

＜シンポジウム (4)-12-3＞孤発性疾患における遺伝子異常の探索法

Exome 解析による孤発性疾患の疾患関連遺伝子の探索

三井 純¹⁾

要旨：ゲノムワイド関連解析により孤発性疾患の多くの疾患感受性遺伝子が同定されたが、同定された遺伝子の影響度は一般的に低く、家族内集積性の多くが説明できていない。最近のシーケンシング技術の進歩によって、これまで未解明だった低頻度で影響度の大きい遺伝子探索が可能になるかもしれない。しかし膨大な変異の中から疾患と関連する変異を検出することは統計学的に困難な課題である。われわれは最近、家系例を手掛かりに孤発性患者においても強い影響度を持っている遺伝子をパーキンソン病と多系統萎縮症において明らかにした。家族内集積性に注目することは、影響度の強い遺伝子に対する効率の良いアプローチの一つかもしれない。

(臨床神経 2013;53:1336-1338)

Key words：孤発性疾患，ゲノムワイド関連解析，パーキンソン病，多系統萎縮症，家族内集積性

はじめに

孤発性疾患を単一遺伝子の変異だけでは説明できない発症機構と考え、複数の遺伝因子・環境因子が関与している状態という意味でもちいる。多くの神経変性疾患において、大部分の患者が孤発性であるが、家族内集積性がみられることはよく知られている¹⁾。この家族性発症の一部がメンデル遺伝形式で説明できる単一遺伝子性であるが、孤発性疾患患者が発症するメカニズムについては不明な点が多い。

パーキンソン病の遺伝因子

パーキンソン病 (PD) 患者の家族集積性の調査によると、罹患同胞相対危険率は4~5倍と推定されている²⁾。従来、孤発性患者の遺伝因子研究は多型をマーカーにもちいたゲノムワイド関連解析 (GWAS) おこなわれてきた。新たな発見も多かったが、孤発性疾患の遺伝因子の大部分が解明できるのではないかと期待には届かず、まだ解明されていない遺伝因子が残されている。PD を例にとると、GWAS で検出されている疾患感受性変異の個々のオッズ比は高々1.5~2.0倍程度であり、家族内集積性の高さが十分に説明できていない³⁾。GWAS は、比較的少数の創始者に由来する疾患感受性アレルが患者群に広く分布するという構造をもつ集団に対しては強い検出力を持つが、多数の独立した疾患感受性アレルが個々にはまれに患者群に分布するという集団の構造に対しては検出が困難になる。このような例として、最近発見されたグルコセブレロシダーゼ遺伝子 (GBA 遺伝子) を述べる。

GBA 遺伝子は、グルコセブレロシドを加水分解する酵素グルコセブレロシダーゼをコードしており、その変異によっ

て糖脂質が蓄積するゴーシェ病をきたすことが知られている。2004年、ゴーシェ病患者の血縁にPDを発症する複数の家系が報告され注目された⁴⁾。PDを発症したゴーシェ病の血縁者はGBA遺伝子変異のキャリアーであり、変異のキャリアーがPD発症のリスクになる可能性が示唆されたからである。その後、世界中で関連解析がおこなわれ、多くの人群中でGBA遺伝子変異とPDの強い関連が確認されている⁵⁾。日本人を対象にした検討では、11種類もの多様な変異がみられ、総和としてみると患者群の9.4%に変異のキャリアーがみられたのに対して、対照群では0.37%でしかキャリアーがみられておらず、オッズ比28.0倍もの強い関連が示された (Table 1)⁶⁾。注目すべきは、頻度が低く多様な変異が関連していることから、GWASでは検出が難しい点である。このような疾患関連遺伝子に対しては、全ゲノム解析・エクソーム解析など、全変異を網羅的に同定して関連を検定する必要がある。

多系統萎縮症の遺伝因子

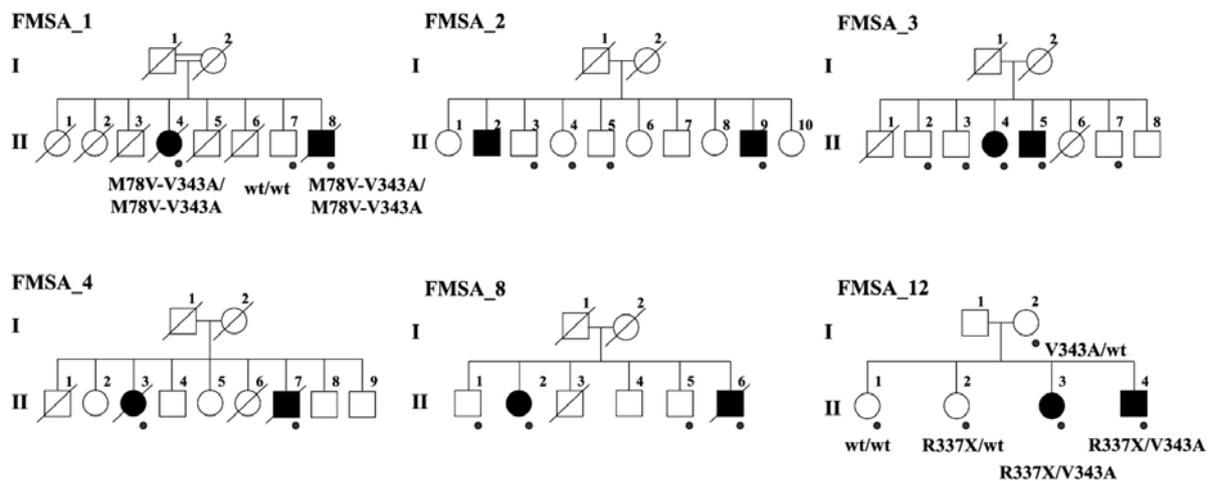
多系統萎縮症 (MSA) は難治性で原因不明の神経変性疾患の一つで、自律神経障害に加えて小脳性失調、パーキンソン症状、錐体路障害などが様々な組み合わせで発症する。多くの神経変性疾患では家族内集積性が知られているが、MSAではまったくといってよいほど家族歴が確認されおらず、発症における遺伝因子の関与がまったくわかっていない疾患であった。転機になったのは2007年、日本から報告された家族性MSA家系の存在である⁷⁾。その後も日本国内から家系が追加され、病理学的に確認された診断確実例も増えるなど、MSAがごくまれに家族性に発症する例があることが知られるようになった。

さて、このような疾患の遺伝因子を探るためにどのような

¹⁾ 東京大学神経内科 [〒113-8655 東京都文京区本郷7丁目3-1]
(受付日：2013年6月1日)

Table 1 パーキンソン病患者・対照群における GBA 遺伝子変異の頻度.

変異	患者群 534 例	対照群 544 例	フィッシャーの検定	オッズ比 (95%信頼区間)
R120W	15	0		
R131C	1	0		
N188S	4	0		
R120W-N188R-V191 G-S196P-F213I	1	0		
G193W	1	0		
F213I	1	0		
R329C	2	0		
L444P	8	0		
L444P-A456P-V460V (RecNclI)	14	2		
A456P-V460V	1	0		
R496C	2	0		
キャリアーの合計 (%)	50 (9.4%)	2 (0.37%)	$p=6.9 \times 10^{-14}$	28.0 (7.3-238.3)



四角：男性，丸：女性，黒塗り：発症者，斜線：死去，小さな黒丸：DNA 解析が可能。

Fig. 1 多発家系 2 家系で COQ2 遺伝子変異を同定.

アプローチが有効だろうか。患者のほとんどが孤発性であり、家族内集積性がきわめて乏しいことを考慮すると、強い影響度を持ち、頻度が比較的高い遺伝因子が背景にある可能性は低い。患者・対照関連解析による遺伝因子の探索には膨大なサンプルサイズが必要であることが予想される。一方、きわめてまれであっても家族性発症の原因遺伝子がわかれば、孤発性患者の遺伝因子について効率よくアプローチすることが可能になるかもしれない。そこでわれわれは、患者・対照関連解析と並行して、家系を対象に連鎖解析をおこなって原因遺伝子を探索している。家族性発症の家系はすべて同胞発症であり、上の世代では発症者がみられないこと、両親がいとこ婚の家系があることから、常染色体劣性遺伝形式が考えやすい。まず 6 家系を対象に常染色体劣性遺伝性で単一の遺伝子座を仮定してパラメトリック連鎖解析をおこなった

ところ、仮定に合致する遺伝子座はみつからなかった。一方、遺伝子座異質性を許容したパラメトリック連鎖解析では、仮定に矛盾しない複数の遺伝子座位が検出され、遺伝子座異質性が存在することが示唆された。とくに両親いとこ婚の家系では、LOD スコアが最大値をとる候補領域が 80 Mb の範囲にまで絞られており、原因変異はホモ接合性であることが予想されるため、原因が同定できる可能性が高いと考えられた。この家系の発症者に対して全ゲノム解析を施行し、健康者にみられない変異に絞ったところ、COQ2 遺伝子のホモ接合性に M78V-V343A 変異が唯一同定された。もう 1 家系でも COQ2 遺伝子に R337X と V343A の複合ヘテロ接合性変異をみると、COQ2 遺伝子が家族性 MSA の原因遺伝子の一つであることがわかった (Fig. 1)⁸⁾。さらに孤発性 MSA に対して COQ2 遺伝子をシーケンスして、患者・対照関連

解析をおこなったところ、COQ2 遺伝子変異のキャリアーが孤発性 MSA で有意に頻度が高く、孤発性 MSA にも影響を持っていることがわかった⁸⁾。

おわりに

PD と MSA の遺伝因子について概説したが、PD でみいだされた遺伝因子である GBA 遺伝子、ならびに MSA でみいだされた遺伝因子である COQ2 遺伝子は、家族内集積性をもつ家系を手掛かりに発見され、孤発性患者においても強い影響度を持っていることが発見された。遺伝因子が発症に強くかかわっていることが想定される例（家族内集積性を持つ家系、若年発症など）を母集団に濃縮して解析することは、影響度の強い遺伝因子に対する効率の良いアプローチの一つかもしれない。

※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) Tsuji S. Genetics of neurodegenerative diseases: insights from high-throughput resequencing. *Hum Mol Genet* 2010;19:R65-70.
- 2) Shino MY, McGuire V, Van Den Eeden SK, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease in a multiethnic community-based case-control study. *Mov Disord* 2010;25:2587-2594.
- 3) Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, et al. Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet* 2011;377:641-649.
- 4) Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, et al. Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet* 2004;41:937-940.
- 5) 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.
- 6) Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:571-576.
- 7) Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, et al. Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol* 2007;64:545-551.
- 8) 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.

Abstract

Toward identification of susceptible genes for sporadic neurodegenerative disease

Jun Mitsui, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurology, The University of Tokyo

Over the past decade, genome-wide association studies (GWASs) using common polymorphisms have been conducted to identify genetic risks associated with sporadic diseases. Although GWASs have successfully revealed numerous susceptibility genes for neurodegenerative diseases, the odds ratios associated with these risk alleles are generally low and account for only a small proportion of estimated familial clustering. Emerging new technologies for nucleotide sequencing such as exome sequencing has provided an exhaustive list of variants, which will eventually enable us to explore the role of low-frequency variants of large effect sizes in sporadic neurodegenerative diseases. However, it is still a statistical challenge to determine which variants are relevant to diseases among the numerous candidates, and large sample sizes will be required. Using the clues provided by rare familial cases, we have recently identified strong genetic factors in Parkinson diseases and in multiple system atrophy based on the candidate gene approach. Focusing on the familial aggregation may be an efficient approach to identifying risk alleles of large effect sizes in apparently sporadic neurodegenerative diseases.

(*Clin Neurol* 2013;53:1336-1338)

Key words: sporadic disease, genome-wide association study, parkinson disease, multiple system atrophy, familial aggregation