

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860700

研究課題名(和文) 血族婚のある多系統萎縮症の遺伝学的研究

研究課題名(英文) A genetic study of patients with multiple system atrophy from consanguineous families

研究代表者

三井 純 (Mitsui, Jun)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70579862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究期間中、親がいとこ同士で多系統萎縮症の発症者を新たに2家系収集し、既存の4家系と合わせて合計で6家系を解析対象とした。パラメトリック連鎖解析による検討では、遺伝的異質性を許容したHLODスコアの計算でも、有意と思われる候補領域の絞り込みができなかった。続いて、それぞれの家系の発症者、計6例についてエクソーム解析を行った。インハウスの日本人健常者600例を対照として、アレル頻度が0.1%未満のホモ接合性変異を抽出したが、複数家系に共通する遺伝子の変異は検出できなかった。以上の結果より、常染色体劣性遺伝形式で発症する多系統萎縮症はあったとしても稀であることが推測された。

研究成果の概要(英文)：Two consanguineous families with multiple system atrophy were newly identified, and in total, six pedigrees with multiple system atrophy were subjected to this study. In the parametric linkage analysis allowing for heterogeneity, we did not find any apparent candidate loci. Subsequently, exome sequencing analysis was conducted in six probands with multiple system atrophy. Removing variants with a minor allele frequency > 0.1%, several candidate variants in the homozygous state remained in each pedigree. However, we did not detect any common variants shared in more than one family.

研究分野：神経内科学

キーワード：遺伝学 連鎖解析 次世代シーケンサー 神経変性疾患

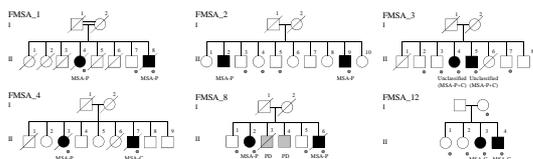
1. 研究開始当初の背景

多系統萎縮症(以下, MSA)は, 孤発性脊髄小脳変性症の大部分を占める, 原因不明の神経変性疾患の一つである. 代表的な神経変性疾患であるアルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症では, 大部分が孤発性であるが, 10%程度の患者に家族歴があり, そのような家系例の解析から, 原因遺伝子が同定されてきた. アルツハイマー病におけるアミロイド前駆体タンパク質, パーキンソン病におけるシヌクレイン, 筋萎縮性側索硬化症における TDP-43 の遺伝学的発見によって, 家族性患者のみならず, 孤発性患者の病態解明にも大きな貢献を果たしてきた.

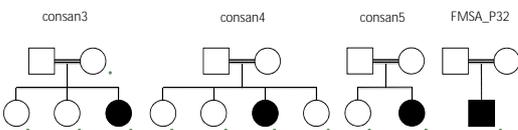
それに対して MSA では, これまで家族歴が全く報告されていないことから(Wenning GK, et al. Lancet. 1993;342:681), 遺伝因子の存在自体が不明であり, 遺伝学的解析を困難にしてきた. 2007年, 世界で初めて剖検例のある家族性 MSA が我が国から報告された(Hara K, et al. Arch Neurol. 2007;64:545-51). 家系はすべて同胞発症で, 前後の世代での発症は報告されていない. また, 両親に血族婚を持つ家系があるなど, 常染色体劣性遺伝性の遺伝形式が示唆されている.

2. 研究の目的

本研究の目的は, メンデル遺伝性, 特に常染色体劣性遺伝形式を仮定できる MSA 家系を収集して遺伝学的検討を行い, MSA の発症機序と関連のある遺伝子を同定することにある.



我々の研究室では, 上の図のように多発家系を 6 家系収集している.



さらに, 上の図のように両親がいとこ婚で子供に単独発症者がいる 4 家系を研究開始時に収集していた.

本研究では, 両親がいとこ婚で子供に単独発症者がいる家系に着目して, 連鎖解析と exome 解析を行い, 原因遺伝子を探索する.

3. 研究の方法

研究期間中, 両親がいとこ婚で子供に単独

発症者がいる家系の収集を継続して, 新たに 2 家系を追加し, 計 6 家系に対して以下の遺伝学的検討を行った.

・連鎖解析

まず複数の家系員から, 遺伝子解析の協力を得ている 6 家系については, SNP タイピングを行い, 我々の研究室で開発した連鎖解析パイプラインである SNPHiTLink (Fukuda Y, et al. BMC Bioinformatics. 2009;10:121) と allegro を用いて, 常染色体劣性遺伝形式, 完全浸透の仮定でパラメトリック連鎖解析を施行した.

・exome 解析

次に, それぞれの家系の発症者 1 例について exome 解析を施行した. Agilent の SureSelect v4+UTRs もしくは v5+UTRs キットを用いて, エクソン領域を濃縮して, HiSeq2500 の 1/4 レーン相当のシーケンスを行った. 得られた配列データは, bwa を用いてヒト参照配列 (hg19) にアライメントし, samtools を用いて変異のコールを行い, ANNOVAR を用いてアノテーションを行った.

得られた変異から, アミノ酸の変化を伴う変異 (ミスセンス変異, ナンセンス変異, スプライシング変異, indel 変異) を抽出した. さらにインハウスの健常対照者 513 例のエクソーム解析のデータを用いて, 日本人の変異アレル頻度を求め, 頻度の低い変異 (MAF < 0.1%) を抽出した. さらに, 両親が血族婚で常染色体劣性遺伝形式を仮定していることから, ホモ接合性変異を抽出した.

4. 研究成果

・連鎖解析

対象の 6 家系について, 単一遺伝子座を仮定する LOD スコアと遺伝的異質性を許容する HLOD スコアを計算した. 単一遺伝子座を仮定した計算でも, 遺伝的異質性を許容した計算でも, 連鎖の可能性のある領域は見いだせなかった.

・exome 解析

対象の 6 家系の発症者について, exome 解析を施行した. MAF < 0.1% のホモ接合性変異は, 各家系の発症者についてそれぞれ 3~7 個程度抽出された. それらの変異を持つ遺伝子について検討したが, 全て各家系に特異的な遺伝子であり, 複数家系に共通する遺伝子は検出できなかった.

以上の結果から, 常染色体劣性形式で発症する多系統萎縮症患者の頻度は比較的低く, 少なくとも数家系の解析規模では, 検出できないことが分かった. 今後は, 解析する家系統数を増やして, 検討を続けたい.

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 11 件)

- **Mitsui J**, Matsukawa T, Sasaki H, Yabe I, Matsushima M, Dürr A, Brice A, Takashima H, Kikuchi A, Aoki M, Ishiura H, Yasuda T, Date H, Ahsan B, Iwata A, Goto J, Ichikawa Y, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Tanner CM, Kukull WA, Stern MB, Lee VM, Trojanowski JQ, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Ozelius LJ, Foroud T, Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Apr;2(4):417-26. doi: 10.1002/acn3.185.
- Saigoh K, **Mitsui J**, Hirano M, Shioyama M, Samukawa M, Ichikawa Y, Goto J, Tsuji S, Kusunoki S. The first Japanese familial case of spinocerebellar ataxia 23 with a novel mutation in the PDYN gene. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Mar;21(3):332-4. doi: 10.1016/j.parkreldis.2014.12.028.
- **Mitsui J**, Tsuji S. Genomic aspects of sporadic neurodegenerative diseases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Sep 19;452(2):221-5. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.07.098.
- **Mitsui J**, Tsuji S. Mutant COQ2 in multiple-system atrophy. *N Engl J Med*. 2014 Jul 3;371(1):82-3. doi: 10.1056/NEJMc1311763.
- Yamada M, Tanaka M, Takagi M, Kobayashi S, Taguchi Y, Takashima S, Tanaka K, Touge T, Hatsuta H, Murayama S, Hayashi Y, Kaneko M, Ishiura H, **Mitsui J**, Atsuta N, Sobue G, Shimozawa N, Inuzuka T, Tsuji S, Hozumi I. Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan. *Neurology*. 2014 Feb 25;82(8):705-12. doi: 10.1212/WNL.0000000000000143.
- **Mitsui J**. Toward identification of susceptible genes for sporadic neurodegenerative disease. *Rinsho Shinkeigaku*. 2013;53(11):1336-8.
- Doi K, Monjo T, Hoang PH, Yoshimura J, Yurino H, **Mitsui J**, Ishiura H, Takahashi Y, Ichikawa Y, Goto J, Tsuji S, Morishita S. Rapid detection of expanded short tandem repeats in personal genomics using hybrid sequencing. *Bioinformatics*. 2014 Mar 15;30(6):815-22. doi: 10.1093/bioinformatics/btt647.
- Takahashi Y, Fukuda Y, Yoshimura J, Toyoda A, Kurppa K, Moritoyo H, Belzil VV, Dion PA, Higasa K, Doi K, Ishiura H, **Mitsui J**, Date H, Ahsan B, Matsukawa T, Ichikawa Y, Moritoyo T, Ikoma M, Hashimoto T, Kimura F, Murayama S, Onodera O, Nishizawa M, Yoshida M, Atsuta N, Sobue G; JaCALs, Fifita JA, Williams KL, Blair IP, Nicholson GA, Gonzalez-Perez P, Brown RH Jr, Nomoto M, Elenius K, Rouleau GA, Fujiyama A, Morishita S, Goto J, Tsuji S. ERBB4 mutations that disrupt the neuregulin-ErbB4 pathway cause amyotrophic lateral sclerosis type 19. *Am J Hum Genet*. 2013 Nov 7;93(5):900-5. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.09.008.
- Isojima T, Doi K, **Mitsui J**, Oda Y, Tokuhiko E, Yasoda A, Yorifuji T, Horikawa R, Yoshimura J, Ishiura H, Morishita S, Tsuji S, Kitanaka S. A recurrent de novo FAM111A mutation causes Kenny-Caffey syndrome type 2. *J Bone Miner Res*. 2014 Apr;29(4):992-8. doi: 10.1002/jbmr.2091.
- Ichikawa Y, Ishiura H, **Mitsui J**, Takahashi Y, Kobayashi S, Takuma H, Kanazawa I, Doi K, Yoshimura J, Morishita S, Goto J, Tsuji S. Exome analysis reveals a Japanese family with spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 1. *J Neurol Sci*. 2013 Aug 15;331(1-2):158-60. doi: 10.1016/j.jns.2013.05.018.
- **Mitsui J**, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Iwata A, Goto J, Yamamoto Y, Komata M, Shirahige K, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Takashima H, Kuwano R, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Soma H, Yabe I, Sasaki H, Aoki M, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Dürr A, Brice A,

Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Shults CW, Tanner CM, Kukull WA, Lee VM, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Trojanowski JQ, Ozelius L, Foroud T, Tsuji S. Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N Engl J Med*. 2013 Jul 18;369(3):233-44. doi: 10.1056/NEJMoa1212115.

〔学会発表〕(計 11 件)

- **Mitsui J**, Matsukawa T, Sasaki H, Yabe I, Matsushima M, Dürr A, Brice A, Takashima H, JAMSAC, NAMS-SA, Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. The 67th American Academy of Neurology Annual Meeting, Washington DC, April 22nd 2015
- **三井 純**, 松川 敬志, 石浦 浩之, 市川 弥生子, 後藤 順, JAMSAC, 村山 繁雄, 高嶋 博, 佐々木 秀直, 辻 省次. 多系統萎縮症の疾患関連遺伝子の探索. 第 55 回神経学会学術大会, 博多, 2014 年 5 月 23 日.
- **Mitsui J**. Mutations in COQ2 in Familial and Sporadic Multiple-system Atrophy. 3rd GCOE Workshop between BGI and UT. Tokyo, March 20th, 2014
- **Mitsui J**. Genetics in Multiple System Atrophy. The 13th International Parkinson's disease Symposium in Takamatsu. Takamatsu, February 21st, 2014
- **三井 純**, 松川 敬志, 石浦 浩之, 福田 陽子, 市川 弥生子, 伊達 英俊, Budrul Ahsan, 中原 康雄, 百瀬 義雄, 高橋 祐二, 岩田 淳, 後藤 順, The MSA Research Collaboration, 辻 省次. COQ2 変異は家族性・孤発性多系統萎縮症と関連する. 第 58 回日本人類遺伝学会, 仙台, 2013 年 11 月 22 日.
- **三井 純**. 多系統萎縮症の遺伝子解析. 千代田学術講演会, 東京, 2013 年 11 月 13 日
- **Mitsui J**, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Goto J, Yamamoto Y, Shirahige K, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Kondo T, Murayama S, Japan Multiple System Atrophy Consortium, Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer Disease, Japanese Parkinson Disease Susceptibility Gene Consortium, Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research, Dürr A, Brice A, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S for NAMS-SA, and Tsuji S.

Mutations of COQ2 in Familial and Sporadic Multiple System Atrophy. The 63rd American Society of Human Genetics Annual Meeting, Boston, October 24th 2013

- **三井 純**, 辻 省次. パーソナルゲノム解析が医療を変貌させる. 第 85 回日本遺伝学会市民公開講座, 横浜, 2013 年 9 月 21 日.
- **三井 純**, 後藤 順, 辻 省次. エクソーム解析による遺伝的異質性の高い疾患に対する遺伝子検査. 第 20 回日本遺伝子診療学会大会, 浜松, 2013 年 7 月 19 日.
- **Mitsui J**, Ichikawa Y, Goto J, Tsuji S, on the behalf of JAMSAC (Japan Multiple System Atrophy Research Consortium). Molecular genetics of multiple system atrophy: results from the Japan Multiple System Atrophy Research Consortium. The 17th International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorder, Sydney, June 16-20 2013.
- **三井 純**. Exome 解析による孤発性疾患の疾患関連遺伝子の探索. 第 54 回神経学会学術大会, シンポジウム, 東京, 2013 年 6 月 1 日.

〔図書〕(計 12 件)

- **三井 純**. 中外医学社, Clinical Neuroscience, 「中枢神経系感染症の遺伝子解析診断」, 2015 年 4 月 (2015; 33(2): 228-9)
- **Mitsui J**, Ishiura H, Tsuji S. Elsevier, Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease 5th edition. "DNA sequencing and other methods of exonic and genomic analyses", 2015, p. 77-85
- **三井 純**. 中外医学社, Annual Review 神経内科 2015, 「多系統萎縮症の遺伝学」, 2015 年 p. 35-41
- **三井 純**. 診断と治療社, 神経内科研修ノート, 「多系統萎縮症」, 2014 年 p. 314-7
- **三井 純**. 科学評論社, 神経内科, パーソナルゲノム診療の展望」, 2014 年 6 月 (2014; 80(6): 672-6)
- **三井 純**. 北隆館, BIO Clinica, 「多系統萎縮症の関連遺伝子」. 2014 年 4 月 (2014; 29(6): 93-7)
- **三井 純**. 日本臨床社, 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No.27 神経症候群 (第 2 版), 「多系統萎縮症」, 2014 年, p.341-344
- **三井 純**. 日本臨床社, 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No.27 神経症候群 (第 2 版), 「ゴーシェ病およびその保因者」, 2014 年, p.120-123

- **三井 純** . 西村書店 , カラー版内科学 , 「錐体外路性疾患」, 2013 年 , p.1605-1611
- **三井 純** . 医歯薬出版株式会社 , 医学のあゆみ , 「パーキンソン病におけるグルコセレブロシダーゼ遺伝子の関与」, 2013 年 12 月 (2013; 247(10): 1089-91)
- **三井 純** . 医歯薬出版株式会社 , 医学のあゆみ , 「パーキンソン病と多系統萎縮症における遺伝因子」, 2013 年 11 月 (2013; 247(5): 445-449)
- **三井 純** . 羊土社 , 実験医学 , 「パーソナルゲノミクスに基づく孤発性神経変性疾患の解明」, 2013 年 7 月増刊号 (2013; 31(15): 160-164)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三井 純 (MITSUI, Jun)

東京大学医学部附属病院神経内科助教

研究者番号 : 70579862