

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670420

研究課題名(和文) 先端ゲノムによる家族性神経疾患遺伝子の発見と新しい家系解析方法論の開発

研究課題名(英文) Identification of causative genes and development of a new analytical method for familial neurological diseases

研究代表者

佐竹 渉 (SATAKE, WATARU)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50467594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：既知遺伝子による遺伝性疾患と未知遺伝子による遺伝性疾患の2つの遺伝性疾患が共存する患者がいる家系についてエクソーム解読を行った。Hiseq2500で超高速シーケンスを行い、BWAソフトウェアでヒトゲノム参照配列へのマッピング、GATKにてSNV (Single nucleotide variation)のコールを行った。エクソームシーケンスの平均depthはx108-121であった。遺伝性疾患共存情報に着目し、既知遺伝子周辺領域を探索。絞込みを行うことにより、2-3個の新規疾患遺伝子変異の候補を抽出した。疾患共存情報は原因変異の絞込みに有用であった。

研究成果の概要(英文)：We performed exome sequencing for families with two genetic diseases; one is caused by a known gene-mutation and the other is caused by unknown gene. We used Hiseq2500 for high throughput sequencing, mapped sequence data to human reference genome sequence by BWA software, and called SNVs (Single nucleotide variation) by GATK software. The average depth of exome sequence data was x108-121. We searched for unknown causative genes for genetic diseases by using information of genomic position at the known gene-mutations. We extracted 2-3 candidate mutations for unknown genetic diseases.

研究分野：神経内科学

キーワード：神経遺伝 エクソーム

## 1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーで日本人全ゲノム塩基配列解読すると、アミノ酸変化をともなう新規変異が1個人あたり数百個検出される。仮に、母と子が患者である小家系3名(父・子・母)に先端ゲノムを応用し、全ゲノム塩基配列解読を行うと、患者(母・子)が共通にもち父がもたないようなアミノ酸変化をともなう変異は100-200個程度検出されると試算され、まったく1つに絞れず、遺伝子同定にいたらない。

家系構成員が大きいほど、患者が受け継ぎ非患者が受け継いでいないゲノム領域を小さくしぼりこめる。この領域をゲノム統計学的にみつける方法が連鎖解析であり、通常、単一家系で疾患遺伝子を発見するには、数世代にわたる大家系が必要である。しかし、そのような新規の大家系はもはやほとんど存在せず、遺伝性神経疾患遺伝子発見の大きなかべとなっている。

## 2. 研究の目的

そこで申請者は、2つの遺伝性疾患(既知遺伝子による遺伝性疾患と、未知の遺伝子による遺伝性疾患)が共在する患者がいる家系に着目することで、この問題をクリアすることを着想した。つまり、そういった家系では、一方の既知の遺伝性疾患の原因遺伝子の近傍に、もう一方の新規の遺伝性疾患原因遺伝子が存在すると予見できる。それにより疾患遺伝子の存在する領域が判明するので、大家系はもはや必要ない。そのゲノム領域を、次世代シーケンサーなど先端ゲノムで解読すれば、小家系(両親と子など)でも、新規の遺伝性疾患遺伝子が発見へつながる。

## 3. 研究の方法

2つの遺伝性疾患(既知遺伝子による遺伝性疾患と、未知の遺伝子による遺伝性疾患)が共在する2家系(6名)に関して、次世代シーケンサーを用いた全エクソン

配列解読を行った。具体的には、患者血液からゲノムDNAを抽出、Sureselect V5キットにて全エクソン配列断片(エクソーム)を抽出。HiSeq2500で超高速シーケンスを行った。データ解析にはBWAソフトウェアでヒトゲノム参照配列へのマッピングを行った後、GATKにてSNV(Single nucleotide variation)の検出を行った。

## 4. 研究成果

家系1に関して3名のエクソームシーケンスを行い、平均depthはx121であった。家系2に関して3名のエクソームシーケンスを行い、平均depthはx108であった。

家系1・家系2に対して、既知遺伝性疾患の原因遺伝子変異近傍の変異を探索、絞り込みをおこなったところ、家系1については3つの候補変異、家系2については2つの候補変異を同定することができた。今後、異なる患者での結果の再現を行い、疾患原因変異であることを検証する。以上、遺伝性疾患共在情報は、疾患原因変異の絞り込みに有用である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計11件)

1. Matsuo H, Tomiyama H, Satake W, (11名略), Toda T, Hattori N, Shinomiya N. ABCG2 variant has opposing effects on onset ages of Parkinson's disease and gout. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015, 2(3):302-6. doi: 10.1002/acn3.167. 査読有.
2. Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H, (50名略), Satake W, Toda T, (15名略), Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015, 2(4):417-26. doi: 10.1002/acn3.185. 査読有.
3. Funayama M, Ohe K, Amo T, (11名略), Satake W, (4名略), Toda T,

- Mizuno Y, Uchiyama Y, Ohno K, Hattori N. CHCHD2 mutations in autosomal dominant late-onset Parkinson's disease: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol*. 2015, 14(3):274-82. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70266-2. 査読有.
4. Makita N, Yagihara N, Crotti L, (14名略), Satake W, Toda T, (19名略), George AL Jr. Novel calmodulin mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014, 7(4):466-74. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000459. 査読有.
  5. Saida K, Inaba Y, Hirano M, Satake W, Toda T, (7名略), Koike K. A case of Bardet-Biedl syndrome complicated with intracranial hypertension in a Japanese child. *Brain Dev*. 2014, 36(8):721-4. doi: 10.1016/j.braindev.2013.10.013. 査読有.
  6. Mizuta I, Takafuji K, Ando Y, Satake W, (11名略), Toda T. YY1 binds to -synuclein 3'-flanking region SNP and stimulates antisense noncoding RNA expression. *J Hum Genet*. 2013, 58(11):711-9. doi: 10.1038/jhg.2013.90. 査読有.
  7. Multiple-System Atrophy Research Collaboration. Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N Engl J Med*. 2013, 369(3):233-44. doi: 10.1056/NEJMoa1212115. 査読有.
  8. 佐竹 渉, 戸田 達史, 「神経・精神疾患の動向 神経疾患と遺伝子」, **日本医師会雑誌神経・精神疾患診療マニュアル**, 2013, 142: S38-39, 査読無
  9. 佐竹 渉, 「遺伝性疾患の遺伝子検査」, *Modern Physician*, 2013, 33, 625-628, 査読無
  10. 佐竹 渉, 戸田 達史, 「ゲノム多様性と神経変性疾患」, *細胞*, 2013, 45, 120-123, 査読無
  11. 佐竹 渉, 戸田 達史, 「ゲノムワイド関連解析からの知見とさらなる孤発性パーキンソン病遺伝子の発見へ向けて PARK16、BST1、-synuclein、LRRK2、Tau」, **医学のあゆみ**, 2013, 247, 1075-1078, 査読無
- [学会発表](計12件)  
<国際学会>
1. Satake W, Toda T. "Risk genes and genome research of sporadic Parkinson's disease." The 20th International Congress of Personalized Medicine, Sola City Hall (Tokyo), 2014.11.15 (11/15)
  2. Satake W, (12名略), Toda T. "Exome Association Study and 2nd SNP-GWAS of Japanese Parkinson's disease." American Society of Human Genetics Annual meeting, San Diego (USA), 2014.10.18-22 (10/20)
  3. Satake W, (3名略), Toda T. "Exome Association Study and 2nd SNP-GWAS of Japanese Parkinson's disease." Genetic Epidemiology of Parkinson's disease Annual meeting, Vancouver (Canada), 2014.9.11-13 (9/11)
  4. Satake W, (11名略), Toda T. "Exome sequencing of Parkinson's disease in order to identify genetic variants with high disease-risk." The MDS 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders,

- Stockholm (Sweden), 2014.6.8-12 (6/9)
5. Satake W, (14 名略), Toda T. Exome sequencing of Parkinson's disease in order to identify genetic variants with high disease-risk. New Frontier of Molecular Neuropathology, Tokyo Medical and Dental University M&D Tower (Tokyo), 2014.3.16-17 (3/16).
  6. Satake W, (8 名略), Toda T, Exome sequencing of Parkinson's disease in order to identify genetic variants with high disease-risk. American Society of Human Genetics Annual meeting, Boston (USA), 2013.10.22-26 (10/23)
  7. Satake W, (7 名略), Toda T, Search for rare-variant risks of Parkinson's disease by sequencing of candidate genes and exome sequencing. The MDS 17th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Sydney (Australia), 2013.6.16-20 (6/20)
- <国内学会>
8. 佐竹涉, (13 名略), 戸田達史, 「孤発性パーキンソン病のエクソーム関連解析と第 2 期 SNP-GWAS」, 日本人類伝学会第 59 回大会、タワーホール船橋 (東京), 2014.11.20-22 (11/22)
  9. 水田依久子, 佐竹涉, (11 名略), 戸田達史, 「パーキンソン病感受性遺伝子-synuclein SNP と noncoding RNA. 福岡」, 第 55 回日本神経学会学術大会、福岡国際会議場 (博多), 2014.5.21-24 (5/21)
  10. 小田哲也, 小林千浩, 熊暉, 佐竹涉, (2 名略), 戸田達史, 「遺伝学的解析により診断確定した遺伝性筋疾患家系における Laing 遠位型ミオパチー」, 第 55 回日本神経学会学術大会、福岡国際会議場 (博多), 2014.5.21-24 (5/24)

11. 佐竹涉, (12 名略), 戸田達史, 「エクソーム解読・一塩基多型解析によるパーキンソン病の遺伝背景の解明」, 2013 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ、名古屋国際会議場 (名古屋), 2013.8.29-9.1 (8/31)
12. 上田健博, 関恒慶, 佐竹涉, (3 名略), 戸田達史, 「剖検脳を用いた孤発性パーキンソン病感受性遺伝子の解析」, 第 54 回日本神経学会学術大会、東京国際フォーラム (東京), 2013.5.29-6.1

〔図書〕(計 0 件)  
なし

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)  
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/sinkei/>  
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/clgene/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

佐竹 涉 (SATAKE, Wataru)  
神戸大学大学院医学研究科・助教  
研究者番号: 5 0 4 6 7 5 9 4

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

戸田 達史 (TODA, Tatsushi)  
神戸大学大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 3 0 2 6 2 0 2 5