

平成22年3月31日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790625

研究課題名（和文） 新規パーキンソン病の原因遺伝子単離と機能解析

研究課題名（英文） Identification of the new gene for familial parkinsonism and its functional analyses

研究代表者

船山 学 (FUNAYAMA MANABU)

順天堂大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：70468578

研究成果の概要（和文）：新しい遺伝性パーキンソン病の2つの候補原因遺伝子について、確実に原因となるかを検証した。約900例のパーキンソン病患者遺伝子について検査した結果、2人から変異が見つかった。しかし確実に原因であるという結論を出すまでには至っていない。また、この候補原因遺伝子とは別に新しい原因遺伝子がある可能性を見いだした。こちらについては更に詳細な検討を行う予定である。

研究成果の概要（英文）： To confirm the pathogenesis of the novel candidate genes for autosomal recessive-late onset familial Parkinson disease (ARLOPD), I performed mutation screening in approximately 900 patients with Parkinson disease. Although I detected the heterozygous mutation in two patients, I still cannot conclude whether the gene is the definitive causal gene for ARLOPD. In addition, I found the new locus for ARLOPD. Further investigation is needed to identify the causal gene for ARLOPD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：パーキンソン病、遺伝子、SNPs、ゲノムワイド、変異

1. 研究開始当初の背景

家族性パーキンソン病の原因遺伝子はこれまで数種単離されているが、現在単離されている原因遺伝子とその関連分子のみではパ

ーキンソン病の病態を理解することは難しい。さらに、既報の変異陽性パーキンソン病は通常の孤発性パーキンソン病の病態とは異なるところが多い。そこで、より孤発性パ

ーキンソン病に直結した新規原因遺伝子単離によるブレイクスルーが切望されている。孤発性パーキンソン病の病態に近いと考えられるモデルの一つに常染色体劣性遺伝形式でなおかつ高齢発症の家族性パーキンソン病がある。このモデルは遺伝子変異によってその遺伝子産物の機能の消失もしくは低下している状態に、加齢やさまざまな環境因子によるストレスなどが加わった結果、はじめて発症する。このようなモデルの家系は非常に稀であるが確実に存在する。研究代表者がこの家系の DNA サンプルをもちいて連鎖解析を行った結果、九州出身の一家系から2つの有力な候補遺伝子が見つかった。この遺伝子の予想される機能は驚くべきことにいずれも遺伝子発現調節に関する核内タンパクであった。このことは、本家系の病理所見から(1) 黒質ドーパミン細胞に変性がなく、(2) 細胞核内にユビキチンと TDP43 の凝集体が観察されたことから、この2つの候補遺伝子のいずれかが真の原因遺伝子である可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究では(1) 原因遺伝子を単離し、(2) その遺伝子産物の機能を明らかにし、(3) 本疾患の発症機序の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 原因遺伝子の単離: 順天堂大学パーキンソン病 DNA バンクが保有する約 2000 例の中から対象家系を絞り込み、これまでの研究成果によって見いだされた2種の候補遺伝子について変異解析を行った。さらに海外の共同研究者が保有するパーキンソン病患者 DNA 約 400 例についても解析を行った。

(2) 新たな家系を見いだすため、国内外の共同研究者およびパーキンソン病患者の会等と連携を図った。

(3) 連鎖解析を再検討するため、ゲノムワ

イド SNPs チップをもちいて、高密度ジェノタイプピングを行った。

4. 研究成果

(1) 2つの候補原因遺伝子について他の劣性遺伝性パーキンソン病家系約500例について変異解析を行った。また、海外の共同研究者が保有する約400例についても変異解析を行った。この結果、2つの候補遺伝子共にヘテロ接合体で変異をもつ2例の日本人患者を見いだした。現在この患者について臨床症状を含め詳細に検討中である。これまでのところホモ接合体または複合ヘテロ接合体で変異をもつ患者は見いだしておらず、引き続き変異解析を継続中である。

(2) 変異解析の過程において発端家系と同じ地域出身の常染色体劣性遺伝形式でなおかつ高齢発症の家系を新たに見出した。この家系は8人兄弟中4人の発症者を認め、発症年齢は平均57歳であった。しかしながらこの家系患者からは2つの候補遺伝子に変異は認めなかった。

(3) 発端家系と新たに見いだした家系は同一地域出身であり、遺伝形式・臨床症状共に酷似しているため、創始者効果が示唆された。そこで2家系が連鎖する新たな候補遺伝子領域が存在する可能性を検討するため、この2家系について SNPs array をもちいてゲノムワイド連鎖解析を行った。具体的には第1家系からは患者3名および非発症兄弟4名、第2家系からは患者3名および非発症兄弟1名のDNAをもちいてジェノタイプピングを行い、患者のみがホモ接合体である遺伝子領域を探索した。その結果、患者(計6名)のみホモ接合体である新たな候補領域を同定した。この候補領域には9種の遺伝子が存在していることが明らかになっており、対象家系の原因遺伝子単離を目指し、これら

の遺伝子について変異解析を行っている。さらに本研究から得られたSNPsの遺伝子型データをもちいて、ロッドスコアの算出をするために、共同研究者と解析システムの立ち上げ作業が進行中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Funayama M, Tomiyama H, Wu RM, Ogaki K, Yoshino H, Mizuno Y, Hattori N. Rapid screening of ATP13A2 variant with high-resolution melting analysis. *Mov Disord*. 査読有 in press.
2. Shiotsuki H, Yoshimi K, Shimo Y, Funayama M, Takamatsu Y, Ikeda K, Takahashi R, Kitazawa S, Hattori N. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *J Neurosci Methods*. 査読有 2010 Mar 30. [Epub ahead of print]
3. Evangelou E, Maraganore DM, Annesi G, et al. [23 番中 23 番目 (consortium)], Non-replication of association for six polymorphisms from meta-analysis of genome-wide association studies of Parkinson's disease: Large-scale collaborative study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 査読有 153B(1):220-228 2009.
4. Kanai K, Asahina M, Arai K, Tomiyama H, Kuwabara Y, Uchiyama U, Sekiguchi Y, Funayama M, Kuwabara S, Hattori N, Hattori T. Preserved cardiac ¹²³I-MIBG uptake and lack of severe autonomic dysfunction in a PARK9 patient. *Mov Disord*. 査読有 24(9):1403-4 2009.
5. Momma K, Funayama M, Li Y, Ichinose H, Motoyoshi K, Hattori N, Mizuno Y, Kamakura K. A new mutation in the GCH1 gene presents as early-onset Parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 査読有 15(2):160-1 2009.
6. Mellick GD, Siebert GA, Funayama M, Buchanan DD, Li Y, Imamichi Y, Yoshino H, Silburn PA, Hattori N. Screening PARK Genes for Mutations in Early Onset Parkinson's Disease Patients from Queensland, Australia. *Parkinsonism Relat Disord*. 査読有 15(2):105-9 2009.
7. Tomiyama H, Kokubo Y, Sasaki R, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Mizuno Y, Hattori N, Kuzuhara S. Mutation analyses in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Kii, Japan. *Mov Disord*. 査読有 23(16):2344-8 2008.
8. Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo S, Mizuno Y, Toda T, Hattori N. LRRK2 P755L variant in sporadic Parkinson's disease. *J Hum Genet*. 査読有 53(11-12):1012-5 2008.
9. Funayama M, Li Y, Tsoi TH, Lam CW, Ohi T, Yazawa S, Uyama E, Djaldetti R, Melamed E, Yoshino H, Imamichi Y, Takashima H, Nishioka K, Sato K, Tomiyama H, Kubo S, MD, Mizuno Y, Hattori N. Familial parkinsonism with digenic parkin and PINK1 mutations. *Mov Disord*. 査読有 65(6):802-8 2008.

10. Kumazawa R, Tomiyama H, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Yoshino H, Yokochi F, Fukusako T, Takehisa Y, Kashihara K, Kondo T, Elibol B, Bostantjopoulou S, Toda T, Takahashi H, Yoshii F, Mizuno Y, Hattori N. Mutation analysis of the PINK1 gene in 391 patients with Parkinson' s disease. Arch Neurol. 査読有 65(6):802-8, 2008.
 11. Ross OA, Wu YR, Lee MC, Funayama M, Chen ML, Soto AI, Mata IF, Lee-Chen GJ, Chen CM, Tang M, Zhao Y, Hattori N, Farrer MJ, Tan EK, Wu RM. Analysis of Lrrk2 R1628P as a risk factor for Parkinson' s disease. Ann Neurol. 査読有 64(1): 88-92, 2008.
 12. Ning Y, Kanai K, Tomiyama H, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Sato S, Asahina M, Kuwabara S, Takeda A, Hattori T, Mizuno Y, Hattori N, PARK9-linked parkinsonism in Eastern Asia: Mutation detection in ATP13A2 and clinical phenotype. Neurology 査読有 70(162): 1491-1493, 2008.
- [学会発表] (計 8 件)
1. 船山学, 富山弘幸, 柳瀬貴章, Ruey-Meei Wu, 大垣光太郎, 吉野浩代, 水野美邦, 服部信孝; 高分解能融解曲線分析法をもちいた ATP13A2 A746T 多型の大規模解析. 第 3 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (2009. 10. 10. 東京).
 2. 船山学, 富山弘幸, 柳瀬貴章, 吉野浩代, 水野美邦, 服部信孝; Hi-Res Melting 法をもちいた ATP13A2 A746T 多型の高速度解析. 日本人類遺伝学会 第 54 回大会 (2009. 9. 25. 東京).
 3. Funayama M, Tomiyama H, Wu RM, Yoshino H, Ogaki K, Mizuno Y, and Hattori N. Rapid screening of *ATP13A2* variant with high-resolution melting analysis. Genetic Epidemiology of Parkinson' s Disease 4th annual meeting. (2009. 7. 8. Tübingen, Germany).
 4. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 富山弘幸, 久保紳一郎, 水野美邦, 服部信孝; SNP chip による家族性パーキンソン病の linkage 解析. 第 50 回日本神経学会総会 (2009. 5. 22. 仙台) .
 5. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝; NDUFV2^{+/-} マウスにおける MPTP 感受性の検討. 第 8 回日本ミトコンドリア学会年会 (2008. 12. 20. 東京).
 6. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 富山弘幸, 久保紳一郎, 水野美邦, 服部信孝; Autosomal recessive late onset parkinsonism の原因遺伝子探索. 第 2 回 Movement Disorder Society, Japan 学術集会 (2008. 10. 4. 京都) .
 7. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝; NDUFV2^{+/-} マウスにおける MPTP 感受性の検討. 生体機能と創薬シンポジウム 2008 東京 (2008. 9. 5. 東京).
 8. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 水野美邦, 服部信孝; Autosomal

recessive late onset parkinsonism の
原因遺伝子探索. 第 49 回日本神経学
会総会 (2008. 5. 16. 横浜) .

6. 研究組織

(1) 研究代表者

船山 学 (FUNAYAMA MANABU)
順天堂大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号 : 70468578

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし