

パーキンソン病関連遺伝子探索と機能解析

◆戸田 達史¹⁾ ◆服部 信孝²⁾ ◆村田 美穂³⁾ ◆佐竹 渉¹⁾ ◆水田 依久子¹⁾ ◆山本 光利⁴⁾

◆猪子 英俊⁵⁾

1) 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝 2) 順天堂大学医学部神経内科 3) 国立精神神経センター武蔵病院神経内科
4) 香川県立中央病院神経内科 5) 東海大学医学部分子生命科学2

<研究の目的と進め方>

パーキンソン病 (PD) は多因子遺伝性疾患と考えられ、家族性 PD の原因遺伝子として α -synuclein や parkin, DJ-1, NR4A2, PINK1 遺伝子が発見されたが、患者の大部分を占める孤発性 PD では疾患感受性遺伝子は同定されていない。

また孤発例では、振戦を主体とする群、抗パーキンソン病薬で副作用を起こしやすい群など、その経過・中心となる症状・薬剤の効果は患者により異なり、このことは従来 PD として一括して行われていた遺伝解析に階層化を可能にし、遺伝子多型によって患者個人個人に必要な薬剤を必要な量投与するオーダーメイド医療が可能であることを意味する。

本研究では、1) マイクロサテライト・Illumina Hap550 アレイを用いたゲノムワイド関連解析、多数の候補遺伝子内 SNP を用いた関連解析、により PD 感受性遺伝子を同定する、2) SNP と各薬剤への反応性、副作用との関連を明らかにしテラーメイド治療法を確立する、ことを行う。

<2007 年度の研究の当初計画>

① Illumina Hap550 アレイを用いたゲノムワイド関連解析と、ゾニサミド薬効予測マーカーの同定

Illumina Hap550 アレイを用いて、PD 患者のゲノム 500 検体の SNP 型を判定し、疾患対照関連解析を行う。臨床像-SNP 型をリンクさせたデータベースを作成する。関連を認めた SNP に関しては、別の日本人患者約 900 検体・ドイツ人患者約 500 検体を用いて、再現実験を行い、PD 感受性 SNP を同定する。また、ゾニサミド有効例・無効例間で関連解析し、効果判定マーカーとなる多型を同定する。

② マイクロサテライトを用いたゲノムワイド関連解析

個別検体タイピングにより関連が確認できた MS に対して、引き続き高密度 SNP マッピングを行う。

③ 多数の候補遺伝子 SNPs に基づく関連解析

2段階スクリーニングで得られた PD 関連 SNPs について、追加検体による確認、連鎖不平衡解析、機能解析を行う。

<2007 年度の成果>

① Illumina Hap550 アレイを用いたゲノムワイド関連解析と、ゾニサミド薬効予測マーカーの同定

Hap550 アレイを用いて患者 1000 人の GWAS の実験を行った。Call rate は、99% 以上を維持している。現在データ解析中である。

② マイクロサテライトを用いたゲノムワイド関連解析

27,158 個の MS と、pooled DNA 法を用いた、ゲノムワイドスクリーニングにより、候補領域 280 ヶ所を抽出した。うち 164 マーカーに関して、個別 DNA 検体を用いたタイピングを行い、 $P < 0.001$ の MS マーカーを 7 箇所同定した。1 個の MS は SNP

としても 10^{-8} の有意な領域である。

③ 多数の候補遺伝子 SNPs に基づく関連解析

268 SNPs のスクリーニングから、 α -synuclein (SNCA) が確実な PD 感受性遺伝子であることを報告した。その SNPs について、ルシフェラーゼアッセイや EMSA を進行中である。その他 Calbindin など数個の遺伝子の SNPs で、 $P = 10^{-3} - 10^{-4}$ の有意な相関をみいだした。

また、アメリカ人集団において、PD との関連が報告された FGF20 遺伝子に関して、日本人大集団 (患者 1388 人、対照 1891 人) を用いて検証し、関連 ($P = 0.0089$) を見出した。

④ 神経変性疾患の原因蛋白質の構造異常

ポリグルタミン病において、構造生物学的解析にて、ポリグルタミンの分子構造が β シート単量体に変化した段階ですでに毒性を獲得していることを見出し、凝集阻害ペプチド QBP1 がその構造変化をブロックすることを見出した。神経変性疾患共通の治療薬の開発のターゲットとなるような蛋白質の構造変化を見出した。

<国内外での成果の位置づけ>

2001-2002 年にかけて、数施設から罹患同胞対法による連鎖領域の報告がはじめてなされた。また 2005 年、2006 年と 200-300 人程度の GWAS study が発表された。現在、米国、ドイツ、日本などの数施設が、大規模な GWAS を行っている。

今回この研究で同定された α -synuclein (SNCA) 遺伝子は p 値も 10^{-11} と極めて強い相関を示しこのようなものは初めてで、はじめて確実なパーキンソン病疾患感受性遺伝子を同定したことになる、といえる。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

家族発症は全患者の約 5-10% に認められるが、高齢であること、離れた地域に居住していることより、複数の症例において採血するのは予想外に困難と思われた。

<今後の課題>

① Illumina Hap550 アレイを用いたゲノムワイド関連解析と、ゾニサミド薬効予測マーカーの同定

Illumina Hap550 アレイを用いて、PD 患者のゲノム 800 検体の SNP 型を判定し、疾患対照関連解析のデータ処理を行う。関連を認めた SNP に関しては、別の日本人患者約 700 検体・ドイツ人患者約 500 検体を用いて、再現実験を行い、PD 感受性 SNP を同定する。また、ゾニサミド有効例・無効例間で関連解析し、効果判定マーカーとなる多型を同定する。臨床像-SNP 型をリンクさせたデータベースを作成する。

②マイクロサテライトを用いたゲノムワイド関連解析

個別検体タイピングにより関連が確認できたMSに対して、引き続き高密度 SNP マッピングを行う。

2) データベース/ソフトウェアなし

<成果公表リスト>

1) 論文/プロシーディング

1. 0701311151

Nagai Y, Inui T, Popiel HA, Fujikake N, Hasegawa K, Urade Y, Goto Y, Naiki H, Toda T. A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nature Struct Mol Biol* 14:332-340, 2007

2. 0705081516

Satake W, Mizuta I, Suzuki S, Nakabayashi Y, Ito C, Watanabe M, Takeda A, Hasegawa K, Sakoda S, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T. Fibroblast growth factor 20 gene and Parkinson's disease in the Japanese population. *Neuroreport* 18:937-940, 2007

3. 0705081518

Chiyonobu T, Hayashi S, Kobayashi K, Morimoto M, Miyanomae Y, Nishimura A, Nishimoto A, Ito C, Imoto I, Sugimoto T, Jia Z, Inazawa J, Toda T. Partial tandem duplication of GRIA3 in a male with mental retardation. *Am J Med Genet* 143:1448-1455, 2007

4. 0701311150

Saito F, Masaki T, Saito Y, Nakamura A, Takeda S, Shimizu T, Toda T, Matsumura K. Defective peripheral nerve myelination and neuromuscular junction formation in fukutin-deficient chimeric mouse. *J Neurochem* 101:1712-1722, 2007

5. 0710241655

Amino T, Ishikawa K, Toru S, Ishiguro T, Sato N, Tsunemi T, Murata M, Kobayashi K, Inazawa J, Toda T, Mizusawa H. Redefining the disease locus of 16q22.1-linked autosomal dominant cerebellar ataxia. *J Hum Genet* 52:643-649, 2007

6. 0710241657

Takahashi Y, Okamoto Y, Popiel HA, Fujikake N, Toda T, Kinjo M, Nagai Y. Detection of polyglutamine protein oligomers in cells by fluorescence correlation spectroscopy. *J Biol Chem* 282:24039-24048, 2007

7. 0710241658

Yoshioka M, Higuchi Y, Fujii T, Aiba H, Toda T. Seizure-genotype relationship in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 30:59-67, 2008

8. 0710241659

Kano H, Kurahashi H, Toda T. Genetically regulated epigenetic transcriptional activation of retrotransposon insertion confers mouse dactylaplasia phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:19034-19039, 2007

9. 0802041104

Kumazawa R, Tomiyama H, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Yoshino H, Yokochi F, Fukusako T, Takehisa Y, Kashihara K, Kondo T, Elibol B, Bostantjopoulou S, Toda T, Takahashi H, Yoshii F, Mizuno Y, Hattori N. Mutation analysis of the *PINK1* gene in 391 patients with Parkinson's disease. *Arch Neurol* (in press)