

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10301

研究課題名(和文) アルツハイマー病の新規発症分子メカニズムを解明する研究

研究課題名(英文) Research to elucidate novel molecular mechanism in Alzheimer's disease

研究代表者

森原 剛史 (Moriyama, Takashi)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：90403196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病は複雑な多因子疾患でかつ患者も不均一であることが解明の障害になっていた。我々はマウスストレイン間でアルツハイマー病理の出現しやすさが大きく異なることに着目してこの難題に切り込んだ。マウスの網羅的遺伝子研究によりA蓄積量を制御しているKLC1 slice variant Eを同定している。本研究では機能不明であったアルツハイマー病のリスク遺伝子X(非公開)がKLC1のスプライシングを強力に制御していることを見出した。これもCLIP-seqなどの網羅的実験で突破口を開き、培養細胞およびマウスで遺伝子XによるKLC1のスプライシング制御を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルツハイマー病の新たな発症分子メカニズムを明らかにしつつある。伝子X(非公開)からKLC1のスプライシング異常を経てA病理が加速するというパスウェイである。ヒト剖検脳や末梢血のKLC1解析もこのパスウェイの存在を支持した。一連の発見は複雑だけでなく不均一なアルツハイマー病患者の中に、特定の生物学的発症メカニズムをもつサブグループが存在することも意味する。アルツハイマー病患者群をKLC1パスウェイの異常の有無で細分類したうえでのKLC1パスウェイに対する治療法を開発は、これまででない効率的な治療法開発戦略になると考える。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease is a complex disease and the patients are heterogeneous. We have addressed this difficulty by noting that the susceptibility of Alzheimer's pathology to mouse strains varies greatly. We have identified KLC1 slice variant E as a regulator of the amount of A accumulation by comprehensive gene research in mice. In this study, we found that the risk gene X (not open to the public) of Alzheimer's disease, whose function was unknown, strongly regulates KLC1 splicing. Omics study uncover the connection between Alzheimer risk gene X and KLC1. in vitro and in vivo studies confirmed the regulation of KLC1 splicing by gene X.

研究分野：認知症

キーワード：アルツハイマー病 アミロイド 疾患リスク遺伝子 スプライシング Omics

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病はいまだに効果的な治療法が無い、極めて複雑な多因子疾患である。アルツハイマー病は脳という最も複雑な臓器を舞台に、加齢という分子レベルでの理解が困難な複雑な生理現象に促進されて出現する病態である。しかしながら現在解明されているアミロイド仮説は極めて単純であり、複雑なアルツハイマー病の理解には程遠い。

我々はマウスの系統間でアルツハイマー病の中心病理である A の蓄積量が大きく異なることに注目した。特殊な網羅的解析法を発案実行し、脳内 A 蓄積量を規定する遺伝子産物 **KLC1 splice variant E (KLC1vE)** を同定した (**PNAS 2014 v111 p2638**)。アルツハイマー病の新規発症メカニズムの重大な突破口を得たわけである。

## 2. 研究の目的

複雑なアルツハイマー病における新規発症分子メカニズムを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) A 病理修飾遺伝子産物である KLC1vE を制御する分子メカニズムの探索

A 病理の規程因子のひとつが KLC1 であることを発見したが、その KLC1 の分子パスウェイの上流を明らかにする。

Nat Genet 2013v45 p1452 で報告されたアルツハイマー病リスク遺伝子 X(本報告書では非公開)の産生蛋白の結合相手を網羅的に探索(CLIP-seq)したところ(フランスの研究グループとの共同研究)最強の結合相手が KLC1 であった。この結果を補強するため複数の培養細胞を用いて遺伝子 X のノックダウン(佐藤らと)し、リスク遺伝子 X による KLC1vE 発現制御を確認した。さらにヒト剖検脳(赤津らと)でリスク遺伝子 X と KLC1 の各種スプライスバリエーションの発現量を比較した。

(2) 新規アルツハイマー病関連遺伝子の同定

ヒト GWAS とマウスの背景遺伝子と A 蓄積量の関係に注目した網羅的データ(PNAS 2014 および Gene Expression Omnibus (GEO accession no. GSE40330 で公開済み))を統合的に解析し、新規アルツハイマー病遺伝子を同定する。

ヒト GWAS は我々も臨床検体を提供して参加した横浜理研のデータセット(Psychiatr Genet 2015 v25 p139 で報告済み)を使用した。統合解析(ドライ研究)は横浜理研の山口や角田らが行った combined p-value(統合 P 値)を inverse-normal methods(逆正規法)で得た。候補遺伝子については公開されている大規模 GWAS データ(International Genomics of Alzheimer's Project (IGAP))と eQTL 解析(The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project のデータベースを使用)でも検証した。さらに剖検脳を用いた候補遺伝子の確認実験(ウエット実験)も森原らが行った。

## 4. 研究成果

(1) A 病理修飾遺伝子産物である KLC1vE を制御する分子メカニズムの探索

A 修飾遺伝子産物 KLC1vE の発現量をアルツハイマー病リスク遺伝子 X(非公開)がしている事が網羅的実験及び直接的な確認実験で解明された。「リスク遺伝子 X(非公開) KLC1vE A」というアルツハイマー病分子パスウェイが明らかになりつつある。新たな層別化診断法や治療ターゲット開発につながる成果である。

リスク遺伝子 X の最強の結合相手が網羅的解析により KLC1 であることが判明した。この結果は培養細胞を用いた直接的な検証で支持された。ヒト剖検脳においてもリスク遺伝子 X と KLC1 の各スプライスバリエーションの発現量が強力的に相関していた。リスク遺伝子 X が A 病理修飾遺伝子 KLC1 のスプライシングを制御していることが複数の実験系(in vitro 網羅的解析、複数の培養細胞で 2 種類の方法による遺伝子 X の制御、ヒト剖検脳)で強力的に示された。

(2) 新規アルツハイマー病関連遺伝子の同定

日本人ヒト GWAS (Psychiatr Genet.25(4):139-46.2015 で報告)とマウスの背景遺伝子と A 蓄積量の関係に注目した網羅的データ(PNAS 2014v111 p2638 で報告)の統合解析を行った。ヒトとマウス、ゲノムと発現という異種 omics の統合である。同祖遺伝子による統合と統合 P 値による評価により統合解析に成功した。5 つの新規アルツハイマー病関連遺伝子候補(LBH, ST6GALNAC4, ARSJ, C5orf51, SHF)を得た。

表：マウスとヒトのデータの統合解析の上位遺伝子

マウスの遺伝子発現と				ヒト GWAS の		統合 P 値
アミロイド 蓄積との関係				遺伝子統計量		
遺伝子	相関係数	相関の方向	相関の P 値	遺伝子	遺伝子単位 P 値	
Lbh	-0.6941	負	0.000042	LBH	0.046239	0.000017
St6galnac4	0.5970	正	0.000797	ST6GALNAC4	0.011877	0.000033
Arsj	0.6609	正	0.000129	ARSJ	0.045099	0.000037
AW549877	-0.6009	負	0.000722	C5orf51	0.019214	0.000052
Shf	-0.6455	負	0.000208	SHF	0.044829	0.000053

373 遺伝子の統合解析において、統合 P 値が閾値より小さい 5 つの遺伝子の結果を表示。  
 遺伝子単位統計量の計算は、GATES 法(Li et al. 2011 AJHG)を使用。

この統合解析の有効性を確かめるために、既報の対規模なヨーロッパ系集団のアルツハイマー病の GWAS データも入手した。このデータでも結果は一致し、今回のアプローチ法が有効であることが確認できた。

5 つのアルツハイマー病関連遺伝子候補のうち LBH と SHF 遺伝子はその発現量がヒト剖検脳においてアルツハイマー病と健常高齢者間で有意に異なっていた (Hum Genet 2018 v137 p521)。

### (3) 多因子疾患のあらたな研究方法

本研究はマウスの背景遺伝子と疾患感受性に着目する、複数の網羅的研究を有機的に組み合わせるなど、研究戦略そのものが大変ユニークである。アルツハイマー病だけでなく、解明が難航している他の多因子疾患の分子パスウェイ同定に応用が可能と考える。

背景遺伝子により表現型が不安定になる疾患モデルマウスをお持ちの研究者はご連絡をいただければ、当方のこれまでのノウハウをすべて提供したい。疾患モデルマウスの表現型を制御する遺伝子を網羅的に同定することができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Teter B., Morihara T., Lim G.P., Chu T., Jones M.R., Zuo X., Paul R.M., Frautschy S.A., Cole G.M.	4. 巻 127
2. 論文標題 Curcumin restores innate immune Alzheimer's disease risk gene expression to ameliorate Alzheimer pathogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 432 ~ 448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nbd.2019.02.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nagata Kenichi, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Morihara Takashi	4. 巻 168
2. 論文標題 Biology of splicing in Alzheimer's disease research	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Molecular Biology and Translational Science	6. 最初と最後の頁 79 ~ 84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.pmbts.2019.08.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi-Kabata Y, Morihara T, Ohara T, Ninomiya T, Takahashi A, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi N, Shigemizu D, Boroevich KA, Ikeda M, Kubo M, Takeda M, Tsunoda T	4. 巻 137
2. 論文標題 Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- accumulation in Alzheimer's disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hum Genet	6. 最初と最後の頁 521-533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00439-018-1906-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 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 7件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Takashi MORIHARA
2. 発表標題 Heading toward Precision Medicine for Alzheimer's Disease
3. 学会等名 6th Asian College of Neuropsychopharmacology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi MORIHARA
2. 発表標題 Novel molecular mechanism in sporadic Alzheimer's disease: Omics based mouse-to-human translational research
3. 学会等名 International Taiwanese Congress of Neurology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi MORIHARA
2. 発表標題 Heading toward Precision Medicine for Alzheimer's Disease: Abeta modulator gene KLC1
3. 学会等名 WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 "Moriyama Takashi Paillard Luc Nagata Kenichi Justine Viet Sato Masahiro Akatsu Hiroyasu Ikeda Manabu "
2. 発表標題 KLC1 Splice Variant E Is Regulated By AD Risk Gene and Controls Abeta Pathology: Multi Omics and Mouse-to-Human Translational Study.
3. 学会等名 AAIC 2019 Alzheimer's Association international conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森原剛史
2. 発表標題 アルツハイマー病のプレジジョン医療にむけて：病理修飾遺伝子産物の同定とその応用
3. 学会等名 第2回NPRF(Neurology and Psychiatry Research Forum) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森原剛史
2. 発表標題 認知症のプレジジョン医療実現に向けて 疾患再分類、層別化マーカーと血液コアマーカー
3. 学会等名 第34回日本老年精神医学会 (シンポジウム)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森原剛史
2. 発表標題 小さな研究室で多因子疾患 (アルツハイマー病) の発症メカニズムを明らかにする: 新しいマウスからヒトへのトランレーショナル研究戦略
3. 学会等名 第20回ゲノム・オミックス連携推進セミナー (東北メディカルメガバンク機構) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森原剛史 佐藤真広 赤津裕康 Luc Paillard 林紀行 木村展之 鈴木利治 橋本亮太 柳田寛太 武田雅俊 池田学
2. 発表標題 アルツハイマー病の新たな発症分子メカニズム
3. 学会等名 第1回 医学系研究科 - 産業科学研究所懇話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森原剛史、永田健一、Paillard Luc、赤津裕康、橋詰良夫、林紀行、吉山 顕次、池田学
2. 発表標題 アルツハイマー病の新規発症メカニズム: A を制御するリスク遺伝子と分子パスウェイ
3. 学会等名 日本認知症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森原剛史 佐藤真広 赤津裕康 Luc Paillard 林紀行 木村展之 鈴木利治 橋本亮太 柳田寛太 武田雅俊 池田学
2. 発表標題 アルツハイマー病の新たな発症分子メカニズム
3. 学会等名 第1回 医学系研究科 - 産業科学研究所懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森原剛史
2. 発表標題 アルツハイマー病というcomplex diseaseをどう攻めるか：A mouse-to-human translational research
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T Morihara
2. 発表標題 Heading toward Precision Medicine for Alzheimer's Disease: Abeta modulator gene KLC1
3. 学会等名 WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 編集 中田研・山崎慶太 分担執筆 森原剛史ほか	4. 発行年 2017年
2. 出版社 大阪大学出版会	5. 総ページ数 460ページ 分担14ページ
3. 書名 国際・未来医療学-健康・医療イノベーション	

〔産業財産権〕

〔その他〕

認知症プレシジョン医療開発学  
<http://www.med.osaka-u.ac.jp/introduction/research/ended/precision-medicine-for-dementia>  
アルツハイマー病のA 脳内蓄積の制御機構研究  
<http://www2.med.osaka-u.ac.jp/psy/laboratories/lab01/amyloidbeta.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----