

紀伊筋萎縮性側索硬化症・パーキンソニズム認知症複合（ALS/PDC）の 疾患遺伝子の探索

辻 省次¹⁾、石浦浩之¹⁾、三井純¹⁾、Budrul Ahsan¹⁾、福田陽子¹⁾、後藤順¹⁾
小久保康昌²⁾、葛原茂樹³⁾
日笠幸一郎⁴⁾、吉村淳⁴⁾、土井晃一郎⁴⁾、森下真一⁴⁾
原賢寿⁵⁾、西澤正豊⁵⁾
豊田敦⁶⁾、藤山秋佐夫⁶⁾

- 1) 東京大学神経内科
- 2) 三重大学大学院地域イノベーション学研究所
- 3) 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部
- 4) 東京大学新領域創成科学研究科
- 5) 新潟大学神経内科
- 6) 国立遺伝学研究所

研究要旨

紀伊 ALS/PDC には強い家族集積性が存在するため、遺伝素因の存在が考えられている。疾患遺伝子を探索するにあたり、紀伊 ALS/PDC の地域集積性に着目し、共通する変異・創始者ハプロタイプの探索を全ゲノム配列解析と高密度一塩基多型を用いた homozygosity haplotype 法を用いて行ったが、明らかに疾患に関与する共通変異・創始者ハプロタイプを見出すことはできなかった。両手法の限界点はあるものの、病原遺伝子が単一でない可能性（genetic heterogeneity）や、疾患感受性遺伝子が関与する complex trait の可能性も考慮する必要があると考えられた。

A. 研究目的

紀伊 ALS/PDC は、運動ニューロン症状に加えパーキンソニズム、認知症を伴い、病理学的に広範な tau の沈着を認める特徴的な疾患である。家族集積性が認められ、遺伝学的素因が強く発症に関わると推定される。これまで、1つの大家系について、パラメトリック、ノンパラメトリック連鎖解析を行ってきたが、特定の領域に連鎖領域を絞り込むまでには至っていない。これは、inbred の要素も存在すると考えられること、診断の確実性や、高齢発症であることから浸透率の要

素も考慮に入れないといけない可能性など、さまざまな可能性を考慮する必要があると思われる。もう一つのアプローチとして、病理学的診断が確認されている剖検例について全ゲノム配列解析を行い、エクソン領域において症例間で共有されている変異の検索を行ったが、病原性変異を特定できていない。このような背景から、大家系（A 家系）に属するさらに2名（うち1名が剖検例）の全ゲノム配列解析を追加し、非翻訳領域・遺伝子間領域を含めて発症者に共通する変異の解析を行った。また、創始者ハプロタイプの存在を仮

定し、剖検例 15 例について homozygosity haploype 法を用いて創始者ハプロタイプの検出を試みた。

B.研究方法

三重県の紀伊 ALS/PDC の大家系に属する 2 例の末梢血から DNA を抽出。Illumina HiSeq2000 を用い、ペアエンド法で全ゲノム配列解析を行った。一例については、150 塩基のペアエンド法を用いた。全ゲノム配列データのある剖検例 8 例に共通する変異の抽出を試みた。対照として、disease control 24 例の全ゲノム配列解析のデータを用いた。

Homozygosity haplotype 解析については、全ゲノム配列解析を行っていない 10 例の剖検例については Genome-wide SNP 6.0 (Affymetrix) でタイピングを行った。全ゲノム配列解析を行った 5 例の剖検例については、全ゲノム配列解析より当該 SNP のデータを抽出し、合計 15 例の剖検例の SNP データを得た。Homozygosity haplotype 法 (HH analysis) を用いて 2cM 以上にわたる共通領域を抽出した。

(倫理面への配慮)

本研究については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会からの承認を受けて実施した。

C.研究結果

全ゲノム配列解析からは、剖検例 8 例に共通し、disease control 24 例に存在しない variant は、非翻訳領域に広げても認められなかった。剖検例 7 例、6 例に認められ、disease control に認められない variant はそれぞれ 10 個、55 個見出された。逆に、24 名の disease control で 1、2、3 アレル認められ、剖検例 8 例で共通する変異はそれぞれ 1 つずつ存在した。しかしながらこれら 3 つの変

異は既に dbSNP への登録がなされており、頻度情報の存在する 2 つの SNP ではアレル頻度が 12.5%、15.8% と非常に高いことから、ALS/PDC のように集積地以外では極めて稀な疾患を説明するものとは考えられなかった。

Homozygosity haplotype 法を用いて解析したところ、全剖検例 15 例で高率 (12 名以上) で共通する領域を 3 ヶ所認めたが、コントロールサンプル 14 検体の homozygosity haplotype 法による解析でも観察される領域であり、疾患特異的とは考えられなかった。A 家系の剖検例 3 名で共有される領域、A 家系の発症者 5 名 (うち 3 名は上述の剖検例 3 例) で共有される領域は見出されたものの、A 家系以外の剖検 12 例中少なくとも 8 例で共通する染色体領域とはオーバーラップしなかった。

D.考察

8 名の剖検例の全ゲノム配列解析のデータより、イントロンや遺伝子間領域も含めて、共通する変異を探索したが、明らかに疾患と関連する共通変異は見出されなかった。

さらに、共有される染色体領域を見出すため、homozygosity haplotype 法を用いて、本疾患に関連する創始者ハプロタイプを探索したが、疾患と関連する創始者ハプロタイプを検出することはできなかった。原理的に、世代が離れていくと homozygosity haplotype 法による創始者ハプロタイプの検出力は下がるため、false positive の可能性は否定できないが、条件を緩めても創始者ハプロタイプは見いだせなかったことから、むしろ疾患の病原性変異が存在するとしても複数の遺伝子が関与している可能性 (genetic heterogeneity) や、単一遺伝子疾患ではなく複数の疾患感受性遺伝子が関与している complex trait の可能性なども考慮に含める必要があると考えられた。

E.結論

今回の解析では、全ゲノム配列で剖検例に共通する変異は検出されなかった。また、homozygosity haplotype 法による創始者ハプロタイプ探索でも、一つの創始者ハプロタイプに絞り込むことはできなかった。

本疾患の遺伝学的な特性を考慮に入れた連鎖解析と全ゲノム配列解析を行うことで、引き続きALS/PDC の発症にかかわる遺伝因子を探索する。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1.論文発表

なし

2.学会発表

Ishiura et al. A molecular genetic study of amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC) in Kii peninsula of Japan. The 63rd Annual Meeting of American Society of Human Genetics, 2013 Oct, Boston, USA

H.知的所有権の取得状況(予定を含む)

1.特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし