

大規模 ALS 患者コホートのゲノム遺伝子検体を用いた遺伝子多型解析

研究分担者 氏名 池川 志郎
所属 理化学研究所 統合生命医科学研究センター
骨関節疾患研究チーム チームリーダー

研究要旨 本分担研究は、孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の発症に関わる易罹患性遺伝子の単離を目的とする。JaCALS (Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research) では、ALS 患者 700 症例以上の（前向き）臨床情報に結び付けられた患者ゲノム DNA が保存・管理されている。また、理化学研究所ゲノム統合生命医科学研究センターでは、これらの検体を用いてゲノム解析を実施し、本邦 ALS における遺伝的要因の解明を行っている。我々は、昨年度来、643 例の ALS 検体について SNP タイピングを行い、病態・予後との関連を解析してきた。本年度は、追加日本人 ALS 検体 340 例、対照 7,784 例についてゲノムワイド関連解析（GWAS）を行った。その結果、孤発性 ALS と有意な相関を示す 33 SNPs を同定した。その中の数種の SNP は、過去に報告された ALS 関連遺伝子の領域にマップされた。ただし、それらは、欧米人 ALS 症例の GWAS で見出された遺伝子領域とは異なるものであった。現在、以前に解析した 610K SNPs の関連解析データとのメタ解析を進めている。

A. 研究目的

ALS は遺伝学的に 5~10%が家族性であり、90%以上が孤発性である。孤発性 ALS は、遺伝因子と環境因子の相互作用によって発症する多因子遺伝性疾患である。現在まで、欧米人 ALS 症例を用いた GWAS が、10 報ほど報告されているが、明らかな関連が認められる遺伝子は、*C9ORF72* だけである。ただし、東洋人における関連は殆どない。

一方、本邦では厚労省神経変性班を基に全国 28 施設が参加する JaCALS において、孤発性 ALS 患者 700 症例以上の DNA が（前向き）臨床情報とともに収集・管理されている。

我々は、先に日本人 ALS 症例を用いて大規模ゲノム関連解析を行い、新規の孤発性 ALS 易罹患性遺伝子 *ZNF512B* を同定した。また、610K SNP アレイを用いて GWAS を行ってきた。昨年度来、ALS 患者 643 例の ALS 検体について SNP タイピングを行い、病態・予後との関連解析を行っている。本研究では、さらに追加検体について

GWAS を行い、新規孤発性 ALS 易罹患性遺伝子の探索を行った。

B. 研究方法

今年度は、追加日本人 ALS 検体 340 例について解析した。対照には、日本人一般集団 7,784 例を用いた。GWAS 実施に先立って、家族性 ALS の原因遺伝子 (*SOD1*、*OPTN* 等)の変異が無いことを確認してから、SNP タイピングを行った。SNP アレイは、Illumina 社製 Human OmniExpressExome BeadChip を使用した。先ず、Hardy-Weinberg 平衡検定値、call rate 値などからデータの品質管理を行った。さらに identity-by-state 法により近親者がいないことを確認した。QQ プロット (quantile-quantile plot) を作製し、主成分分析により、集団階層化を分析した。遺伝統計学的解析の際には、imputation 解析を行った。最終的に関連値 (P 値) を用いて SNP をランキングし、多重検定値による有意水準を満たす SNP を候補とした。

(倫理面への配慮を含む) 文部科学省、厚生労働省及び経済産業省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、検体収集と研究計画は、名古屋大学、理化学研究所、その他関連機関における倫理委員会の承認のもと実施した。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得したのち、収集した。

C. 研究結果

本年度は、孤発性 ALS と有意な相関を認める 33 SNPs を同定した。それらの SNP は、全てマイナーアレル頻度の低いものであった。その中の数種の SNP は、以前に報告されていた ALS 関連遺伝子の遺伝子領域にマップされた。また、欧米人の GWAS において相関のあった SNP と本邦 ALS との間に関連は認められなかった。

D. 考察

JaCALS が保有する 700 症例以上の ALS 検体と臨床情報を最大限に利用して、前向きコホート研究を行っている。孤発性 ALS の体系的・網羅的解析によって、易罹患性のみならず、経過、予後、病型に関わる遺伝子の単離を目指している。本年度は、日本人孤発性 ALS の追加検体を用いて GWAS を行った。孤発性 ALS と強い関連を認める新規の SNP を見出した。さらに、現在、610K SNP を用いた関連解析のデータと本研究におけるデータを統合したメタ解析を行っている。

E. 結論

前向きコホート研究によって、孤発性 ALS の易罹患性に関わる新規の候補遺伝子領域を同定した。欧米人で認められた既報の SNP と孤発性 ALS の関連は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Tetsuka S, Morita M, Iida A, Uehara R, Ikegawa S, and Nakano I. ZNF512B gene is a prognostic factor in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*, 2013, 324:163-166.
- (2) Iida A, Hosono N, Sano M, Kamei T, Oshima S, Tokuda T, Nakajima M, Kubo M, Nakamura Y, and Ikegawa S. Novel deletion mutations of OPTN in amyotrophic lateral sclerosis in Japanese. *Neurobiol Aging*, 2012, 33:1843.e19-24.
- (3) Iida A, Hosono N, Sano M, Kamei T, Oshima S, Tokuda T, Kubo M, Nakamura Y, and Ikegawa S. Optineurin mutations in Japanese amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2012, 83:233-235.
- (4) Iida A, Kamei T, Sano M, Oshima S, Tokuda T, Nakamura Y, and Ikegawa S. Large-scale screening of TARDBP mutation in amyotrophic lateral sclerosis in Japanese. *Neurobiol Aging*, 2012, 33:786-790.

2. 学会発表

- (1) 飯田有俊、細野直哉、佐野元規、亀井徹正、大嶋秀一、徳田虎雄、中島正宏、久保充明、中村祐輔、池川志郎、筋萎縮性側索硬化症における optineurin 遺伝子の欠失、日本人類遺伝学会第57回大会、新宿、日本、2012年10月
- (2) 手塚修一、森田光哉、飯田有俊、池川志郎、中村祐輔、中野今治、当院における ZNF512B 遺伝子を持つ ALS 患者についての検討、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、日本、2012 年 5 月

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし。