

大規模ゲノム-RNA 解析による網羅的な老年病原因、感受性分子の同定と解析 (29-45)

主任研究者 尾崎浩一 国立長寿医療研究センター 臨床ゲノム解析推進部 (部長)

研究要旨

3年間全体について

老年病の中でも認知症の患者数は全世界で増加の一途をたどっており、本邦においてもその患者数は500万人(2013年、厚生労働省研究班推計)に達する勢いである。大部分の認知症は、糖尿病や虚血性心疾患と同様に生活習慣病と捉えることができ、環境因子と遺伝因子が複雑に絡み合っただって発症すると考えられるが、これまでの双子疫学研究による認知症、特に孤発性アルツハイマー病(AD)の発症に与える遺伝因子の割合は58%~79%であることが証明されており、その大部分を遺伝因子が占めていることが明らかとなっている。したがって、この遺伝因子群を同定し、その役割を精査することから疾患の分子メカニズムが解明でき、エビデンスに基づく予防法や治療法の開発に大きく貢献できると考えられる。

2019年度について

国立長寿医療研究センター(NCGG)バイオバンク等の試料(血液や組織より得られたDNA、RNA)を活用した日本人およびアジア人の全ゲノム配列を基に作製されたジャポニカアレイおよびイルミナ社のアジアスクリーニングアレイ(日本人2500人を含むアジア人9500人の全ゲノム配列を基に作製されたジェノタイプングアレイ)による20,000人規模のゲノムワイド関連解析(GWAS)データと次世代シーケンサーによる全エクソームデータ(約750例を解析済み)および全RNA配列(RNA-seq;最終的には1,000検体を目標としデータを産出)データ(スプライスバリエーションも含めた全RNAの正確な発現情報、バリエーション情報、ハプロタイプフェージング等)を遺伝統計学的に統合、解析することによって認知症等の老年病の原因、感受性分子を網羅的に探索し、ポリジェニックリスクスコア等の算出や機械学習等による疾患の予知、診断法の開発、網羅的な疾患パスウェイの同定、解析から効果的なドラックリポジショニング、新規創薬ターゲットを選出しエビデンスに基づく新規診断法、治療薬の開発に応用する。

主任研究者

尾崎 浩一 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部（部長）

分担研究者

新飯田俊平 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
（センター長）

重水 大智 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

秋山真太郎 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

浅海 裕也 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

森 大気 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

光森 理紗 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
臨床ゲノム解析推進部

伊藤 薫 理化学研究所 循環器疾患研究チーム（チームリーダー）

研究期間 平成 29 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日

A. 研究目的

国立長寿医療研究センター（NCGG）バイオバンク等の試料（血液や組織より得られた DNA、RNA）を活用した日本人およびアジア人の全ゲノム配列を基に作製されたジャポニカアレイおよびイルミナ社のアジアスクリーニングアレイ（日本人 2500 人を含むアジア人 9500 人の全ゲノム配列を基に作製されたジェノタイプングアレイ）による 20,000 人規模のゲノムワイド関連解析（GWAS）データと次世代シーケンサーによる全エクソームデータ（約 750 例を解析済み）および全 RNA 配列（RNA-seq；最終的には 1,000 検体を目標としデータを産出）データ（スプライスバリエーションも含めた全 RNA の正確な発現情報、バリエーション情報、ハプロタイプフェージング等）を遺伝統計学的に統合、解析することによって認知症等の老年病の原因、感受性分子を網羅的に探索し、ポリジェニックリスクスコア等の算出や機械学習等による疾患の予知、診断法の開発、網羅的な疾患パスウェイの同定、解析から効果的なドラッグリポジショニング、新規創薬ターゲットを選出しエビデンスに基づく新規診断法、治療薬の開発に応用する。

B. 研究方法

3年間全体について

当初は日本人に特化した全ゲノムジェノタイピングアレイであるジャポニカアレイ（株式会社東芝）による一塩基多型（SNP）ジェノタイピングを進めた。7,132例のDNAについてジェノタイピングを完了し、東北メガバンク機構にて日本人3,500人の全ゲノム配列を基に作製されたインピュテーションパネルを用いたインピュテーション解析を施行した。試験的なADを対象としたGWAS（AD 2,391例 vs CO 3,346例）の統計解析はplinkソフトウェアにより施行した。*APOE*ジェノタイプについては、1000ゲノムデータ（<http://www.internationalgenome.org/>）よりアフリカ人、アメリカ人、ヨーロッパ人、東アジア人（日本人を除く）、日本人rs429358、rs7412 SNP多型を取得し、それぞれのε4アレル頻度について、NCGGデータと比較した。イルミナ社アジアスクリーニングアレイを用いたジェノタイピングは200ngのDNAを用いて全ゲノム増幅を行い、断片化DNAをアレイにハイブリダイズした。iScanを用いて傾向を測定し、イルミナ社GenomeStudioソフトウェアを用いてクラスタリングを行った。理化学研究所との共同研究において、7,000人の日本人ゲノム配列を基にして構築されたインピュテーションリファレンスパネルおよび1000ゲノムデータ（www.internationalgenome.org/）をリファレンスとしたインピュテーション法による疑似全ゲノム配列を取得し、統計学的な解析によりクオリティフィルターを通してデータをクリーンアップし、年齢、性別、主成分を共変数としたロジステック回帰分析によるゲノムワイド関連解析（GWAS）を施行した。一方で同一検体について、バフィーコートよりRNAを抽出し、RNAのクオリティを確保できた検体について全RNAライブラリを構築した。全RNA配列決定は（株）ジーンウィズ社に外注した。RNA発現量との発現quantitative traits loci (eQTL)解析はplinkソフトウェアにより行った。全エクソーム解析は202例の*APOE* ε4 ADリスクアレルを持たないAD患者由来DNAについてHiseq2500（イルミナ社）を用いて配列決定をおこなった。マイナーアレル頻度による絞り込みおよび各種データベースおよび176例の認知機能正常サンプルにおけるエクソームデータとの比較、およびCADD ; Combined Annotation Dependent Depletion = 変異の有害性の検定法による絞り込みを経て、選別したバリエントについて大規模サンプルを用いたケース・コントロール関連解析を施行した。エクソーム解析により同定したバリエントの機能解析として、正常、バリエントタンパクでの細胞内局在の違いはHEK293細胞にmyc tag配列を付加した正常及びバリエントタンパクを強制発現し、myc tag抗体を用いた免疫染色により蛍光顕微鏡を用いて行った。また、炎症の中心的なメディエーターであるNuclear factor kappa B (NFκB)の活性に与えるバリエントの影響については、安定的にルシフェラーゼ遺伝子を発現するHEK293細胞を構築し、この細胞に正常およびバリエントタンパクを強制発現することにより行った。

2019年度について

2019年度においては国立長寿医療研究センター・メディカルゲノムセンター・バイオバンク（NCGGバイオバンク）によりリクルートされた認知症及びコントロールサンプル、さらにバイオバンクジャパンより入手した820例の認知症サンプル、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所より入手した1499例のコントロールサンプルを加えた15,759例のジェノタイピング解析を行った。これらはillumina社のアジアスクリーニングアレイとiScan（illumina社）によるジェノタイピングを施行し、理化学研究所にて構築された日本人約7,000人の全ゲノム配列を基に作製されたインピュテーションパネルを用いたインピュテーション解析を施行した。イルミナ社アジアスクリーニングアレイを用いたジェノタイピングは200ngのDNAを用いて全ゲノム増幅を行い、断片化DNAをアレイにハイブリダイズした。iScanを用いて蛍光を測定し、イルミナ社GenomeStudioソフトウェアを用いてクラスタリングを行った。ジャポニカアレイを用いたジェノタイピングデータを利用してアルツハイマー病のゲノムワイド関連解析（GWAS）をアルツハイマー病 2,974例、コントロール3,096例および既報の日本人GWASデータ（978 cases、988コントロール、Miyashita A et al. PLOS ONE 2011）を用いて施行した。全RNA解析についてはNCGGバイオバンクのバフィーコートより高純度のRNAを抽出し、全RNA配列解析用ライブラリ作製キット（TruSeq Stranded Total RNA Sample Preparation Kit；イルミナ社）を用いて、高精度のRNAライブラリを構築した。全RNA配列解析については外注（ジーンウィズ株式会社、タカラバイオ株式会社）にてデータを得た。全エクソーム解析は202例のAPOEε4 ADリスクアレルを持たないAD患者由来DNAについてHiseq2500（イルミナ社）を用いて配列決定をおこなった。エクソーム解析により同定したSHARPINバリアントの機能解析として、正常、バリアントタンパクでの細胞内局在の違いはHEK293細胞にmyc tag配列を付加した正常及びバリアントタンパクを強制発現し、myc tag抗体を用いた免疫染色により蛍光顕微鏡を用いて行った。また、炎症の中心的なメディエーターであるNuclear factor kappa B (NFκB)の活性に与えるバリアントの影響については、安定的にルシフェラーゼ遺伝子を発現するHEK293細胞を構築し、この細胞に正常およびバリアントタンパクを強制発現することにより行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター倫理・利益相反委員会の承認を得て施行されている。すべての検体において書面による同意を取得していると共に、研究対象者個人の尊厳と人権の尊重、個人情報の保護等について倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行している。研究参加者のプライバシーを尊重し、結果については秘密を厳守し、研究の結果得られるいかなる情報も研究目的以外に使用されることは行わない。また、ゲノム情報を保存するサーバ等の記憶媒体に個人を特

定できるような情報を一緒に格納していない。国立研究開発法人国立長寿医療研究センターの定める「保有する個人情報の保護に関する規程」に基づき、個人情報保護管理者が厳格に守秘する。また、理化学研究所の分担研究については、RNA 解析方法論の確立についてパブリックデータ、マウスデータを用いた *in silico* 解析を行っているため、倫理面の問題は生じない。

C. 研究結果

3年間全体について

国立長寿医療研究センターバイオバンクが保有する DNA サンプルを用い、日本人に特化したジャポニカアレイによる一塩基多型 (SNP) の全ジェノタイプングデータおよびバフィーコートによる全 RNA 配列データの取得を行った。約 7,100 例 (アルツハイマー病; AD 2,391 例、認知機能正常群; Control 3,346 例、軽度認知障害; MCI 601 例、血管性認知症; VaD 88 例、前頭側頭型認知症; FTD 25 例、レビー小体認知症; DLB 128 例、その他 553 例) の全ゲノムジェノタイプングデータを取得している。ここで得られたジェノタイプデータから、試験的に AD 2,250 例、コントロール 1,848 例を用いて、1000 ゲノムデータ (www.internationalgenome.org/) を用いたインピュテーションを施行し、GWAS を施行したところ、既報通り *APOE* 座位において非常に有意な AD との関連が認められると同時に、集団階層化の指標である λ_{GC} が 1.00 となり、集団の階層化がほとんど存在しないことが示唆された。また、本試験的 GWAS においては新規の GWAS 有意性 ($P = 5 \times 10^{-8}$ 未満) を示す染色体領域は見られなかったが、示唆的な有意性 ($P = 10^{-5}$ 未満) を示す座位が第 3、5、8、10、13、15、18 番染色体などに認められ、これらの中には低頻度かつ東アジア人にしかアレル頻度が認められない SNP も存在していた。また、これまでに全世界から GWAS 等で報告された既存の AD 関連座位の中で、今回の日本人集団でも再検証できた座位としては、8 番染色体の *CLU* 遺伝子、11 番染色体の *PICALM1* と *SORL1*、19 番染色体の *ABCA7* があげられる ($P < 0.005$)。

全 RNA 配列の取得については、約 200 例について高品質な RNA を取得し、全 RNA 配列解析用のライブラリ作製を進めてきた。全 RNA の質の指標である RNA integrity number (*RIN*) は概ね 7.0 以上が得られており、RNA ライブラリの質も良好であった。次世代シーケンサーによる配列決定およびそのクオリティーチェックにおいて問題ないことを確認している。

さらに日本人、アジア人に特化したジャポニカアレイおよびアジアスクリーニングアレイによる一塩基多型 (SNP) の全ジェノタイプングデータおよびバフィーコートによる全 RNA 配列データの取得を行ってきた。ジャポニカアレイにおいては約 7,100 例 (アルツハイマー病; AD 2,391 例、認知機能正常群; Control 3,346 例、軽度認知障害; MCI 601 例、血管性認知症; VaD 88 例、前頭側頭型認知症; FTD 25 例、レビー小体認知症; DLB 128 例、その他 553 例) の全ゲノムジェノタイプングデータを取得している。こ

ここで得られたジェノタイプデータから、試験的にAD 2,357例、コントロール 3,174例を用いて、東北メガバンク機構にて構築された日本人 3,500人の全ゲノム配列を基に作製されたインピュテーションパネルを用いたインピュテーションを施行し、GWASを施行したところ、既報通り *APOE*座位において非常に有意なADとの関連が認められると同時に、集団階層化の指標である λ_{GC} が 1.00 となり、集団の階層化がほとんど存在しないことが示唆された。また、本試験的GWASにおいては新規のGWAS有意性 ($P=5 \times 10^{-8}$ 未満)を示す染色体領域は見られなかったが、示唆的な有意性 ($P=10^{-5}$ 未満)を示す座位群が認められ、これらの中には低頻度かつ東アジア人にしかアレル頻度が認められないSNPも存在していた。また、これまでに全世界からGWAS等で報告された既存のAD関連座位の中で、今回の日本人集団でも再検証できた座位としては、第8番染色体の *CLU* 遺伝子、第11番染色体の *PICALM1* と *SORL1*、19番染色体の *ABCA7* があげられる ($P < 0.005$)。また、*APOE* $\epsilon 4$ アレル頻度について、本 NCGG データ、1000 ゲノムデータを用いて比較検討した。NCGG の AD (NCGG AD) サンプルにおける $\epsilon 4$ 頻度が日本人コントロール JPT (1000 ゲノムデータ、東京在住日本人) および NCGG コントロール (NCGG CO) に比べて有意に高いことが認められるが (NCGG AD と NCGG CO を比較した場合のオッズ比 2.57、95%信頼区間 2.21~2.99)、1000 ゲノムデータより得られた一般アフリカ人の $\epsilon 4$ 頻度がさらに高いことが印象的である (NCGG AD; 22.74%、NCGG CO; 10.26%、アフリカ人; 26.78%)。

全RNA配列の取得については、約600例について高品質なRNAを取得し、全RNA配列解析用のライブラリ作製を進めてきた。全RNAの質の指標であるRNA integrity number (*RIN*) は概ね7.0以上が得られており、RNAライブラリの質も良好であった。次世代シーケンサーによる配列決定およびそのクオリティーチェックを順次進めた。240例の試験的なeQTLおよび発現差異検定の結果いくつかの遺伝子がADに関連する可能性を得ており今後の検証が期待される。また、エクソーム解析からのレアバリエーション解析の結果、アミノ酸の置換を伴う炎症関連分子内のバリエーションがADに強く関連することを同定した (オッズ比 6.1、 $P \sim 10^{-5}$)。 *In vitro* 解析の結果、このバリエーションは炎症に中心的な役割を果たす転写因子である NF κ Bの活性を制御することが判明した。

2019年度までに、認知症を含むDNA検体約15,700例についてアジアスクリーニングアレイによりジェノタイピングを行った。これまでに得たジェノタイピングデータを用いてインピュテーション解析後、クオリティーコントロール解析を施行した。試験的な解析として、日本人計8,036人 (3,962 AD vs 4,074 control、新潟大学から報告されていたAD 989例、コントロール979例による認知症のGWASデータ (Miyashita et al. *PLOS ONE* (2013)を含む)を用いたメタ解析について約485万SNPを用いたAD GWASを進めた。この解析でゲノムワイド有意性を示したローカスは染色体19番長腕の *APOE*座位および第11番染色体長腕 *SORL1*座位であり、既報の *APOE* および *SORL1* ジェノタイプがこの集団においても強いADとの関連を示すことが再確認できた。また、新規座位として東アジア人にしかアレル頻度を

持たない新規疾患候補座位を染色体4番に同定することができている。この4番染色体のバリエーションはオッズ比 1.5と比較的強い疾患に対する影響を示し、遺伝子発現量に影響を与えることが明らかになっている（遺伝子発現Quantitative Trait Loci; eQTL）。またAPOE、SOLR1座位以外の近年欧米諸国のGWASにより同定された既報座位での日本人集団における関連は第8番染色体CLU座位、第11番染色体PICALM座位、第19番染色体ABCA7座位が認められた（ $P < 0.05$ ）。遺伝的因子（ジェノタイプ）と遺伝子発現量（フェノタイプ）の関係について精査し、疾患発症に重要な遺伝子の絞り込み（eQTL）や分子機能を解明することを目的として、末梢血バフィーコート（主に白血球細胞）からのRNA抽出、全RNA配列解析について次世代シーケンサーを用いて進めてきている（1,000例～を目標）。これまでに約900検体について高品質RNAを抽出、全RNA配列解析ライブラリを作成し全配列解析を進めており、610例についてはパイロット的に約22,000種類の遺伝子発現解析および遺伝子発現による12個の免疫系細胞のアルツハイマー病、軽度認知障害、コントロールにおける分類を行った。調べた12種類の免疫系細胞中の好中球においてADで細胞数が統計学的有意に多いことが判明した。また、この結果は検診における大規模データにおいても再現され、好中球の細胞数はコントロールに比べ軽度認知障害（MCI）、ADといった順で多くなることが判明した。一方、GWASでは比較的頻度の高いコモンバリエーションを対象とした解析になるため、頻度の低い（アレル頻度 > 0.005 ）、いわゆるレアバリエーションの同定には向かない。そこで、本研究ではAPOEリスクバリエーションを持たないADサンプルを用いたエクソーム解析からのレアバリエーションの同定を試みた。その結果、SHARPIN遺伝子中にアジア人に特異的なバリエーションを発見し、疾患との強い関連を見出した（オッズ比 6.1、 $P = \sim 10^{-5}$ ）。*In vitro* 解析の結果、このバリエーションを持つタンパクは細胞内で凝集体を形成することおよび炎症に中心的な役割を果たす転写因子であるNFκBの活性に影響を与えことが判明した。

2019年度について

2019年度においても国立長寿医療研究センターバイオバンクが保有するDNAサンプルおよびバフィーコート、さらにバイオバンクジャパン、新潟大学によりリクルートされたサンプルデータを用いた20,000例を目標とした民族特異的一塩基多型（SNP）アレイによるジェノタイピングによるゲノムワイド関連解析（GWAS）、認知症疾患に影響力の強い低頻度バリエーションの効率の良い同定および1,000例を目標としたトランスクリプトーム解析、約910例の全エクソーム解析を進めてきた。これらの解析は当初計画したよりも順調に進んできた。

GWASにおいては現在までに日本人に特化したジャポニカアレイおよびアジアスクリーニングアレイによるSNPの全ゲノムジェノタイピングデータ約15,700例（アルツハイマー病；AD 3,574例、認知機能正常群；Control 10,271例、軽度認知障害；MCI 854例、血管性認知症；VaD 125例、前頭側頭型認知症；FTD 48例、レビー小体認知症；DLB 212例、その他 5487例）のデータを取得している（図1）。ここで得られたジェノタ

イプデータの一部から、東北メディカル・メガバンク 3,500 人の全ゲノムシーケンスデータを用いて構築されたリファレンスパネルを用いたインピュテーション解析を施行し、サンプル、マーカーのクオリティーコントロールフィルター施行後、試験的に認知症疾患として AD 2,921 例、コントロール 3,174 例を用いて、約 640 万個の SNP を用いた認知症に関連した GWAS を施行した。本解析でゲノムワイド有意性 (GWAS 有意性、 $P=5 \times 10^{-8}$ 未満) を得たのは既報の *APOE* 座位のみであったため、さらに研究の検出力を増すためにこれまでに日本人においてすでに新潟大学から報告されていた AD 989 例、コントロール 979 例による認知症の GWAS データ (Miyashita et al. *PLOS ONE* (2013)) を統合解析した (図 2)。そうしたところ、GWAS 有意性を示す座位は *APOE* 座位に加え、既報の染色体 11 番長腕の *SORL1* 座位および第 4 染色体上に新規座位を同定することができている (図 2)。この第 4 染色体上の新規座位は欧米人には存在しないアジア人特異的な AD 関連座位であるところが公的なデータベース上で示唆され、さらに解析を進めることにより、認知症疾患の人種特異性を示す重要な知見が得られるものと考えられる。また、図 3 に示したようにこの座位のバリエーションは遺伝子発現量に影響を与えることが明らかになっている (遺伝子発現 Quantitative Trait Loci; eQTL)。さらに全遺伝子ベースでの GWAS も施行し染色体 9 番短腕および染色体 22 番長腕にも新規座位を同定している。また、さらに解析の検出力を増すために、ここで得られた日本人メタ解析 GWAS データと既報の欧米人の GWAS 結果を異人種間 (トランスエスニック) メタ解析することを進めた。欧米人の AD GWAS サマリー統計値は公的に入手可能な The International Genomics of Alzheimer's Project (IGAP) のウェブページ (http://web.pasteur-lille.fr/en/recherche/u744/igap/igap_download.php) より欧米人の AD 17,008 例およびコントロール 37,154 例で施行された GWAS 統計値データ取得した。本解析において、さらに GWAS 有意性を示す新規座位として染色体 6 番短腕を同定することができている。これらの統合解析においては $P=5 \times 10^{-6}$ 未満の示唆的有意性を示す新規座位群を得ており、異なるバリデーションサンプル数千例による検証解析が進行中である。

上記 GWAS に加えて、日本人孤発性 AD においても低頻度で疾患に与える影響の強いバリエーションが存在する可能性を考え、次世代シーケンサーによる全エクソームシーケンス解析 (WES) による AD 感受性低頻度バリエーションの同定を進めた。公共データベース、in-house コントロールデータ、バリエーションの機能的な関連性、発現分布、遺伝子への集積性と関連解析といった Step-by-step で AD 関連バリエーションを絞り込んだ。最終的に AD 症例約 4,600 例、コントロール約 16,500 サンプルにおける症例・コントロール関連解析を進めたところ、*SHARPIN* 遺伝子上に東アジア人特異的に存在する非同義置換 rs572750141 (NM_030974.3:p.Gly186Arg) が、統計学的に有意で強い影響力を持つ (オッズ比 = 6.1) AD リスク因子であることを発見した (図 5)。さらに、このバリエーションがどのように AD と関連するかを明らかにするため、バリエーション型 SHARPIN タンパク質 (G186R) の機能解析を実施した。SHARPIN は、免疫応答や炎症反応において中心的な役割を果たす NF- κ B

の活性化に重要であることが知られていた。そこで、NF- κ B プロモーターが活性化するとルシフェラーゼを発現するベクターコンストラクトを安定的に発現する培養細胞を作成し、この細胞にバリエーション SHARPIN を導入し発現させたところ、正常型の SHARPIN を導入した場合に比べて NF- κ B の活性が低下した (図 6)。また、正常型 SHARPIN は細胞質に均一に存在するのに対し、バリエーション SHARPIN は細胞内で不均一なサイズの塊を作って存在することが観察された (図 7)。これらのことから、変異型 SHARPIN は細胞内での形状や局在が大きく変わることで、NF- κ B を活性化する機能が低下して発症に関わる可能性が示唆される。今回見出した AD の新規リスク因子は、東アジア人に特有なバリエーションであり、日本人における AD のクリニカルシーケンスなどに貢献すると考えられる。また、この解析から SHARPIN の AD に関連するバリエーションが生理的機能の変化を引き起こすことを初めて明らかにした。近年の AD 研究では、TREM2 バリエーションのように神経系 (ミクログリアなど) における免疫機能の低下が発症に関連することが示唆されており、SHARPIN バリエーションも同様に、免疫機能に影響して LOAD 発症につながる可能性が考えられ、のような免疫系をターゲットとした新規創薬研究も期待できる。

認知症関連サンプルを用いたトランスクリプトーム解析については、これまでに 910 例 (AD 323、MCI 345、Control 242 例) について高品質な RNA を取得、全 RNA 配列解析用のライブラリを作製し、次世代シーケンサーによる配列決定を完了した。これらの配列のリファレンス配列へのマッピング効率は 80% を超えておりクオリティーにおいて問題ないことも確認した。データの一部を用いた早期 AD 診断の予測モデルの構築も進めた。AD 271 例、MCI 248 例、コントロール 91 例の全 RNA-seq データについて、各種血液中免疫細胞の存在割合をバルク細胞群の遺伝子発現データから細胞を分類することができる CIBERSORT (version 1.0.1) ソフトを用いて細胞を分類した。この分類した細胞をさらに AD、MCI およびコントロール間での割合で比較した。その結果、好中球の割合が AD > MCI > コントロールの順に統計学的有意に多いことを発見した。国立長寿医療センターの健診データ (n=3,183、AD 1,624 例、MCI 1,021 例、Control 538 例) においても、AD > MCI > Control の順に好中球が増加していることが確認できた ($p < 0.01$)。この好中球での AD、MCI、コントロール間で発現が異なる遺伝子は 846 個存在し、これらの遺伝子の遺伝子産物パスウェイ解析において AD の病因に深く関係することが示唆される 2 つの鍵分子を含む分子モジュールを同定した。また、これらの分子モジュール内のハブ遺伝子発現および好中球の割合を基にした AD 診断の予測モデルでは、レトロスペクティブな解析においては、バリデーションサンプルセットにおける AUC が 0.878 という高い値で AD の発症予測が可能であった。また、このモデルの 55 例の MCI サンプルを用いた AD へのコンバージョンの予測では AUC 0.727 と高い正確性を示し、今後さらにプロスペクティブな解析を精査することにより実臨床に使用できる可能性が示唆された (論文投稿中)。

D. 考察と結論

現在までに約15,700検体についてアジアスクリーニングアレイ (ASA) およびジャポニカアレイを用いた日本人に特化したジェノタイピングを施行した。このジェノタイピングデータを用いた約7,000例の日本人全ゲノムシーケンス解析により構築した日本人リファレンスパネル (理研) を用いたインピュテーション解析を終了している。このデータについては新潟大学との共同研究による約5,000例のA S Aデータ (アルツハイマー病 (AD) 2,500例、コントロール2,500例) とのメタGWASを施行している。一方で、約7,000例のジェノタイピングデータによる孤発性アルツハイマー病 (LOAD) GWASの結果と既報日本人LOAD GWAS (AD 約1,000例、コントロール 約1,000例; Miyashita A et al. 2011) によるメタ解析を施行した。この解析により新規に示唆的有意性を示すアジア人特異的なバリエーション (オッズ比 = 1.5) を第4番染色体上同定した。さらに欧米人LOAD GWAS (IGAPデータ2019年、AD 22,000 vs コントロール42,000) データとのトランスエスニックメタ解析を施行し、さらなる新規座位および示唆的有意性 ($P < 10^{-6}$ 未満) を示す新規認知症関連候補座位を同定してきた。これらについては異なるサンプル 5,000例を用いた再検証解析を現在進行している。これらの解析によりさらに新たなAD感受性座位が同定できると考えられる。上記GWASに加えて、202例のエクソーム解析より、SHARPIN遺伝子中にLOADに関連する新規の低頻度バリエーションを同定している (オッズ比 6.1、 $P = \sim 10^{-5}$)。この疾患関連低頻度バリエーションをもつタンパクを発現させた細胞では正常タンパクに比較してタンパク凝集体を形成することを確認し、さらに炎症関連NF κ Bの活性を低下させることも見出している。RNA-seqを用いたオミックス解析については、現在までに910例について次世代シーケンサーによる配列決定を完了した。610サンプルのRNA-seqデータを用いた血液細胞の分類より、LOADでは好中球数が有意に上昇していること、また、LOAD、MCI、コントロールでの網羅的発現量差異の検定から、ADに関連した機能的モジュールとハブ遺伝子群を同定しており更なる解析が期待できる。さらにこれらの情報を用いたADリスクの予測モデルの構築を進め、検証コホートでAUC 0.878の正確性を得ている。

上記の様に民族に特化した解析から新たな疾患の原因を解明できる可能性が示唆されている。今後の日本人サンプル数増加による解析や欧米人とのトランスエスニックメタ解析によるさらに大規模な解析を施行することにより疾患の全容解明に繋げることができると考えられる。RNA-seqを用いた全RNA配列解析及びその統合解析においても同様に大規模化することによる真の疾患感受性パスウェイの同定、分子機能の解明へと発展させることができると共に、全ゲノムやエクソームシーケンス解析による疾患に強く寄与するレアバリエーションの同定やこれらの統合解析から認知症の予知診断に有用なポリジェニックリスクスコアの探索、さらにはドラッグリポジショニングを含む創薬へと発展させることが可能になる。

エクソーム解析からはこれまでに同定されていないレアバリエーションを同定し、そのバリエーションが炎症、免疫系の制御に関連している可能性が浮かび上がっている。海外でADと

関連するとして同定された TREM2 遺伝子内のレアバリエントについても同様に脳における炎症、免疫系での制御が AD に関連すると報告されていることから、今回同定した分子の詳細な解析から AD の病態解明の一助になる可能性が大きい。

図 1 ジェノタイプングサンプルの分類

(AD ; アルツハイマー病、MCI ; 軽度認知障害、VaD ; 血管性認知症、FTD ; 前頭側頭型認知症、DLB ; レビー小体型認知、NPH ; 正常圧水頭症)

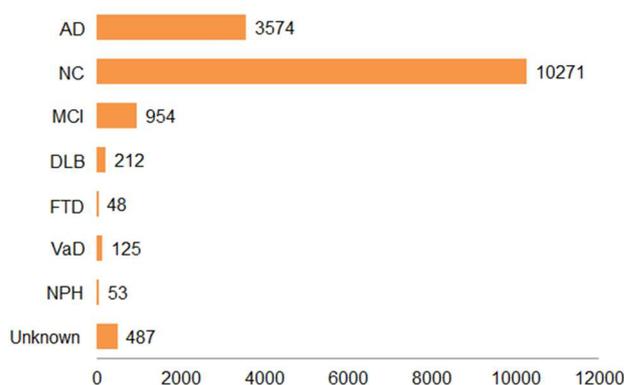


図 2 日本人による GWAS のマンハッタンプロット

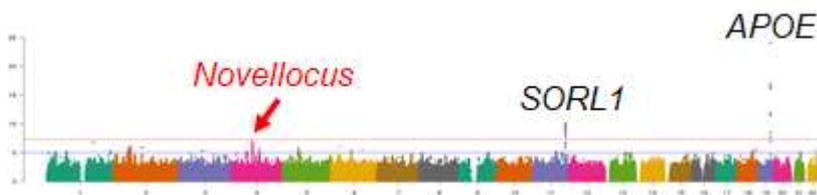


図 3 新規バリエントの機能的特徴

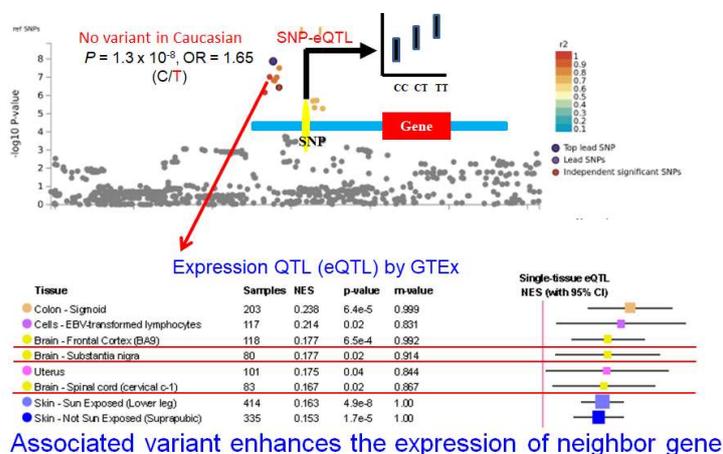


図4 日本人、欧米人のトランスエスニック GWAS におけるマンハッタンプロット

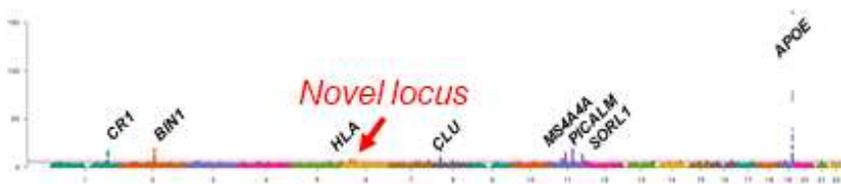


図5 新規AD 関連レアバリアントの同定

dbSNP ID	Chr.	Gene	Phase	Number of samples		Number of variants		MAF		OR	95%CI	P
				Cases	CO	Cases	CO	Cases	CO			
rs572750141	8	SHARPIN	1 st cohort	2383	13973	10	7	0.002	0.0003	8.4	3.2-22.1	2.28×10^{-7}
				2180	2486	1	1	0.0002	0.0002			
			Combined*	4563	16459	11	8	0.001	0.0002	6.1	2.4-15.5	1.15×10^{-5}

ID; identifier, Chr.; chromosome, MAF; minor allele frequency, OR; odds ratio, CI; confidence interval

*; P value was calculated by Mantel-Haenszel test.

図6 正常とバリアントSNARPINタンパクの炎症関連 NFκB 活性

➤ TNF α -induced NF- κ B activation

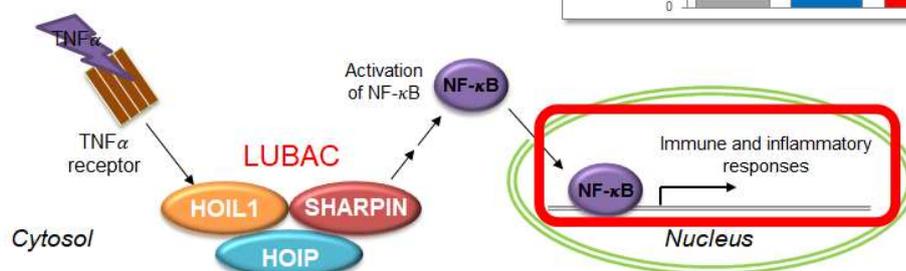
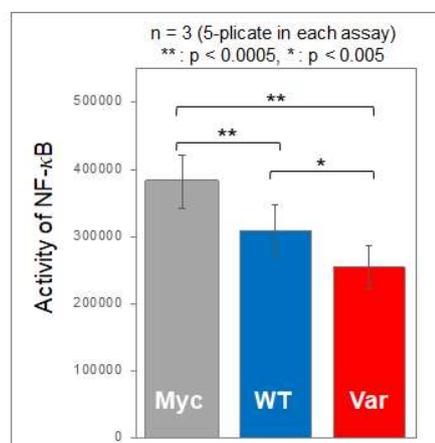
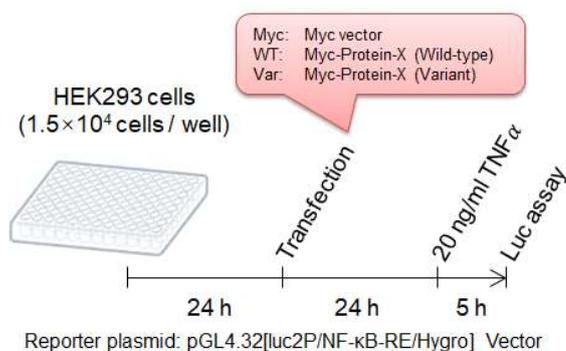
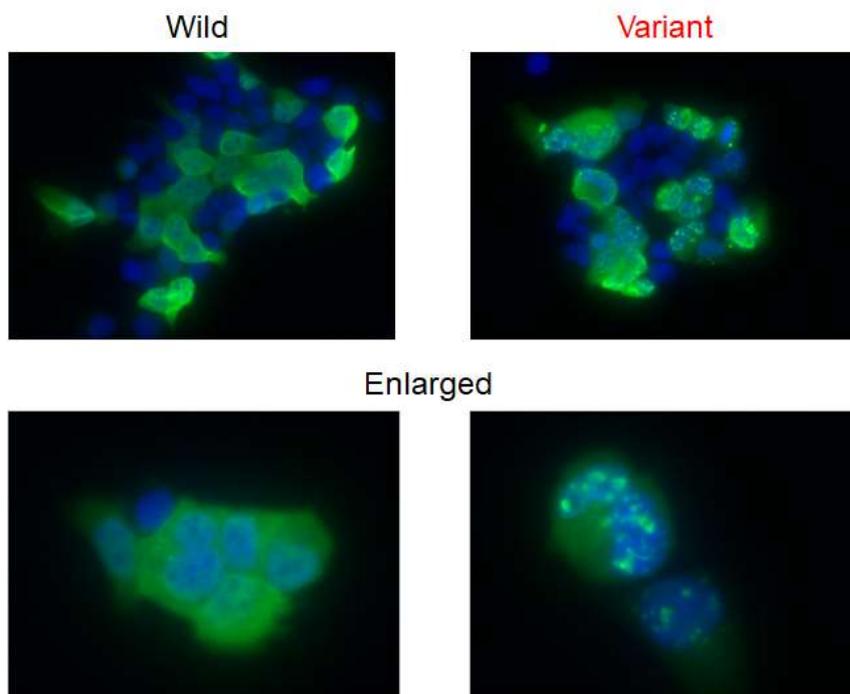


図7 正常とバリエント SNARPIN タンパクの細胞内局在



E. 健康危険情報

平成 29 年度

なし。

平成 30 年度

本研究集団ではAPOE ε4アレルを一つ持つ場合、ADに対するオッズ比は2.57程度となる。

95%信頼区間は2.21~2.99。

2019年度

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

平成 29 年度

- 1) Nagata Y, Hirayama A, Ikeda S, Shirahata A, Shoji F, Maruyama M, Kayano M, Bundo M, Hattori K, Yoshida S, Goto Y, Urakami K, Soga T, Ozaki K and Niida S. Comparative analysis of cerebrospinal fluid metabolites in Alzheimer's disease and idiopathic normal pressure hydrocephalus in a Japanese cohort. *Biomarker Res.* Jan 22;6:5, 2018.
- 2) Sudo T, Okada Y, Ozaki K, Urayama K, Kanai M, Kobayashi H, Gokyu M, Izumi Y, Tanaka T. Mutations in *NOD2* cause aggressive periodontitis. *Journal of Dental Research* 96(10):1100-1105 (2017).
- 3) Ozaki K. Molecular genetics of coronary artery disease. *eLS (Encyclopedia of Life*

Sciences) November 2017. DOI: 10.1002/9780470015902.a0027329

- 4) Ito K, Patel PN, Gorham JM, McDonough B, DePalma SR, Adler EE, Lam L, MacRae CA, Mohiuddin SM, Fatkin D, Seidman CE, Seidman JG. Identification of pathogenic gene mutations in LMNA and MYBPC3 that alter RNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 114:7689-7694, 2017.
 - 5) Low SK, Takahashi A, Ebana Y, Ozaki K, Christophersen IE, Ellinor PT; AFGen Consortium, Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Wakai K, Tanaka H, Furukawa T, Kubo M, Ito K*, Kamatani Y*, Tanaka T*. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat Genet*. 49:953-958, 2017.
- *Co-corresponding author.

平成 30 年度

- 1) Shigemizu D, Miya F, Akiyama S, Okuda S, Boroevich K, Fujimoto A, Nakagawa H, Ozaki K, Niida S, Kanemura Y, Okamoto N, Saitoh S, Kato M, Yamasaki M, Matsunaga T, Mutai H, Kosaki K, Tsunoda T. IMSindel: An accurate intermediate-size indel detection tool incorporating de novo assembly and gapped global-local alignment with split read analysis. *Scientific Reports*. 2018, 8(1), 5608, doi: 10.1038/s41598-018-23978-z.
- 2) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ochiya T, Ozaki K, Niida S. Risk prediction models for dementia constructed by supervised principal component analysis using miRNA expression data. *Communications biology*. 2019, 2, 77, doi: 10.1038/s42003-019-0324-7.
- 3) Saji N, Niida S, Murotani K, Hisada T, Tsuduki T, Sugimoto T, Kimura A, Toba K, Sakurai T. Analysis of the relationship between the gut microbiome and dementia: a cross-sectional study conducted in Japan. *Scientific Reports* 2019, 9, 1008, doi: 10.1038/s41598-018-38218-7.
- 4) Yamaguchi-Kabata Y, Morihara T, Ohara T, Ninomiya T, Takahashi A, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi N, Shigemizu D, Boroevich KA, Ikeda M, Kubo M, Takeda M, Tsunoda T. Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- β accumulation in Alzheimer's disease. 2018. July. *Hum Genet*. 137, 521-533.
- 5) Nishino J, Kochi Y, Shigemizu D, Kato M, Ikari K, Ochi H, Noma H, Matsui K, Morizono T, Boroevich K, Tsunoda T, and Matsui S. Empirical Bayes estimation of semi-parametric hierarchical mixture models for unbiased characterization of polygenic disease architectures. 2018. Apr. *Frontiers in Genetics* 9, 115.
- 6) Tajima T, Morita H, Ito K, Yamazaki T, Kubo M, Komuro I, Momozawa Y. Blood lipid-related low-frequency variants in LDLR and PCSK9 are associated with onset age and risk of myocardial infarction in Japanese. *Sci Rep*. 2018 May 25;8(1):8107. doi: 10.1038/s41598-018-26453-x.
- 7) Roselli C, Chaffin MD, Weng LC, Aeschbacher S, Ahlberg G, Albert CM, Almgren P, Alonso A, Anderson CD, Aragam KG, Arking DE, Barnard J, Bartz TM, Benjamin EJ, Bihlmeyer NA, Bis JC, Bloom HL, Boerwinkle E, Bottinger EB, Brody JA, Calkins H, Campbell A, Cappola TP, Carlquist J, Chasman DI, Chen LY, Chen YI, Choi EK, Choi SH, Christophersen IE, Chung MK, Cole JW, Conen D, Cook J,

Crijns HJ, Cutler MJ, Damrauer SM, Daniels BR, Darbar D, Delgado G, Denny JC, Dichgans M, Dörr M, Dudink EA, Dudley SC, Esa N, Esko T, Eskola M, Fatkin D, Felix SB, Ford I, Franco OH, Geelhoed B, Grewal RP, Gudnason V, Guo X, Gupta N, Gustafsson S, Gutmann R, Hamsten A, Harris TB, Hayward C, Heckbert SR, Hernessniemi J, Hocking LJ, Hofman A, Horimoto ARVR, Huang J, Huang PL, Huffman J, Ingelsson E, Ipek EG, Ito K, Jimenez-Conde J, Johnson R, Jukema JW, Kääb S, Kähönen M, Kamatani Y, Kane JP, Kastrati A, Kathiresan S, Katschnig-Winter P, Kavousi M, Kessler T, Kietselaer BL, Kirchhof P, Kleber ME, Knight S, Krieger JE, Kubo M, Launer LJ, Laurikka J, Lehtimäki T, Leineweber K, Lemaitre RN, Li M, Lim HE, Lin HJ, Lin H, Lind L, Lindgren CM, Lokki ML, London B, Loos RJJ, Low SK, Lu Y, Lyytikäinen LP, Macfarlane PW, Magnusson PK, Mahajan A, Malik R, Mansur AJ, Marcus GM, Margolin L, Margulies KB, März W, McManus DD, Melander O, Mohanty S, Montgomery JA, Morley MP, Morris AP, Müller-Nurasyid M, Natale A, Nazarian S, Neumann B, Newton-Cheh C, Niemeijer MN, Nikus K, Nilsson P, Noordam R, Oellers H, Olesen MS, Orholm Melander M, Padmanabhan S, Pak HN, Paré G, Pedersen NL, Pera J, Pereira A, Porteous D, Psaty BM, Pulit SL, Pullinger CR, Rader DJ, Refsgaard L, Ribasés M, Ridker PM, Rienstra M, Risch L, Roden DM, Rosand J, Rosenberg MA, Rost N, Rotter JI, Saba S, Sandhu RK, Schnabel RB, Schramm K, Schunkert H, Schurman C, Scott SA, Seppälä I, Shaffer C, Shah S, Shalaby AA, Shim J, Shoemaker MB, Siland JE, Sinisalo J, Sinner MF, Slowik A, Smith AV, Smith BH, Smith JG, Smith JD, Smith NL, Soliman EZ, Sotoodehnia N, Stricker BH, Sun A, Sun H, Svendsen JH, Tanaka T, Tanriverdi K, Taylor KD, Teder-Laving M, Teumer A, Thériault S, Trompet S, Tucker NR, Tveit A, Uitterlinden AG, Van Der Harst P, Van Gelder IC, Van Wagener DR, Verweij N, Vlachopoulou E, Völker U, Wang B, Weeke PE, Weijs B, Weiss R, Weiss S, Wells QS, Wiggins KL, Wong JA, Woo D, Worrall BB, Yang PS, Yao J, Yoneda ZT, Zeller T, Zeng L, Lubitz SA, Lunetta KL, Ellinor PT. Multi-ethnic genome-wide association study for atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2018 Sep;50(9):1225-1233. doi: 10.1038/s41588-018-0133-9. Epub 2018 Jun 11.

- 8) Nomura S, Satoh M, Fujita T, Higo T, Sumida T, Ko T, Yamaguchi T, Tobita T, Naito AT, Ito M, Fujita K, Harada M, Toko H, Kobayashi Y, Ito K, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. *Nat Commun.* 2018 Oct 30;9(1):4435. doi: 10.1038/s41467-018-06639-7.

2019 年度

- 1) Matsunaga H, Akiyama M, Takahashi A, Nomura S, Ozaki K, Onouchi Y, Suna S, Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Akai W, Tanaka H, Sakata Y, Morita H, Matsuda K, Murakami Y, Akazawa H, Kubo M, Kamatani Y, Komuro I, Ito K. Transethnic meta-analysis of genome-wide association studies identifies three new loci for coronary artery disease. 2019. *Circulation: Genomics and Precision Medicine.* (in press) 2019.
- 2) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S. A comparison of machine learning classifiers for

dementia with Lewy bodies using miRNA expression data. 2019. Oct. *BMC Med Genomics*. 30;12(1):150. doi: 10.1186/s12920-019-0607-3.

- 3) Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K, A rare functional variant of *SHARPIN* attenuates the inflammatory response and associates with increased risk of late-onset Alzheimer's disease. 2019. Jun. *Molecular Medicine*. 20;25(1):20.doi.org/10.1186/s10020-019-0090-5.
- 4) Ozaki K, Tanaka T. Genetics of Coronary Artery Diseases. Springer Nature (2019). *Genome Wide Association Studies*. Chapter 2 p21-36.
- 5) 尾崎浩一, 新飯田俊平. アルツハイマー病の遺伝的背景 医学書院 (2019). *BRAIN and NERVE* 71 巻 10 号 p1039-1051.
- 6) Ebana Y, Sun Y, Yang X, Watanabe T, Makita S, Ozaki K, Tanaka T, Arai H, Furukawa T. Pathway analysis with genome-wide association study (GWAS) data detected the association of atrial fibrillation with the mTOR signaling pathway. 2019.100383. *International Journal of Cardiology. Heart & Vasculature*. 24:100383 (2019). doi: 10.1016/j.ijcha.

2. 学会発表

平成 29 年度

- 1) Ozaki K. Biological and pharmaceutical investigation of molecules associated with the increased risk coronary artery disease. Genomic Medicine 2018, Houston (February 28, 2018) 国外.
- 2) 尾崎浩一, アルツハイマー病のゲノム解析 日本医療研究開発機構主催 脳と心の研究会 講演 (東京、2017年11月)
- 3) 尾崎浩一, 孤発性アルツハイマー病のゲノム解析 第59回 日本老年医学会学術集会シンポジウム 講演 (名古屋、2017年6月)

平成 30 年度

- 1) 浅海裕也, 重水大智, 茅野光範, 松熊佳奈, 市川真紀子, 須藤裕子, 滝澤聡子, 尾崎浩一, 新飯田俊平, 認知症のリキッドバイオプシーを目指した血清マイクロ RNA バイオマーカーの探索. 第 10 回日本 RNAi 研究会/第 5 回日本細胞外小胞学会 JSEV, 2018/8/30, 国内.
- 2) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, The construction of risk prediction models for dementia with supervised principal component analysis using miRNA expression data. 第 10 回日本 RNAi 研究会/第 5 回日本細胞外小胞学会 JSEV, 2018/8/30, 国内
- 3) 浅海裕也, 重水大智, 光森理紗, 森 大気, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 遅発性アルツハイマー病新規リスクレアバリエント候補の関連解析. 第 63 回日本人類遺伝学会, 2018/10/12, 国内.
- 4) 森 大気, 重水大智, 秋山真太郎, 光森理紗, 浅海裕也, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 日本人における遅発性アルツハイマー病患者由来末梢血単核細胞の発現量の形質遺伝子座解析. 第 63 回日本人類遺伝学会, 2018/10/12, 国内.
- 5) 光森理紗, 浅海裕也, 重水大智, 森 大気, 秋山真太郎, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 日本人における 4 種の認知症病型のゲノムワイド関連解析. 第 63 回日本人類遺伝学会, 2018/10/12, 国内.

- 6) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, The construction of risk prediction models for dementia with supervised principal component analysis using miRNA expression data.第 63 回日本人類遺伝学会, 2018/10/12, 国内.
- 7) 櫻井 孝, 重水大智, 浅海裕也, 佐治直樹, 尾崎浩一, 松熊佳奈, 市川真紀子, 須藤裕子, 近藤哲司, 滝澤聡子, 新飯田俊平, 認知症の血中マイクロ RNA マーカー探索.第 37 回日本認知症学会学術集会, 2018/10/12, 国内.
- 8) 池内 健, 新飯田俊平, 佐々木貴史, 尾崎浩一, 新井康通, 中谷明弘, 柿田明美, 鈴木一詩, 齋藤祐子, 村山繁雄, 橋詰良夫, 寺田整司, 吉田真理, 嶋田裕之, 三村 將, 岡野栄之, 岩坪 威, 秋山治彦, 森 啓, 認知臨床ゲノム情報データベース構築に関する開発研究.第 37 回日本認知症学会学術集会, 2018/10/12, 国内.
- 9) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, The construction of risk prediction models for dementia with supervised principal component analysis using miRNA expression data. The American Society of Human Genetics 2018, 2018/10/19, 国外.
- 10) Matsunaga H, Koyama K, Ozaki K, Ito T. Trans-ethnic meta-analysis of genome-wide association studies for coronary artery disease reveals genetic differences between Japanese and Europeans. The American Society of Human Genetics 2018 (San Diego), 2018/10/19, 国外.
- 11) Ozaki K, Genetic analysis for late-onset Alzheimer's disease in Japanese population. Asian Forum on Alzheimer's and Dementia 2018, 2018/11/23, 国外.
- 12) 新飯田俊平, 認知症の血液 miRNA マーカー開発.第 6 回 JMAC シンポジウム, 2019/1/24, 国内.
- 13) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, The construction of risk prediction models for dementia with supervised principal component analysis using miRNA expression data.第 6 回 JMAC シンポジウム, 2019/1/24, 国内.
- 14) 浅海裕也, 重水大智, 茅野光範, 松熊佳奈, 市川真紀子, 須藤裕子, 滝澤聡子, 櫻井孝, 尾崎浩一, 新飯田俊平, Exploration of serum microRNA biomarkers for dementia-risk prediction.第 6 回 JMAC シンポジウム, 2019/1/24, 国内.
- 15) 伊藤薫, 「腫瘍循環器学のゲノムアプローチに向けて」 Molecular Cardiovascular Metabolic Conference 第 3 回大手前循環器セミナー Invited Presentation (大阪) 5 月 25 日
- 16) 伊藤薫, 「心筋症原因遺伝子における RNA スプライシング異常～遺伝子ベースの診断から病態機能へ～」 第 4 回心筋症研究会 Invited Presentation シンポジウム (奈良) 6 月 2 日
- 17) 伊藤薫, 「腫瘍循環器学のゲノムアプローチに向けて」 新潟県立がんセンター院内講演会 (新潟) 8 月 17 日
- 18) 伊藤薫, 「ゲノム研究の道に入るまで」 大阪大学大学院医学研究科 遺伝統計学教室による遺伝統計学 夏の学校@大阪大学 特別セミナー (大阪) 8 月 27 日
- 19) 伊藤薫, 「研究開発項目 2. 全ゲノムを対象とした循環器疾患の遺伝的要因の全貌解明」, 先端ゲノム研究キックオフミーティング (東京) 7 月 30 日
- 20) 伊藤薫, 「ゲノムから見た循環器オミックス研究」, 第 22 回日本心不全学会学術集会

the 22nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Heart Failure Society Invited lecture/Symposium シンポジウム 1 3 循環器基礎研究 cutting edge Cutting-Edge Research of Cardiovascular Medicine (東京) 10月13日

- 21) Hiroshi Matsunaga, Satoshi Koyama, Yoshihiro Onouchi, Kouichi Ozaki, Hiroyuki Morita, Hiroshi Akazawa, Issei Komuro, Masato Akiyama, Michiaki Kubo, Yoichiro Kamatani, Kaoru Ito, “Trans-ethnic meta-analysis of genome-wide association studies for coronary artery disease reveals genetic differences between Japanese and Europeans.” ASHG 2018 Annual Meeting (USA) 10月17日
- 22) Hiroshi Matsunaga, Kaoru Ito, Masato Akiyama, Satoshi Koyama, Yoshihiro Onouchi, Kouichi Ozaki, Hiroyuki Morita, Hiroshi Akazawa, Yoichiro Kamatani, Issei Komuro “Trans-Ethnic Meta-Analysis of Genome-Wide Association Studies for Coronary Artery Disease Highlights the Importance of Immune System” AHA SCIENTIFIC SESSION 2018 (USA) 11月12日
- 23) 伊藤薫, (Invited, Oral English) Special Session 7 ゲノム科学・ゲノム医療の最前線 The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 第83回日本循環器学会学術集会 (横浜) 3月29日
- 24) 伊藤薫, (Oral English) Plenary Session 6 Molecular Mechanisms of Heart Failure The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society 第83回日本循環器学会学術集会 (横浜) 3月30日

2019年度

- 1) Ozaki K, Molecular genetics of cognitive impairment in Japanese. Asian Forum of Alzheimer’s Disease (AFAD) 2019, Tokyo, 2020/2/8,国内,口頭
- 2) 尾崎浩一, NCGG における認知症のゲノム解析, 東京都健康長寿医療センターセミナー, 東京, 2020/1/14,国内,口頭
- 3) Akiyama S, Higaki S, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D, JAMIR-eQTL:Japanese genome-wide identification of microRNA expression quantitative trait loci, The 42 Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2019/12/5, 国内, ポスター.
- 4) Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, 日本人における 5 種認知症のゲノムワイドな関連解析, The 42 Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2019/12/3, 国内, ポスター.
- 5) Shigemizu D, Akiyama S, Higaki S, Sugimoto T, Sakurai T, Niida S, Ozaki K, Prognosis prediction model for Alzheimer’s disease conversion from mild cognitive impairment using integrative multi-omics data, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/9, 国内, 口頭.
- 6) Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, Genome wide association study for dementias in a Japanese population, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, 口頭.
- 7) Mori T, Shigemizu D, Asanomi Y, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, Functional analysis for the variants associated with the risk of late-onset Alzheimer’s disease, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, ポスター.
- 8) Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K, A nonsynonymous variant of SHARPIN attenuates the inflammatory response and associates with late-onset Alzheimer's disease, The Japan Society of Human Genetics, 2019/11/7, 国内, ポスター.

- 9) Mitsumori R, Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Mori T, Niida S, Ozaki K, Genome wide association study for dementias in a Japanese population, The American Society of Human Genetics, 2019/10/19, 国外, ポスター.
- 10) Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, Ito K, Niida S, Ikeuchi T, Ozaki K, Whole exome sequencing identifies a rare functional variant SHARPIN G186R associated with increased risk of late-onset Alzheimer's disease, The American Society of Human Genetics, 2019/10/19, 国外, ポスター.
- 11) Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Sakurai T, Ozaki K, Niida S, A comparison of machine learning classifiers for dementia with Lewy bodies using miRNA expression data, The American Society of Human Genetics, 2019/10/17, 国外, ポスター.
- 12) Asanomi Y, Shigemizu D, Kayano M, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, and Niida S, Exploration of serum microRNA biomarkers for dementia-risk prediction,第6回 JMAC シンポジウム, 2019/9/24, 国内, ポスター.
- 13) Akiyama S, Higaki S, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D, JAMIR-eQTL: Japanese genome-wide identification of microRNA expression quantitative trait loci,第8回生命医薬情報学連合大会(IIBMP2019), 2019/9/10, 国内, ポスター.
- 14) Asanomi Y, Shigemizu D, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S, Multiclass classification model for dementia-type prediction using serum microRNA biomarkers,第8回生命医薬情報学連合大会(IIBMP2019), 2019/9/10, 国内, ポスター.
- 15) Kikuchi M, Miyashita A, Ozaki K, Niida S, Ikeuchi T, Nakaya A, Polygenic analysis of Alzheimer's disease in Japanese population,第13回国際ゲノム会議, 2019/6/25~27, 国内, ポスター.
- 16) Ozaki K.Genome wide association study for late-onset Alzheimer's disease in Japanese population, European Society of Human Genetics (ESHG).2019/6/16, 海外, ポスター
- 17) Ozaki K.Molecular Genetics of Late-onset Alzheimer's disease. The 5th NCGG – ICAH Symposium, 2019/4/11,国内,口頭

G. 知的財産権の出願・登録状況

疾患との関連が確実なバリエーションについては予知診断応用として知的財産権の出願を進める。

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし