

アルツハイマー病の関連遺伝子探索研究

●武田 雅俊¹⁾ ◆森原 剛史¹⁾ ◆田中 稔久¹⁾ ◆赤津 裕康²⁾ ◆荒井 平伊³⁾ ◆中島 健二⁴⁾

◆前田 潔⁵⁾ ◆山縣 英久⁶⁾

1) 大阪大学医学部 2) 福祉村病院長寿医学研究所 3) 順天堂大学医学部 4) 鳥取大学医学部 5) 神戸大学医学部

6) 愛媛大学医学部

<研究の目的と進め方>

アルツハイマー病(AD)は患者および家族のQOLを低下させ、また社会的損失も大きい。わが国は4人に1人が65歳以上という超高齢化社会をむかえようとしており、ADへの早急な対策が必要とされている。家族性アルツハイマー病の原因遺伝子が同定され、現在臨床開発まで進んでいるアミロイド病理に対する薬剤の登場を大きく促した。次々世の診断、治療法確立のため、新たなAD関連遺伝子の同定をする。より確かで有用なリスク遺伝子を同定するため、患者ゲノム解析のみならず、以下のような複合的アプローチ、さらに各遺伝子の機能解析を進める。

<2007年度の研究の当初計画>

- ①アルツハイマー病罹患同胞50対の収集。
- ②新規症例合計1000例を目標にDNAサンプルを収集する。発症に関与する遺伝子のみならず、中間表現型との遺伝子多型の関連も検討する。
- ③アルツハイマー病モデル動物を用いたアルツハイマー病リスク遺伝子の同定をすすめる。
- ④メタボローム研究による新規バイオマーカーの探索
- ⑤他民族で報告されたリスク遺伝子の普遍性の検討
- ⑥本研究でこれまでに見つけれられた遺伝子の機能解析

<2007年度の成果>

- ①2007年中、罹患同胞は7対収集した。収集に対する支援体制、インセンティブを改善した。まだまだ不十分なレベルではあるが年間あたりの収集数は伸びた。
- ②2007年中、大阪大学と関連施設で診断済み87サンプル(アルツハイマー47、MCI 10、DLB 4など)、未診断97サンプル収集。
- ③アルツハイマー病モデル動物であるAPPトランスジェニックマウスを、3系統のマウスに1~2世代交配した上、1年間加齢させた。行動実験(Y-maze)、血清収集も同時に行っている。C57BL6由来の遺伝子が増加すると、生存率の低下が認められたが、他の交配では生存率に影響がないことを確認した。ところで緻密な遺伝子探索には多数のマウス個体の正確な表現型の測定が必須である。種々の予備実験を繰り返し脳中アミロイドβ40および42の再現性の高い測定体制を確立した。脳内に蓄積したアミロイド量は各背景遺伝子により異なることが判明した。今後、アミロイド病理の重度なマウスと軽度なマウスの遺伝子発現および、ゲノムを解析し、アミロイド病理形成に関与する遺伝子群を同定する。
- ④患者血清を用い、共同研究によりメタボロミクス解析でアルツハイマー病バイオマーカーplasmalogenを同定している。ブラインドで行った測定でもアルツハイマー病と健常高齢者の間で有意な差が確認された(論文13)。弧発性アルツハイマー病の遺伝子研究の障害のひとつは診断のあいまいさや疾患の不均一さである。

plasmalogenのようなバイオマーカーがこの問題を解決しうる。

⑤北米のグループから報告された第11番染色体SORL1遺伝子は、われわれの日本人サンプルでも有意なリスク効果が再現された(未発表)。リスク多型は15%発現レベルが低くなっていると報告されているが、環境因子としてDHA摂取がSORL1の発現を上昇させることをAPPトランスジェニックマウスを用いて見出している(論文14)。遺伝研究始まり治療予防法の開発への発展が期待される結果である。

⑥第21番染色体スキャンで得られた候補遺伝子5つのうち、ダウン症候群の責任領域にあるDYRK1A遺伝子の発現および機能解析を論文発表した(論文1)。

またDynamine family proteinであるDNM1L、DNM1とDNM2遺伝子にリスク効果が認められた(論文16)。発現解析ではDNM2 mRNAがアルツハイマー病脳でも末梢血中でも低下していた(未発表)。なお機能的にはDNM1がアミロイドβ蛋白の切断を変化させることを昨年発表している(Fukumori A Biochemistry 2006)。Dynamineは形質膜においてクラスリン被膜小胞の切断にかかわる。さらなる機能解析を進めており、DNM1、DNM2を同時にdominant negativeにより抑制すると分泌Aβ40が上昇するというプレリミナリーデータを得ている。このようにわれわれの結果は、DNMが遺伝学的にも機能的にもアルツハイマー病理に重要であり、治療のターゲットにもなりうるリスク遺伝子ファミリーであることを示している。

○その他、動物を用いた遺伝子探索以外の複合的遺伝子探索として次のような成果を得ている。アルツハイマー病脳で発現差異が見られる遺伝子群を網羅的(オリゴキャップ法)方法で抽出した。これらの遺伝子について関連領域のSNPsを別の多数のDNA検体で調べたところ、PPP2R2Bの3つのSNPsで遅発性アルツハイマー病と高齢健常対照群で有意差が見られた。

<国内外での成果の位置づけ>

アルツハイマー病のリスク遺伝子同定は世界中で精力的に行われているにもかかわらず、その成果は華々しいとはいえない。これまで報告されてきたリスク遺伝子の再現性の低さも大きな問題である。より信頼性の高い遺伝子同定のためのひとつの方法は、より多くのサンプルを収集することである。我々は国内では最も検体を有するグループのひとつである。一方、米国のグループは、わが国よりもはるかに多くのリソースを投入しており、その結果多量の検体を収集している。我々はこれらとは異なる戦略を取る。アルツハイマー病に関する機能的解析も統合的に行える経験と人材を有しているという当研究班の他にはない長所を生かした研究を行っている。実際、候補遺伝子は機能解析を合わせて、より高い信頼性、有用性を示すことに成功している(成果⑥、論文1)。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

今年度は罹患同胞を7対収集できた。現場に対する経済的な支援体制を刷新したことも増加の一因である。しかしながら、目標数に比べ依然十分なペースではない。主治医としてかかわっている患者からの協力はきわめて高い確率で得られたが、主治医患者関係がない同胞からの拒否が多かった。とくに兄弟間が疎遠で遠方に住んでいる場合、同意が得られるほうがまれであった。

<今後の課題>

従来の関連解析のみならず以下の発展的研究を目指す。

○複合的アプローチとして剖検脳の発現解析。

○複合的アプローチとしてアルツハイマー病モデル動物の背景遺伝子の解析。

○これら複合的アプローチを組み合わせて、信頼性の高いアルツハイマー病関連遺伝子群を同定していく。

○信頼性が高くより有用な遺伝子の同定のため、候補遺伝子の発現解析、機能解析の継続。労力の必要な実験で、実験できる候補遺伝子の数には限度がある。そこで初期に行うアルツハイマー病理との関係を探る実験については、可能な限りシステムチックなものとし効率化を進めたい。

○既集弧発例サンプルまたは収集中の兄弟発症例サンプルのマイクロアレイを用いた網羅的解析を検討する。これに関し、研究協力、支援を得ることも必要。

○サンプル収集、特に兄弟発症例に関しては、現場医師の多大な努力に報いるような工夫が必要である。

<成果公表リスト>

論文/プロシーディング (査読付きのものから抜粋)

1. 0801221642
Kimura R, Kamino K, Yamamoto M, Nuripa A, Kida T, Kazui H, Hashimoto R, Tanaka T, Kudo T, Yamagata H, Tabara Y, Miki T, Akatsu H, Kosaka K, Funakoshi E, Nishitomi K, Sakaguchi G, Kato A, Hattori H, Uema T, Takeda M. The DYRK1A gene, encoded in chromosome 21 Down syndrome critical region, bridges between beta-amyloid production and tau phosphorylation in Alzheimer disease. *Hum Mol Genet.* 2007 ;16(1):15-23.
2. 0801221731
Kitayama M, Wada-Isoe K, Irizawa Y, Nakashima K. Association of visual hallucinations with reduction of MIBG cardiac uptake in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2008 ;264(1-2):22-6.
3. 0801221651
Kitayama M, Wada-Isoe K, Nakaso K, Irizawa Y, Nakashima K. Clinical evaluation of Parkinson's disease dementia: association with aging and visual hallucination. *Acta Neurol Scand.* 2007, 116(3):190-5.
4. 0801221654
Hori Y, Hashimoto T, Wakutani Y, Urakami K, Nakashima K, Condrón MM, Tsubuki S, Saido TC, Teplow DB, Iwatsubo T*. The Tottori (D7N) and English (H6R) familial Alzheimer disease mutations accelerate Abeta fibril formation without increasing protofibril formation. *J Biol Chem.* 2007;282(7):4916-23. 15
5. 0801221700
Makino S, Kaji R, Ando S, Tomizawa M, Yasuno K, Goto S, Matsumoto S, Tabuena MD, Maranon E, Dantes M, Lee LV, Ogasawara K, Tooyama I, Akatsu H, Nishimura M, Tamiya G. Reduced Neuron-Specific Expression of the TAF1 Gene Is Associated with X-Linked Dystonia-Parkinsonism. *Am J Hum Genet.* 2007 ;80(3):393-406.
6. 0801221704

Nakai M, Fujita M, Waragai M, Sugama S, Wei J, Akatsu H, Ohtaka-Maruyama C, Okado H, Hashimoto M. Expression of alpha-synuclein, a presynaptic protein implicated in Parkinson's disease, in erythropoietic lineage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 ;358(1):104-10.

7. 0801221710
Shibata N, Ohnuma T, Higashi S, Higashi M, Usui C, Ohkubo T, Watanabe T, Kawashima R, Kitajima A, Ueki A, Nagao M, Arai H. Genetic association between Notch4 polymorphisms and Alzheimer's disease in the Japanese population. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007 ;62(4):350-1
8. 0801221713
Takeda M, Okochi M, Tagami S, Tanaka T, Kudo T. Biological markers as outcome measures for Alzheimer's disease interventions--real problems and future possibilities. *Int Psychogeriatr.* 2007 ;19(3):391-400
9. 0801221715
Ukai S, Yamamoto M, Tanaka M, Shinosaki K, Takeda M. Dnepezil in the treatment of musical hallucinations. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2007 pr;61(2):190-2.
10. 0801221718
Wada-Isoe K*, Kitayama M, Nakaso K, Nakashima K. Diagnostic markers for diagnosing dementia with Lewy bodies: CSF and MIBG cardiac scintigraphy study. *J Neurol Sci.* 2007;260(1-2):33-7.
11. 0801221725
Wada-Isoe K, Michio K, Imamura K, Nakaso K, Kusumi M, Kowa H, Nakashima K. Serum proteomic profiling of dementia with Lewy bodies: diagnostic potential of SELDI-TOF MS analysis. *J Neural Transm.* 2007 ;114(12):1579-83.
12. 0801231112
Tagami S, Okochi M, Yanagida K, Ikuta A, Fukumori A, Matsumoto N, Ishizuka-Katsura Y, Nakayama T, Itoh N, Jiang J et al Regulation of Notch signaling by dynamic changes in the precision of S3 cleavage of Notch-1 *Mol Cell Biol* 2008 ;28(1):165-76.
13. 0801231115
Goodenow DB, Cook LL, Liu J, Lu Y, Jayasinghe DA, Ahiahonu PW, Heath D, Yamazaki Y, Flax J, Krenitsky KF et al Peripheral ethanolamine plasmalogen deficiency: a logical *J Lipid Res* 2007 ;48(11):2485-98.
14. 0801231121
Ma QL, Teter B, Ubeda OJ, Morihara T, Dhoot D, Nyby MD, Tuck ML, Frautschy SA, Cole GM. Omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid increases SorLA/LR11, a sorting protein with reduced expression in sporadic Alzheimer's disease (AD): relevance to AD prevention. *J Neurosci* 2007 ;27(52):14299-307.
15. 0801231123
Kudo T, Kanemoto S, Hara H, Morimoto N, Morihara T, Kimura R, Tabira T, Imaizumi K, Takeda M. A molecular chaperone inducer protects neurons from ER stress. *Cell Death Differ.* 2008 ;15(2):364-75..
16. 0801231550
Nuripa Jenishbekovna Aidaralievna, Kouzin Kamino, Ryo Kimura, Mitsuko Yamamoto, Takeshi Morihara, Hiroaki Kazui, Ryota Hashimoto, Toshihisa Tanaka, Takashi Kudo, Tomoyuki Kida et al Dynamin 2 gene is a novel susceptibility gene for late-onset Alzheimer disease 4 carriers ε in non-APOE- 4 carriers *Journal of Human Genetics* (in press)