

パーキンソン病遺伝子の同定と個別化医療の開発



神戸大学大学院医学研究科神経内科分子脳科学 学術研究員 佐竹 渉

パーキンソン病は、人生の中～晩年期に、振るえや筋肉の固縮、無動、姿勢反射障害などの運動障害症状を中心として、自律神経障害、認知症などをともなって発症する、神経難病である。パーキンソン病症例の90-95%は孤発性発症であるが、5-10%は家族歴がある（その一部はメンデル遺伝性）。パーキンソン病多発家系の連鎖解析などから少なくとも6つのメンデル遺伝性パーキンソン病原因遺伝子が明らかにされ、ミトコンドリア障害、酸化ストレス障害の病態への関与に加え、新たにユビキチン・プロテアソーム系の機能低下、つまり蛋白分解異常からドパミン細胞死に至る経路の重要性が示されている。

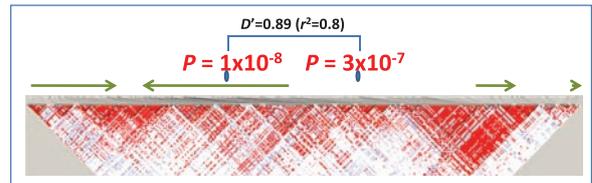
一方で、21世紀のゲノム科学の進展にともなって、孤発性に発症する多因子疾患の疾患リスク遺伝子の探索が実現可能となった。多因子疾患とは、ゲノム上のたった1つの変異で発症するいわゆる遺伝病とは異なり、ゲノムの多数の変化が積みかさなることにより発症する疾患である。パーキンソン病においても、患者の大多数を占める孤発性パーキンソン病は多因子疾患であると考えられ、孤発性パーキンソン病の疾患リスク遺伝子の発見を目指した研究が行われている。我々は孤発性パーキンソン病の大規模なゲノムワイド関連解析（GWAS）を行い、パーキンソン病を引き起こす、4つの遺伝子リスクを同定、世界に先駆けて報告してきた（Satake et al, Nature genetics 2009）。そこで、本研究では、この研究をさらに発展させ、さらなる孤発性パーキンソン病リスク遺伝子を同定するため、<A>第2期ゲノムワイド関連解析をおこなう、と同時に、家族性パーキンソン病遺伝子を同定するため、近親婚家系のパーキンソン病患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピングをおこない、パーキンソン病を引き起こす遺伝子の多型や変異を、さらに明らかにしようとした。

<A> 孤発性パーキンソン病リスク遺伝子発見のための、第2期ゲノムワイド関連解析

先述のゲノムワイド関連解析（Satake et al, Nature genetics）では、パーキンソン病の新たな発症メカニズムを提示する発見をすることができたものの、一方で、国際競争に勝つため速報性を重視したため、再現実験の対象とした一塩基多型（SNP）数が全く不十分（わずか337個）であり、未だ、ゲノムスクリーニングとして完成していない。よって、本研究で、自験のゲノムワイドな55万個のSNPデータから、患者・対照間でアレル頻度に差があり、パーキンソン病リスク遺伝子として有望とかがえられる上位9,000個のSNPについて、新たなパーキンソン病1,100人の患者ゲノムでの関連解析を追加しておこない、さらなる孤発性パーキンソン病遺伝子の同定をおこなった。中間解析ではあるが、白人のゲノムワイド関連解析で孤発性パーキンソン病のリスク遺伝子と報告された（Lancet 2011）、ロイシン代謝に関わるMCCC1（Methylcrotonyl CoA carboxylase）に、アジア人で初めて強い疾患関連を検出し（trend検定のP値 = 1×10^{-7} ）、MCCC1が、アジア・白人共通の孤発性パーキンソン病リスク遺伝子であることをしめした。さらに、ゲノムワイド有意水準を突破するまったく新規の孤発性パ

ーキンソン病遺伝子を発見することができた（図1、trend検定のP値 = 1×10^{-8} ）。さらに、このタンパクの抗体による患者黒質パラフィン標本の免疫組織染色により、このタンパクは、パーキンソン病の病理学的hallmarkであるLewy小体に局在することをあきらかにし、患者のゲノム・脳病理の両面から、この遺伝子が、新規の孤発性パーキンソン病遺伝子であることをしめすことができた。

図1 第2期ゲノムワイド関連解析（中間解析）で発見された新規のパーキンソン病リスク遺伝子座



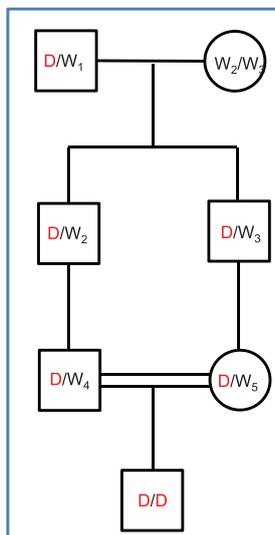
中間解析ですでに統計的にゲノムワイド有意水準を突破しており、新規の孤発性パーキンソン病リスク遺伝子座を発見することができた。

 家族性パーキンソン病遺伝子を同定するための、近親婚家系のパーキンソン病患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピング

パーキンソン病症例の5-10%は家族歴をもつ。こういった方々の一部は、たったひとつの塩基の変異によって疾患を発症する遺伝性疾患、つまり、家族性パーキンソン病、であると考えられる。そこで、本研究では、家族性パーキンソン病遺伝子が発見するため、血族婚のパーキンソン病患者ゲノムをもちいたホモ接合性マッピングをおこなった。

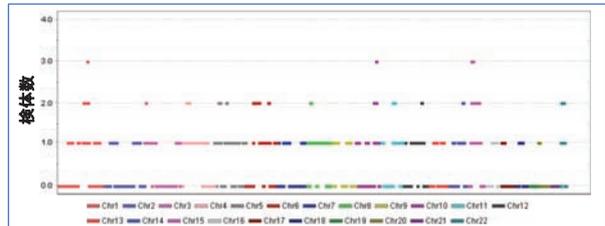
両親が近親婚（たとえば、いとこ婚）の患者では、全ゲノムの1/16がホモ接合となっており（つまり、たった1症例で、原因遺伝子の位置を全ゲノムの1/16にまで絞り込める）、この領域に、常染色体劣性遺伝性の疾患遺伝子変異が存在していると考えられ、常染色体劣性遺伝性の疾患遺伝子の同定に効果的である（図2）。そこで、本研究では、近親婚家系のパーキンソン病患者10人のゲノムに対して一塩基多型（SNP）アレイでゲノム全体をSNP型判定し、高品質で多型性の高い260,915 SNPのSNP型データを得た。そして、このデータを用いて、8メガ塩基以上連続するホモ接合の領域を抽出し、複数検体で共通してホモ接合である遺伝子座を同定した（図3）。これら領域は、常染色体劣性パーキンソン病遺伝子座の有望な候補であり、今後次世代シーケンサーをもちいた疾患変異同定へすすめていく。

図2 血族婚患者ゲノムを用いたホモ接合性マッピング



血族婚でみられる劣性遺伝病患者では、疾患遺伝子領域は共通祖先から由来しており、ホモ接合性になっている。

図3 近親婚パーキンソン病患者のホモ接合性マッピング



両親が近親婚であるパーキンソン病患者10名のゲノムに於いて、ゲノムワイドに分布する260,915個の一塩基多型を用いて、各検体で8メガ塩基以上つづくホモ接合のつながりを検出した。横軸が染色体上の物理位置、縦軸がその領域においてホモ接合のつながりが検出された検体数、ひとつの点は一塩基多型を示す。染色体1、10、15において、3検体で重複してホモ接合性を示す領域が観察された。複数検体でホモ接合性が検出された領域は、有望な常染色体劣性パーキンソン病遺伝子座の候補と考えられる。