

三重県南部に多発する家族性認知症-パーキンソン症候群 発症因子の探索と治療介入研究班

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みとめられ、その発症に遺伝的素因が関与しているのではないかと考えられており、パラメトリック連鎖解析、全ゲノム配列解析、創始者ハプロタイプ探索を通して、様々な側面から疾患遺伝子の探索を試みたが、原因遺伝子の同定には至っておらず、引き続き本疾患の遺伝学的な特性を考慮に入れたゲノム解析を通して ALS/PDC の発症に関わる遺伝因子の探索が必要と考えられた。

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、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い、特定の領域に連鎖領域を絞り込むことを目指す。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、病原性変異の特定を目指した。

B. 研究方法

大家系（発症者 9 名、非発症者 25 名）については以前の研究でマイクロサテライトマーカー

を用いて遺伝子型が決定されている。パラメトリック二点解析（浸透率 90% の不完全浸透優性遺伝モデル、disease allele frequency 1%、phenocopy 3%）を行った。

三重県の紀伊 ALS/PDC の大家系に属する 4 例とその他の家系 5 例（うち剖検例が合わせて 8 例）について 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。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 解析にあたり、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、東京大学医学部研究科・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

大家系に属する 2 名の married-in の発症者に関して姉妹であるという知見が得られ、連鎖解析を計算しなおし、いくつか LOD スコアが上昇したり下降したりするマーカーを見出した。また、affected-persons-only method を用いた解析では、新たに LOD スコアが 2.8 となるマーカーを認め、さらなる確認を行う必要があると考えられた。

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、翻訳領域のみならず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

家系構造に関する追加データにより、連鎖解析を update した。しかしながら、パラメトリック連鎖解析では、phenocopy や低浸透、genetic heterogeneity の影響を強く受けるため、結果の解釈については慎重になるべきであり、確認を行っていく必要があると考えられた。

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ことや、現在の次世代シーケンサーによって得られる short read を用いた解析では、全ゲノム配列解析においても、rearrangement や repeat expansion の検出力は弱く、今回の解析で真の病因変異を検出できなかった可能性は残る。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り、連鎖解析についても、遺伝モデルを設定しないノンパラメトリック連鎖解析を重視した解析も検討す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. 研究発表

1. 論文発表

Ishiura H, Takahashi Y, Mitsui J, Yoshida S, Kihira T, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ranum LP, Tamaoki T, Ichikawa Y, Date H, Goto J, Tsuji S. C9ORF72 repeat expansion in amyotrophic lateral sclerosis in the Kii peninsula of Japan. *Arch Neurol* 2012;69:1154-8.

Majounie E, Renton AE, Mok K, Dopper EG, Waite A, Rollinson S, Chiò A, Restagno G, Nicolaou N, Simon-Sanchez J, van Swieten JC, Abramzon Y, Johnson JO, Sendtner M, Pamphlett R, Orrell RW, Mead S, Sidle KC, Houlden H, Rohrer JD, Morrison KE, Pall H, Talbot K, Ansorge O; Chromosome 9-ALS/FTD Consortium; French research network on FTLT/FTLD/ALS; ITALSGEN Consortium, Hernandez DG, Arepalli S, Sabatelli M, Mora G, Corbo M, Giannini F, Calvo A, Englund E, Borghero G, Floris GL, Remes AM, Laaksovirta H, McCluskey L, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM, Schellenberg GD, Nalls MA, Drory VE, Lu CS, Yeh TH, Ishiura H, Takahashi Y, Tsuji S, Le Ber I, Brice A, Drepper C, Williams N, Kirby J, Shaw P, Hardy J, Tienari PJ, Heutink P, Morris HR, Pickering-Brown S, Traynor BJ. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. *Lancet Neurol*

2012;11:323-30.

Naruse H, Takahashi Y, Kihira T, Yoshida S, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ishiura H, Amagasa M, Murayama S, Tsuji S, Goto J. Mutational analysis of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis with OPTN mutations in Japanese population. *Amyotroph Lateral Scler* 2012;13:562-6.

2. 学会発表

石浦浩之、小久保康昌、三井純、福田陽子、日笠幸一郎、吉村淳、斉藤太郎、森下真一、豊田敦、原賢寿、西澤正豊、葛原茂樹、後藤順、辻省次。紀伊筋萎縮性側索硬化症・パーキンソンニズム認知症複合 (ALS/PDC) の全ゲノム配列解析による疾患遺伝子の探索。日本神経学会学術大会、2012年5月、東京。

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

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

