報告され、興味深い (Mazzulli et al., 2011)。

### 8. パーキンソン病のゲノム背景

パーキンソン病、アルツハイマー病、または生活習慣病を含むほとんどの疾患は、複数の遺伝因子と複数の環境因子の積み木の総和がある閾値を超えたとき発症すると考えられている。そのモデルを図 4 に示す。メンデル遺伝性 PD を引き起こす  *$\alpha$ -synuclein* や *LRRK2* の変異はそれ 1 つだけで閾値に到達し発症するが、対象患者はほとんど存在しないので積み木の幅はとても狭い(とてもまれ)。ゴーシェ病遺伝子 *GBA* などの rare variant リスクは中等

度の高さを持つが低頻度であるため幅は狭い。一方 SNP はそれ自体のオッズ比は低いがほとんどの患者に当てはまるため、積み木の幅は広い。いずれも重要である。

図4における積み木の重要度をあらわす指標のひとつに、人口リスク寄与度 (PAR, population attributable risk) がある。これは、もしこの遺伝子リスクが存在しなかったら (もしくは、この遺伝子リスクによる病態機序を治療すれば)、何%の患者が減るか (発症閾値を超えないようになるか) を示す値である。日本人 GWAS で同定の4遺伝子座の SNP リスクは、低リスクだが高頻度であり、その結果、人口リスク寄与度は 13% (*PARK16*), 8% (*BST1*), 18% (*α-synuclein*), 3% (*LRRK2*) (Satake et al., 2009), ゴーシェ病遺伝子 *GBA* では、中等度リスクであるが低頻度 (rare) であるので、*GBA* 遺伝子内の 11 個の rare variant リスクをすべて足し合わせて 4.6 であった。このことは、PD のゲノム背景の解明と、それにつづく病態解明や患者治療を見すえるうえで、これら縦長~横長のさまざまな形の積み木が、いずれも重要であることを意味する。

### 9. さらなる PD リスク遺伝子の発見へむけたアプローチ

PD リスク遺伝子をさらに同定していくためには、積み木の形によって有効な探索手法をもちいる必要がある。

高頻度・低リスクの疾患リスク遺伝子 (横長の積み木) を発見するためには、GWAS をさらに推し進めることが必要である。日本人の PD-GWAS (Satake et al., 2009) は、GWAS ステージでの有望な上位 337 個の SNP のみをさらに別検体セットで関連解析し、4つの遺伝子座を同定することに成功した。しかしながら、まだ未完成であり、上位 337 個を再現研究するのみでは統計的に不十分であり、とりこぼしがある。今後、上位数千個の SNP を別検体セットでの関連解析研究へすすめる必要がある。また、さまざまな人種 (とくにアジア人) での PD-GWAS とデータをあわせて解析すること (「メタ GWAS」) が、PD の SNP リスクを発見するのに有効である。

また、非常に低頻度・非常に高リスクの家族性疾患変異 (縦長の積み木) については、多発家系ベースでの連鎖解析と、進展著しい次世代シーケンサーをもちいた、全ゲノム解析もしくはエクソーム

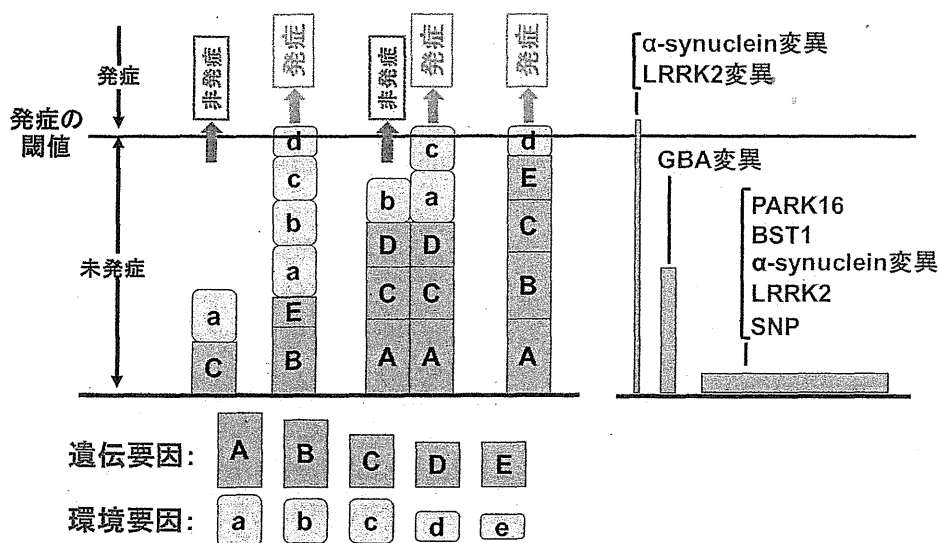


図4. 孤発性パーキンソン病のゲノム背景  
パーキンソン病, アルツハイマー病, または生活習慣病を含むほとんどの疾患は、複数の遺伝因子と複数の環境因子の積み木の総和が、ある閾値を超えたとき発症すると考えられている。メンデル遺伝性変異以外に、common variant として *PARK16*, *BST1*, *α-synuclein*, *LRRK2*, rare variant として *GBA* が重要



解析の組み合わせが有効である (Ng et al., 2010). 「エクソーム解析」とは、ゲノム DNA からハイブリダイズを用いた手法でエクソン領域のみを全て抽出し、次世代シーケンサーを用いて超高速シーケンスする技術であり、エクソン塩基配列解読にはきわめて効果的である。われわれのデータでは、ともに PD を発症した兄弟 2 例をエクソームシーケンスしたところ、データベースに登録なく、かつアミノ酸変化を伴うような変異・多型を、それぞれ、690 個、694 個検出した。これらのうち、この同胞間や、さらにほかの家系にも共通しているものは、家族性の PD 変異であると考えられる。

さらに、低頻度ながら中等度リスクの rare variant リスクは、エクソンに存在すると予想される。この同定のためには、「エクソーム解析」による全エクソン塩基配列解読を、数百検体に対して行い、患者群・対照群間で関連解析を行う、「エクソーム関連解析」が期待され、われわれを含め開始されている。

そういった研究から、新たな疾患パスウェイが発見され、本症の根本的治療薬開発へつながることを、切に願っている。

## 文 献

- Aharon-Peretz J, et al. (2004) Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 351 : 1972-1977
- Farrer MJ (2006) Genetics of Parkinson disease : paradigm shifts and future prospects. *Nature Rev Genet* 7 : 306-318
- Kaisho T, et al. (1994) BST-1, a surface molecule of bone marrow stromal cell lines that facilitates pre-B-cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 : 5325-5329
- Mazzulli JR, et al. (2001) Gaucher disease glucocerebrosidase and  $\alpha$ -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 146 : 37-52
- Mitsui J, et al. (2009) Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 66 : 571-576
- Mizuta I, et al. (2006) Multiple candidate gene analysis identifies  $\alpha$ -synuclein as a susceptibility gene for sporadic Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 15 : 1151-1158
- Ng SB, et al. (2010) Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nature Genet* 42 : 30-35
- Ostfold AC, et al. (2001) Molecular cloning of a mammalian nuclear phosphoprotein NUCKS, which serves as a substrate for Cdk1 in vivo. *Eur J Biochem* 268 : 2430-2440
- Satake W, et al. (2009) Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nature Genet* 41 : 1303-1307
- Sidransky E, et al. (2009) Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 361 : 1651-1661
- Simón-Sánchez J, et al. (2009) Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nature Genet* 41 : 1308-1312
- Stefansson H, et al. (2005) A common inversion under selection in Europeans. *Nature Genet* 37 : 129-137
- Surmeier DJ (2007) Calcium, ageing, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 6 : 933-938
- Sveinbjornsdottir S, et al. (2000) Familial aggregation of Parkinson's disease in Iceland. *N Engl J Med* 343 : 1765-1770
- Yamamoto-Katayama S, et al. (2002) Crystallographic studies on human BST-1/CD157 with ADP-ribosyl cyclase and NAD glycohydrolase activities. *J Mol Biol* 316 : 711-723

### Risk genes for sporadic Parkinson's disease

Wataru Satake, Tatsushi Toda

Division of Neurology/Molecular Brain Science, Kobe University Graduate School of Medicine

Parkinson's disease (PD) is a complex disorder caused by multiple genetic and environmental factors. We performed a genome-wide association study (GWAS). We identified two novel susceptibility loci, *PARK16* and *BST1*, and also detected strong associations at *α-synuclein* and *LRRK2*, both of which are implicated in autosomal dominant forms of parkinsonism. By comparing Caucasians' GWAS results, we found *PARK16*, *BST1*, *SNCA* and *LRRK2* as shared risk loci for PD and *MAPT* as loci showing population differences. Heterozygous mutations of *GBA* have relatively high risk as rare variants. Exome sequencing by next generation sequencer is expected to enable the discovery of not only rare causal variants, but also protein-coding risk variants.

---

Address correspondence to Dr. Wataru Satake, Division of Neurology/Molecular Brain Science, Kobe University Graduate School of Medicine (7-5-1 Kusunoki-chou, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan)

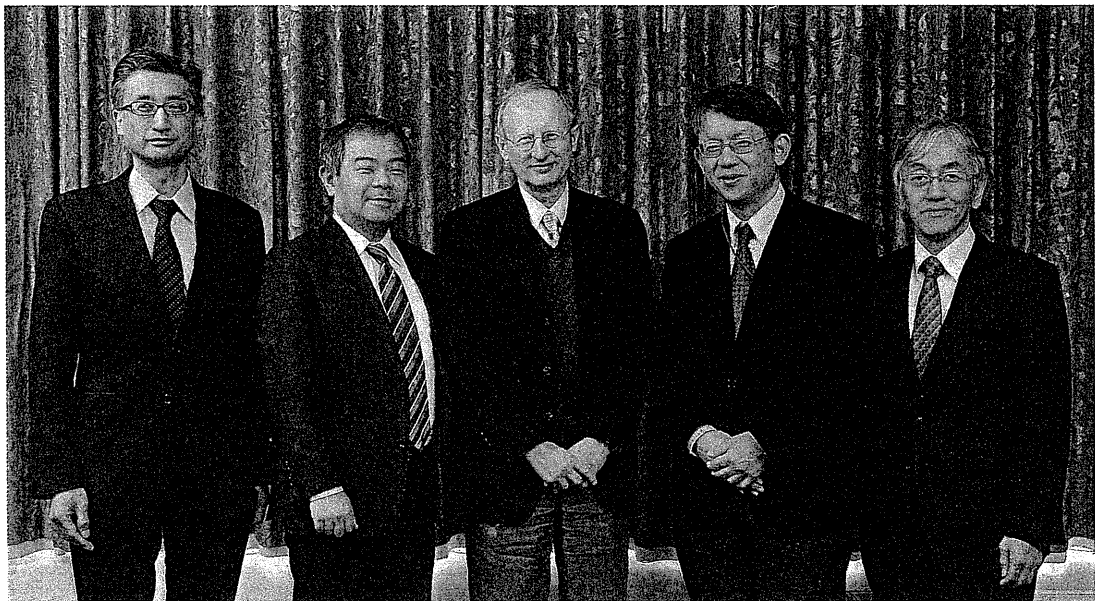
座談会

## Round Table Discussion

# パーキンソン病遺伝子に関する最新の知見

パーキンソン病 (PD) の原因ははまだ不明であり、症状を改善する治療法は出てきているものの、根本的な治療法は確立されていない。PD の進行過程には、家族性 PD の原因となる遺伝子異常の関与や、環境因子の影響が明らかとなっており、現在、根本的な治療を目指した遺伝的側面からの PD 遺伝子研究が進められている。

今回、米国・フロリダ州 Jacksonville の Mayo Clinic Florida で顧問、Mayo Clinic 医科大学で神経学の教授を務めておられる Wszolek 先生をゲストに迎え、日本で PD 遺伝子に関する研究を積極的に行っている先生方と、PD 遺伝子に関する最新の知見についてディスカッションを行った。



●ご司会

望月 秀樹 先生

Hideki Mochizuki

大阪大学大学院医学系  
研究科神経内科学 教授

戸田 達史 先生

Tatsushi Toda

神戸大学大学院医学研究科  
神経内科学 教授

Dr. Zbigniew K. Wszolek

Professor, Department of  
Clinical Neurosciences, Mayo  
Clinic Florida, USA

高橋 良輔 先生

Ryosuke Takahashi

京都大学大学院医学研究科  
臨床神経学 教授

坪井 義夫 先生

Yoshio Tsuboi

福岡大学医学部  
神経内科学 教授



高橋 良輔 先生

## ■ 家族性パーキンソン病研究の現状

根治療法を目指して

高橋 本日は、フロリダ州 Jacksonville の Mayo Clinic Florida から Wszolek 先生をお迎えし、パーキンソン病 (PD) 遺伝子に関する最新の知見について皆さんにお話を伺っていきたく思います。まず、Wszolek 先生、PARK 遺伝子の分類についてお話しください。

**Wszolek** 既知遺伝子の大半は  $\alpha$ -シヌクレインの病変、すなわち孤発性 PD の病理学的特徴と関連しています。当然のことながら、 $\alpha$ -シヌクレインの病変は  $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子の点突然変異と重複変異の両方をもつ患者にみられます。しかし興味深いことに、一部の患者ではタウの病変も報告されています。さらに最近では、TDP-43 の病変も明らかになってきました。

PD に関連する第 2 の常染色体優性遺伝性パーキンソン病 PARK8 を起こす LRRK2 遺伝子変異例の 80% 以上は、 $\alpha$ -シヌクレインの病変と関連性があります。しかし同時に、タウオパチーも一部に認められ、まれですが TDP-43 も同定されています。

高橋 孤発性 PD 患者から得た検体で行われたゲノムワイド関連解析 (genome-wide association studies : GWAS) の研究についてご紹介ください。

**Wszolek** GWAS はこれまでに 10 件以上行われていますが、すべての研究において  $\alpha$ -シヌクレインおよびタウ遺伝子が同定されています。その他のパーキンソン症候群の場合、主な病変が大脳皮質基底核変性症 (corticobasal

degeneration : CBD) と進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy : PSP) で認められます (表 1)。これらはタウの病変です。これ以外のパーキンソン症候群 (多系統萎縮症, PD を伴う認知症, びまん性レヴィ小体病) は  $\alpha$ -シヌクレインと関連しています。したがってこの場合も、 $\alpha$ -シヌクレインとタウの 2 つの病変がパーキンソン症候群と大いに関係があります。こうした非定型の PD 様疾患と関連する家族性症例に注目すると、前頭側頭型認知症 (FTDP-17T) のようにタウの病変と関連する症例もあれば、最近同定されたミトコンドリア蛋白質関連神経変性症 (mitochondrial protein-associated neurodegeneration : MPAN) や、PLA2G6 関連神経変性症のように  $\alpha$ -シヌクレインと関連する症例もあります。PLA2G6 関連神経変性症には、 $\alpha$ -シヌクレインとタウ病変の若干のオーバーラップが認められます。

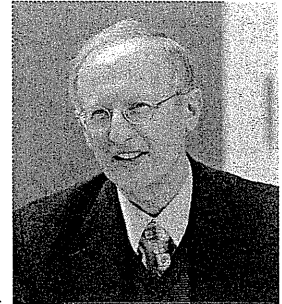
以上をもとに、我々は Jacksonville の Mayo Clinic が保有する脳の病理標本を精査し、 $\alpha$ -シヌクレインとタウの双方の病変に関連する追加遺伝子を探索するよう提案しています。プロジェクトは 2 つあり、PD におけるタウの役割を解明する研究と、 $\alpha$ -シヌクレインとタウの病変の遺伝的決定因子を探索する研究です。

このプロジェクトへの取り組み方は従来とは大きく異なります。従来は診察室の患者から出発して家系図を作り、家族に集まってもらって血液検体を採取し、可能で

表 1 パーキンソン症候群

症候群/疾患	領域	遺伝子	病変
FTDP-17T	17q21.1	<i>MAPT</i>	Tauopathy
MPAN	19q12	<i>CI9ORF12</i>	Synucleinopathy
PLA2G6-associated neurodegeneration	22q13.1	<i>PLA2G6</i>	Synucleinopathy, まれに tau pathology
MPAN : mitochondrial protein-associated neurodegeneration.			
症候群/疾患	領域	遺伝子	病変
CBD	-	-	Tauopathy
MSA	-	-	Synucleinopathy
PDD/DLB	-	-	Synucleinopathy
PSP	-	-	Tauopathy

あれば死後剖検，以後はさらに多くの家系を探し，検体を採取して最終的に遺伝子の発見に至ります。しかし，我々の方法は剖検例から出発します。α-シヌクレインとタウ双方の病変に関連する既知遺伝子を調べ，既知遺伝子をもつ症例を除外して既知の遺伝子座をもたない症例だけに集中します。次に家系に戻り，家系の範囲を広げて患者の家族全員から血液検体を採取します。そしてα-シヌクレインとタウの病変に関連する遺伝子をさらに数多く見つけていきます。本研究は，PDの新しい遺伝子を発見し，根治療法を見出すという最終目標に近づける方法であり，PD領域の明るい未来を築くための有力な方法のひとつになるでしょう。



Zbigniew K. Wszolek 先生

状についてお話しいただきます。

坪井 Perry 症候群の家系「FUK-1」は，2002年に日本人初の Perry 症候群家系として我々が報告しました。その後2009年になって，この家系から dynactin 1の変異が見つかりました。この家系の臨床経過は Perry<sup>1)</sup>が1975年に最初に報告した家系と非常によく似ています。この家系における最も印象的な検査所見は睡眠ポリグラフ検査結果でした。発端例の睡眠ポリグラフ検査結果(図1)では，夜間にきわめて不規則な呼吸が認められ，検査中の変動は非常に激しく，睡眠ステージにも異常が認められ

## Perry 症候群の研究の現状

### FUK-1と OMT-1

高橋 次に，Perry 症候群について長年 Wszolek 先生と共同研究されている坪井先生から，Perry 症候群研究の現

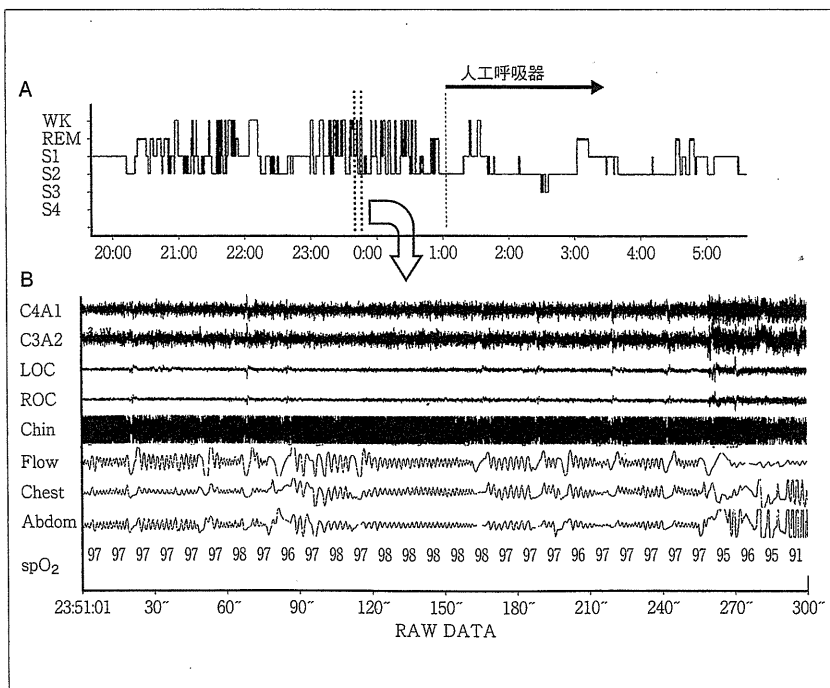


図1 Perry 症候群の睡眠ポリグラフ検査結果  
(文献2より引用)



坪井 義夫 先生

ました。また、突然の呼吸停止も1例で認められました。心臓シンチグラフィーではPerry症候群患者の3分の2にMIBG (3 (meta)-iodobenzylguanidine) の取り込み減少がみられます。

また、最近新しく発見されたOMT家系があります。OMT家系はPerry症候群としては最大の家系のひとつです。この家系においては新しい突然変異、ヘテロ接合型点突然変異が見つかりました。

変異型 p150<sup>glued</sup> の微小管に対する親和性を、野生型と比較しました。新しい変異は、これまで報告されたPerry症候群の変異と比較すると、微小管に対する親和性の低下が軽度でした。

Perry症候群の遺伝様式は、常染色体優性遺伝です。臨床的特徴は孤発性PDとの違いはあるものの、類似点も多くあります。さらに検査所見(脳のMRI、MIBG心筋シンチグラフィー)については、孤発性PD患者と非常によく似ています。

病理学的特徴としては、少量のTDP-43陽性細胞質内神経封入体が主に黒質または脳幹と大脳基底核に認められました。また、dynactin 1の変異を形質導入した培養細胞を野生型と比較した際、細胞内の蛋白質分布の異常が認められました。これまでの知見から、dynactinの機能がオートファジーの経路に関係していることが判明したので、dynactinの変異により、オートファジーの経路のどこかが妨害を受けているのではないかと推測しています。

## 孤発性PDの危険因子について

高橋 次に、戸田先生から孤発性PDの危険因子についてお話しいただきます。

戸田 ご存じの通り、メンデルの法則に従って遺伝するPD遺伝子が同定されており、その中には $\alpha$ -シヌクレイン、パーキンなどがあります。しかし、孤発性PDは複雑な疾患で、複数の遺伝および環境因子を原因としています。孤発性PD(多数:90~95%)において、PDに影響を及ぼす遺伝子がほとんど同定されていない中、我々は孤発性PD遺伝子の探索を行ってきました。

候補遺伝子として、我々はPDの最初の確定的(P値が $10^{-8}$ 未満)の感受性遺伝子 $\alpha$ -シヌクレインを同定しました。 $\alpha$ -シヌクレインの3'UTR(非翻訳領域)のいくつかのSNPのP値は $10^{-9}$ から $10^{-11}$ でした。これらのSNPは $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子の3'UTRとイントロン4に位置しています。

GWASにより感受性遺伝子座はPARK16などが見つかりました<sup>3)</sup>。これは新しい遺伝子座で、P値は $10^{-12}$ です。このPARK16遺伝子座は大きな連鎖不均平衡ブロックで、NUCKS1、RAB7L1、SLC41A1の3つの遺伝子を含んでいます。2013年2月に、RAB7L1がLRRK2と相互作用してニューロン内の蛋白質ソーティングとPDの危険度を修飾することが明らかになりました<sup>4)</sup>。RAB7L1は低分子量GTP蛋白質で、PARK16の産物である可能性が疑われています。

我々のGWASデータを白人のGWAS研究と比較したところ、当初は $\alpha$ -シヌクレイン、LRRK2、PARK16、BST1はアジア人で陽性、 $\alpha$ -シヌクレインとタウは白人で陽性でした。しかしその後再現研究がなされ、集団による相違はPDの遺伝的不均一性の背景となっているものの、原因遺伝子は集団間で共通するものが主でMAPTのみが白人集団に特異的です。さらに、変異を通じて常染色体優性遺伝のパーキンソニズムの原因となる遺伝子は、SNPを通じて孤発性PDのリスクも付与しています。

Gaucher病の原因となるGBA遺伝子変異はまれなバリ

アントですが、我々がPD患者遺伝子の再シーケンシングを行ったところ、患者500例以上のうち50例が Gaucher 遺伝子変異の保因者でした。対照例の Gaucher 遺伝子保因者はわずか2例、オッズ比は28でした。したがって、Gaucher 病遺伝子の変異はPDの危険因子である可能性があります。

図2は多因子疾患のモデルです。全部のブロックを合計すると、積み上げた高さが閾値に達し、患者は発症すると考えられます。α-シヌクレインやLRRK2は非常に強力で、たった1個の遺伝子変異でも発症の閾値に達してしまいます。しかし、患者数は非常に少ない。したがってブロックの幅が非常に狭いのです。Gaucher 遺伝子はまれなバリエーションで、影響は中程度です。PD患者の約10%が Gaucher 病の原因となる GBA 変異をもっているの幅が中程度になっています。シヌクレイン、LRRK2、BST1、およびPARK16のSNPによる影響は軽度ですが、ほとんどすべての患者がもっています。このように、遺伝的危険因子の中にも3種類あるといえます。



戸田 達史 先生

## α-シヌクレインとシナプス機能

DLB, MSA, PD における α-シヌクレインの蓄積

高橋 最後に、望月先生から α-シヌクレインとシナプス機能についてお話しできます。

望月 レヴィ小体型認知症 (dementia with Lewy bodies : DLB), 多系統萎縮症 (multiple system atrophy : MSA), PD における α-シヌクレインの蓄積についてお話しさせていただきます。

Spillantini ら<sup>5)</sup> は切断 α-シヌクレインをもつトランスジェニックマウスを作成し、初期イベントとして線条体

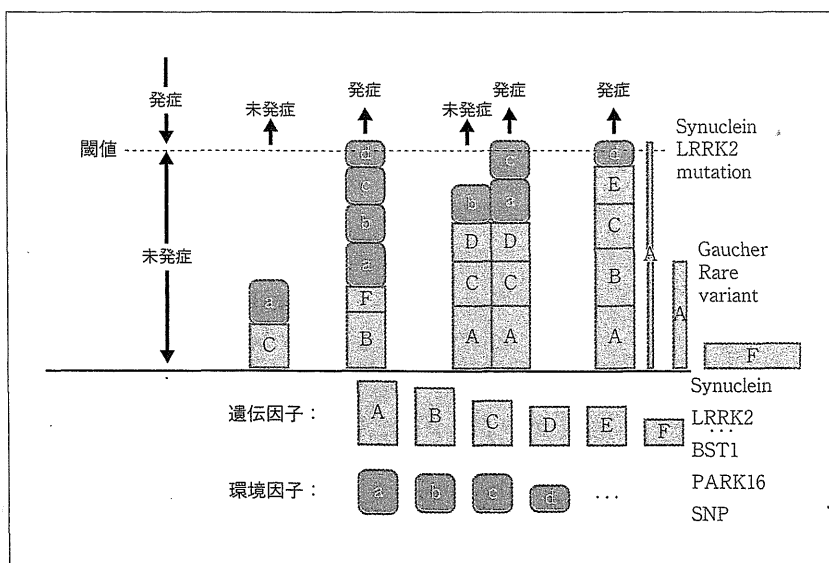


図2 多因子遺伝病のモデル



望月 秀樹 先生

内で SNARE 蛋白のひとつである SNAP-25 の再分布が起こっていることを示しました。その後 Burré ら<sup>6)</sup> は  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -シヌクレインのトリプルノックアウトマウスからニューロンの培養を行い、レンチウイルスベクターを用いて  $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子を徐々に導入しました。このトリプルノックアウトマウスの培養細胞中の SNARE 複合体は、 $\alpha$ -シヌクレインとともに増大し、 $\alpha$ -シヌクレインが SNARE 複合体形成のエンハンサーとして機能している可能性を示唆しました。

そこで我々は、SNARE 複合体が  $\alpha$ -シヌクレインの発現を調節している可能性に注目しました。SNAP-25 の条件突然変異をもつノックインマウスを作成し<sup>7)</sup>、SNARE 複合体と SNAP-25 を調べたところ、変異マウスでは SNAP-25 と SNARE 複合体が減少していました。

次に、これらのマウスにおける  $\alpha$ -シヌクレインの発現に興味をもち、線条体における  $\alpha$ -シヌクレインの免疫組織化学染色を行いました。11週では野生型マウスと変異マウスの間に差は認められませんでした。60週では変異マウスの線条体に  $\alpha$ -シヌクレインの蓄積を認めました。さらにウエスタンブロットにより、変異マウスの線条体において  $\alpha$ -シヌクレインとリン酸化  $\alpha$ -シヌクレインがわずかに増大していることがわかりました。

ドパミン作動性ニューロンは黒質から線条体に向かって投射しているので、ドパミン作動性ニューロンと線条体における  $\alpha$ -シヌクレインとドパミンの共局在に注目しました。皮質脊髄路と視床線条体神経路に着目し、それぞれのニューロンのシナプス小胞に特異的なグルタミン酸トランスポーターの、VGLUT1 と VGLUT2 を用いた免

疫組織化学法により調べました。その結果、 $\alpha$ -シヌクレインの蓄積は VGLUT1 陽性の神経突起内に限られ、皮質からのニューロンに特異的であることを明らかにしました。この結果は電子顕微鏡観察でも裏付けられました。

以上のことから、SNARE の機能不全により内在性の  $\alpha$ -シヌクレインが皮質線条体系の神経終末に限って蓄積することが明らかになりました<sup>8)</sup>。Tong ら<sup>9)</sup> は、PD、MSA、PSP、および家族性 PD 患者の線条体中の SNAP-25 を調べた結果、MSA 患者に限り、被殻における SNAP-25 含有量の減少を認めています。進行した MSA では皮質のニューロンに  $\alpha$ -シヌクレインの蓄積が認められることから、MSA における SNAP-25 の減少により、皮質のニューロンに  $\alpha$ -シヌクレインが蓄積したのではないかと推測されます。

## 総合討論

### 家族性 PD の研究の方向性について

高橋 PD 遺伝子の機能について、最新情報をたくさん聞かせていただきました。そこで、現段階ではどの遺伝子が一番重要で、PD の原因となっているか、Wszolek 先生のご意見をお伺いします。

Wszolek そうですね、歴史的には  $\alpha$ -シヌクレインが孤発性症例のレヴィ小体と関連性があり、PD にも何らかの関係があるとされてきました。また、 $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子の変異が PD の発症に繋がっている家族性症例も存在します。これは、 $\alpha$ -シヌクレインが PD の病因において重要な役割を果たしている証拠です。しかし  $\alpha$ -シヌクレインが唯一の要因と言い切ることはできません。

GWAS 研究において、タウはほとんど常に存在し、マンハッタンプロットで  $\alpha$ -シヌクレインをしのぐこともあるほど高いピークを示し、レヴィ小体を発現しています。今後、我々が見つけた蛋白質よりさらに重要な蛋白質が同定され、他の蛋白質や遺伝子との関係や繋がりが解明されていくことを期待しています。現在は未解決の問題がたくさん残っており、簡潔にお答えできない状況です。





**坪井** PDの特徴は黒質の変性にありますが、それぞれの原因遺伝子の局在性は必ずしも黒質特異的とは限りません。どの遺伝子の場合も黒質が傷害されるのはなぜでしょうか。

**Wszolek** あらゆるPD様疾患において、黒質が影響を受けています。いずれの疾患においても、黒質におけるニューロンの消失とネクローシスが認められています。何らかの理由でニューロンが攻撃に対して脆弱になっているのでしょうか。攻撃にはMPTPのような環境因子によるものもあれば、我々が発見している遺伝子変異のような遺伝因子によるものもあります。たとえ疾患は異なっても共通点がひとつあって、それは黒質が影響を受けることです。理由は私にはわかりません。ノーベル賞級の難問ですね。

**坪井** もう1つの可能性は、黒質特異的な未知の蛋白質でPD遺伝子と関係するものが存在することでしょう。

**望月** そうですね。未知の蛋白質を解明していけば、個々のPD遺伝子との関係がよりわかってくるでしょう。たくさんの経路を見つけていきたいですね。

**高橋** 見つけるなら最終的な共通経路を見つけないですかね。Wszolek先生、すべてのPDをひとつの疾患にまとめて扱えるとお考えでしょうか？ それとも分けたままにすべきでしょうか。

**Wszolek** ひとまとめにはできません。同じような機序を共有している可能性はあるでしょうが、異なった機序ももっており、その結果それぞれが独自の病像を呈することになるでしょう。

**高橋** 本日は、PD遺伝子に関する最新知見について幅広いお話をいただきました。先生方、どうもありがとうございました。

## REFERENCES

- 1) Perry TL, Bratty PJ, Hansen S, et al: Hereditary mental depression and Parkinsonism with taurine deficiency. Arch Neurol 32: 108-113, 1975
- 2) Tsuboi Y, Wszolek ZK, Kusuhashi T, et al: Japanese family with parkinsonism, depression, weight loss, and central hypoventilation. Neurology 58: 1025-1030, 2002
- 3) Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, et al: Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. Nat Genet 41: 1303-1307, 2009
- 4) MacLeod DA, Rhinn H, Kuwahara T, et al: RAB7L1 interacts with LRRK2 to modify intraneuronal protein sorting and Parkinson's disease risk. Neuron 77: 425-439, 2013
- 5) Spillantini MG, Goedert M: The  $\alpha$ -synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. Ann N Y Acad Sci 920: 16-27, 2000
- 6) Burré J, Sharma M, Tsetsenis T, et al:  $\alpha$ -synuclein promotes SNARE-complex assembly *in vivo* and *in vitro*. Science 329: 1663-1667, 2010
- 7) Kataoka M, Yamamori S, Suzuki E, et al: A single amino acid mutation in SNAP-25 induces anxiety-related behavior in mouse. PLoS One 6: e25158, 2011
- 8) Nakata Y, Yasuda T, Fukaya M, et al: Accumulation of  $\alpha$ -synuclein triggered by presynaptic dysfunction. J Neurosci 32: 17186-17196, 2012
- 9) Tong J, Wong H, Guttman M, et al: Brain  $\alpha$ -synuclein accumulation in multiple system atrophy, Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: a comparative investigation. Brain 133: 172-188, 2010

# 神経疾患と遺伝子

Neurologic disorder and gene

佐竹 渉 Wataru Satake / 戸田達史 Tatsushi Toda

神経疾患の発症様式は、遺伝学的に、①明確な家族歴を示す単一遺伝性疾患（ハンチントン病、デュシェンヌ型筋ジストロフィーなど）、②一部には家族性発症もあるが大多数は孤発性に発症する多遺伝性疾患（パーキンソン病、アルツハイマー病など）、に大きく分けられる。本稿ではこれら神経疾患遺伝子の研究、臨床面での動向を示す。

## 単一遺伝性の神経疾患

ほとんどの疾患で、原因不明で難攻不落であったが、1980年代になって状況は一変した。1983年、疾患原因遺伝子が染色体上のどこにあるかを遺伝学的に決め、遺伝子を単離するポジショナルクローニング法を用いて、ハンチントン病の原因遺伝子が4番染色体に存在することが報告された。これは、まったく手がかりのない疾患に対して遺伝学からアプローチできることを示した最初の例で、当時ニューヨークタイムズ紙の1面トップで報道され、強烈なインパクトを与えた。また、1986年には、ポジショナルクローニング法を用いて遺伝子単離まで成功した最初の例（厳密に言えば隣に存在する慢性肉芽腫症につき2番目）として、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子ジストロフィンが発見された。また、たとえばハンチントン病遺伝子ハンチンチンの発見がポリグルタミン病の疾患概念へつながるなど、遺伝子発見を突破口にして病態の解明が進んだ疾患も多く、神経疾患と遺伝子のかかわりは深い（詳細は各疾患項を参照されたい）。さらに最近では進展著しい次世代シーケンサー・エクソーム解読技術による全エクソン配列解読が可能となり、疾患遺伝子の同定がさらに加速している。

また、神経疾患は臨床検査としての遺伝子検査のニーズも高い。遺伝学的検査は2006

年に初めて保険収載されたが、その対象疾患はデュシェンヌ型・福山型筋ジストロフィーであった。現在では染色体検査以外に36疾患で保険収載されているが、そのなかには、表1のように、神経症状を示す疾患が多く含まれる。副腎白質ジストロフィー（酵素補充療法、骨髄移植）、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（エクソンスキッピング療法）、家族性アミロイドポリニューロパチー（肝移植）など有効な治療法の開発が進んでいる疾患もあり、今後は、治療の面でも遺伝子診断が重要となってこよう。

## ほとんどが孤発性、まれに家族性に発症する神経疾患

パーキンソン病やアルツハイマー病は、頻度の高い神経変性疾患である。これら疾患は、非常にまれながら明確な疾患家系が存在し、その連鎖解析から単一遺伝性の疾患遺伝子同定が進んでいる。しかしながら、これら疾患の大多数は孤発性に発症し、一部（5%程度）にはなんらかの家族歴のある患者が存在する。こういった疾患を、“多遺伝性疾患”といい、複数の疾患リスク遺伝子がかかわり発症する。21世紀のゲノム科学の進展を応

表1 保険収載されている神経筋疾患

デュシェンヌ型筋ジストロフィー  
ベッカー型筋ジストロフィー  
福山型先天性筋ジストロフィー  
家族性アミロイドーシス  
脊髄性筋萎縮症  
中枢神経白質形成異常症  
(ペリツェウス・メルツバッヘル病)  
ムコ多糖症Ⅰ型  
ムコ多糖症Ⅱ型  
ゴーシェ病  
ファブリ病  
ポンペ病  
ハンチントン病  
球脊髄性筋萎縮症  
筋強直性ジストロフィーなど

(社会保険研究所：医科点数表の解釈、平成24年4月版、社会保険研究所、東京、2012より引用)

用し、一塩基多型 SNP を用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) が可能となり、近年複数の孤発性リスク遺伝子が発見されている。

### パーキンソン病

単一遺伝性については、 $\alpha$ -シヌクレイン、*LRRK2* (常染色体優性遺伝性)、*parkin*、*PINK1* (常染色体劣性遺伝性) が知られている。孤発性のリスク遺伝子として、日本人の大規模 GWAS (筆者ら) で、*PARK16*、*BST1*、 $\alpha$ -シヌクレイン、*LRRK2* が発見された。 $\alpha$ -シヌクレインタンパクは、パーキンソン病の病理的な特徴であるレビー小体の主要構成成分である。また *parkin* や *PINK1* は、パーキンソン病病態で重要なミトファジー (ミトコンドリアの分解・除去) に関与する。 $\alpha$ -シヌクレイン、*LRRK2* は、その変異により家族性の、多型により孤発性の発症リスクとなっている。まれな多型として、ゴーシェ病遺伝子 *GBA* のヘテロ変異があり、この変異を 2 アレル持つとゴーシェ病を発症するが、1 アレルではパーキンソン病の強いリスクとなる。このように、ひとことに疾患遺伝子といってもその発症への強弱や頻度は多様であり、非常にまれながら非常に強い疾患変異 (この場合、単一遺伝性疾患となる) も

あれば、疾患リスクとしては弱いが大多数の患者に関係するもの (リスク遺伝子) もあり、その中間のもの (rare variant) も存在する。これらにより疾患の遺伝背景がつけられているわけである (図 1)。

### アルツハイマー病

これまで 3 つの常染色体優性遺伝性の原因遺伝子 (*APP*、*PSEN1*、*PSEN2*) が同定されている。アルツハイマー病の病理的特徴である老人斑の主要成分はアミロイド  $\beta$  であるが、これは、*APP* が  $\beta$  セクレターゼ (*PSEN1*) と  $\gamma$  セクレターゼ (*PSEN2*) によって切り出されて生じたものである。また孤発性 AD のリスク遺伝子としては、アポリポタンパク E 遺伝子 (*APOE*) が重要である。*APOE* 遺伝子には 3 種類の多型 ( $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ ) が存在するが、このうち  $\epsilon 4$  が発症のリスク因子となる。*APOE* の病態へのかかわりは不明であるが、 $A\beta$  凝集、脂質代謝、抗酸化作用などへの関与が示唆されている。また、最近の GWAS により、*BINI*、*CLU*、*ABCA7*、*CRI* などがリスク遺伝子として発見されており、その病態機序の解明が待たれる。

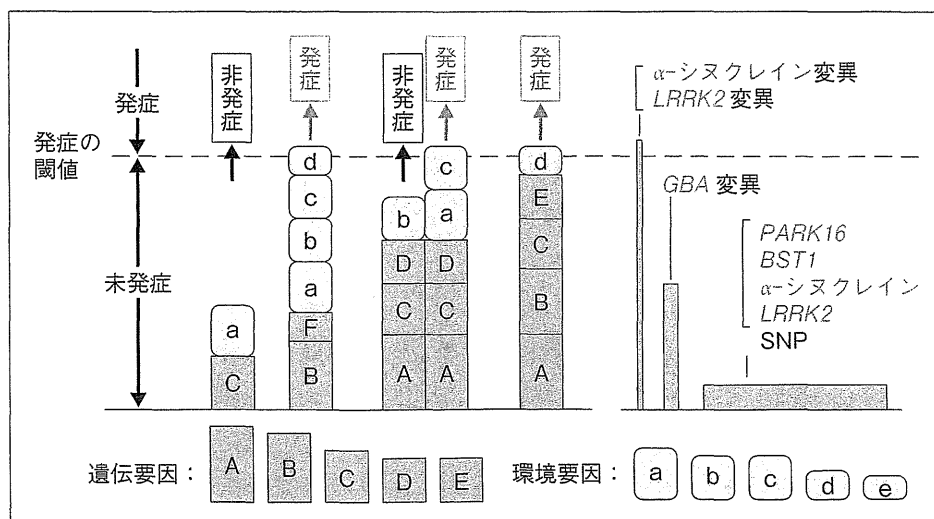


図 1 孤発性パーキンソン病のゲノム背景

パーキンソン病、アルツハイマー病、または生活習慣病を含むほとんどの疾患は、複数の遺伝因子と複数の環境因子の積み木の総和が、ある閾値を超えたとき発症する多因子疾患と考えられている。メンデル遺伝性変異以外に、common variant として *PARK16*、*BST1*、 $\alpha$ -シヌクレイン、*LRRK2*、rare variant として *GBA* が重要である。

# パーキンソン病の臨床遺伝学

戸田達史 (神戸大学大学院医学研究科神経内科学教授)

## Point

- 連鎖解析などからメンデル遺伝性PD原因遺伝子 ( $\alpha$ -synuclein、parkin、LRRK2遺伝子など)が明らかにされ、ミトコンドリア障害、酸化ストレス障害の病態への関与に加え、ユビキチン・プロテアソーム系の機能低下、蛋白分解異常からドパミン細胞死に至る経路の重要性が示された。次世代シーケンサーによるエクソーム解析が展開されている。
- 患者の95%を占める孤発性PDは多因子遺伝性疾患である。ゲノムワイド関連解析により、PD発症に関わる2つの新しい遺伝子座PARK16、BST1、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子SNCA、LRRK2が同定された。国際共同研究によるGWASメタ解析が行われ、より多くの感受性遺伝子が同定されている。
- ゴーシェ病変異も、頻度は低いが発症への寄与が大きいrare variantとして重要である。

パーキンソン病(PD)症例の90%以上は孤発性発症であるが、5~10%は家族性(その一部はメンデル遺伝性)に発症する。メンデル遺伝性PD家系の連鎖解析などから、6つのメンデル遺伝性PD原因遺伝子( $\alpha$ -synuclein、parkin、LRRK2遺伝子など)が明らかにされた。それらを切り口にして孤発性PDの病態解明が進んでおり、ミトコンドリア障害、酸化ストレス障害の病態への関与に加え、新たにユビキチン・プロテアソーム系の機能低下、つまり蛋白分解異常からドパミン細胞死に至る経路の重要性が示された<sup>1)</sup>。

一方、ゲノムワイド関連解析(Genome Wide Association Study ; GWAS)が2007年ごろより実用的な戦略となり、現在多数の疾患でリスク遺伝子の発見が相次いでいる。

本稿では、PDの分子遺伝学について、家族性PDだけでなく孤発性PDのリスク遺伝子にも目を向け概説する。

## ●メンデル遺伝性PDの臨床遺伝学(表1)

### PARK1/4 ( $\alpha$ -synuclein)

PARK1は $\alpha$ -synucleinの点変異により常染色体優性遺伝形式で発症する<sup>2)</sup>。家系により差はあるが、経過がやや早く、認知機能障害を伴い