

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 飯田 有俊
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 上級研究員

研究要旨 孤発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の根治的治療法開発のためには、発症、経過、予後等に関与する遺伝子（群）を同定する必要がある。本研究では、これまで JaCALS (Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research) と共同で一塩基多型 (SNP) を用いたゲノム解析を実施してきた。昨年度は、643 例の孤発性 ALS 検体を用いてゲノムワイド SNP タイピングを行った。現在、臨床情報との関連を解析中である。本年度は、新たに 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) を行い、現在までに孤発性 ALS と有意な相関を示す 33 種の SNP を同定した。その中には、以前 ALS 発症・進展に関わる遺伝子として同定されたものも含まれていた。

A.研究目的

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。これまで、欧米人 ALS 症例を用いた GWAS により 8 種以上の候補遺伝子が報告されている。しかしながら、その後の追試で関連が認められるものは殆どない。現在のところ、欧米人における C9ORF72 内の 6 塩基異常伸長だけである。ただし、その関連には人種特異性がある。

一方、本邦においては、厚労省神経変性班を基に全国 28 施設が参加する JaCALS (Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research) が、孤発性 ALS 患者 700 症例以上の前向き臨床情報、ゲノム DNA を収集、保管している。

我々は、孤発性 ALS の遺伝的背景を明らかにするために、これまで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* を同定してきた。また、61 万種の SNP を搭載した SNP アレイを用いた GWAS を行った。昨年度は 643 例の孤発性 ALS 検体の SNP タイピングを行った。現在、経過、予後、病型などの病態に関わる SNP を探索中である。さらに、本年度は、

引き続き、追加検体をタイピングし、GWAS から新規孤発性 ALS 易罹患性遺伝子を探索した。

B.研究方法

本年度は、日本人 ALS 検体 340 例についてタイピングを行った。対照には、日本人一般集団 7,784 例を用いた。まず、対象 ALS 検体において、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た。その後、SNP タイピングを行った。SNP アレイは、Illumina 社製 Human OmniExpress Exome BeadChip を使用した。全例について、データの品質管理を行った (Hardy-Weinberg 平衡検定値、call rate 等)。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) と主成分分析で、集団階層化がないことを確認した。遺伝統計学的解析の際において、imputation 解析を行った。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」のもとに行った。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を受け、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

33 SNPs が孤発性 ALS と有意な相関を認めた。それらの SNP は、全て rare バリエーションであった。また、そのうち、数種の SNP は ALS 関連遺伝子領域にマップされた。欧米人において過去に見出された SNP と孤発性 ALS との関連は、本研究では認められなかった。

D. 考察

現在、我々は、JaCALS の持つ大規模前向きコホートを用いて日本人 ALS を対象にゲノム解析を行っている。昨年度は、643 例のゲノムワイド SNP タイピングを行い、発症、経過、予後との関連を検索している。そして、本年度は、GWAS 解析により孤発性 ALS と強い関連を認める新規の SNP を見出した。候補 SNP の中には、既知の ALS 関連遺伝子領域にマップされるものも含まれ、興味深い。これまで蓄積し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

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。