

厚生労働科学研究費補助金（認知症政策研究事業）

総括研究報告書

日本人認知症ゲノム解析を出発点としたオミックス-臨床情報統合解析による
疾患関連パスウェイの解析から診断、治療への応用に関する研究

研究代表者 尾崎 浩一

（ 国立長寿医療研究センター・メディカルゲノムセンター・臨床ゲノム解析推進部 部長 ）

研究要旨 認知症は大きく、アルツハイマー型、脳血管性、レビー小体型、前頭側頭型に分けることができる。近年、様々な薬剤の臨床治験が進められているが未だ成果が上がっていないのが現状であり、根本的な疾患の原因を突き止めてエビデンスに基づく創薬やドラッグリポジショニング、早期予知による発症の阻止を目指すことが必要となる。認知症は環境と遺伝因子が複雑に関与して発症することが知られているが、近年の疫学研究により遺伝因子の重要性が強く浮かび上がってきている。このような背景のもと、これまでに欧米において認知症のゲノムワイド関連解析(GWAS)が大規模に施行され疾患関連座位群が同定されているが、日本人において再現されたのはわずか数座位にとどまっており、ほぼ未解明であると言っても過言では無い。このギャップは欧米人と日本人のゲノム構造の違いに依存すると考えられ、日本人ゲノム構造に特化した解析が疾患の根本的な原因を探るには重要になるとともに、臨床情報等も加味してその機能的な側面を解明することがエビデンスに基づく診断、治療の開発に必要なことになる。本研究では認知症のサブタイプおよび様々な臨床情報に着目し、日本人、アジア人に特化した全ゲノムジェノタイピングプラットフォームによる大規模ゲノムワイド関連解析(GWAS)やそのメタ解析、全エクソーム、全ゲノム解析による網羅的な疾患感受性遺伝子の同定を出発点として、次世代シーケンサーを駆使した全RNA配列解析からの遺伝子発現、バリエーション(スプライシング等を含む)情報等といったオミックス解析情報を遺伝統計学的に統合することによる疾患の真の遺伝的バリエーション、ゲノム領域、関連機能の同定、解析を進める。さらに、これら真の疾患関連分子情報を用いた機械学習、人工知能等による *in silico* での疾患感受性分子生体内パスウェイの解明を進め、既存の薬剤のターゲットとなる分子パスウェイと相互比較することにより、ドラッグリポジショニング等の迅速な治療薬、予防薬の発見に繋がる解析を目指す。また、これらのオミックス情報と年齢、性別や血圧等の一般臨床データはもとよりMMSE等の認知機能の指標や磁気共鳴画像(MRI)やPET画像といった情報を含む臨床情報を統合して遺伝統計学的なアルゴリズムと機械学習、人工知能を駆使することにより正確な疾患発症予知、予測および正確な診断を目指したバイオマーカーの探索、開発に繋げる狙いがある。

研究分担者

新飯田俊平 国立長寿医療研究センター
メディカルゲノムセンター
重水 大智 国立長寿医療研究センター
メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

A．研究目的

老年病、特に認知症の患者数は全世界で増加の一途をたどっており、本邦においてもその患者数は500万人（2013年、厚生労働省研究班推計）に達する勢いである。大部分の認知症は、糖尿病や虚血性心疾患と同様に生活習慣病と捉えることができ、環境因子と遺伝因子が複雑に絡み合って発症すると考えられる。これまでの双子疫学研究による認知症、特に孤発性アルツハイマー病（Late-onset Alzheimer's disease; LOAD、本文中ではADと略す）の発症に与える遺伝因子の割合は58%～79%であることが証明されており、その大部分を遺伝因子が占めていることが明らかとなっている。したがって、遺伝因子群を同定し、分子マーカーとして使用することや、その役割を精査することから疾患の分子メカニズムが解明でき、エビデンスに基づく予防法や治療法の開発に大きく貢献できる。一方、これまでに欧米において認知症のゲノム解析が大規模に施行され20個程度の関連座位が同定されているが、日本人において再検証されたのはこの中のわずか4座位にとどまっている。このような違いは欧米人と日本人のゲノム構造の根本的な違いに大きく依存すると考えられ、日本人ゲノムに特化した大規模ゲノム解析が必要になる。また、欧米の解析で同定された疾患座位のどの遺伝子がどのように疾患に関わるかといった疾患の原因もほとんど明らかになっていないのが現状である。本研究では日本人、アジア人特

有のゲノムに特化したジェノタイピングアレイによるGWASと次世代シーケンサーを駆使した全RNA解析を統合することによる、疾患に直接的に関連した遺伝的バリエーション、遺伝子機能、遺伝子発現、スプライスバリエーションの同定、解析から真の疾患分子を同定および詳細な解析と共に、統計、機械学習的なアルゴリズムを用いた疾患の予知法や創薬のターゲットとなる分子パスウェイを探索することを目的とする（図1）。これまでに日本人を基盤として、大規模GWASおよびそれと同一サンプルを用いた大規模RNA配列解析等のオミックス解析を統合したスタディーデザインによる研究が行われた例は他になく、世界的に見ても独創的かつ画期的である。

B．研究方法

国立長寿医療研究センター・メディカルゲノムセンター・バイオバンク（NCGGバイオバンク）によりリクルートされた認知症及びコントロールサンプルを用いて解析を行った。15,700例のDNAについてはillumina社のアジアスクリーニングアレイとiScan（illumina社）によるジェノタイピングを施行し、理化学研究所にて構築された日本人約7,000人の全ゲノム配列を基に作製されたインピュテーションパネルを用いたインピュテーション解析を施行した。イルミナ社アジアスクリーニングアレイを用いたジェノタイピングは200ngのDNAを用いて全ゲノム増幅を行い、断片化DNAをアレイにハイブリダイズした。iScanを用いて傾向を測定し、イルミナ社GenomeStudioソフトウェアを用いてクラスタリングを行った。アルツハイマー病 2,974例、コントロール3,096例を用いたゲノムワイド関連解析（GWAS）はplinkソフトウェアにより行った（NCGG GWAS）。このNCGG GWASデータと既報の日本人GWASデータ（978 cases、988

コントロール、Miyashita A et al. PLOS ONE 2011)とのメタ解析を施行した。全RNA解析についてはNCGGバイオバンクのバフィーコートより高純度のRNAを抽出し、全RNA配列解析用ライブラリ作製キット (TruSeq Stranded Total RNA Sample Preparation Kit ; イルミナ社)を用いて、高精度のRNAライブラリを構築した。全RNA配列解析については外注(ジーンウィズ株式会社、タカラバイオ株式会社)にてデータを得た。全エクソーム解析は202例のAPOE ε4 ADリスクアレルを持たないAD患者由来DNAについてHiSeq2500 (イルミナ社)を用いて配列決定をおこなった。エクソーム解析により同定したSHARPINバリエーションの機能解析として、正常、バリエーションタンパクでの細胞内局在の違いはHEK293細胞にmyc tag配列を付加した正常及びバリエーションタンパクを強制発現し、myc tag抗体を用いた免疫染色により蛍光顕微鏡を用いて行った。また、炎症の中心的なメディエーターであるNuclear factor kappa B (NFκB)の活性に与えるバリエーションの影響については、安定的にルシフェラーゼ遺伝子を発現するHEK293細胞を構築し、この細胞に正常およびバリエーションタンパクを強制発現することにより行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター倫理・利益相反委員会の承認を得て施行されている。すべての検体において書面による同意を取得していると共に、研究対象者個人の尊厳と人権の尊重、個人情報の保護等について倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行している。研究参加者のプライバシーを尊重し、結果については秘密を厳守し、研究の結果得られるいかなる情報も研究目的以外に使用さ

れることは行わない。また、ゲノム情報を保存するサーバ等の記憶媒体に個人を特定できるような情報を一緒に格納していない。国立研究開発法人国立長寿医療研究センターの定める「保有する個人情報の保護に関する規程」に基づき、個人情報保護管理者が厳格に守秘する。

C. 研究結果

認知症を含むDNA検体約15,700例(サンプル内訳は図2に示した)についてアジアスクリーニングアレイによりジェノタイピングを行った。これまでに得たジェノタイピングデータを用いてインピュテーション解析後、図3に示したクオリティーコントロール解析を施行した。試験的な解析として、日本人計8,036人(3,962 AD vs 4,074 control)を用いたメタ解析について約485万SNPを用いたAD GWASを進めた。この解析でゲノムワイド有意性を示したローカスは染色体19番長腕のAPOE座位および第11番染色体長腕SOLR1座位であり、既報のAPOEおよびSOLR1ジェノタイプがこの集団においても強いADとの関連を示すことが再確認できた。また、ゲノムワイド有意性は獲得できなかったが、示唆的な統計値($p < 10^{-6}$)を示し、東アジア人にしかアレル頻度を持たない新規疾患候補座位を染色体4番に同定することができている。この4番染色体のバリエーションはオッズ比 1.5と比較的強い疾患に対する影響を示し、図4に示したように遺伝子発現量に影響を与えることが明らかになっている(遺伝子発現Quantitative Trait Loci; eQTL)。またAPOE、SOLR1座位以外の近年欧米諸国のGWASにより同定された既報座位での日本人集団における関連は第8番染色体CLU座位、第11番染色体PICALM座位、第19番染色体ABCA7座位が認められた($P < 0.05$)。

遺伝的因子(ジェノタイプ)と遺伝子発現量(フェノタイプ)の関係について精査し、疾

患発症に重要な遺伝子の絞り込み (eQTL) や分子機能を解明することを目的として、末梢血バフィーコート (主に白血球細胞) からのRNA抽出、全RNA配列解析について次世代シーケンサーを用いて進めてきている (1,000例~を目標)。これまでに約900検体について高品質RNAを抽出、全RNA配列解析ライブラリを作成し全配列解読を進めており、610例についてはパイロット的に約22,000種類の遺伝子発現解析および遺伝子発現による12個の免疫系細胞のアルツハイマー病、軽度認知障害、コントロールにおける分類を行った。調べた12種類の免疫系細胞中の好中球においてADで細胞数が統計学的有意に多いことが判明した。また、この結果は検診における大規模データにおいても再現され、好中球の細胞数はコントロールに比べ軽度認知障害 (MCI)、ADといった順で多くなることが判明した。一方、GWASでは比較的頻度の高いコモンバリエーションを対象とした解析になるため、頻度の低い (アレル頻度 > 0.005)、いわゆるレアバリエーションの同定には向かない。そこで、本研究ではAPOEリスクバリエーションを持たないADサンプルを用いたエクソーム解析からのレアバリエーションの同定を試みた。その結果、SHARPIN遺伝子中にアジア人に特異的なバリエーションを発見し、疾患との強い関連を見出した (オッズ比 6.1、 $P = \sim 10^{-5}$) (図5)。In vitro 解析の結果、このバリエーションを持つタンパクは細胞内で凝集体を形成することおよび炎症に中心的な役割を果たす転写因子であるNFkBの活性に影響を与えることが判明した (図6、図7)。

D. 考察

現在までに約15,700検体についてASAを用いた日本人に特化したジェノタイピングを施行した。このジェノタイピングデータを用いた約7,000例の日本人全ゲノムシーケンズ解析により構築した日本人リファレンスパネル

(理研)を用いたインピュテーション解析を終了している。このデータについては新潟大学との共同研究による約5,000例のAS Aデータ (アルツハイマー病 (AD) 2,500例、コントロール2,500例) とのメタGWASを施行している。一方で、約7,000例のジェノタイピングデータによる孤発性アルツハイマー病 (LOAD) GWASの結果と既報日本人LOAD GWAS (AD 約1,000例、コントロール 約1,000例; Miyashita A et al. 2011) によるメタ解析を施行した。この解析により新規に示唆的有意性を示すアジア人特異的なバリエーション (オッズ比 = 1.5) を第4番染色体上同定した。さらに欧米人LOAD GWAS (IGAP データ2019年、AD 22,000 vs コントロール 42,000) データとのトランスエスニックメタ解析を施行し、示唆的な有意性 ($P < 10^{-6}$ 未満) を示す新規認知症関連座位については異なるサンプル 5,000例を用いた再検証解析を現在進行している。これらの解析によりさらに新たなAD感受性座位が同定できると考えられる。上記GWASに加えて、202例のエクソーム解析より、SHARPIN遺伝子中にLOADに関連する新規の低頻度バリエーションを同定している (オッズ比 6.1、 $P = \sim 10^{-5}$)。この疾患関連低頻度バリエーションをもつタンパクを発現させた細胞では正常タンパクに比較してタンパク凝集体を形成することを確認し、さらに炎症関連NFkBの活性を低下させることも見出している。RNA-seqを用いたオミックス解析については、現在までに910例について次世代シーケンサーによる配列決定を完了した。610サンプルのRNA-seqデータを用いた血液細胞の分類より、LOADでは好中球数が有意に上昇していること、また、LOAD、MCI、コントロールでの網羅的発現量差異の検定から、ADに関連した機能的モジュールとハブ遺伝子群を同定しており更なる解析が期待できる。さらにこれらの情報を用いたADリスクの予測モデルの構築を

進め、検証コホートでAUC 0.878の正確性を得ている。

E . 結論

アジア人に特化したジェノタイピングアレイによる日本人認知症を含む約15,700例のジェノタイピングを施行し、日本人リファレンスパネルを参照したインピュテーション法を施行してきた。これらの一部のデータにおける試験的ADのGWASを試みた結果、APOE座位とSOLR1座位がゲノムワイド有意性を示したことに加え、示唆的な統計値 ($p < 10^{-6}$) を示す東アジア人にしかアレル頻度を持たない、比較的疾患に与える影響の大きい (オッズ比 1.5) 新規バリエーションを第4染色体上に同定した。このように民族に特化した解析から新たな疾患の原因を解明できる可能性が示唆されている。今後の日本人サンプル数増加による解析や欧米人とのトランスエスニックメタ解析によるさらに大規模な解析を施行することにより疾患の全容解明に繋げることができると考えられる。全RNA配列解析及びその統合解析においても同様に大規模化することによる真の疾患感受性パスイーの同定、分子機能の解明へと発展させることができると共に、全ゲノムやエクソームシーケンス解析による疾患に強く寄与するレアバリエーションの同定やこれらの統合解析から認知症の予知診断に有用なポリジェニックリスクスコアの探索、さらにはドラッグリポジショニングを含む創薬へと発展させることが可能になる。

F . 健康危険情報

本研究集団ではAPOE ε4アレルを一つ持つ場合、ADに対するオッズ比は2.57程度となる。95%信頼区間は2.21 ~ 2.99。

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. *Circulation; Genomics and Precision Medicine*. (in press) 2019.
Transethnic meta-analysis of genome-wide association studies

identifies three new loci for coronary artery disease. 2019.

Matsunaga H, Akiyama M, Takahashi A, Nomura S, Ozaki K, Onouchi Y, Suna S, Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Akai W, Tanaka H, Sakata Y, Morita H, Matsuda K, Murakami Y, Akazawa H, Kubo M, Kamatani Y, Komuro I, Ito K.

2. *BMC Med Genomics*. 30;12(1):150. doi: 10.1186/s12920-019-0607-3.

A comparison of machine learning classifiers for dementia with Lewy bodies using miRNA expression data. 2019. Oct. Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S.

3. *Molecular Medicine*. 20;25(1):20. doi.org/10.1186/s10020-019-0090-5.

A rare functional variant of SHARPIN attenuates the inflammatory response and associates with increased risk of late-onset Alzheimer's disease. 2019. Jun. Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K.

4. *Genome Wide Association Studies*. Chapter 2 p21-36.

Genetics of Coronary Artery Diseases. Springer Nature (2019). Ozaki K, Tanaka T.

5. *BRAIN and NERVE* 71 巻 10 号 p1039-1051、アルツハイマー病の遺伝的背景 医学書院 (2019). 尾崎浩一、新飯田俊平.

6. *International Journal of Cardiology. Heart & Vasculature*. 24:100383 (2019).

doi: 10.1016/j.ijcha. Pathway analysis with genome-wide association study (GWAS) data detected the association of atrial fibrillation with the mTOR signaling pathway. 2019.100383. Ebana Y, Sun Y, Yang X, Watanabe T, Makita S, Ozaki K, Tanaka T, Arai H, Furukawa T.

7. *Communication Biology*. 2:77. doi: 10.1038/s42003-019-0324-7.

Risk prediction models for dementia constructed by supervised principal component analysis using miRNA expression data. 2019. Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K,

- Ichikawa M, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S.
8. *Sci. Rep.* 8(1):5608 IMSindel: An accurate intermediate-size indel detection tool incorporating de novo assembly and gapped global-local alignment with split read analysis. 2018.Apr. Shigemizu D, Miya F, Akiyama S, Okuda S, Boroevich K, Fujimoto A, Nakagawa H, Ozaki K, Niida S, Kanemura Y, Okamoto N, Saitoh S, Kato M, Yamasaki M, Matsunaga T, Mutai H, Kosaki K, and Tsunoda T.
 9. *Biomarker Research* 6, 5 Comparative analysis of cerebrospinal fluid metabolites in Alzheimer's disease and idiopathic normal pressure hydrocephalus in a Japanese cohort. 2018. Jan. Nagata Y, Hirayama A, Ikeda S, Shirahata A, Shoji F, Maruyama M, Kayano M, Bundo M, Hattori K, Yoshida S, Goto Y, Urakami K, Soga T, Ozaki K, Niida S.
 10. *Scientific Reports*. 9, 1008. Analysis of the relationship between the gut microbiome and dementia: a cross-sectional study conducted in Japan. 2019. Saji N, Niida S, Murotani K, Hisada T, Tsuduki T, Sugimoto T, Kimura A, Toba K, Sakurai T.
 11. *Hum Genet.* 137, 521-533. Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- β accumulation in Alzheimer's disease. 2018. July. Yamaguchi-Kabata Y, Morihara T, Ohara T, Ninomiya T, Takahashi A, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi N, Shigemizu D, Boroevich KA, Ikeda M, Kubo M, Takeda M, Tsunoda T.
 12. *Frontiers in Genetics* 9, 115 Empirical Bayes estimation of semi-parametric hierarchical mixture models for unbiased characterization of polygenic disease architectures. 2018. Apr. Nishino J, Kochi Y, Shigemizu D, Kato M, Ikari K, Ochi H, Noma H, Matsui K, Morizono T, Boroevich K, Tsunoda T, and Matsui S.
- 2 . 学会発表
1. Molecular genetics of cognitive impairment in Japanese. Ozaki K. Asian Forum of Alzheimer's Disease (AFAD) 2019, Tokyo, 2020/2/8,国内,口頭
 2. NCGG における認知症のゲノム解析, 尾崎浩一、東京都健康長寿医療センターセミナー、東京、2020/1/14、国内、口頭
 3. JAMIR-eQTL:Japanese genome-wide identification of microRNA expression quantitative trait loci, Akiyama S, Higaki S, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D, The 42 Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2019/12/5, 国内, ポスター.
 4. 日本人における5種認知症のゲノムワイドな関連解析, Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, The 42 Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2019/12/3, 国内, ポスター.
 5. Prognosis prediction model for Alzheimer's disease conversion from mild cognitive impairment using integrative multi-omics data, Shigemizu D, Akiyama S, Higaki S, Sugimoto T, Sakurai T, Niida S, Ozaki K, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/9, 国内, 口頭.
 6. Genome wide association study for dementias in a Japanese population, Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, 口頭.
 7. Functional analysis for the variants associated with the risk of late-onset Alzheimer's disease, Mori T, Shigemizu D, Asanomi Y, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, ポスター.
 8. A nonsynonymous variant of SHARPIN attenuates the inflammatory response and associates with late-onset Alzheimer's disease, Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, ポスター.
 9. Genome wide association study for dementias in a Japanese population, Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, The American Society of Human Genetics, 2019/10/19, 国外, ポスター.

10. Whole exome sequencing identifies a rare functional variant SHARPIN G186R associated with increased risk of late-onset Alzheimer's disease, Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K, The American Society of Human Genetics, 2019/10/19, 国外, ポスター.
11. A comparison of machine learning classifiers for dementia with Lewy bodies using miRNA expression data, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, The American Society of Human Genetics, 2019/10/17, 国外, ポスター.
12. Exploration of serum microRNA biomarkers for dementia-risk prediction, Asanomi Y, Shigemizu D, Kayano M, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, and Niida S, 第6回 JMAC シンポジウム, 2019/9/24, 国内, ポスター.
13. JAMIR-eQTL: Japanese genome-wide identification of microRNA expression quantitative trait loci, Akiyama S, Higaki S, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D, 第8回生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2019), 2019/9/10, 国内, ポスター.
14. Multiclass classification model for dementia-type prediction using serum microRNA biomarkers, Asanomi Y, Shigemizu D, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S, 第8回生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2019), 2019/9/10, 国内, ポスター.
15. Polygenic analysis of Alzheimer's disease in Japanese population, Kikuchi M, Miyashita A, Ozaki K, Niida S, Ikeuchi T, Nakaya A, 第13回国際ゲノム会議国, 2019/6/25~27, 国内, ポスター.
16. Genome wide association study for late-onset Alzheimer's disease in Japanese population, Ozaki K. European Society of Human Genetics (ESHG).2019/6/16, 海外, ポスター
17. Molecular Genetics of Late-onset Alzheimer's disease. Ozaki K. The 5th NCGG – ICAH Symposium, 2019/4/11, 国内, 口頭

図1 大規模ゲノム・オミックス情報の収集と解析

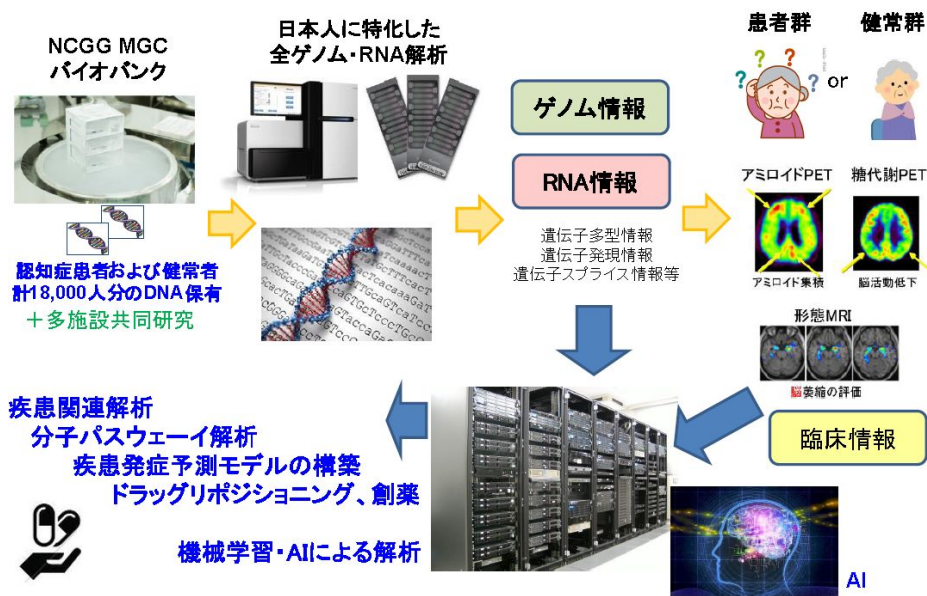


図2 ジェノタイピングサンプルの分類

(AD ; アルツハイマー病、MCI ; 軽度認知障害、VaD ; 血管性認知症、FTD ; 前頭側頭型認知症、DLB ; レビー小体型認知、NPH ; 正常圧水頭症)

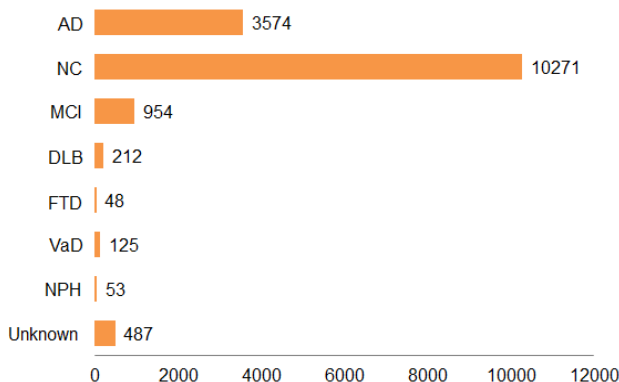


図3 GWAS クオリティコントロール (QC)

■ Exclusion criteria for sample QC

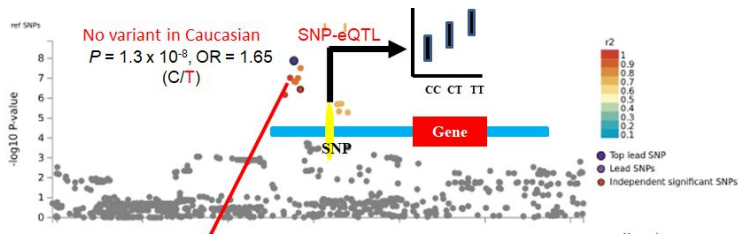
1. Sex inconsistency (--check-sex)
2. Inbreeding coefficient $|F| > 0.1$ (--het 0.1)
3. Genotype missingness > 0.05 (--missing 0.05)
4. Kinship coefficient $\theta > 0.2$ (--genome 0.2)
5. PCA using 1KGp3

■ Exclusion criteria for marker QC

1. Call rate < 0.95 (--geno^a 0.95)
2. Minor Allele Frequency (MAF) < 0.001 (--freq^a 0.001)
3. Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) in controls $< 1 \times 10^{-3}$ (--hwe^a 0.001)
4. Strand orientation (SNPflip)

■ 4,852,957 variants (SNPs and Indels) after imputation and QC

図4 新規バリエーションの機能的特徴



Expression QTL (eQTL) by GTEx

Tissue	Samples	HES	p-value	r-value	Single-tissue eQTL HES (with 95% CI)
Colon - Sigmoid	203	0.238	6.4e-5	0.999	
Cells - EBV-transformed lymphocytes	117	0.214	0.02	0.831	
Brain - Frontal Cortex (BA9)	118	0.177	6.5e-4	0.992	
Brain - Substantia nigra	80	0.177	0.02	0.914	
Uterus	101	0.175	0.04	0.844	
Brain - Spinal cord (cervical c-1)	83	0.167	0.02	0.887	
Skin - Sun Exposed (Lower leg)	414	0.163	4.9e-8	1.00	
Skin - Not Sun Exposed (Suprapubic)	335	0.153	1.7e-5	1.00	

Associated variant enhances the expression of neighbor gene

図5 新規AD 関連レアバリエーションの同定

dbSNP ID	Chr.	Gene	Phase	Number of samples		Number of variants		MAF		OR	95%CI	P
				Cases	CO	Cases	CO	Cases	CO			
rs572750141	8	SHARPIN	1 st cohort	2383	13973	10	7	0.002	0.0003	8.4	3.2-22.1	2.28 x 10 ⁻⁷
				2180	2486	1	1	0.0002	0.0002	1.1	0.02-89.5	1
				Combined*		4563	16459	11	8	0.001	0.0002	6.1

ID; identifier, Chr.; chromosome, MAF; minor allele frequency, OR; odds ratio, CI; confidence interval

*; P value was calculated by Mantel-Haenszel test.

図6 正常とバリエーション SHARPIN タンパクの細胞内局在

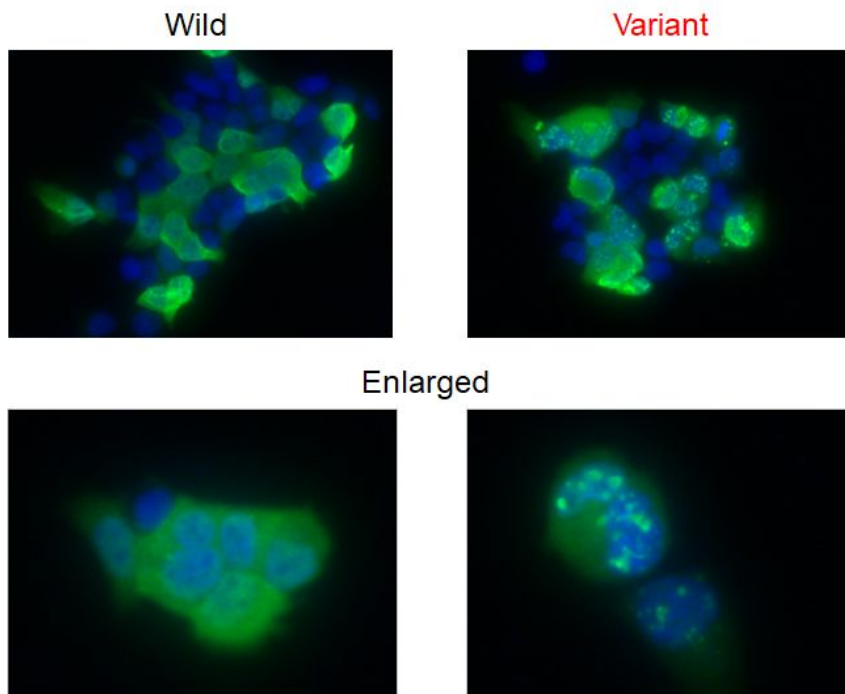


図7 正常とバリエントSHARPINタンパクの炎症関連 NFκB 活性

➤ TNF α -induced NF- κ B activation

