

長寿医療研究開発費 2021年度 総括研究報告

「認知症発症関連因子・機械モジュールの探索と人工知能を用いた発症予測モデルの開発」
に関する研究（21-24）

主任研究者 重水 大智 国立長寿医療研究センター（NCGG）
メディカルゲノムセンター（MGC）
バイオインフォマティクス研究部（部長）

研究要旨

認知症高齢者は毎年増加傾向にあり、2025年にその数は750万人に上ると推定されている。これは65歳以上の高齢者5人に1人が認知症を発症する数字である。一方で、現在認知症の有効な治療法、薬剤は開発されていない。そのため認知症への移行が確認されると完治は難しい。したがって、早期発見の診断法の確立が急務である。

近年、ヒトゲノム全体の一塩基多型（SNP）をジェノタイピングし、疾患群（ケース群）と健常者群（コントロール群）を比較することで疾患発症リスク因子を網羅的に調べるゲノムワイド関連解析（Genome-Wide Association Study: GWAS）が様々な疾患で実施されている。我々も認知症の中で最も患者数が多いアルツハイマー病（AD）のGWAS解析から新規AD関連遺伝子を報告している。

本年度はGWAS解析では見つからないレアバリエントに着目したAD発症リスク因子の探索に取り組んだ。全ゲノムシーケンス解析（WGS）からAD発症リスク因子（変異）を網羅的に探索し、日本人特異的に見られる遺伝子変異を新たに2個同定した。さらに遺伝子間相互作用ネットワーク解析から8個のハブ遺伝子も同定した。今後、検体数を増やすことで、さらなる新規日本人特異的AD発症関連遺伝子変異の同定が期待される。

また、血中のmicroRNA発現に焦点を当てたeQTLデータベースの開発を研究開発課題21-22（主任 新飯田俊平）と連携して実施し、Web公開した（URL: <https://www.jamir-eqtl.org/jamir/>）。

主任研究者 重水 大智 国立長寿医療研究センター（NCGG）
メディカルゲノムセンター（MGC）
バイオインフォマティクス研究部（部長）

分担研究者 尾崎 浩一 NCGG MGC 疾患ゲノム研究部（部長）
森園 隆 NCGG MGC 疾患ゲノム研究部（研究員）
光森 理紗 NCGG MGC 疾患ゲノム研究部（研究員）
呉谷 文 NCGG MGC 疾患ゲノム研究部（研究員）

秋山真太郎 NCGG MGC バイオインフォマティクス研究部（研究員）
浅海 裕也 NCGG MGC バイオインフォマティクス研究部（研究員）
木村 藍 NCGG MGC データ管理室（研究員）

A. 研究目的

本研究では、NCGG バイオバンクに登録されている認知症検体の臨床情報やゲノム配列データ等の分子データ（DNA、RNA、miRNA 等）を用いて、①認知症発症関連因子（ゲノム変異、感受性遺伝子等）や機能モジュール（ハブ遺伝子、パスウェイ）の同定、ならびに②分子データの統合データベースの構築、③人工知能を用いた認知症発症予測モデルの開発を目指す。本年度はまず①GWAS 解析では見つからないレアバリエーションに着目したWGS 解析から AD 発症関連遺伝子変異の同定を試みる。

B. 研究方法

具体的には次のようなアプローチで解析を進める。

1. アルツハイマー病（AD）患者群（ケース群）と認知機能正常者（CN）群（コントロール群）の WGS を実施する。
2. GATK の best practice を用いて Variant Call を行い、バリエーションごと、遺伝子ごとにケース・コントロール解析（関連解析）を実施し、AD 発症関連遺伝子変異の網羅的探索を行う。
3. 上記関連解析で同定された遺伝子変異の人種別アレル頻度の検証、ヒト培養細胞を用いた機能解析を実施する。

（倫理面への配慮）

本実験で計画している高齢者検体を用いた解析（筋組織・血液）については、国立長寿医療研究センター内に設置された倫理・利益相反委員会の申請・承認を受け実施する。本臨床研究は、「人を対象とする医学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」に従い、試料提供および提供試料の取り扱い等について、提供者に対する口頭および文書によるインフォームドコンセント、個人識別符号、匿名化等に十分配慮した上で行う。

C. 研究結果

今年度は NCGG バイオバンクデータベースに登録されている日本人 AD 患者 140 名と高齢者 CN798 名の WGS のデータ解析、および 1604 名の AD 群と 1235 名の CN 群からなる検証コホートの解析から、嗅覚受容体遺伝子 *OR51G1* のミスセンス変異（rs146006146, c.815G>A, p.R272H）が AD 発症関連遺伝子変異であることを見出した（オッズ比 = 2.2）。

我々は以前にも日本人 AD 患者の大規模 GWAS 解から、嗅覚受容体遺伝子 *OR2B2* を同定しており、嗅覚受容体遺伝子と AD の関連が今回再び示された。

次に、遺伝子ベースの関連解析から、ネクロトーシスに関わる *MLKL* が AD 発症関連遺伝子候補として見出された。この遺伝子上から 6 箇所のレアバリエントが確認され、その 1 つのストップゲイン変異

(rs763812068, c.142C>T, p.Q48X) が検証コホートの解析から AD 発症関連遺伝子変異であることが見出された。また、ヒト培養細胞を用いた機能解析を行ったところ、この

MLKL 変異は遺伝子発現の消失に関与し (図 1a)、ネクロトーシスを阻害していることが示された (図 1b)。さらに *MLKL* は AD のバイオマーカーのひとつであるアミロイド β 蛋白 ($A\beta$) に関連する分子 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比を減少させる効果があることも実証した (図 1c)。これらの結果から *MLKL* のストップゲイン変異は、*MLKL* の発現を消失させ、それによって本来なら死ぬべき異常細胞が蓄積され、AD の発症を誘発した可能性が示唆された。

最後に、遺伝子ベースの関連解析から検出された 67 個の遺伝子セットを用いた遺伝子間相互作用ネットワーク解析から 8 個のハブ遺伝子を同定した (図 2)。そのうちの 4 個 (*NCOR2*、*DMD*、*NEDD4*、*PLEC*) が脳での発現が認められ、AD 発症関連候補遺伝子として示唆された。これらの研究結果は *Mol Psychiatry* 誌に発表した。

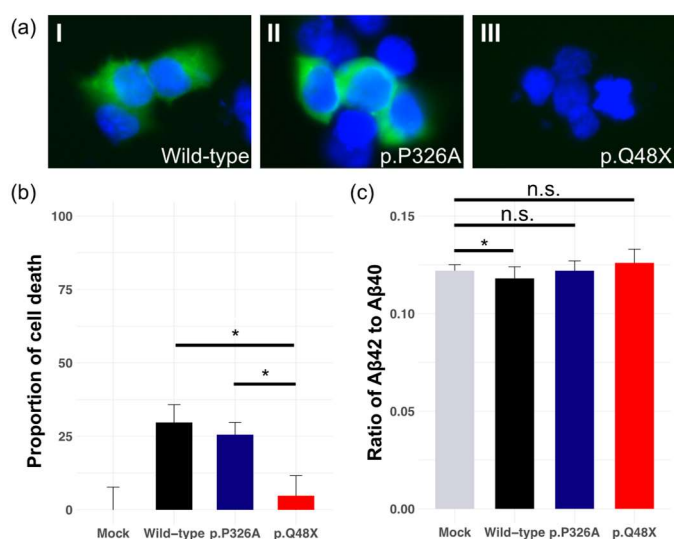


図 1. *MLKL* 遺伝子変異の培養細胞を用いた機能解析

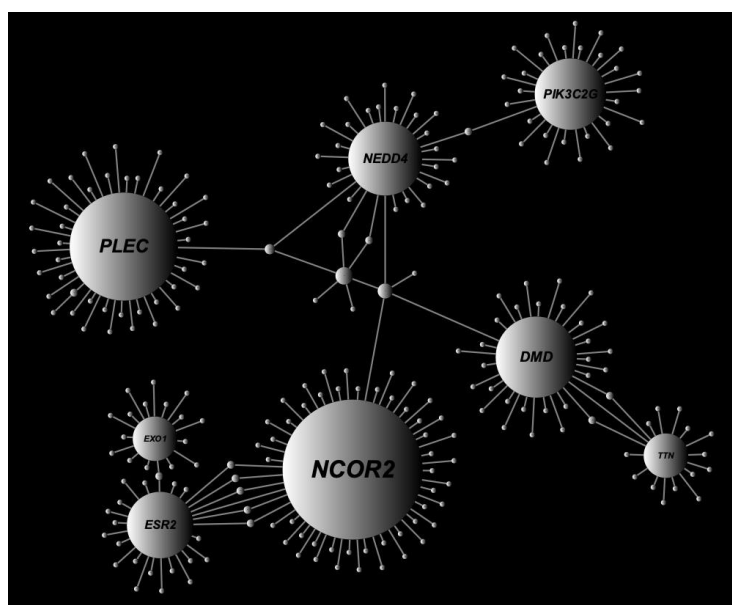


図2 遺伝子間相互作用ネットワークから同定されたハブ遺伝子

D. 考察と結論

本研究の最終目的は、認知症発症関連遺伝子の同定、ならびに臨床応用を目指した疾患発症予測モデルの開発である。本年度はまず、GWAS 解析では見つからないレアバリエーションに着目した AD 発症遺伝子変異に焦点をあて、WGS 解析を実施し、新規遺伝子変異を同定した。今後、検体数を増やすことで、さらに新規遺伝子変異の同定が期待される。これらの解析は AD の早期発見、早期予防への研究に貢献すると信じている。

E. 健康危険情報

なし

※班のすべての健康危険情報について記載すること。このため、分担項目に係る情報であっても分担研究報告ではなく、こちらに記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。

F. 研究発表

1. 論文発表（主任研究者）(*:責任著者)

1. **Shigemizu D.***, Asanomi Y., Akiyama S., Mitsumori R., Niida S., and Ozaki K. Whole-genome sequencing reveals novel ethnicity-specific rare variants associated with Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. 2022 Mar 10.
2. Asanomi Y., **Shigemizu D.**, Akiyama S., Miyashita A., Mitsumori R., Hara N., Ikeuchi T., Niida S., and Ozaki K. A functional variant of *SHARPIN* confers increased risk of late-onset Alzheimer's disease. *J Hum Genet*. 2021 Nov 5.
3. Akiyama S., Higaki S., Ochiya T., Ozaki K., Niida S.*, and **Shigemizu D.*** JAMIR-eQTL: Japanese genome-wide identification of microRNA expression quantitative trait loci across dementia types. *Database (Oxford)*. 2021 Nov 3;2021(2021):baab072.
4. Asanomi Y., **Shigemizu D.***, Akiyama S., Sakurai T., Ozaki K., Ochiya T., and Niida S*. Dementia subtype prediction models constructed by penalized regression methods for multiclass classification using serum microRNA expression data. *Sci Rep*. 2021 Oct 22;11(1):20947.
5. Fujimoto A., Wong JH., Yoshii Y., Akiyama S., Tanaka A., Yagi H., **Shigemizu D.**, Nakagawa H., Mizokami M., Shimada M. Whole-genome sequencing with long reads reveals complex structure and origin of structural variation in human genetic variations and somatic mutations in cancer. *Genome Med*. 2021 Apr 29;13(1):65.
6. **重水大智**, 新飯田俊平: 認知症のゲノム解析 (2021). *医学のあゆみ*, Vol.279, No.5, 22360-22364.

2. 学会発表（主任研究者）

1. 重水 大智: 「認知症における日本人大規模ゲノム研究の最前線」東レ バイオ要素技術連絡会, 鎌倉, Mar 14, 2022（招待講演）.
2. Shigemizu D.: 「 Genetic research in dementia 」 An international online congress, Aging Management, WEB, Dec 17, 2021（招待講演）.
3. 重水大智: 「認知症における日本人大規模ゲノム解析による新規感受性遺伝子の同定」第94回日本生化学会大会, 横浜, Nov 3, 2021（招待講演）.
4. 重水大智: 「大規模ゲノム・オミクス解析による認知症研究」日本プロテオーム学会2021年大会, WEB, July 21, 2021（招待講演）
5. 馬 凌云, 重水 大智, 中村 博幸, 尾崎 浩一, 渡邊 研: 変形性関節症自然発症マウスモデル *STR/ort* の軟骨変性に関わる遺伝子変異の同定と ferroptosis の関与. 第94回日本生化学会大会, 2021, Nov 3, P-503, WEB (ポスター).
6. 光森理紗, 浅海裕也, 重水大智, 秋山真太郎, 森園隆, 寺尾知可史, 新飯田俊平, 尾崎浩一: 日本人および民族横断的ゲノムワイド関連解析による認知症の感受性座位の探索. *The Japan Society of Human Genetics*, 2021, Oct. 15, P27-1, 横浜. (ポスター)
7. 古谷 元樹, 岡村 祥央, 森園 隆, 重水 大智, 新飯田 俊平, 中野 由紀子, 尾崎 浩一: 日本人集団における頻脈誘発性心筋症のゲノムワイド関連解析. *The Japan Society of Human Genetics*, 2021, Oct. 14, P16-4, 横浜. (ポスター)
8. 浅海裕也, 重水大智, 秋山真太郎, 宮下哲典, 光森理紗, 原範和, 池内健, 新飯田俊平, 尾崎浩一: 遅発性アルツハイマー病関連遺伝子 *SHARPIN* の疾患リスクとなる新規機能的ミスセンスバリエーションの同定. *The Japan Society of Human Genetics*, 2021, Oct. 15, O8-5, 横浜. (口頭)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし