

＜シンポジウム (4)-12-1＞孤発性疾患における遺伝子異常の探索法

オーバービュー

辻 省次¹⁾

要旨：孤発性疾患は頻度の点では、遺伝性疾患よりも圧倒的に頻度が高いことから、その発症機構の解明、治療法の開発は強く望まれるところである。頻度の高い孤発性疾患の発症に関しては、遺伝的要因と環境要因などが絡み合って発症するのではないかと推定されているが、遺伝的要因をいかに探索するか、という点が大きな課題になっている。これまでの臨床遺伝学的な研究からは、孤発性疾患であっても遺伝的要因が強く関与することが示されている。このような遺伝的要因としては、遺伝子上に存在して当該遺伝子の機能に変化を与えるような変異が想定されるが、その他にも、コピー数変異などの構造変異、さらにはエピゲノムの関与なども想定することもできる。

(臨床神経 2013;53:1330-1332)

Key words：孤発性神経疾患

孤発性疾患は頻度の点では、遺伝性疾患よりも圧倒的に頻度が高いことから、その発症機構を解明し、解明された発症機構に介入する、より効果的な治療法の開発が強く望まれるところである。遺伝性疾患については、1980年代にDNA多型マーカーが開発され、家系の発症者、非発症者についてDNA疾患多型マーカーをもちいた解析に基づき、疾患の遺伝子座を決定する連鎖解析が可能になった。連鎖解析によって決定された候補遺伝子領域の中に存在する遺伝子を網羅的に解析することにより、発症者に特異的に存在する変異をみだし、病因遺伝子を同定するという、ポジショナルクローニングと呼ばれるアプローチ¹⁾がめざましい成果を収め、数多くの疾患の病因遺伝子が発見されてきている。

一方、頻度の高い孤発性疾患の発症に関しては、遺伝的要因と環境要因などが絡み合って発症するのではないかと推定されているが、遺伝的要因をいかに探索するか、という点が大きな課題になっている。これまでの臨床遺伝学的な研究からは、孤発性疾患であっても遺伝的要因が強く関与することが示されている。このような遺伝的要因としては、遺伝子上に存在して当該遺伝子の機能に変化を与えるような変異が想定されるが、その他にも、コピー数変異などの構造変異を想定することもできる。

孤発性疾患の発症に関与する遺伝子（疾患感受性遺伝子）のゲノム上の位置を探索する方法として、ゲノム上の各領域を代表するような頻度の高い1塩基多型を目印にして、ゲノム全域を解析して、疾患発症に関連する領域を探索する方法が、ゲノムゲノムワイド関連解析（genome-wide association study; GWAS）と呼ばれる。GWAS研究は一定の成果を収めたが、みいだされる疾患感受性遺伝子のオッズ比はほとんどのばあい2以下であり、疾患発症に対する影響度は小さく、

疾患の病因・病態の全貌を解明するにはいたっていない。このように、強い遺伝学的な要因が関与していると想定されるにもかかわらず、それを見いだせないというジレンマが、“missing heritability”として注目されている²⁾。

最近の研究では、影響度の強い遺伝的要因は、一般集団の中で、低頻度のものが多いことがみいだされ始めている^{3)~5)}。また、このような低頻度アレルは、人類の爆発的な人口増加にともなって生じたものが多く、ethnicity-specificな多様性が多いことがみいだされてきている⁶⁾。近年になり、次世代シーケンサーと呼ばれる高速シーケンサーが実用化され、全ゲノム配列解析や全エクソンの配列解析が可能になった。その結果、このような、低頻度アレルで、疾患発症に対する影響度の大きい遺伝的要因の探索がはじめて可能になった。すなわち、“common disease-common variants hypothesis”から、“common disease-multiple rare variants hypothesis”へのパラダイムシフトが生じているのである⁷⁾⁸⁾。1人全ゲノムをしらべると、SNV（single nucleotide variation）だけでも、300万個以上存在する。このような膨大な数のvariantsから、疾患発症に関連するvariantsをみいだすためには、遺伝統計学、ゲノムインフォマティクスを駆使する必要がある。課題は多いものの、このような大規模ゲノム配列解析に基づき神経疾患の発症機構、病態機序の解明が爆発的に発展すると期待されている。

次世代シーケンサーをもちいた低頻度アレルの解析を効率よくおこなうアプローチとして、多発家系に着目して、次世代シーケンサーによってえられたゲノム配列の中で、複数の発症者が共有しているようなゲノム領域を集中的に解析して、発症者が共有している変異を同定する。そして、その変異の存在する遺伝子を候補遺伝子として、孤発性疾患の発症者

¹⁾ 東京大学医学部附属病院神経内科・ゲノム医学センター〔〒113-8655 東京都文京区本郷7丁目3-1〕
(受付日：2013年6月1日)

について、変異の有無を解析する方法が効率の良い方法として成果を収めている³⁾。

多発家系の解析ではなく、最初から孤発性疾患の発症者と健常コントロールの大規模の集団について、次世代シーケンサーをもちいて全エクソン配列解析をおこない、発症者において高頻度に見られる変異を探索する exome- 関連解析も今後大きく発展するものと期待される⁷⁾⁸⁾。

次世代シーケンサーは、100~150塩基程度の短い断片の配列を膨大な数解析することができる特徴があるが、ゲノムのある領域が大きく変化するような構造変異の探索は技術的に困難な面がある。このような構造変異については、DNAマイクロアレイをもちいたアレイ CGH (array-comparative genomic hybridization) など、最新の解析手法を駆使して解析する必要がある⁹⁾。

臨床遺伝学の面からは、孤発性疾患の発症の背景に、新生突然変異 (*de novo mutation*) が関与することも想定されている。とくに、小児期発症の重症例などでは、新生突然変異の探索が有効であることが報告されてきている。その他にも、一卵性双生児で、片方のみ発症しているばあいも、発症者の側に新生突然変異が生じた可能性が考慮され、表現型不一致の一卵性双生児について、次世代シーケンサーを駆使して全ゲノム配列解析をおこない、新生突然変異を探索するアプローチもおこなわれている。

上記で紹介した変異の探索方法は、生殖細胞系列上に存在する変異をみいだそうとするアプローチであるが、その他にも、エピゲノムと呼ばれ、環境要因の影響などにより、DNA配列上のメチル化やクロマチンを構成するヒストンタンパクの修飾などによって、遺伝子発現制御に変化をきたし、それが疾患発症に関連するのではないかとすることも考えられている。

以上のように、孤発性疾患の発症機構としては、さまざまな可能性が考えられており、どのようなアプローチが有効であるかについては、今後の研究の発展を見守る必要がある。いずれの機構を想定するにせよ、解析手法としては、次世代

シーケンサーや DNA マイクロアレイなど、最先端のゲノム解析手法を駆使する必要があり、そこからえられるデータも膨大なものとなる事から、インフォマティクスが果たす役割も今後ますます大きくなるものと考えられる。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文 献

- 1) Collins FS. Positional cloning: let's not call it reverse anymore. *Nat Genet* 1992;1:3-6.
- 2) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009;461:747-753.
- 3) Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, et al. Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N Engl J Med* 2013;369:233-244.
- 4) Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651-1661.
- 5) Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:571-576.
- 6) Fu W, O'Connor TD, Jun G, et al. Analysis of 6,515 exomes reveals the recent origin of most human protein-coding variants. *Nature* 2013;493:216-220.
- 7) Tsuji S. The neurogenomics view of neurological diseases. *JAMA Neurol* 2013;70:689-694.
- 8) Tsuji S. Genetics of neurodegenerative diseases: insights from high-throughput resequencing. *Hum Mol Genet* 2010;19:R65-70.
- 9) Sasaki H, Emi M, Iijima H, et al. Copy number loss of (src homology 2 domain containing)-transforming protein 2 (SHC2) gene: discordant loss in monozygotic twins and frequent loss in patients with multiple system atrophy. *Mol Brain* 2011;4:24.

Abstract**Overview —exploring molecular basis of sporadic neurologic disorders—**Shoji Tsuji, M.D., Ph.D.¹⁾¹⁾Department of Neurology, The University of Tokyo Hospital

During the past three decades, we have witnessed remarkable advances in our understanding of the molecular bases of hereditary neurodegenerative diseases, which have been accomplished by “positional cloning” strategies. The molecular bases of sporadic neurologic disorders, however, largely remain to be elucidated. Genome-wide association studies (GWAS) based on the “common disease-common variants hypothesis” are currently undertaken to elucidate the disease-relevant alleles. Although GWAS have successfully revealed numerous susceptibility genes for neurodegenerative diseases, odds ratios associated with risk alleles are generally low and account for only a small proportion of estimated heritability. In contrast to these observations, involvement of genetic factors with strong effect sizes has been suggested even in sporadic neurodegenerative diseases. Recent studies have revealed that the effect sizes of the disease-relevant alleles that are identified based on comprehensive genome sequencing are substantially larger than those identified by GWAS. These findings strongly argue for the role of the “common disease-multiple rare variants hypothesis” in sporadic neurodegenerative diseases. Given the rapidly improving technologies of next generation sequencing (NGS), we expect that NGS will eventually enable us to identify all the variants relevant to the molecular bases of neurologic disorders.

(Clin Neurol 2013;53:1330-1332)

Key words: sporadic neurologic diseases
