

長寿医療研究開発費 2024年度 総括研究報告

老年病の病態解明と次世代医療開発に資するエビデンス創出のための
大規模ゲノムオミクス連関研究（24-15）

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
センター長（部長）

研究要旨

本研究を進めるにあたって、これまでに NCGG バイオバンクサンプルを中心として活用し、民族特異的ジェノタイピングアレイやエクソーム解析、全ゲノム解析による全ゲノム関連解析（GWAS）やトランスクリプトームワイド関連解析などの包括的ゲノム解析によりアジア人に特異的な孤発性アルツハイマー病（LOAD）のリスク遺伝子である *SHARPIN* や *MLKL* あるいはレビー小体認知症に関連する *MFSD3* 等を同定するとともに認知症のリスク病態としての心房細動や虚血性心疾患における感受性遺伝子座位群を網羅的に同定してきている。またこれら遺伝因子群との統合解析を視野に入れて、血液細胞におけるトランスクリプトーム解析も 2,300 例以上実施してきており、LOAD をはじめとする老年病の発症に関連する遺伝子群の発現状態やそれによる血液、免疫系細胞数の分布と疾患との関連、疾患関連パスウェイの解明を進めると共に軽度認知障害から LOAD への移行予測など疾患発症予測モデル法の開発およびデータベースの構築も進めてきた。認知症も含めた老年期疾患の発症へ遺伝的因子が寄与する割合（遺伝率）は 50～80% と高く、その原因はポリジェニック（多くの遺伝因子が組み合わさった）効果であることが判明してきており、疾患の全容を解明するには未同定の疾患感受性遺伝因子群を包括的に同定し関連する遺伝子群の機能も解明する必要がある。したがって、本研究では国立長寿医療センター バイオバンク、バイオバンクジャパン等によりリクルートされた日本人大規模サンプルにおける遺伝的バリエーション群を利用するのみではなく、欧米人における比較解析として UK バイオバンクの大規模ゲノムデータも利用した老年病の GWAS をさらに拡大する事により、網羅的に疾患関連遺伝的因子群の解明を進め、さらにこれら新規疾患関連候補座位についてゲノム領域を絞り込み（ファインマッピング）、真の疾患関連遺伝子群の同定からその機能解明と病態解明を進める。また、これらの解析とこれまでに引き続き進めている高精度かつ高深度なオミクス（トランスクリプトーム）解析データを蓄積、データベース化し、全ゲノムのバリエーション情報、臨床、環境情報との統合解析を施行することにより、包括的な病態解明、ドラッグリポジショニングの開発、ドラッグビリティの

高い創薬標的分子群の同定、高精度ポリジェニックリスクスコアの開発から疾患発症予測モデル構築といった予知診断法の開発を機械学習、AI 等も駆使して進め精密医療に資するゲノム医療の基盤構築を進める。

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
(センター長/部長)

分担研究者

浅海 裕也 国立長寿医療研究センター 疾患ゲノム研究部 (研究員)
光森 理紗 国立長寿医療研究センター 疾患ゲノム研究部 (研究員)
伊藤 薫 理化学研究所生命医科学研究センター 循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム (チームリーダー)

A. 研究目的

老年期に発症する疾患（生活習慣病）の遺伝的因子の割合である遺伝率は非常に高い事が知られており、孤発性アルツハイマー病では 60～80%と見積もられている。近年、その疾患発症原因はリスクとなる遺伝的因子が多く集まるポリジェニック効果であることが判明してきており、病態の全容を解明するには未同定の疾患関連遺伝因子群をできるだけ多く同定し、関連する遺伝子群の機能も解明する必要がある。また、海外における認知症等の老年病のゲノム研究が進んでいるが、民族間におけるゲノム構造の違いからも日本人における大規模な解析が必要となる。本提案研究ではこれまでに蓄積してきた NCGG バイオバンクを中心としてリクルートされた日本人のゲノム、オミクスデータをさらに発展、大規模化させ、日本人における認知症やそれに関連した循環器疾患などの老年期発症の疾患関連遺伝的因子群を網羅的に同定し、病態解明に資するデータを蓄積、解析する。また、本研究では民族に特化した遺伝的バリエーションを用いたゲノムワイド関連解析

(GWAS) をさらに拡大するのみではなく、ゲノムに点在する構造多型 (LINE、SINE などの繰り返し配列、モバイルエレメント) を用いた GWAS および蓄積してきているオミクス (トランスクリプトーム) 解析データを組み合わせた統合解析を実施することにより疾患関連パスウェイを解明する。さらに日本人における老年病関連候補座位についてファインマッピングによりゲノム領域を絞り込み真の疾患関連遺伝子群の同定およびその機能解明と病態解明を進める。また、これに加えて同定した疾患関連遺伝子群のターゲット再配列解析を進めることにより、集団での頻度は低い、疾患への影響力の大きいレアバリエーションを探索する。本研究では大規模かつ高精度にデータを蓄積、データベース化し、全ゲノムのバリエーション情報、臨床、環境情報との統合解析を施行することにより、包括的な疾患パスウェイの同定、ドラッグリポジショニングの開発やより正確な創薬標的分子

群の同定、ポリジェニックリスクスコア（PRS）や遺伝子発現量等を用いた疾患予測モデル構築からの予知診断法の開発を AI 等も駆使して進めゲノム医療の基盤構築を進める。これらに加えて患関連バリエーションおよび遺伝子群の *in vitro* における病態機能解析も同時に進め、病態解明から新たな創薬関連分子の探索も含めた次世代精密医療としてのゲノム医療の基盤形成を目指す。

B. 研究方法

民族に特化したアレイを用いた全ゲノムジェノタイピングについては年間 2,000 例を目標に解析を進め、これらのデータとすでに ASA にて取得済み疾患、コントロールデータについて、数千人の日本人全ゲノム配列を用いたインピュテーション法による擬似全ゲノム配列を取得し、関連解析を行い同時に統計学的な解析によりクオリティーフィルターを通し、データをクリーンアップ、遺伝統計学的な補正を行い、アジア最大級の数万例のメタ解析による GWAS を施行した。また、この GWAS データを用いて全ゲノムに及ぶモバイルエレメント（ME = LINE、Alu などウイルスゲノムのヒトゲノムへの挿入多型）を用いた全ゲノム ME-疾患関連解析を施行することにより多くの疾患原因、感受性座位群を絞り込んだ。さらに 20 万人を超える UK バイオバンク全ゲノムジェノタイピングデータ（利用許可承認および MTA 済み）についてもトランスエスニック統合メタ解析を実施し、GWAS の大規模化を図ることにより、より多くの認知症感受性、原因遺伝子群の同定を進めると共に疾患関連座位の領域を絞り込むファインマッピング、アノテーション解析を施行した。ファインマッピングにより絞り込んだ領域についてはさらに遺伝子発現量的形質座位（eQTL）、タンパク質発現量的形質座位（protein QTL; pQTL）や関連バリエーションが位置的（プロモーターやエンハンサー部位など）に遺伝子発現などに影響を与えるか、あるいはタンパク機能に直接影響するかについて *in silico* の解析を行い、責任候補バリエーションについては培養細胞におけるルシフェラーゼアッセイや CRISPR/Cas9 の系、細胞内局在を確認することにより *in vitro* の系を用いて精査、直接観察することにより疾患の原因となるバリエーションを絞り込み、真の疾患関連遺伝子を同定した。一方でこれまでに進めてきた認知症検体を含むサンプルからの血液細胞からの全 RNA 解析をさらに拡大して施行するとともに、脳組織からのシングル核 RNA シークエンスを施行し、脳の 1 細胞における遺伝子発現差異を深度深く精査し、疾患特異的遺伝子発現や変異、スプライシングバリエーションの探索を行い、疾患発症に与える影響力の強い原因遺伝子の同定も模索した。これらのデータを遺伝統計学的に統合し、疾患原因、感受性分子の探索、疾患パスウェイの同定を進める。同定した遺伝子群と臨床データは統計的アルゴリズムを用いて重み付けし、ポリジェニックリスクスコアの算出や機械学習、AI を取り入れたより正確な疾患発症予知、診断法の確立を目指すと共に、疾患分子パスウェイと既存のドラッグデータベースを統合することによるドラッグリポジショニングや新規創薬に重要な分子間相互作用、分子活性や機能モジュールの探索を行った。

本研究における役割分担としては、主任研究者；尾崎はスタディーデザインの設計、推進と遺伝統計学解析、疾患関連遺伝子群、創薬関連分子群の同定、機能解析と全般的な解析および管理；分担研究者；浅海は全ゲノム、RNA 配列解析、疾患関連遺伝子群同定、*in silico*、*in vitro* 機能解析による病態解明；分担研究者；光森は老年病 GWAS、ポリジェニックリスクスコア構築、ゲノム、RNA 統合データから機械学習による疾患予測モデルの構築；分担研究者；伊藤（理化学研究所・生命医科学研究センター・循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム・チームリーダー）は老年病 GWAS（バイオバンクジャパンデータを含む）のアノテーション解析、ME GWAS の開発、シングル核全 RNA 解析の構築とオミクス統合解析、深層学習を応用した高精度疾患予測法の開発および認知症の基礎疾患となりうる心房細動等の循環器疾患遺伝子解析を担当した。

（倫理面への配慮）

ここで使用する検体はすべてその解析に対する同意を書面で得ている。また、当該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、理化学研究所における倫理委員会の承認を得て実施している。動物実験においては国立長寿医療研究センターにおける動物実験倫理委員会の承認を受けている。動物実験は動物用実験施設を使用し、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」を順守してそれに関する教育訓練を受講し実施している。遺伝子組み換え実験においても国立長寿医療研究センターにおいて遺伝子組み換え実験計画書の承認を受け、遺伝子組み換え実験に関する教育訓練を受講し実施している。

C. 研究結果

現在までに国立長寿医療研究センター（NCGG）バイオバンクを中心として収集された認知症、コントロールなどのサンプルについて、全ゲノム配列（WGS）、エクソーム配列データ（WES）、アジア民族特異的 SNP アレイ（アジアスクリーニングアレイ；ASA）を用いたジェノタイピングデータ、トランスクリプトームデータを蓄積、データベース化し、ゲノム、トランスクリプトーム解析をアップデートしてきている（表 1）。

表 1 認知症におけるゲノムオミクスデータの取得と蓄積

解析プラットフォーム	AD	DLB	FTLD	MCI	VaD	NPH	PD	CN*	その他*	総数
WGS	529	404	97	566	74	84	128	1,808	664	4,354
WES	1,253	5	15	29	3	10	10	182	100	1,607
SNP array	7,117	400	98	2,141	243	130	140	23,631	11,712	45,612
Transcriptome (mRNA)	800	30	0	625	2	2	0	584	569	2,612
Proteome (Olink)	144	4	0	45	1	1	0	67	20	282

CN: cognitive normal
 その他: 主観的認知障害 (SCI)、大脳皮質基底核変性症、病型不明の認知症、未診断など
 GWAS*: NCGG + 他施設サンプル

本研究課題においては昨年度4月から3月までの間に WGS 342 件、WES 300 件、SNP アレイ (ASA ジェノタイピングデータ) 3,284 件、トランスクリプトームデータ 192 件、および新たにプロテオミクスデータ 282 件をそれぞれ解析、蓄積している。民族に特化したアレイを用いたジェノタイピングデータを使用した GWAS においては、初期段階で約 8,000 例を用いた LOAD の GWAS とその欧米人との民族間メタ解析 (計 72,000 例) を施行しアジア民族に特徴的な新規 LOAD 関連遺伝子座を報告 (Shigemizu D, Ozaki K et al. *Translational Psychiatry* 2021) すると同時にある程度の精度でポリジェニックリスクスコア (PRS) も構築できることを確認してきた (ROC カーブ AUC = 0.74)。本研究課題ではさらに大規模な LOAD の GWAS 行い、より確実かつ多くの LOAD 関連座位群を同定、解析することを目的に、GWAS 統計値上位のバリエーションについて再検証サンプルをさらに追加解析することにより進めた。すなわち、第一に大規模 GWAS として日本人 LOAD 5,066 サンプル、コントロール 16,716 サンプルを用い、NCGG 全ゲノム配列データ約 3,200 例を利用して独自に構築した擬似全ゲノム配列参照パネルを用いたインピュテーションを施行することにより約 800 万個のバリエーションを遺伝統計学的に検定した。ここで統計値 $P = 1 \times 10^{-6}$ 未満のバリエーション群について GWAS とは異なる追加コホート

(LOAD ケース 1,404 例およびコントロール群 4,052 例) を用いて再検証解析を行う 2 段階のストラテジーを取った。大規模 LOAD GWAS においては、9 個の GWAS 有意性 ($P < 5 \times 10^{-8}$) および 8 個の示唆的有意性 ($P < 1 \times 10^{-6}$) を示す LOAD 感受性候補座位群を同定した (図 1)。これらの中で、*APOE*、*ABCA7*、*IGH gene cluster*、*SORL1*、*HLA-DRA* および *BIN1* 座位 (図 1、遺伝子名赤字 (GWAS 有意性) および青字 (示唆的有意性)) については既報であり、本研究においても再現性が確認できた。一方、その他の 11 座位は新規座位であり、これらについてさらに追加の 1,404 例の LOAD ケースおよび 4,052 例のコントロールを用いて再検証解析を行った。結果として再検証データを加えることで新規に GWAS 有意性を保持する 3 座位群 (6 番染色体 *HLA-G* 座位、9 番染色体 *CNTNAP3* 座位、10 番染色体 *PRS24* 座位) を同定している。これらの 3 座位については欧米人では頻度が少ない、あるいは大きく頻度が異なるといった日本人に特徴的な座位であることを確認している。また、GWAS 有意性座位に加えて再検証解析において示唆的有意性を示す座位をさらに 3 箇所同定している。この GWAS データにおける遺伝子ベースでの関連解析においても *CNTNAP3* が統計学的に有意な LOAD 関連遺伝子であることを同定している (図 2)。*CNTNAP3* はニューレキシンファミリータンパク質をコードする。このファミリータンパク質は接着分子としてニューロン、グリア相互作用に関係しており、神経系における細胞間認識に働くことも知られている。また、自閉スペクトラム症で変異が発見されている。このように確実な新規 LOAD 関連分子として興味深い遺伝子を同定することに成功した。

また、GWAS に加え Transcriptome-wide association study (TWAS) も施行した。TWAS とは GWAS の結果と遺伝子発現量の形質座位 (expression Quantitative Trait

loci; eQTL) データを統合して患者群における関連遺伝子の発現量を推定し疾患遺伝子を同定する手法である。この TWAS により上記 *CNTNAP3* に加えインテグリン関連分子 (*ITGB3*) や接着分子 (*BCAM*) を含めた計 3 個の新規 LOAD 関連遺伝子を同定した。さらに UK バイオバンク使用許可データ (63,416 LOAD cases, 169,293 Controls) を用いた日本人データとのトランスエスニックメタ解析では GWAS 有意性を 10 箇所 (赤ドット座位)、示唆的有意性を 17 箇所 (青ドット座位) 同定した (図 3)。この中で新規候補遺伝子座位として、GWAS 有意性が 3 箇所 (赤矢印)、示唆的有意性を 12 箇所 (青矢印) 同定している。トランスエスニックメタ解析における TWAS においても新規 16 遺伝子 (炎症、細胞接着、細胞増殖、脂質代謝や血管収縮等に関連する分子群) を発見している。また NCGG バイオバンクに登録されている 282 例のプロテオミクスデータ (Olink 社) を用いた protein QTL 解析も GWAS 有意性座位について検討したところ染色体 9 番、16 番、21 番における座位について統計学的有意差を得ることができた (表 2)。

表 2 LOAD-GWAS 座位の protein QTL (pQTL) 解析

Study	dbSNP	Chr	A1	A2	OR	P	Location	Closest_gene	pQTL_Protein	β	P	P_{perm}
LOAD-GWAS	rs4878857	9	C	T	0.37	2.3×10^{-15}	intergenic	SPATA31A7	AZU1	2.5	3.2×10^{-7}	0.0031
									BLM_hydrolase	1.9	2.6×10^{-5}	0.0083
									ITGB2	2.3	9.4×10^{-10}	0.0037
									LILRB2	1.6	2.4×10^{-6}	0.0067
									MPO	2.3	2.6×10^{-11}	0.0042
									PRCP	1.6	1.1×10^{-5}	0.0076
	rs35339491	16	C	G	1.15	1.5×10^{-8}	intronic	MSLN	COL18A1	0.01	4.1×10^{-5}	2.0×10^{-4}
	rs8132044	21	G	A	0.87	2.2×10^{-7}	intergenic	POTED	GKN1	0.09	5.2×10^{-5}	1.0×10^{-4}

この中で LILRB2 (leukocyte immunoglobulin like receptor B2) タンパクをコードする遺伝子の存在する遺伝子座位は欧米の大規模 GWAS でも同定されている座位であり、LOAD との関連が強く示唆される分子である。

さらに、これらのデータを用いたドラッグリポジショニング解析では、日本人のみおよび日本人と欧米人との統合データで共に血圧および高脂血症における治療薬が LOAD 治療薬候補として統計学的有意性を持ってこれまで通り挙がってきている (表 3)。現在、さらにサンプル数を拡大した LOAD GWAS (日本人データ約 28,000 例、UK バイオバンクデータ 232,400 例) を施行し、eQTL やトランスクリプトームワイド関連解析、連鎖不平衡スコア回帰やメンデルランダム化による他疾患との関連や交絡因子の関与についてインシリコにおける解析を進めると共に、ポリジェニックリスクスコア (PRS) の構築とトランスクリプトームデータとの統合解析を施行している。

表 3 大規模 GWAS データによる LOAD のドラッグリポジショニング

治療グループ名	オッズ比	Fisher_P	ターゲット遺伝子 (主)	薬剤名
Diseases of arteries, arterioles and capillaries	1.89	0.0049	ACE, ADORA, ADORA3, EDNRA, NRP1	alacepril,bms-182657 他
ANTIHYPERTENSIVES	3.42	0.0111	ACE, CHRNA2, EDNRA	rescinnamine,deserpidine 他
Acute rheumatic fever	2.09	0.0171	ACE, ADORA1, CACNA1C, CETP	alacepril, n-0861, pexelizumab,
Chronic rheumatic heart diseases	2.09	0.0171	ACE, ADORA1, CACNA1C, C5	alacepril, n-0861, pexelizumab,
DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES	2.75	0.0186	ADORA, ADORA2B, PDE4D	theophylline,aminophylline,
Hypertensive diseases	1.66	0.0202	ACE, ADORA1, CACNA1C, CETP	alacepril, n-0861, pexelizumab,
Renal failure	2.11	0.0367	ACE	ilepatril, lisinopril, cilazapril, enalapril
Other congenital malformations	5.49	0.0373	LAMB3, S1PR1, VDR	asfotase alfa, calcitriol
Pulmonary heart disease and diseases of pulmonary arteries	1.73	0.0374	ACE, ADORA1, CACNA1C, CETP, NPR1, PCSK9	alacepril,bms-182657,delapril
Symptoms and signs involving the urinary system	2.20	0.0383	CACNA1C, CHRM5, CHRNA2, CHRNE, GABRG3	amlodipine, ddp-200,emepronium
Disorders of lens	4.51	0.0029	ADRA1A, ADRA2C, DRD2, FKBP1A, PSE, ITGB3, ITGB4	phenylephrine, tetrahydrozoline
Disorders of optic nerve and visual pathway	4.51	0.0029	ADRA1A, ADRA2C, DRD2, FKBP1A, PSE, ITGB3, ITGB4	phenylephrine, tetrahydrozoline
ANTIHYPERTENSIVES	4.27	0.0037	ACE, ADRA1A, ADRA2C, DRD2, HTR1A, KCNJ11,	rescinnamine, deserpidine, prazosin
Disorders of eyelid, lacrimal system and orbit	4.27	0.0037	ADRA1A, ADRA2C, DRD2, FKBP1A, PSE, ITGB3, ITGB4	phenylephrine, tetrahydrozoline
Disorders of vitreous body and globe	4.27	0.0037	ADRA1A, ADRA2C, DRD2, FKBP1A, PSE, ITGB3, ITGB4	phenylephrine, tetrahydrozoline
Disorders of ocular muscles, binocular movement and accommodation	4.27	0.0037	ACE, ADRA1A, ADRA2C, DRD2, HTR1A, KCNJ11,	phenylephrine, tetrahydrozoline
Visual disturbances and blindness	4.27	0.0037	ADRA1A, ADRA2C, DRD2, FKBP1A, PSE, ITGB3, ITGB4	phenylephrine, tetrahydrozoline
Disorders of sclera, cornea, iris and ciliary muscles	3.39	0.0039	ACE, ADRA1A, ADRA2C, DRD2, HTR1A, KCNJ11,	phenylephrine, tetrahydrozoline

また、LOAD 以外の認知症である日本人レビー小体型認知症 (DLB) についても GWAS において詳細な解析 (211 DLB vs 6172 controls) を行ってきており、新規にゲノムワイド有意水準を満たす座位を 10 番染色体上 (*DHTKD1* 座位) に同定してきた。本座位と NCGG 血液細胞トランスクリプトームデータにおける遺伝子発現量座位関係について解析を行ったところ、小胞体において、多種多様なタンパク質の膜組み込みや膜透過およびタンパク分解に関連する「トランスロコン」と呼ばれ分子装置の構成タンパクの一つをコードする遺伝子が DLB と統計学的な有意性を持って関連すること、この分子は脳各部位において高発現しており、小胞体ストレスに関与することから神経変性疾患の中でも特に DLB に関連する可能性も発見してきている。今回、本課題において GWAS データを用いた他形質群との関連をメンデルランダム化法により精査したところ、上記 DLB GWAS により同定した新規座位 (*DHTKD1* 座位) においてコリンエステラーゼ (ChE) 量との逆関連が統計学的有意に見られた (図 4、赤四角内)。コリンエステラーゼ阻害剤は DLB の治療薬としても利用されているが、この関連座位を持つ患者は元々 ChE 量が低く、ChE 阻害剤の投与は無効である可能性があることを暗示していると考えられる (Mitsumori R, Ozaki K et al. *Molecular Medicine* 2025)。これらの知見から今回同定した遺伝的バリエントが DLB における治療の層別化に利用できる可能性があり、現在構築中の DLB PRS と組み合わせることにより DLB の正確な予知も含めた診断や疾患層別化に寄与できると共に新規関連遺伝子の機能解析を通した真の DLB 病態解明と革新的な創薬分子の探索が期待できる。

ASA による GWAS とは別に、WGS、WES を利用した解析により、*SHARPIN* 遺伝子内にアジア人に特異的な LOAD 関連機能性低頻度バリエント (G186R) およびそれとは異なる別の機能性アジア人特異的バリエント (R274W ; G186R 同様に細胞内局在の変化、炎症系の中心的な転写因子 NFκB 活性を低下) もまた LOAD に関連 ($P > 0.0016$ 、

オッズ比 1.48) することを発見してきた。また、その機能解析についても CRISPR-Cas9 システムを用いたゲノム編集による解析を進め、G186R バリエントにおいて NFkB の低下および $A\beta_{1-40}$ と $A\beta_{1-42}$ の両方の分泌を共に増加することを報告してきている

(Asanomi Y, Ozaki K et al. *J Hum Genet* 2019, 2022, 2024)。本研究課題では CRISPR-Cas9 システムを用いた *Sharnpin* 変異型 (G186R) ノックインマウスを作製し、複数のノックインマウスとコントロールマウスを使用したインテリケージシステム (外注) により行動解析を進めた。その結果、*Sharnpin* 変異型 (G186R) ノックインマウスでは、1, 新奇環境における探索行動の低下、2, 報酬における固執行動が増加、3, 光刺激に対する忌避反応が亢進する、ということが統計学的有意性をもって判明した (図 5)。したがって、*Sharnpin* G183R ノックインにより、マウスの不安関連行動の亢進や固執傾向などの情動行動に変化を与えることが疾患に関連する可能性も示唆される。現在、ノックインマウスにおける神経系細胞を用いたトランスクリプトーム解析も含めたファンクショナルジェノミクスを進めている。

上記研究に加え、理研を含む国際共同研究において、NCGG バイオバンクおよびバイオバンクジャパンにおける約 26 万人のゲノムデータを用いて、身長、体重、血圧、コレステロール値、心機能や肝機能等といった老年病に影響を与える 63 個の様々な量的形質について関連座位 (Quantitative Trait loci; QTL) の同定を GWAS により進めてきた。その結果、新規 601 座位を含む 4,423 個の GWAS 有意性座位を同定し、日本人に特徴的なバリエントを多数含む、9,406 個の遺伝的バリエントが QTL の原因バリエントであることを解明した (Koyama S, Ozaki K et al. *Nature Genetics* 2024)。本解析からは心機能低下・心不全を来す日本人特有の新規 *TNNT2* 遺伝的バリエントも同定することができた。この遺伝的バリエント (rs730881101 ; p.Arg141Gln) はトロポニン T とトロポミオシンの結合部位に存在し、トロポニン遺伝子の構造を変化させることにより、心臓の機能を低下させ、心不全のリスクを高めることが推察できた (図 6)。

一方で高齢者における認知症等のリスクとなる循環器疾患についても理研と共同で大規模ゲノム解析を進めてきている。これまでに心房細動や虚血性心疾患といった認知症のリスクとなり得る疾患において、大規模 GWAS から得られた疾患関連コモンバリエントにおけるポリジェニックリスクスコア (PRS) を構築し報告してきた (Koyama S, Miyazawa K, Ozaki K et al. *Nature Genetics* 2021, 2023)。しかしながら、GWAS のみでは統計的検出力が不十分なため、疾患への影響力の強い低頻度 (希少) バリエントの同定には限界があり、PRS の性能が制約されることが懸念される。そこで本研究において、日本人虚血性心疾患 (CAD) 患者約 1,700 人とコントロール 3,000 人を対象に WGS を行い、機械学習に基づく希少バリエント解析の枠組みを利用した PRS の構築を試みた。このアプローチにより、既知の原因遺伝子を含む 59 個の CAD 関連遺伝子群を同定することに成功した。このアプローチにより得られた希少バリエントベースのリスクスコア (Rare Variant Score; RVS) は、独立した集団において CAD 症例と心血管死亡率を統計的に

有意に予測することができた。さらにこの RVS を従来の PRS と組み合わせることで、PRS 単独と比較して CAD 予測能を向上できることを発見した (AUC: 0.66 vs 0.61; $p=0.007$)。希少バリエーション情報を組み入れることによりさらに疾患発症予測能が上り、より包括的な疾患の遺伝学的評価が可能になると考えられる (論文リバイス中)。

図 1 大規模日本人 LOAD GWAS による LOAD 関連候補座位群の同定

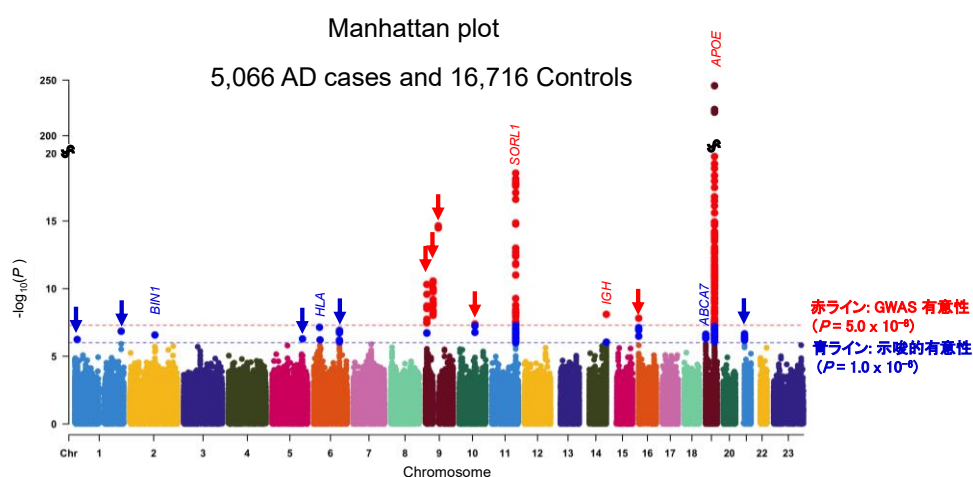


図 2 GWAS データを用いた遺伝子ベース解析による新規 LOAD 関連遺伝子の同定

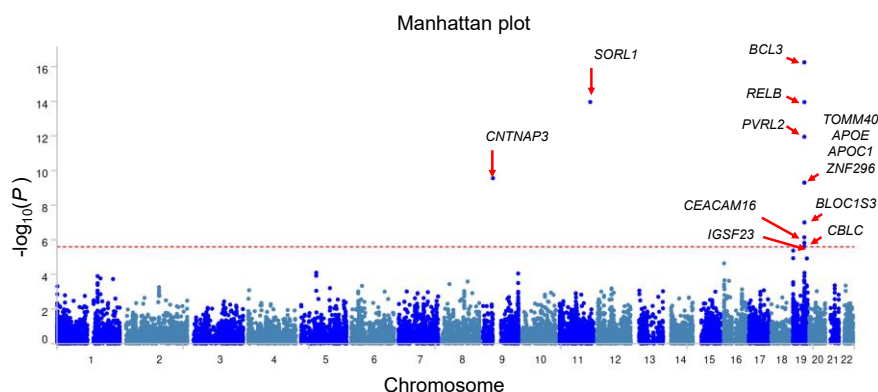


図 3 UK バイオバンクデータとのトランスエスニックメタ解析による新規 LOAD 関連座位群の同定

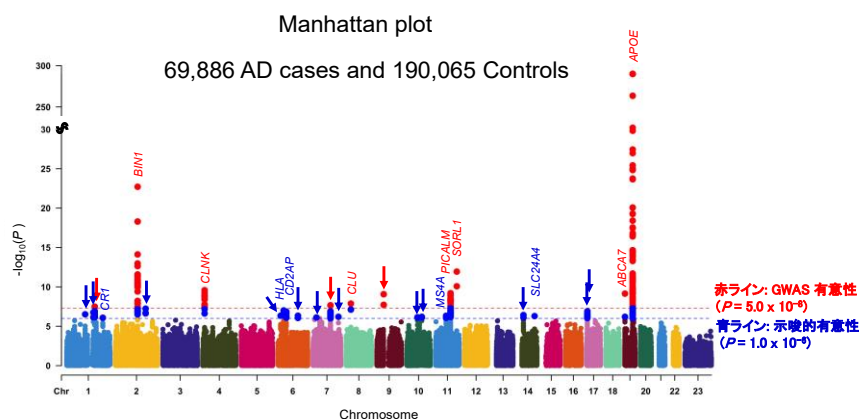


図4 メンデルランダムマイゼーション法による新規DLB関連座位と臨床パラメータとの因果関係の検出

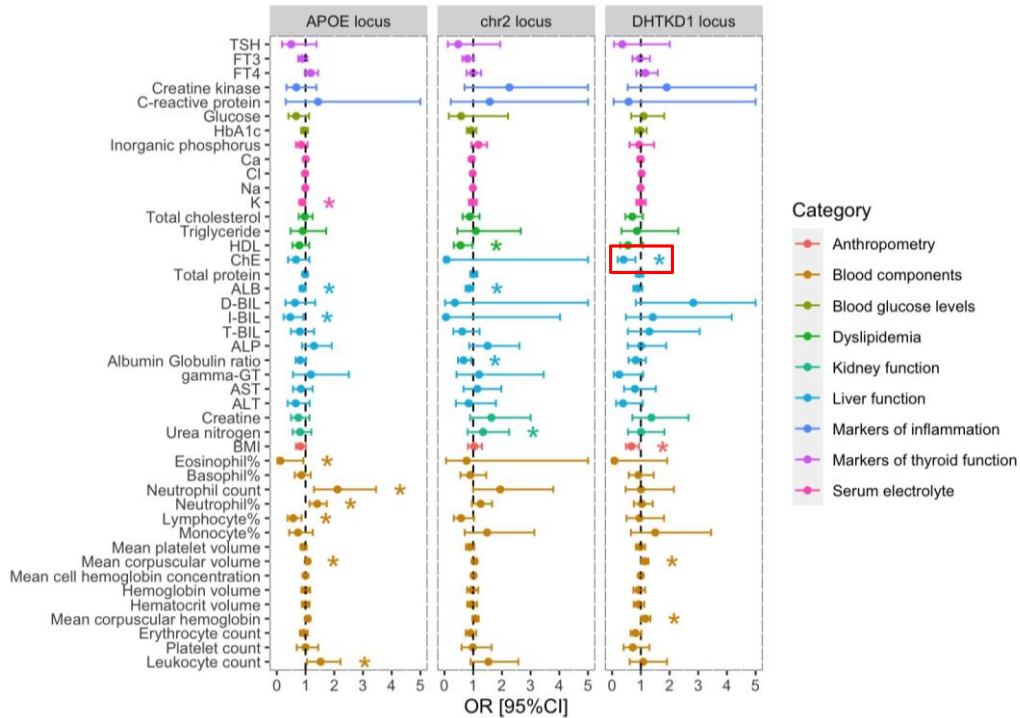


図5 *Sharnin* G183R ノックインマウスの解析 (IntelliCage による集団型全自動行動・記憶学習測定)

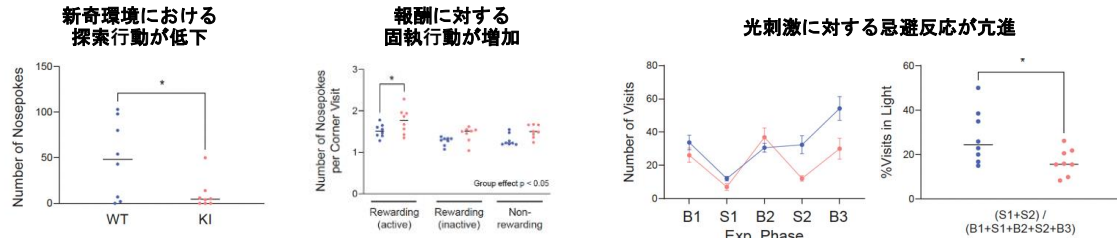
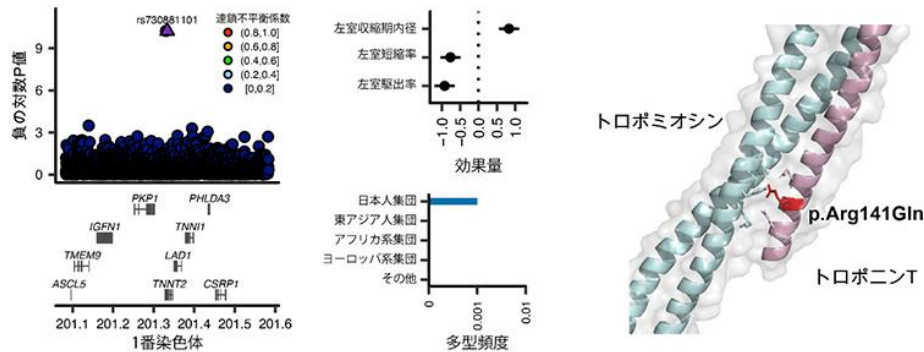


図6 大規模QTL-GWASによる心機能低下・心不全を来す日本人特有の *TNNT2* 遺伝的バリエーションの同定



D. 考察と結論

民族に特化した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データ、トランスクリプトームデータ、さらには全ゲノム配列解析データ、プロテオミクスデータを蓄積、活用した老年病、特に認知症やそのリスク疾患である心疾患の大規模なゲノム、オミクス解析を進めてきている。日本人における認知症に関連した候補遺伝子座位群を大規模 GWAS により同定し、遺伝子発現量の形質座位とタンパク質発現量の形質座位との関連から疾患候補遺伝子やバイオマーカーとなりえる遺伝子を絞り込んできている。さらに UK バイオバンクにおける約 24 万例を用いたメタ解析では、民族共通の新規 LOAD 関連遺伝子座位を複数同定することに成功している。日本人大規模 GWAS データを用いたトランスクリプトーム関連解析 (TWAS) からは脳における 3 遺伝子群が新たに LOAD 感受性であることを見出し、ITGB3 遺伝子座位の血液における遺伝子発現量が明らかに健常人 (CO) と LOAD 患者では異なることを確認した。これは遺伝的にコードされた遺伝子発現の LOAD と CO 間での違いであり早期の血液バイオマーカーとなる可能性が示唆された。今後、これらの遺伝子についてさらに詳細な機能解明を進めることから認知症治療薬のターゲットとなる分子の探索も可能となると考えられ、根本的な AD 治療薬の開発が期待できる。さらに、これらのデータを用いたドラッグリポジショニング解析では、日本人のみおよび日本人と欧米人との統合データで共に血圧および高脂血症における治療薬が LOAD 予防薬、治療薬候補 (血圧については ACE 関連やエンドセリン関連、高脂血症については CETP や PCSK9 の阻害薬等) として統計学的有意性を持って挙がってきている。民族に特化したジェノタイピングアレイデータの一部を用いた LOAD GWAS において複数の新規認知症関連候補座位を同定し、ポリジェニックリスクスコアの構築やドラッグリポジショニングの可能性についても言及できるところまできている。今後の解析規模拡大によるより多くのリスクバリエーション情報の取得が鍵となる。

患者のサンプル数は少ないが、日本人 DLB についても GWAS において詳細な解析 (211 DLB vs 6172 controls) を行っており、新規にゲノムワイド有意水準を満たす座位を 10 番染色体上 (*DHTKD1* 座位) に同定し、GWAS データを用いた他形質群との関連をメンデルランダムマイゼーション法により精査したところ、DLB GWAS により同定した新規 *DHTKD1* 座位においてコリンエステラーゼ (ChE) 量との逆関連が統計学的有意に見られた。コリンエステラーゼ阻害剤は DLB の治療薬としても利用されているが、この関連座位を持つ患者は元々 ChE 量が低く、ChE 阻害剤の投与は無効である可能性があることを暗示していると考えられた。これらの知見から今回同定した遺伝的バリエーションが DLB における治療の層別化に利用できる可能性があり、現在構築中の DLB のポリジェニックリスクスコアと組み合わせることにより DLB の正確な予知も含めた診断や疾患層別化に寄与できると共に新規関連遺伝子の機能解析を通じた真の DLB 病態解明と革新的な創薬分子の探索が期待できる。

このように大規模ゲノム解析を基盤としたデータ駆動型解析により真の疾患関連バリア

ント、分子群を同定し、その情報を基に根本的な疾患発症メカニズム、病態の解明を行うことはエビデンスに基づく革新的な創薬や早期の疾患発症予測法開発への近道である。日本における LOAD や DLB といった認知症のゲノム研究については、糖尿病など他の生活習慣病と比較して解析規模が小規模であることは歪めないが、今後、さらなるゲノムデータの蓄積、大規模化とマルチオミクスデータを統合した病態解明と次世代医療開発に資するエビデンス創出のための解析の統合化を図る必要がある。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

※発表誌名、巻号・頁・発行年等も記載すること。

- 1) Polygenic effects on the risk of Alzheimer's disease in the Japanese population. Kikuchi M, Miyashita A, Hara N, Kasuga K, Saito Y, Murayama S, Kakita A, Akatsu H, Ozaki K, Niida S, Kuwano R, Iwatsubo T, Nakaya A, Ikeuchi T. *Alzheimer's Research and Therapy* 2024; 16 (1): 45. doi: 10.1186/s13195-024-01414-x.
- 2) CRISPR/Cas9-mediated knock-in cells of the late-onset Alzheimer's disease-risk variant, SHARPIN G186R, reveal reduced NF-κB pathway and accelerated Aβ secretion. Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, Shigemizu D, Niida S, Ozaki K. *Journal of Human Genetics* 2024 69(5):171-176. doi: 10.1038/s10038-024-01224-x.
- 3) 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. Identification of potential blood-based biomarkers for frailty by using an integrative approach. *Gerontology*. 2024; 70: 630-638. doi: 10.1159/000538313.
- 4) Ito S, Takuwa H, Kakehi S, Someya Y, Kaga H, Kumahashi N, ... Ozaki K, et al. A genome-wide association study identifies a locus associated with knee extension strength in older Japanese individuals. *Commun Biol*. 2024; 20;7: 513. doi: 10.1038/s42003-024-06108-6.
- 5) 尾崎浩一. 「日本発、世界初のゲノムワイド関連解析」 *BIO Clinica* 2024 年 10 月号 (9 月 10 日発行) p33-38.
- 6) Koyama S, Liu X, Koike Y, Hikino K, Koido M, Li W, Akaki K, Tomizuka K, Ito S, Otomo N, Suetsugu H, Yoshino S, Akiyama M, Saito K, Ishikawa Y, Benner C, Natarajan P, Ellinor PT, Mushiroda T, Horikoshi M, Ikeda M, Iwata N, Matsuda K;

- Biobank Japan Project; Niida S, Ozaki K, Momozawa Y, Ikegawa S, Takeuchi O, Ito K, Terao C. Population-specific putative causal variants shape quantitative traits. *Nature Genetics* 2024; 56(10):2027-2035. doi: 10.1038/s41588-024-01913-5.
- 7) Kimura T, Fujita K, Sakurai T, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D. Whole-genome sequencing to identify rare variants in East Asian patients with dementia with Lewy bodies. *npj Aging* 2024; 10, 52. doi: 10.1038/s41514-024-00180-2.
- 8) Yamakawa A, Suganuma M, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D. Alzheimer's disease may develop from changes in the immune system, cell cycle, and protein processing following alterations in ribosome function. *Scientific reports* 2025 15(1):3838. doi: 10.1038/s41598-025-88526-y.
- 9) Mitsumori R, Asanomi Y, Morizono T, Shigemizu D, Niida S, Ozaki K. A genome-wide association study identifies a novel East Asian-specific locus for dementia with Lewy bodies in Japanese subjects. *Molecular Medicine* 2025 31: 87. doi: 10.1186/s10020-025-01115-7.

2. 学会発表

- 1) 木村哲晃, 山川明子, 菅沼睦美, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 重水大智. 日本人の大規模ゲノム解析を通して免疫の側面から見たアルツハイマー病. 第24回日本抗加齢医学会総会. 2024/6/1. 熊本. 口頭
- 2) 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. 日本人における孤発性アルツハイマー病の大規模ゲノムワイド関連解析. 6NC リトリート 2024. 2024/4/13. 東京. ポスター
- 3) 尾崎浩一. 大規模ゲノム解析を基盤とした認知症研究. 熊本大学大学院生命科学研究部付属健康長寿代謝制御研究センター国立長寿医療研究センター 第2回共同シンポジウム. 2024/3/30. 大府. 口頭
- 4) 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). 2024/7/28-8/1. Philadelphia. ポスター
- 5) 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). 2024/7/28-8/1. Philadelphia. ポスター
- 6) 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). 2024/7/28-8/1. Philadelphia. ポスター
- 7) Mutsumi Suganuma, Motoki Furutani, Tohru Hosoyama, Risa Mitsumori, Rei Otsuka, Marie Takemura, Yasumoto Matsui, Yukiko Nakano, Shumpei Niida, Kouichi Ozaki, Shosuke Satake, Daichi Shigemizu. An integrative approach to detect potential blood-based biomarkers for frailty. 10th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia (ACFS 2024). 2024/10/10. バンコク. ポスター
- 8) 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. 2024/10/12. 札幌. 口頭
- 9) 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. 日本人類遺伝子学会第 69 回大会. 2024/10/12. 札幌. 口頭
- 1 0) 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. 2024/10/12. 札幌. ポスター
- 1 1) Tetsuaki Kimura, Kosuke Fujita, Takashi Sakurai, Shumpei Niida, Kouichi Ozaki, and Daichi Shigemizu. Whole genome sequencing reveals East Asian specific rare variants in CDH23 associated with dementia with Lewy bodies. 日本人類遺伝子学会第 69 回大会. 2024/10/11. 札幌. 口頭
- 1 2) 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, Naha. ポスター
- 1 3) Yuya Asanomi, Tetsuaki Kimura, Nobuyoshi Shimoda, Daichi Shigemizu, Shumpei Niida, Kouichi Ozaki. Functional analyses for the late-onset Alzheimer' s disease-risk variants of *SHARPIN* using CRISPR/Cas9-mediated knock-in cells. American Society of Human Genetics 2024 Annual Meeting. 2024/11/6. デンバー. ポスター
- 1 4) Risa Mitsumori, Yuya Asanomi, Akinori Miyashita, Takashi Morizono, Norikazu Hara, Daichi Shigemizu, Takeshi Ikeuchi, Shumpei Niida, Kouichi Ozaki. Identification of multiple new loci associated with late-onset Alzheimer' s disease in Japanese. American Society of Human Genetics Annual meeting 2024.

2024/11/6. デンバー. ポスター

- 1 5) 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. 郡山. 2024/11/21-23. ポスター
- 1 6) 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. 郡山. 2024/11/21-23. 口頭
- 1 7) 宮下哲典, 原範和, 大日方藍, 月江珠緒, 長谷川舞衣 春日健作, 菊地正隆, 吉田真理, 柿田明美, 吉田真理, 佐野輝典, 高尾昌樹, 荒川晶, 齊藤祐子, 村山繁雄, 金田大太. 橋詰良夫, 光森理紗, 尾崎浩一, 池内健. *APOE* のゲノム・トランスクリプトーム: レアミスセンスバリエーションと脳内遺伝子発現. 第 43 回日本認知症学会学術集会. 郡山. 2024/11/21-23. 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