

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総合分担研究報告書

GBA 遺伝子とパーキンソン病との関連

分担研究者 辻 省次 東京大学神経内科 教授

研究要旨

Glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子のヘテロ接合性病原性変異はパーキンソン病患者と関連する。

分担研究者氏名：

松川 敬志 東京大学神経内科 大学院生

三井 純 東京大学神経内科 特任助教

後藤 順 東京大学神経内科 准教授

辻 省次 東京大学神経内科 教授

戸田 達史 神戸大学神経内科 教授

Ellen Sidransky. Senior Investigator. Section on Molecular Neurogenetics, Medical Genetics Branch, NHGRI, National Institutes of Health.

石田 直理雄 独立行政法人産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 上席研究員

A. 研究目的

Gaucher 病の原因遺伝子である GBA 遺伝子のヘテロ接合性病原性変異とパーキンソン病 (PD) の関連について主に遺伝学的に検討する。

B. 研究方法

1. PD患者534例, 健常者544例を対象にGBA 遺伝子の全エクソンおよびエクソン・イントロン境界域のresequencingを行った。

2. 海外との多施設共同によるGBA遺伝子の関連解析を行った。合計でPD 5,691例, 健常者 4,898例の規模で, GBAの病原性変異の頻度について検討した。

3. ターゲット領域に対する大規模関連解析を可能にするため, DNAサンプルを6サンプル分プールしたうえでGBA遺伝子領域 (6.5 kb) をPCRして, 次世代シーケンサー (SOLiDシステム) で配列解析を行った。データの特徴を分析し, 偽陽性を軽減するための方法を検討した。

4. PD患者96例において, 他のライソゾーム病遺伝子の病原性変異がないかスクリーニングしたところ, GLA遺伝子のE66Q変異のみが検出された。そこでPD患者260アレル, 健常者399アレルに規模を拡大して関連を検討した。

5. ヒトの変異型GBA遺伝子を過剰発現するショウジョウバエを作成し, 表現型などの分析を行った。

(倫理面への配慮)

検体は全て書面による同意を得ており, 匿名化の上, 解析された。

C. 研究結果

1. PD患者534例中50例 (9.4%), 健常者544例中2例 (0.37%) に病原性変異をヘテロ接合性に認めた。オッズ比は28倍で統計学的に有意であった。PD患者における病原性変異のキャリアー群は非キャリアー群と比べて発症年齢

が有意に若年であった。

2. 人種を問わず, GBA 病原性変異は PD 発症のリスクになることが確認された。PD 患者における病原性変異のキャリアー群は非キャリアー群と比べて発症年齢が有意に若年であった。

3. 6 サンプル分の DNA プーリングにおいて全ての変異 (12 アレル分の 1 以上の変異) を検出するように変異コール条件を設定すると, 真の変異 99 個に対して, 偽陽性変異 503 個が検出された,

サイクル数依存性エラー, 配列依存的エラー, アレルバイアスなどについて検討し, 偽陽性を軽減するためのパラメーターを再設定したところ, 真の変異 99 個に対して, 偽陽性変異 27 個まで軽減することができた。

4. PD 患者 260 アレル中 4 アレル (1.5%), 健常者 399 アレル中 2 アレル (0.5%) に GLA, E66Q 変異を認めた。頻度が低いため,  $p=0.25$  と有意差は得られなかったが, 患者群に多い傾向を認めた。

5. ヒトの変異型 GBA 遺伝子を過剰発現するショウジョウバエは, 眼に形態異常が出現した。小胞体ストレスマーカーが上昇した。変異型 GBA に対してシャペロン作用を持つ Ambroxol を投与したところ, ショウジョウバエの眼における形態異常が軽減し, 小胞体ストレスマーカーが軽減した。

#### D. 考察

Gaucher病の原因遺伝子であるGBA遺伝子が神経変性疾患PDと関連することが示されたことは, 両者の病因を解明する上で非常に重要な手がかりになると期待される。

遺伝学的には, 従来の多型によるゲノムワイ

ド関連解析では検出することが難しかった common disease - multiple rare variantsモデルの実例となった。

#### E. 結論

PD発症の遺伝的病因の一つがGBA遺伝子のヘテロ接合性病原性変異であることが示された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2009;66:571-6.
- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651-61.
- Mitsui J, Fukuda Y, Azuma K, et al. Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA with barcode indexing using next-generation sequencer. *J Hum Genet* 2010;55:448-55.
- Suzuki T, Shimoda M, Ito K, et al. Expression of human Gaucher disease gene GBA generates neurodevelopmental defects and ER stress in Drosophila eye. *PLoS One* 2013;8:e69147.

##### 2. 学会発表

- 三井 純, 高橋 祐二, 伊達 英俊, 岩田 淳,

- 後藤 順,辻 省次.パーキンソニズムを呈する疾患患者における Glucocerebrosidase (GBA)遺伝子の解析.第48回神経学会総会,名古屋,2007年5月.
- ・三井 純,高橋 祐二,水田 依久子,富山 弘幸,吉野 浩代,後藤 順,服部 信孝,戸田 達史,辻 省次.パーキンソン病の遺伝子解析.第9回大阪神経治療研究会,大阪,2008年4月.
  - ・三井 純,水田 依久子,豊田 敦,高橋 祐二,後藤 順,福田 陽子,伊達 英俊,岩田 淳,戸田 達史,辻 省次.Gaucher病の原因変異は Parkinson 病の遺伝的危険因子である.第13回ライソゾーム病研究会,東京,2008年11月.
  - ・三井 純. Mutations for Gaucher disease confer a high susceptibility to Parkinson disease. 東京大学グローバルCOE「疾患のケミカルバイオロジー教育研究拠点」第1回リトリート及び第1回国際シンポジウム,千葉,2009年2月.
  - ・三井 純,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA of barcode-indexed DNAs. 第8回国際ゲノム会議,東京,2009年6月.
  - ・三井 純,辻 省次. Common disease-multiple rare variant 仮説に基づく疾患関連遺伝子研究の成果と課題. 第54回人類遺伝学会,ランチョンセミナー,東京,2009年9月.
  - ・三井 純,福田 陽子,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Pooled DNA を用いたバーコードによる multiplexed resequencing の試み. 第54回人類遺伝学会,東京,2009年9月.
  - ・三井 純,福田 陽子,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Pooled DNA を用いたバーコードによる multiplexed resequencing. 第4回バイオインフォマティクス研究者と医学研究者の交流会,柏,2009年11月.
  - ・三井 純. 孤発性パーキンソン病の遺伝子: common disease-multiple rare variants. 第51回日本神経学会総会,シンポジウム. 東京,2010年5月.
  - ・三井 純. 孤発性疾患の研究 ~パーキンソン病~. 第52回日本神経学会総会,シンポジウム. 名古屋,2011年5月.
  - ・三井 純,土井 晃一郎,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,森下 真一,辻 省次. 疾患と関連する稀で多様な変異の検出を目的とした pooled DNA 解析. 第52回神経学会総会,名古屋,2011年5月.
  - ・三井 純. パーキンソン病の遺伝因子について. 第16回パーキンソン病フォーラム. 京都,2011年7月.
  - ・三井 純. パーキンソン病における GLA 遺伝子解析. 第7回日本ファブリー病フォーラム. 東京,2011年7月.
  - ・三井 純. ファブリー病の診断における問題点~E66Qに関連して~. 第8回日本ファブリー病フォーラム,東京,2012年7月22日.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし