

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791003

研究課題名（和文）

血族婚のあるパーキンソン病におけるオート接合性マッピング

研究課題名（英文）

Autozygosity mapping in consanguineous families with Parkinson's disease

研究代表者

李 元哲 (LI YUANZHE)

順天堂大学・医学研究科・博士研究員

研究者番号：40549292

研究成果の概要（和文）：本研究は血族婚のあるパーキンソン病家系においてオート接合性マッピング及びエクソーム解析により1つの候補原因遺伝子を同定した。それに伴い、約500例の家族性パーキンソン病において、その候補原因遺伝子の変異解析を実施したが、変異は認められなかった。よって、本研究において確実に原因遺伝子であるという結論には至らなかった。今後、解析対象を増やし、エクソーム解析を用いて候補遺伝子を網羅的に解析し、引き続き変異スクリーニングを行う予定である。

研究成果の概要（英文）：This study identified a candidate gene for Parkinson's disease by autozygosity mapping and whole-exome sequencing in consanguineous families with Parkinson's disease (FPD). Accordingly, I performed mutation analysis of the candidate gene on 500 patients with FPD. However, no mutations were detected. I still cannot conclude whether the gene is the gene responsible for FPD. Therefore, further investigations are needed to identify the gene responsible for FPD.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

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：家族性パーキンソン病、オート接合性マッピング、劣性遺伝子パーキンソン病

## 1. 研究開始当初の背景

孤発性 PD (SPD) は酸化的ストレス、ミトコンドリア機能障害、加齢変化の関与などが指摘されているが、原因、発症機序は不明である。これまで FPD の原因遺伝子として  $\alpha$ -synuclein (Science, 1997)、parkin (1998. Nature)、UCH-L1 (1998. Nature)、DJ-1 (2003. Science)、PINK1 (2004. Science)、LRRK2 (2004. Neuron)、などが同定・単離されてい

る。これらの FPD の原因として単離された遺伝子が SPD の発症機序解明の有力な手掛かりとなっている。そのため FPD の研究はますます盛んになっており、新規原因遺伝子の同定は、PD の発症機序解明に重要な知見を与えると考えられる。

これまで常染色体劣性遺伝性 PD (ARPD) の約半数から parkin 変異が同定されている。一方、原因遺伝子不明の家系も数多く存在する

ことから、未知の原因遺伝子が隠れていると予想される。しかし、これらの家系はほとんどが小さな家系であるため、連鎖解析を行うためにはマイクロサテライトマーカーより高密度のマーカーを用いることが必需である。近年マイクロアレイ技術の進歩によりゲノムワイド SNP タイピングが短期間で出来ることにより、高密度の SNP を用いた連鎖解析が容易にできるようになった。このような背景の中、我々は既知の原因遺伝子変異を認めない PD 症例群から血族婚のある家系を選出しオート接合性マッピングを行ってきた。血族婚があり且つ同胞発症者が 2 人以上存在する 14 家系 (22 症例) について Affymetrix 社の Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いて全ゲノム 90 万の SNP タイピングを行った。その結果 4 家系において 1 番染色体に共通のオート接合性領域を見出した。

この領域は約 8.5cM で約 100 個の遺伝子が存在する。続いてこの候補領域に存在するマイクロサテライトを用いて、血族婚があり発症者一人のみの 36 家系においてハプロタイプ解析を行った結果、さらに同領域にリンクしている新たな 2 家系を同定した。FPD 50 家系のうち 6 家系 (12%) において見出された本領域に FPD の新規原因遺伝子が潜んでいることが強く示唆され、本研究において候補遺伝子解析を進めることにした。

## 2. 研究の目的

本研究は既知の原因遺伝子変異を認めない FPD から血族婚のある家系を選出し、オート接合性マッピング及びエクソーム解析を行い新規遺伝子座及び新規原因遺伝子を同定することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 血族婚のあるパーキンソン病において Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いて全ゲノム 90 万の SNP タイピングし、オート

接合性マッピングを行った。

(2) ターゲット・エンリッチメントによる候補領域内のコーディング領域のみを精製し、次世代シーケンサーを用いて候補遺伝子変異解析を行った。

(3) ヒトゲノムデータベースとのホモログ解析により塩基レベル、アミノ酸レベルでの変異種類 (ミスセンス変異、ナンセンス変異、フレームシフト変異) を明らかにし、病的変異候補についてサンガー法に基づく従来のキャピラリーによる直接シーケンスを用いて再現性を確認した。

(4) 病的変異と推定されるものについて、健常者に同じ変異がないことを確認し、見出された候補遺伝子について FPD 500 例を対象に遺伝子変異解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 血族婚のあるパーキンソン病においてオート接合性マッピングを行い 4 家系において 1 番染色体に共通のオート接合性領域を見出した。本領域に FPD の新規原因遺伝子が存在することが示唆された。

(2) エクソーム解析により候補領域の塩基配列解析を行った結果、候補遺伝子の約 94% の配列情報を取得した。

(3) ヒトゲノムデータベースとのホモログ解析により、7 箇所 of 1 塩基置換 1 箇所 of 1 塩基挿入を同定した。さらに、サンガー法に基づくキャピラリーシーケンスにより変異の再現性が確認された。

(4) 多数の健常者において候補遺伝子変異の有無を確認し、候補原因遺伝子が一つにしばられた。

(5) 候補原因遺伝子について 500 例の家族性パーキンソン病において変異解析を実施したが、変異は認められなかった。よって、本研究において確実に原因遺伝子であるという結論には至らなかった。

(6) 今後、解析対象を4家系に増やし、候補領域を濃縮・精製し、次世代シーケンサーを用いて候補遺伝子を網羅的に解析し引き続き変異スクリーニングを行う予定である。

(7) また、変異スクリーニングを実施中に既知の家族性パーキンソン病の原因遺伝子であるVPS35変異陽性症例を見出した。稀ではあるが、本邦では欧米より頻度が高く創始者効果はなく、D620Nは人種を超えたホットスポットである可能性が示唆された。

#### 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7件)

- Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS. Ogaki K, Li Y, Takanashi M, Ishikawa KI, Kobayashi T, Nonaka T, Hasegawa M, Kishi M, Yoshino H, Funayama M, Tsukamoto T, Shioya K, Yokochi M, Imai H, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Tomiyama H, Hattori N. *Parkinsonism Relat Disord.* 査読有 2013; 19(1):15-20. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2012.06.019.
- VPS35 Mutation in Japanese Patients with Typical Parkinson's Disease. Ando M, Funayama M, Li Y, Kashihara K, Murakami Y, Ishizu N, Toyoda C, Noguchi K, Hashimoto T, Nakano N, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ogaki K, Yamashita C, Yoshino H, Hatano T, Tomiyama H, and Hattori N. *Mov Disord.* 査読有 2012; 27(11):1413-7. DOI: 10.1002/mds.25145.
- Analysis of C9orf72 repeat expansion in 563 Japanese patients with amyotrophic lateral sclerosis. Ogaki K, Li Y, Atsuta N, Tomiyama H, Funayama M, Watanabe H, Nakamura R, Yoshino H, Yato S, Tamura A, Naito Y, Taniguchi A, Fujita K, Izumi Y, Kaji R, Hattori N, Sobue G; Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS). *Neurobiol Aging.* 査読有 2012;33(10):2527. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.011.
- Pseudo-heterozygous rearrangement mutation of parkin. Funayama M, Yoshino H, Li Y, Kusaka H, Tomiyama H, Hattori N. *Mov Disord.* 査読有 2012;27(4):552-5. DOI: 10.1002/mds.24906.
- Visual grasping in frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (microtubule-associated with protein tau): A comparison of N-Isopropyl-p-[(123)I]-iodoamphetamine brain perfusion single photon emission computed tomography analysis with progressive supranuclear palsy. Ogaki K, Motoi Y, Li Y, Tomiyama H, Shimizu N, Takanashi M, Nakanishi A, Yokoyama K, Hattori N. *Mov Disord.* 査読有 2011;26(3):561-3. DOI: 10.1002/mds.23461.
- PLA2G6 variant in Parkinson's disease. Tomiyama H, Yoshino H, Ogaki K, Li L, Yamashita C, Li Y, Funayama M, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Hattori N. *J Hum Genet.* 査読有 2011;56(5):401-3. DOI: 10.1038/jhg.2011.22.
- Prevalence of GJB2 causing recessive profound non-syndromic deafness in

Japanese children. Hayashi C, Funayama M, Li Y, Kamiya K, Kawano A, Suzuki M, Hattori N, Ikeda K. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 査読有  
2011;75(2):211-4. DOI:  
10.1016/j.ijporl.2010.11.001.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Li Y, Funayama M, Sekine T, Li L, Yoshino H, Nishioka K, Tomiyama H, Hattori N. Genetic analysis of the GBA gene in Japanese familial Parkinson's disease. ASHG 2012 Annual Meeting, 2012. 11. 9, San Francisco, US
2. 李元哲, 舩山学, 吉野浩代, 富山弘幸, 服部信孝. 日本人若年性パーキンソン病におけるFBX07 遺伝子変異解析. 第53回日本神経学会学術大会. 平成 24 年 5 月 25 日, 東京
3. 李元哲, 舩山学, 吉野浩代, 富山弘幸, 服部信孝. Analysis of the FBX07 gene in early-onset parkinsonism. 国際人類遺伝学会第 12 回大会, 2011 年 10 月 12 日, カナダ・モントリオール.
4. 李元哲, 舩山学, 吉野浩代, 富山弘幸, 服部信孝. 血族婚のあるパーキンソン病におけるオート接合性マッピングの検討, 第 5 2 回神経学会学術大会, 2011 年 5 月 20 日, 名古屋

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

李 元哲 (LI YUNAZHE)

順天堂大学・医学研究科・博士研究員

研究者番号: 40549292