

＜シンポジウム 13—4＞次世代シーケンサーによる神経疾患の解明

孤発性疾患の研究—パーキンソン病—

三井 純

(臨床神経 2011;51:973-974)

Key words : 次世代シーケンサー, パーキンソン病, ありふれた疾患・まれで多様な変異仮説

次世代シーケンサーの登場によって、メンデル遺伝性疾患は小家系で連鎖領域が広い範囲であっても原因変異の候補の絞り込みが効率的におこなえるようになった結果、原因遺伝子の同定の急速な進展が期待される。非メンデル型形質である孤発性疾患に対しては、これまで主に連鎖不平衡を利用した形質マッピングがもちいられてきた。とくに高密度の一塩基多型のタイピングが高速で可能になった結果、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) が広くおこなわれるようになった。日本人パーキンソン病 (PD) の GWAS の結果、遺伝性 PD の原因遺伝子である *SNCA*, *LRRK2* の領域が陽性となり、また *PARK16*, *BST1* といった従来知られていなかった疾患感受性領域が同定されたことは記憶に新しい¹⁾。

GWAS によってみいだされる、疾患感受性遺伝子の多くは、オッズ比が 2.0 以下と、疾患に対する影響度が小さいものが多い。GWAS は、一般集団において、頻度の高い多型マーカー (5% 以上のものがもちいられることが多い) をもちいておこなわれる。このような考えは、common disease-common variants 仮説と呼ばれる。一方で、これまでの臨床遺伝学的な検討から、パーキンソン病では λ_s が 6.7 と高いことが知られており、このような遺伝的寄与の大きい要因が GWAS で検出できないことが、“missing heritability”として注目されている。

この“missing heritability”に関する興味深い発見が、PD において、近年同定されたゴーシェ病の原因遺伝子 *GBA* の変異である²⁾。われわれは神戸大学戸田教授の研究チームとともに、*GBA* のエクソンの全塩基配列を解析して関連を検討した。合計 27 種類もの多様な変異が同定されたが、ゴーシェ病の原因となることが報告されている変異 (以下、病原性変異) に着目した結果、PD 患者 534 人中 50 人 (9.4%)、対照者 544 人中 2 人 (0.37%) に病原性変異をヘテロ接合性にとり、オッズ比 28.0 倍、 p 値 6.9×10^{-14} という強い関連を示した。また、病原性変異キャリアは非キャリアとくらべて発症年齢が若年化する、認知障害の頻度が高いといった臨床的特徴がみられる。さらに、家族歴をもつ PD 患者の発端者においても 14.7% と高頻度に病原性変異キャリアをとり、家系内共分離が確認できる 5 家系において、全例で共分離を確認した。*GBA* 病原性変異の持つ強い遺伝的影響度を考慮すると、孤発性 PD のみならず、家族内集積性の一部に関与していると考

えられる。

このように *GBA* は非常に強い関連を示す PD の感受性遺伝子であるが、対照者におけるアレル頻度がきわめて低く、変異が多様であるため、先に紹介した日本人の報告をふくめ、世界中でおこなわれた GWAS で *GBA* が検出されていないことは注目に値する。これは、多因子による孤発性疾患の遺伝因子を解明し、その病態機序を明らかにするには、GWAS だけでは不十分であり、multiple rare variants の検出には、網羅的なゲノム配列解析を基盤とする新たな方法論の必要性を強く示すものである。次世代シーケンサーが実用化されたことから、このアプローチの実現性が高まっている。

現時点では、疾患と関連する多様な変異を同定するシーケンシングの方法論として、1. ゲノムの全エクソン領域をキャプチャーして関連解析をおこなう (Exome 解析)、2. 特定の候補遺伝子群について関連解析をおこなう。将来的にシーケンスコストがいちじるしく低下すれば、1 のような data-driven なアプローチが現実化するだろうが、現時点ではコストの面で容易ではない。われわれは、次世代シーケンサーをもちいた大規模サンプルの解析手段として、まずサンプルの pooling の有用性を検討した³⁾。エラーを軽減するためのフィルターとして、サイクル数に依存するエラー、リードのストランド・バイアスに反映される配列に依存するエラーなどを考慮して、サンプルの pooling については、5~10 程度が可能と結論した。これを踏まえて、サンプルの pooling について 8×8 のマトリックスを作成し、各行・各列について pooling をおこない、整数計画法によって変異を推定する方法について検討し、大規模サンプルからまれな変異を抽出するための効率的な方法であることを示した。

文 献

- 1) Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1303-1307.
- 2) Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:571-576.
- 3) Mitsui J, Fukuda Y, Azuma K, et al. Multiplexed rese-

quencing analysis to identify rare variants in pooled DNA with barcode indexing using next-generation sequencer.

J Hum Genet 2010;55:448-455.

Abstract

Genetics of sporadic disease: insights from high-throughput sequencing—Parkinson disease—

Jun Mitsui, M.D.

Department of Neurology, The University of Tokyo

To identify susceptibility genes that account for the heritability seen for complex traits, genome-wide association studies (GWAS) employing common single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been conducted. The theoretical framework for GWAS is the 'common disease-common variant hypothesis'. Although GWAS have successfully revealed numerous susceptibility genes for common diseases, they generally account for only a small proportion of estimated heritability. In contrast, the prominent role of rare variants in neurodegenerative disease is best highlighted by the recent discovery of the glucocerebrosidase gene (GBA) as a robust genetic risk factor for Parkinson disease. Emerging new technology of next-generation sequencer will be a promising tool which enables an efficient search for remaining disease-relevant alleles.

(Clin Neurol 2011;51:973-974)

Key words: Next-generation sequencer, Parkinson disease, Common disease-multiple rare variant hypothesis
