

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591706

研究課題名(和文)モデル動物など多角的研究方法によるアルツハイマー病関連遺伝子の同定とその機構解明

研究課題名(英文) Identification of modifier genes of Alzheimer's disease amyloid pathology using a mouse-to-human translational approach

研究代表者

森原 剛史 (Moriyama, Takashi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90403196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々はアルツハイマー病の中心病理である脳内A β 蓄積量がマウスストレイン間で大きく異なることを見出した。マウスストレインの差異をトランスクリプトーム解析するというこれまでにない研究戦略を立案実行し、A β 蓄積修飾因子KLC1 splice variant E(KLC1 E)の同定に成功した。Klc1とA β 蓄積の関係はマウスのゲノム解析でも確認された。マウスにおいてDBA/2由来のKlc1アレルを持つとKlc1E発現量が低く脳内アミロイド 蛋白蓄積量も低くなることが解明された。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) is a common, complex neurological disease caused by numerous genetic and environmental factors making the identification of sporadic AD related genes difficult. To overcome these difficulties, we combined a mouse model of Abeta accumulation and transcriptomics, which simplifies the complexity, yet increases the statistical power for such a genetic screen, and identified Klc1 variant E as an Abeta accumulation modifier in vivo. Notably, these results translated to humans where the expression levels of KLC1 variant E in brain were significantly higher in AD than control subjects. To our knowledge, this is the first report linking splicing of Klc1 to disease, and strongly implicates transport defects as a major contributor to Abeta accumulation and AD pathology.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、精神神経科学

キーワード：アルツハイマー病 疾患関連遺伝子 多因子疾患

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病の病態解明および新規治療法の開発のためにアルツハイマー病の遺伝子研究は重要である。実際、家族性アルツハイマー病原因遺伝子が同定され、アミロイド病理の重要性が明らかにされ、このアルツハイマー病の主要病理に対する治療法が臨床開発の段階まで進んでいる。

しかしながら遺伝子解析技術の長足の進歩、世界中の有力研究所での多大な努力と資金投入にもかかわらず、1993年の ApoE 発見以降アルツハイマー関連遺伝子で確実なものは同定されていない。

2. 研究の目的

本研究では通常のヒト遺伝子解析とは全く異なるアプローチでアルツハイマー病関連遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

モデル動物、ヒト脳発現解析、培養細胞レベルでの機能解析を組み合わせることでこれまでになく信頼性の高い遺伝子を同定する。

アルツハイマー病の遺伝研究の困難さの主な原因として、診断基準や疾患概念のあいまいさ、発症が高齢のため長期にわたり環境の影響を受けている、が挙げられる。モデル動物を使うとこれらの問題は解決できる。に対しては、アルツハイマー病の中心病理である A β 蓄積量を理想的な条件下(統一した年齢、急速冷凍、agonal state の問題なし)で測定できる。に対しては統一された条件下の飼育が解決する。さらに、純系マウス系統を使用することで背景遺伝子はヒトに比べ大幅に単純化できるため、はるかに少ない検体でも統計学的に強力な解析が可能になる。また、ヒト剖検脳よりも高品質な RNA が容易に得られるため、mRNA の発現レベルに注目した遺伝子探索も可能となる。

なおマウス背景遺伝子と疾患の関係は、癌、免疫、薬物依存といった領域では精力的に調べられているが、アルツハイマー病分野では

なぜか長らく無視されてきた。大手製薬企業でさえ治療薬開発に背景遺伝子が不均一である APP Tg マウスを用いるという状態である。申請者は世界でもっともよく使われているアルツハイマーモデル動物の一つである Tg2576 の表現型が背景遺伝子により異なる



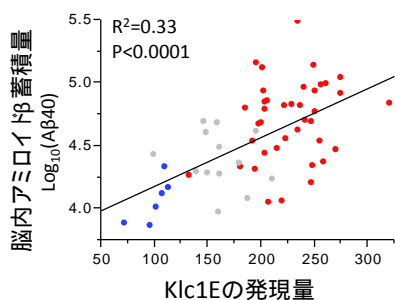
研究の流れ
ヒトだけでなくマウスにもアルツハイマー病へのなりやすさに体質差があった。その体質差の原因となる遺伝子を突き止め、ヒトのアルツハイマー病理形成に重要な分子を明らかにした。

ことに注目し解析を行った。

4. 研究成果

アルツハイマー病の中心病理であるアミロイド蛋白の脳内蓄積量が、遺伝子 kinesin light chain 1 スプライスバリエーション (KLC1E) によって制御されていることを明らかにした。我々はまず、マウスの系統間でアルツハイマー病へのなりやすさに差異があることを発見した。DBA/2 の背景遺伝子を多く持つマウスでは他の系統に比べ脳内 A β 蓄積量が 3 ~ 4 分の 1 であった ($p < 0.0001 \sim 0.001$)。この結果は DBA/2 系統マウスが持つ遺伝子のなかの、いずれかの遺伝子がアルツハイマー病理を抑制しているということを示す。このアルツハイマー病理抑制遺伝子を突き止めるために、従来の QTL 解析ではなく、独自の組み合わせをしたトランスクリプトミクス解析を行った。その結果、アルツハイマー病脳の A β の蓄積を制御する遺伝子 Klc1E を突き止めることに成功した。

Klc1 と A 蓄積の関係はマウスのゲノム解析でも確認された。マウスにおいて DBA/2 由来の Klc1 アレルを持つと Klc1E 発現量が低く脳内アミロイド 蛋白蓄積量も低くなることが解明された(下図)。マウス同様にヒトにおいてもアルツハイマー病脳(cont: n=14, AD: n=10, +30.7%, p=0.0096)および末梢リンパ球(cont: n=17, AD: n=47, +25.0%, p=0.0013)で KLC1E 量が上昇していることが確認した。



Klc1遺伝子がマウス脳内Aβ蓄積量を制御している。Klc1遺伝子が2つともDBA系統由来であったマウス個体(青)はKlc1Eの発現量が低く脳内アミロイドβ蛋白蓄積量も少ない。DBA系統由来のKlc1遺伝子を1つだけ持つマウス個体(灰色)は、Klc1Eの発現量が中等量でアミロイドβ量も中等量である。DBA由来のKlc1遺伝子を全く持たないマウス個体(赤)は、Klc1Eの発現量が高値でアミロイドβも多量に蓄積している。

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 3件)

SORL1 is genetically associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese, Koreans and Caucasians.

Miyashita A, 他 62 人中 27 番目

PLoS One. 2013;8(4):e58618

Functional genetic variation at the NRG1 gene and schizophrenia: evidence from a gene-based case-control study and gene expression analysis.

Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Umeda-Yano S, Okada T, Kamino K, Morihara T, Iwase M, Kazui H, Numata S, Ikeda M, Ohnuma T, Iwata N, Ueno S, Ozaki N, Ohmori T, Arai H, Takeda M.

Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2012 Jun;159B(4):405-13.

Association between CAG repeat length in the PPP2R2B gene and Alzheimer disease in the Japanese population.

Kimura R, Morihara T, Kudo T, Kamino K, Takeda M.

Neurosci Lett. 2011 Jan 10;487(3):354-7

[学会発表](計 8件)

Alzheimer's Association International Conference (AAIC2011)

Identification of a gene which controls Abeta accumulation using APP Tg mice with mixed genetic background: Splicing variant specific-effect of Kinesin Light Chain 1 (Klc1)

Paris, July 16-21 2011 (oral)

第30回日本認知症学会学術集会

シンポジスト

アミロイド 蛋白の沈着を規定する遺伝子 Klc1 の同定: a translational approach

東京 2011年11月11-13日

第14回 広島大学 分子細胞情報学セミナー

アルツハイマー病理修飾因子 Kinesin Light Chain 1 スプライシングバリエントの同定

: トランスクリプトミクスを介したマウスからヒトへのトランスレーショナル研究

広島 2012年7月10日

第31回日本認知症学会学術集会

学会奨励賞候補演題口演

A 蓄積規定因子 Kinesin Light Chain 1 スプライシングバリエントの同定

筑波 2012年10月26-28日

Neuroscience meeting 2012 Nano Symposium

Identification of a kinesin light chain 1 splice variant as a modifier of Alzheimer disease amyloid pathology using transcriptomics and mouse-to-human translational approach

New Orleans Oct 13-17 2012

Neuro 2013 (第36回日本神経科学大会、第

5 6 回日本神経化学大会、第 2 3 回日本神経回路学会)

An approach to complex diseases: combining model mice and transcriptomics reveals that splicing of KLC1 modifies Alzheimer's disease
Kyoto, June 20-23 2013 (Oral)

11th World Congress of Biological Psychiatry

Identification of a kinesin light chain 1 splice variants as a modifier of Alzheimer's disease amyloid pathology using a mouse-to-human translational approach

Kyoto, June 23-27 2013 (oral)

11th World Congress of Biological Psychiatry

Translational approach for development of disease-modifying drugs against Alzheimer's disease

Kyoto, June 23-27 2013 (symposium)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森原剛史 (MORIHARA Takashi)
大阪大学医学部精神医学教室・助教
研究者番号：90403196

(2)研究分担者

武田雅俊 (Takeda Masatoshi)
大阪大学医学部精神医学教室・教授
研究者番号：00179649

田中稔久 (TANAKA Toshihisa)
大阪大学医学部精神医学教室・准教授
研究者番号：10294068

(3)連携研究者

赤津裕康 (AKATHU Hiroyasu)
福祉村病院長寿医学研究所副所長

鈴木利治 (SUZUKI Toshiharu)
北海道大学大学院薬学研究科 教授

Greg Cole
UCLA Dept Neurology, Professor