

パーキンソン病関連遺伝子探索と機能解析

●戸田 達史¹⁾ ◇佐竹 渉¹⁾ ◇水田 依久子¹⁾ ◇小林 千浩¹⁾ ◇服部 信孝²⁾ ◇村田 美穂³⁾
 ◇山本 光利⁴⁾ ◇猪子 英俊⁵⁾ ◇久保 充明⁶⁾ ◇角田 達彦⁶⁾ ◇中村 祐輔⁷⁾

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 6) 理化学研究所 7) 東京大学医科学研究所

<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ラーメイド治療法を確立する、ことを行う。

<2008 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 社 HumanHap550 アレイを用いて、PD 患者約 1000 検体、コントロール 2500 検体の SNP 型を判定し、疾患対照関連解析を行う。関連を認めた SNP に関しては、別の日本人患者約 1000 検体、コントロール約 2500 検体を用いて、再現実験を行い、PD 感受性 SNP を同定する。さらにまた米国、ドイツ人、シンガポール人で再現性を検討する。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。

③原因不明の精神遅滞におけるゲノム構造異常の探索

染色体検査を含む精査にても原因の特定できない MR 症例 (27 症例) に対し、Affymetrix 社の 500K SNP チップと、データ解析ソフト GEMCA を用いて、コピー数異常領域の検出を試みた。

<2008 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

Illumina 社 HumanHap550 アレイを用いて、PD 患者 1012 検体、コントロール 2573 検体の SNP 型を判定した。IBS 検定、Multidimensional scaling により、血縁者や非アジア人検体を除外し、患者 988 検体、コントロール 2521 検体で関連解析を行った結

果、最も有意であったのは、 α -synuclein 領域の SNP ($P=6.17 \times 10^{-13}$ (trend model)) であった。関連を認めた上位 384SNP について、replication 実験を行っている。

②多数の候補遺伝子 SNPs に基づく関連解析

268SNPs 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 をすすめたところ、SNP 特異的に結合する蛋白の存在が考えられた。この蛋白の同定をめざす。

さらに 34 個の新たな SNPs をスクリーニングに追加し、calbindin1 (CALB1) の SNP で $P = 7.1 \times 10^{-5}$ の有意な関連を認めた。またこれらは SNCA のリスクアレルを持たない場合に関連が強く出ており、SNCA とは独立に効くものと考えられた。

③原因不明の精神遅滞におけるゲノム構造異常の探索

AMPA 型グルタミン酸受容体サブユニット 3 遺伝子 (*GRIA3*) の重複を見出した。また原因不明 MR 患者 27 症例中、7 症例 (計 10 箇所) に MR 原因候補のコピー数異常領域を検出した。そのうち 3 症例において、既知の症候群を同定した。残りの 4 症例は、遺伝子毎に詳細な解析を進めていく。

<国内外での成果の位置づけ>

2001-2002 年にかけ、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。

<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

関連を認めた SNP に関しては、別の日本人患者約 1000 検体・台湾人患者約 600 検体を用いて、再現実験を行い、PD 感受性 SNP を同定する。また結果を米国、ドイツグループと比較し、人種を越えて共通する SNP、日本人に特異的な SNP などを同定する。また、CNV などコピー数多型と PD との関連を検索する。

②多数の候補遺伝子 SNPs に基づく関連解析

③原因不明の精神遅滞におけるゲノム構造異常の探索

質量分析法で SNCA に SNP 特異的に結合する蛋白の同定をめざす。また MR 症例は、遺伝子毎に詳細な解析を進めていく。

<成果公表リスト>

1)論文/プロシーディング (査読付きのものに限る)

1.0806251600

Mizuta I, Tsunoda T, Satake W, Nakabayashi Y, Watanabe M, Takeda A, Hasegawa K, Nakashima K, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T. Calbindin 1, fibroblast growth factor 20, and α -synuclein in Parkinson's disease. *Hum Genet* 124:89-94, 2008

2. 0806251601

Sato S, Omori Y, Katoh K, Kondo M, Kanagawa M, Miyata K, Funabiki K, Koyasu T, Kajimura N, Miyoshi T, Sawai H, Kobayashi K Tani A, Toda T, Usukura J, Tano Y, Fujikado T, Furukawa T. Pikachurin, a dystroglycan ligand, is essential for photoreceptor ribbon synapse formation. *Nature Neurosci* 11:923-931, 2008

3. 0901231405

Fujikake N, Nagai Y, Popiel HA, Okamoto Y, Yamaguchi M, Toda T. Heat shock transcription factor 1 (HSF1)-activating compounds suppress polyglutamine-induced neurodegeneration through induction of multiple molecular chaperones. *J Biol Chem* 283:26188-26197, 2008

4. 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* 65:802-808, 2008

5. 0901231507

Wakayama Y, Inoue M, Kojima H, Yamashita S, Shibuya S, Jimi T, Hara H, Matsuzaki Y, Oniki H, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T. Reduced expression of sarcospan in muscles of Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Histol Histopathol* 23:1425-1438, 2008

6. 0901231410

Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, Goto J, Fukuda Y, Date H, Iwata A, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T, Tsuji S. Mutations for Gaucher disease confer a high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* (in press)

7. 0901231510

Popiel HA, Nagai Y, Fujikake N, Toda T. Delivery of the aggregate inhibitor peptide QBP1 into the mouse brain using PTDs and its therapeutic effect on polyglutamine disease mice. *Neurosci Lett* (in press)

8. 0901231512

Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo SI, Mizuno Y, Toda T, Hattori N. LRRK2 P755L variant in sporadic Parkinson's disease. *J Hum Genet* (in press)

9. 0901231408

Shikishima C, Hiraishi K, Yamagata S, Sugimoto Y, Takemura R, Ozaki K, Okada M, Toda T, Ando J. Is g an entity? A Japanese twin study using syllogisms and intelligence tests. *Intelligence* (in press)

10. 0901231407

Kanagawa M, Nishimoto A, Chiyonobu T, Takeda S, Miyagoe-Suzuki Y, Wang F, Fujikake N, Taniguchi M, Lu Z, Tachikawa M, Nagai Y, Tashiro F, Miyazaki J, Tajima Y, Takeda S, Endo T, Kobayashi K, Campbell KP, Toda T. Residual laminin-binding activity and enhanced dystroglycan glycosylation in novel model mice to dystroglycanopathy. *Hum Mol Genet* (in press)

11. 0901231513

Okamoto Y, Nagai Y, Fujikake N, Popiel HA, Yoshioka T, Toda T, Inui T. Surface plasmon resonance characterization of specific binding of polyglutamine aggregate inhibitors to the expanded polyglutamine stretch. *Biochem Biophys Res Commun* (in press)