

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07271

研究課題名(和文)APOEのミスセンスレアバリエント解析：脂質代謝とアルツハイマー病の関連を探る

研究課題名(英文) Missense rare variant analysis of APOE: Exploring the link between lipid metabolism and Alzheimer's disease

研究代表者

宮下 哲典 (Miyashita, Akinori)

新潟大学・脳研究所・准教授

研究者番号：60323995

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：アポリipoprotein E遺伝子(APOE)はアルツハイマー病(AD)の強力な感受性遺伝子である。近年、欧米において、マイナーアレル頻度(MAF)が1%未満のAPOEレアミスセンスバリエント(RMVs)に着目した解析が展開されており、ADの病態を左右する重要な発見に結び付いている。しかし、2020年の時点で、日本人を対象としたそのような解析は全く行われていなかった。そこで申請者は本研究プロジェクトを立案し、日本人のAPOE RMVsの探索を実施した。本研究プロジェクト期間中に5,800例以上の検体を解析対象とした。その結果、日本人を含む東アジア人にも認められるRMVsの存在が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疾患の病因解明や新たな治療戦略を創出する上で、アミノ酸置換や機能喪失を引き起こすレアバリエントの同定とその機能解析は、大きなブレイクスルーをもたらす可能性がある。例えば、APOEで同定されたクライストチャーチバリエントは神経細胞内に蓄積する毒性の高いリン酸化タウタンパクに対して抵抗性を示すことが明らかにされた。本研究プロジェクトを通じて同定されたAPOE RMVsの機能解析を今後展開することで、このような病態と関わりが理解されると期待される。

研究成果の概要(英文)：The apolipoprotein E gene (APOE) is a significant susceptibility gene for Alzheimer's disease (AD). In recent years, studies in Western countries have focused on rare missense variants (RMVs) of APOE with a minor allele frequency (MAF) of less than 1%, leading to important discoveries that impact the pathology of AD. However, by 2020, no such studies had been conducted on Japanese individuals. Consequently, the applicant initiated this research project to investigate APOE RMVs in the Japanese population. During the project, more than 5,800 subjects were analyzed. The results revealed the presence of RMVs that are unique to East Asians, including Japanese individuals.

研究分野：神経疾患

キーワード：APOE アルツハイマー病 感受性遺伝子 バリエント レアミスセンスバリエント コモンミスセンスバリエント

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

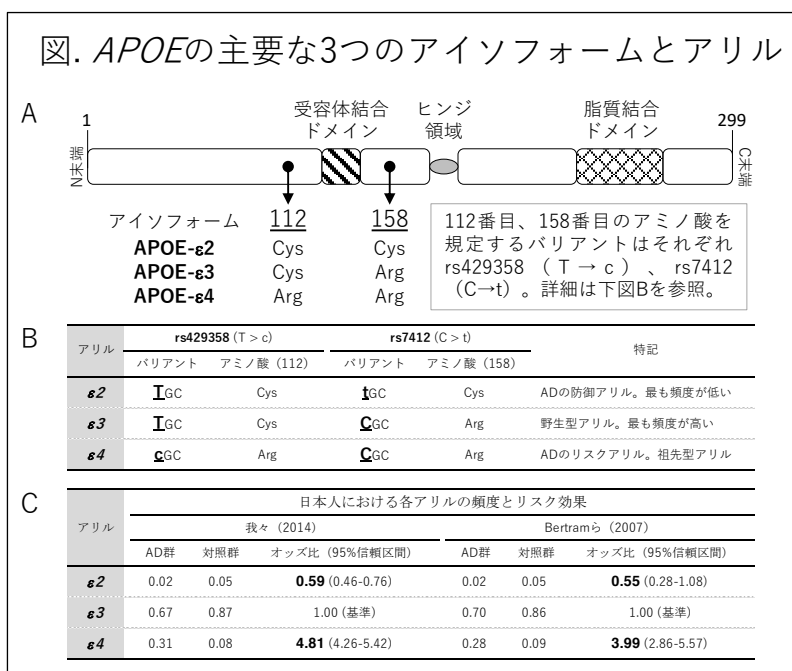
アミノ酸置換や機能喪失をもたらすレアバリアントの遺伝学的な検証と機能解析が AD 病態の解明や創薬開発に求められていた。

大規模な双生児研究によって、AD のおよそ 6 割は遺伝要因に起因することが分かった。これは先天要因としてのゲノム配列情報を軽視できないことを意味している。ヒトゲノムプロジェクトに代表される基盤的な大規模ゲノムプロジェクト、ジーンチップや次世代シーケンサーなどの解析プラットフォームの技術革新。これらによって AD の感受性遺伝子探索研究は 2000 年以降一気に進んだ。1993 年に報告された *APOE* に加え、今では 90 を超える AD 感受性遺伝子・座位が見出されている。その中で *APOE* は AD と最も強力に関連し、人種を超えて再現性が認められる。

近年の大規模ゲノムワイド関連解析によって、*APOE* とその周辺領域の AD 感受性は突出していることが判明し、*APOE* と AD の遺伝的な関連は決定的となった。しかし、アミノ酸置換や機能喪失を伴うレアバリアントの同定とその機能解析ほとんど皆無であり、生物学的な意義付けがなされていなかった。レアバリアントは特に人種や集団に固有であることが多い。従って、日本人を対象とした独自の詳細な解析がまさに求められていた。

### 2. 研究の目的

AD 最大の感受性遺伝子 *APOE* のミスセンスレアバリアント解析を通して、AD 病態に関与する分子基盤を脂質代謝の視点からアプローチするための布石を打つ。



*APOE* は C 末端側に脂質結合ドメインを有する脂質結合タンパクである (図)。コレステロール等の脂質の輸送・代謝に関与し、体内の脂質レベルをコントロールしているが、その破綻は脂質異常症や動脈硬化、AD につながり得ることが報告されている。しかし、未だにどのような分子経路が具体的に AD 発症に関与しているのかは不明である。特に、*APOE* のミスセンスレアバリアントを考慮した遺伝学的、機能的な解析や考察は今のところ無い。

### 3. 研究の方法

日本全国の医療・研究機関で収集された約 2,500 例からなるコホート NIG (以後 NIG) と東北メディカルメガバンク機構で収集された約 3,300 例の地域健常者から成るコホート ToMMo (以後 ToMMo) を解析対象として、*APOE* RMVs の同定を試みた。NIG に対してサンガーシーケンシング、あるいは全エクソームシーケンシングを実施し、*APOE* のレアミスセンスバリアント (RMVs: マイナーアリル頻度は 1%未満) を同定した。ToMMo については、既存の個々人の遺伝型データ (3.5KJPNv2) を入手し、*APOE* の RMVs を抽出した。

同定された RMVs の集団における頻度を精査し、日本人特有の RMVs かどうかを明らかにした。また、*APOE* の 6 つのコモンな遺伝型 ( $\epsilon 2^*2$ ,  $\epsilon 2^*3$ ,  $\epsilon 2^*4$ ,  $\epsilon 3^*3$ ,  $\epsilon 3^*4$ ,  $\epsilon 4^*4$ ) やアリル ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ) との関連についても精査した (図)。具体的には、同定された RMVs はどの遺伝型やアリルに最も多く認められるかを調べた。

また、末梢血リポタンパク（総コレステロール [TC]、高比重リポタンパク [HDL]、低比重リポタンパク [LDL]、中性脂肪 [TG]）との関連についても検討した。

#### 4. 研究成果

NIG と ToMMo から、計 14 個の RMVs を見出した（マイナーアレル頻度の範囲：0.02-0.73%）。14 個のうち 10 個の RMVs については、欧米で存在しない、もしくは既存のゲノムデータベース（1000 genomes、gnomAD exomes/genomes）上に存在しない、東アジア人に特異的な RMVs であった。一方、海外からの既報の 5 個の RMVs（rs769452 [ピッツバーグ]、rs121918393 [クライストチャーチバリエーション]、rs769455、rs199768005 [ジャクソンビルバリエーション]、rs267606661）については、本研究では全く検出されなかった。

上記 14 個の同定されたそれぞれの RMVs について、その保因者を通常のコモンな *APOE* 遺伝型で展開して精査した。その結果、RMV 保因者の多くが *e3/e3* の遺伝型を有することが分かった。アレルについては、遺伝型の結果を反映するようなかたちで、*e3* アレルと共分離する可能性が示唆された。

それぞれの RMV の保因者と非保因者との間で、末梢血の TC、HDL、LDL、TG の量を比較した。いずれの RMV においても両者の間で有意差を認めなかった。一方、コモンな *APOE* アレルの保因者と非保因者との間で比較解析したところ、*e2* アレルと LDL とに有意差を認めた。また、コモンな *APOE* 遺伝型に依存した変動も認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyashita Akinori, Kikuchi Masataka, Hara Norikazu, Ikeuchi Takeshi	4. 巻 68
2. 論文標題 Genetics of Alzheimer ' s disease: an East Asian perspective	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 115 ~ 124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s10038-022-01050-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮下哲典、金田大太、原範和、月江珠緒、長谷川舞衣、春日健作、橋詰良夫、池内健
2. 発表標題 ヒト剖検脳におけるAD、LATE、PARTの感受性バリエーション解析
3. 学会等名 第41回（2022年）日本認知症学会学術集会（東京）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮下哲典、他田真理、原範和、長谷川舞衣、柿田明美、池内健
2. 発表標題 認知症のトランスクリプトーム解析：ヒト剖検脳のシングル核解析から見えてくるもの
3. 学会等名 第41回（2022年）日本認知症学会学術集会（東京）（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 宮下哲典、原範和、池内健	4. 発行年 2022年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 150
3. 書名 アルツハイマー病治療の新たなストラテジー	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	他田 真理  (Tada Mari)  (30646394)	新潟大学・脳研究所・准教授   (13101)	
研究分担者	阿部 学  (Abe Manabu)  (10334674)	新潟大学・脳研究所・准教授   (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------