

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590923

研究課題名（和文） 常染色体劣性遺伝性家族性筋萎縮性側索硬化症の新規遺伝子同定

研究課題名（英文） Identification of a causative gene for autosomal recessive familial amyotrophic lateral sclerosis

研究代表者

高橋 祐二（TAKAHASHI YUJI）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00372392

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、常染色体劣性遺伝性の家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) の 3 家系における、原因遺伝子の同定である。そのために、ホモ接合性マッピングによる連鎖解析を行い、同定された候補領域に存在する全遺伝子のスクリーニングを行った。候補領域に存在する 40 遺伝子の全エクソンについて、特異的プライマーを設計し、コピー数変異、遺伝子再構成などの検出のため、オリゴヌクレオチドプローブを用いたアレイ CGH を作成した。これらの遺伝子の全エクソン配列解析及びコピー数解析を行ったが、明らかな変異を認めなかった。そこで、本研究に用いた 3 家系のうち、連鎖解析による候補領域の最も狭い（約 470 Mb）一家系について、エクソーム解析と全ゲノム解析を行った。その結果、dbSNP、NHLBI-ESP、1000 genomes などの公開データベースに登録されていない、ホモ接合性の新規非同義性一塩基置換を候補領域において一つのみ認め、原因遺伝子変異候補と考えられた。この塩基置換は家系内で共分離しており、日本人正常対照 461 名にも認めなかった。しかしながら、既知の原因遺伝子変異を認めない FALS 家系 20 家系におけるスクリーニングを行ったが、明らかな変異は認められなかった。同定された変異が Pathogenic mutation であるかどうかについて確定するためには、より多くの FALS における解析が必須であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：This study aims for the identification of causative genes in autosomal-recessive familial amyotrophic lateral sclerosis (AR-FALS) through a linkage analysis and mutational analysis of genes located in the candidate regions. A homozygosity mapping of three AR-FALS pedigrees revealed a candidate region overlapped among all the pedigrees. Specific primers for genomic PCR were designed for all the exons of 40 genes located in the candidate region. In addition, an array comparative genomic hybridization (array-CGH) system was designed for the detection of copy-number variations. Mutational analysis employing these systems, however, did not reveal a novel mutation. Then, a linkage analysis with the assumption of autosomal recessive mode of inheritance allowing compound heterozygous mutations was performed in one of the pedigrees with the largest pedigree size, which revealed candidate regions spanning a total length of 470 mega-bases. An exome analysis and a whole genome sequencing conducted for a proband in the pedigree revealed an novel nonsynonymous homozygous mutation which was not registered in public databases including dbSNP, NHL-ESP or 1000 genomes. The mutation was co-segregated among family members and not found in 461 Japanese controls. Mutational analysis for 20 FALS pedigrees in whom mutations in known causative genes were excluded, however, did not reveal homozygous or compound heterozygous mutations in the gene. Mutational analysis for additional FALS pedigrees was considered to be necessary to establish the pathogenicity of the identified mutation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	1,900,000	570,000	2,470,000
23年度	900,000	270,000	1,170,000
24年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基盤研究（C）

キーワード：①脳神経疾患②遺伝子③ゲノム

1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、平均 3-5 年で全身麻痺に陥る進行性の神経難病であり、家族性 ALS (FALS) が 5-10%、残りの 90-95% が孤発性 ALS (SALS) である。ALS では従来の連鎖解析が適用可能な大家系が稀少であり、原因遺伝子同定が進まない。我々は、SNP マイクロアレイを用いたハイスループット連鎖解析システムを構築して、このような小家系の解析に応用している。常染色体劣性遺伝が疑われる遺伝子未同定の ALS (AR-ALS) 家系 3 家系においてホモ接合性マッピングを行い、候補領域を見出した。

2. 研究の目的

候補領域における遺伝子変異スクリーニングを行い、ALS の原因遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

対象；遺伝子未同定の FALS 家系 23 家系(上記 3 家系を含む)、日本人正常対照 461 例
 方法：①DNA マイクロアレイを用いたハイスループット連鎖解析システムを用いて、候補領域を同定。②直接塩基配列解析法で、候補遺伝子の変異解析。③次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析及び全ゲノム解析で、原因遺伝子変異を同定。

4. 研究成果

当初 AR-FALS 3 家系におけるホモ接合性マッピングでオーバーラップする候補領域が一領域あったため、その領域に存在する全 40 遺伝子を、直接塩基配列解析法で解析したが、

変異を認めなかった。そこで、3 家系の内もつとも家系サイズの大きな家系において、複合ヘテロ変異も考慮した常染色体劣性遺伝形式仮定の連鎖解析を行い、470Mb の候補領域を得た。全ゲノム解析及びエクソーム解析を行い、公的データベースに登録のない新規のアミノ酸置換を伴うホモ接合性点変異を一個同定した。変異は家系内で共分離しており、日本人正常対照 461 例で変異を認めなかった。原因遺伝子未同定の FALS において同定された遺伝子の変異解析を行ったが、明らかな病原性変異は認めなかった。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

Exome analysis for early-onset amyotrophic lateral sclerosis with autosomal recessive mode of inheritance. Yuji Takahashi, Koichiro Higasa, Satoshi Takagi, Tadashi Kurita, Hiroyuki Ishiura, Jun Mitsui, Yoko Fukuda, Jun Yoshimura, Taro L. Saito, Shinichi Morishita, Jun Goto and Shoji Tsuji. The 62nd American Society of Human Genetics Annual Meeting , San Francisco, USA (2012)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 祐二 (TAKAHASHI YUJI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00372392

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：