

長寿医療研究開発費 2024年度 総括研究報告

「認知症発症関連遺伝子変異の機能解析と基盤開発」に関する研究（23－7）

主任研究者 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
バイオインフォマティクス研究部（部長）

研究要旨

国立長寿医療研究センター（NCGG）バイオバンクには、軽度認知障害者（MCI）を含む7000例以上の認知症例と10000例以上の認知機能正常高齢者の生体試料や臨床情報が登録されている。また、その一部の検体については全ゲノムシーケンス（Whole Genome Sequencing: WGS）解析が実施され、データとして整備されている。

申請者らはこれまで、この大規模かつ高品質なNCGGバイオバンクのWGSデータと臨床データの統合解析から、日本人を含む東アジア人特異的な新規認知症感受性遺伝子変異（変異）を複数同定することに成功している（*Mol Med.* 2019, *J Hum Genet.* 2021, *Mol Psychiatry* 2022, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2022.）。しかし、これらの変異の多くは、どのようにして認知症発症に関与しているのかといった分子メカニズムの解明には未だ至っていない。

そこで本研究課題では、これらの変異が認知症の発症に至るまでのメカニズムを明らかにすることと、それを可能とする解析基盤の整備を目的とする。これにより、認知症の新たな診断・治療標的の探索および予防法の開発が期待される。

主任研究者

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
バイオインフォマティクス研究部（部長）

分担研究者

佐治 直樹 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター（副センター長）
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
疾患ゲノム研究部（センター長・部長）
新飯田俊平 国立長寿医療研究センター 研究所長特任補佐
下田 修義 国立長寿医療研究センター メディカルゲノムセンター
ゲノム機能解析室（室長）
小木曾 昇 国立長寿医療研究センター 研究推進基盤センター

実験動物管理室（研究員）

藤田 康介 国立長寿医療研究センター 認知症先進医療開発センター

予防科学研究部（研究員）

A. 研究目的

これまでに申請者らが同定したアルツハイマー病（Alzheimer's disease: AD）関連遺伝子変異（*SHARPIN* 変異、*MLKL* 変異、*OR51G1* 変異）とレビー小体型認知症（Dementia with Lewy Bodies: DLB）関連遺伝子変異（*MRPL43* 変異、*MFS3* 変異）について、細胞レベル、動物レベルでの機能解析、ならびに臨床情報との関連解析を実施し、これらの変異が認知症発症に与える影響を解明することを目的とする。本研究課題の遂行により、認知症関連遺伝子の機能解析に必要な基盤技術の整備を行い、今後の遺伝子機能研究に必要な解析プラットフォームの開発を目指す。さらに、並行して、既知遺伝子内の別のローカスの探索、および新規認知症関連遺伝子変異の網羅的探索・同定も実施する予定である。

B. 研究方法

研究目的を達成するために、以下の4つのアプローチを実施する：I.大規模ゲノム変異解析、II.細胞レベルでの検証、III.動物レベルでの検証、IV.臨床データとの関連解析。

I. 大規模ゲノム変異解析

NCGG バイオバンクにおける高品質かつ大規模 WGS データと臨床データの統合解析から、これまでに AD で同定された3つの変異、DLB で同定された2つの変異を同定した。この同定した遺伝子内の別のローカスの変異を網羅的に探索することと、新規認知症関連遺伝子変異の網羅的探索を行う。

II. 細胞レベルでの検証

ヒト神経幹細胞株である ReNcell VM を用いて、CRISPR/Cas9 システムによって目的の変異を導入する。その後、神経細胞やアストロサイトへと分化誘導を行い、細胞形態、分化効率、遺伝子発現などの表現型を解析する。

III. 動物レベルでの検証

ゲノム編集技術により、同定した遺伝子のノックアウト（KO）または相同変異導入（ノックイン：KI）マウスやゼブラフィッシュを作製し、変異型と野生型個体の比較解析を実施する。マウスについては、多頭飼育下での行動解析が可能な IntelliCage システムを用いて、認知機能に関する行動表現型の評価を行う。

IV. 臨床データとの関連解析

NCGG バイオバンクに蓄積された臨床情報のキュレーションおよび抽出を行い、同定された遺伝子変異との関連性を検討する。これにより、遺伝子変異が臨床表現型に及ぼす影響を解明する。

(倫理面への配慮)

本研究で使用する全ての検体は、解析に対する同意を書面で得ている。また、該当検体を使用した研究については国立長寿医療研究センターにおける倫理委員会の承認を得て実施する。

C. 研究結果

I. 大規模ゲノム変異解析

AD でこれまでに同定された 3 つの変異、および DLB で同定された 2 つの変異以外に注目し、同一遺伝子内に存在する別の変異を網羅的に探索した。しかし、新たな変異候補は同定されなかった。一方で、WGS データ数を増やし再度関連解析を行なった結果、新たに、*INPP5J* 遺伝子内に、東アジア人特異的な AD 感受性変異を 1 つ同定した。

II. 細胞レベルでの検証

ヒト神経幹細胞株 ReNcell VM を用い、神経細胞とアストロサイトへの安定した分化条件を確立した。また、CRISPR/Cas9 システムを用いた目的変異の導入手法の構築にも成功した。この手法を用いて、DLB で同定された *MFSD3* p.C296*変異を導入した神経幹細胞を作製し、機能解析を行った。その結果、変異型細胞が野生型と比べて増殖速度が有意に低下し、神経細胞およびアストロサイトへの分化効率も有意に減少することが明らかとなった。これらの結果は、本変異が脳内における神経新生を阻害し、認知機能の低下を引き起こす可能性を示唆している。現在、もう一つの DLB 変異である *MRPL43* p.N81H の導入細胞の作製を進行中である。

III. 動物レベルでの検証

分担者・下田により作製された *Mfsd3* KO マウスを用いて、多頭飼育下での IntelliCage システムによる行動解析を実施した。その結果、新規探索行動の減少および複雑な課題に対する学習能力の低下が観察され、これらは DLB 患者に見られる症状と整合する所見であった。

細胞実験で示された神経新生の低下に基づき、1 歳齢の *Mfsd3* KO マウスと野生型マウスの脳切片を作製し、海馬の形態を比較した。その結果、複数の KO マウスにおいて海馬の萎縮が確認され、歯状回における新生神経の免疫染色では、*Mfsd3* KO マウスにおける神経新生の有意な低下が認められた。しかし、これまでの *Mfsd3* KO マウスはヒトの変異とは異なるため、ヒト相同変異を導入した *Mfsd3* KI マウスの作製を、分担者・小木曾の協力のもとで進めている。また、*MRPL43* p.N81H 変異を導入した *Mrpl43* KI マウスの作製も並行して

進行中である。さらに、分担者・下田により作製された *MikiKI* マウスについては、ヒト化 *App* 遺伝子を有する AD モデルマウスとの交配を行い、二重変異マウスの作製を進めている。

IV. 臨床データとの関連解析

DLB 患者の臨床データを中心に、関連情報のキュレーションおよび抽出作業を実施しており、現在も継続中である。今後、同定された遺伝子変異と臨床表現型との関連性をより詳細に解析し、病態メカニズムの解明に繋げる。

D. 考察と結論

※「D. 考察」、「E. 結論」としても差し支えないこと。

DLB 変異 *MFSD3* p.C296* を導入した神経幹細胞における解析により、本変異が神経新生能の低下を引き起こすことを実証した。さらに、*Mfsd3* KO マウスの解析では、海馬における神経新生の減少および海馬の萎縮、ならびに学習能力の低下が確認された。これらの細胞レベルおよび動物レベルでの結果は一致しており、これまで機能が不明であった *MFSD3* 遺伝子が認知機能において重要な役割を担っていることが明らかとなった。

この成果は、大規模ゲノム解析によって同定された *MFSD3* 変異が DLB の発症に関与している可能性を強く支持するものであり、本研究で構築した大規模ゲノム解析・細胞モデル・動物モデルを組み合わせた一連の検証手法が、認知症の発症メカニズムの解明に有効であることを示した。さらに、*MFSD3* 変異を導入した神経幹細胞における細胞増殖能の低下を改善する化合物の探索を進めることで、今後、DLB に対する創薬シーズの発見につながることを期待される。

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：重水 大智）

1. Furutani M, Kimura T, Fukunaga K, Suganuma M, Takemura M, Matsui Y, Satake S, Nakano Y, Mushiroda T, Niida S, Ozaki K, Hosoyama T*, and **Shigemizu D***. Identification of a risk allele at *SLC41A3* and a protective allele HLA-DPB1*02:01 associated with sarcopenia in Japanese. *Gerontology* 2025. accepted
2. Furutani M, Kimura T, Fukunaga K, Suganuma M, Takemura M, Matsui Y, Satake S, Nakano Y,

Mushiroda T, Niida S, Ozaki K, Hosoyama T*, and **Shigemizu D***. Identification of a risk allele at *SLC41A3* and a protective allele HLA-DPB1*02:01 associated with sarcopenia in Japanese. *Gerontology* 2025. accepted

3. Mitsumori R, Asanomi Y, Morizono T, **Shigemizu D**, Niida S, and Ozaki K. A genome-wide association study identifies a novel East Asian-specific locus for dementia with Lewy bodies in Japanese subjects. *Mol Med*. 2025 Mar 6;31(1):87.
4. Yamakawa A, Suganuma M, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, and **Shigemizu D.*** Alzheimer's disease may develop from changes in the immune system, cell cycle, and protein processing following alterations in ribosome function. *Sci Rep*. 2025 Jan 30;15(1):3838.
5. Kimura T, Fujita K, Sakurai T, Niida S, Ozaki K, and **Shigemizu D.*** Whole-genome sequencing to identify rare variants in East Asian patients with dementia with Lewy bodies. *npj Aging*. 2024 Nov 21;10(1):52.

※発表誌名、巻号・頁・発行年等も記載すること。

2. 学会発表（主任研究者：重水 大智）

1. **重水 大智**:「日本人の大規模ヒトゲノム・オミクス解析における認知症研究」第21回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 福島, Nov 20, 2024.
2. **重水 大智**:「日本人における大規模認知症ゲノム研究の最前線」国立長寿医療研究センター 公開シンポジウム&レクチャー2024, 大府, June 29, 2024.
3. **Shigemizu D**:「A polygenic risk score contributes to identifying individuals with the potential for cognitive function improvement」2024 ICAH-NCGG-TMIG Annual Meeting, Taiwan, Apr 11, 2024.
4. 山川 明子, 菅沼 睦美, 光森 理紗, 新飯田 俊平, 尾崎 浩一, **重水 大智**. 網羅的遺伝子発現解析による早期診断のための段階特異的血液バイオマーカーの同定. 第43回日本認知症学会学術集会, 2024, Nov 22, P322, 郡山. (ポスター)
5. **重水 大智**, 中村 昭範, 加藤 隆司, 二橋 尚志, 櫻井 圭太, 武田 章敬, 新畑 豊, 尾崎 浩一, 新飯田 俊平, BATON/STREAM study group. アミロイドβの蓄積速度に関連する全ゲノム解析に基づく遺伝子変異の探索. 第43回日本認知症学会学術集会, 2024, Nov 21, P003, 郡山. (口頭, ポスター)
6. Mitsumori R, Asanomi Y, Miyashita A, Morizono T, Hara N, **Shigemizu D**, Ikeuchi T, Niida S, and Ozaki K. Identification of multiple new loci associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese. The American Society of Human Genetics, 2024, Nov 6, 5095W, Denver, CO, USA. (ポスター)
7. Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, **Shigemizu D**, Niida S, and Ozaki K. Functional analyses for the late-onset Alzheimer's disease-risk variants of *SHARPIN* using CRISPR/Cas9-mediated knock-in cells. The American Society of Human Genetics, 2024, Nov 6, 6032W, Denver, CO,

USA. (ポスター)

8. 菅沼 睦美, 古谷 元樹, 細山 徹, 光森 理紗, 大塚 礼, 竹村 真里枝, 松井 康素, 佐竹 昭介, 中野 由紀子, 尾崎 浩一, 重水 大智: 網羅的遺伝子発現解析によるフレイルに関わる血液バイオマーカーの探索. 第 11 回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2024, Nov 3, P-16-1, 東京. (ポスター)
9. 細山 徹, 漆畑 拓弥, 高石 美菜子, 佐藤 亜希子, 渡邊 剛, 竹村 真里枝, 重水 大智, 関根 圭輔, 佐竹 昭介: 網加齢変動性マイオカインの α アミラーゼは疾患バイオマーカーになり得る. 第 11 回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2024, Nov 3, U-3, 東京. (口頭)
10. Yamakawa A, Suganuma M, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, and Shigemizu D. Identification of stage-specific blood biomarkers for early diagnosis of Alzheimer's disease by transcriptome analysis. 1st Asia & Pacific Bioinformatics Joint Conference (APBJC2024), Oct 24, P-84, Okinawa. (ポスター)
11. Hosoyama T, Kawai-Takaishi M, Takemura M, Watanabe T, Sekine K, Shigemizu D, Satake S. Muscle-derived α -amylase is age-variable myokine and useful for the frailty biomarker. 10th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia (ACFS 2024), Oct 11, O01, Bangkok. (口頭)
12. Suganuma M, Furutani M, Hosoyama T, Mitsumori R, Otsuka R, Takemura M, Matsui Y, Nakano Y, Niida S, Ozaki K, Satake S, and Shigemizu D. An integrative approach to detect potential blood-based biomarkers for frailty. 10th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia (ACFS 2024), Oct 10, P-53, Bangkok. (ポスター)
13. 光森 理紗, 浅海 裕也, 宮下 哲典, 森園 隆, 原 範和, 重水 大智, 池内 健, 新飯田 俊平, 尾崎 浩一. Genome-wide association study for late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population. 日本人類遺伝学会第 69 回大会, 2024, Oct 12, O14-2, 札幌. (口頭)
14. 山川 明子, 菅沼 睦美, 光森 理紗, 新飯田 俊平, 尾崎 浩一, 重水 大智. Identification of stage-specific blood biomarkers for early diagnosis of Alzheimer's disease by transcriptome analysis. 日本人類遺伝学会第 69 回大会, 2024, Oct 12, O14-1, 札幌. (口頭)
15. 浅海 裕也, 木村 哲晃, 下田 修義, 重水 大智, 新飯田 俊平, 尾崎 浩一. Functional analyses of the late-onset Alzheimer's disease-risk SHARPIN variants using CRISPR/Cas9 knock-in cells. 日本人類遺伝学会第 69 回大会, 2024, Oct 12, P3-02-4, 札幌. (ポスター)
16. 木村 哲晃, 藤田 康介, 櫻井 孝, 新飯田 俊平, 尾崎 浩一, 重水 大智. Whole genome sequencing reveals East Asian specific rare variants in CDH23 associated with dementia with Lewy bodies. 日本人類遺伝学会第 69 回大会, 2024, Oct 11, OE5-5, 札幌. (口頭)
17. 福永 航也, 重水 大智, 蒔田 泰誠. shortHLAseq: 8 座の HLA 遺伝子領域を short-range PCR で増幅するアンプリコンシークエンシング法の開発. 第 32 回組織適合性学会, 2024, Sep 26, O-08, 名古屋. (口頭)

18. **Shigemizu D**, Nakamura A, Kato T, Nihashi T, Sakurai K, Takeda A, Arahata Y, Ozaki K, Niida S, BATON/STREAM study group. Exploration Of Genetic Variants Associated With The Rate Of Amyloid- β Accumulation Using Whole-genome Sequencing. Alzheimer's Association International Conference (AAIC) Advancements: Modernizing Diagnosis, 2024, Sep 19, P-23, Tokyo. (ポスター)
19. Kimura T, Suganuma M, Sawamura K, Asanomi Y, Shimoda N, Ogiso N, Hosoyama T, Niida S, Ozaki K, and **Shigemizu D**. The loss-of-function variant in *MFSD3* could play a crucial role in the pathogenesis of dementia with Lewy bodies. Alzheimer's Association International Conference (AAIC), 2024, July 31, P-86694, Philadelphia. (ポスター)
20. **Shigemizu D**, Fujita K, Niida S, Ozaki K, Sakurai T, and Arai H. A polygenic risk score contributes to identifying individuals with the potential for cognitive function improvement. Alzheimer's Association International Conference (AAIC), 2024, July 28, P-86348, Philadelphia. (ポスター)
21. Yamakawa A, Suganuma M, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, and **Shigemizu D**. Identification of stage-specific blood biomarkers for early diagnosis of Alzheimer's disease through RNA sequencing analysis. Alzheimer's Association International Conference (AAIC), 2024, July 28, P-85323, Philadelphia. (ポスター)
22. 吉浦 和宏, 李 嘉琦, 細山 徹, **重水 大智**, 竹村 真里枝, 松井 康素, 堀 紀子, 木下 かほり, 大須賀 洋祐, 佐竹 昭介. ロコモフレイル外来受診者における GDF-15 と身体的フレイル・認知的フレイルとの関連. 第 66 回日本老年医学会学術集, 2024, June 13, O6-4, 愛知. (口頭)

※発表誌名、巻号・頁・発行年等も記載すること。

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

※予定を含めて記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。