

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 長寿・障害総合研究事業 認知症研究開発事業  
(英語) Research and development grant for dementia

研究開発課題名：(日本語) 認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と網羅的ゲノム配列解析研究  
(英語) Cohort and comprehensive genome studies to elucidate fundamental molecular bases of Alzheimer disease

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医学部附属病院 教授 辻 省次  
所属 役職 氏名：(英語) The University of Tokyo Hospital, Professor, Shoji Tsuji

実施期間：平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 認知症の根本的な原因の解明を目指したコホート研究と網羅的ゲノム配列解析研究  
開発課題名：(英語) Cohort and comprehensive genome studies to elucidate fundamental molecular bases of Alzheimer disease

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 神経内科 助教 三井純  
所属 役職 氏名：(英語) Assistant professor, Department of Neurology, The University of Tokyo, Jun Mitsui

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 神経内科 助教 石浦浩之  
所属 役職 氏名：(英語) Assistant professor, Department of Neurology, The University of Tokyo, Hiroyuki Ishiura

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 神経内科 助教 宮川統爾  
所属 役職 氏名：(英語) Assistant professor, Department of Neurology, The University of Tokyo, Toji Miyagawa

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 神経内科 教授 山崎力  
所属 役職 氏名 : (英語) Professor, Clinical Research Support Center, The University of  
Tokyo, Tsutomu Yamazaki

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 神経内科 助教 上村夕香理  
所属 役職 氏名 : (英語) Assistant professor, Clinical Research Support Center,  
The University of Tokyo, Yukari Uemura

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### ・ 研究開発代表者による報告の場合

#### 1. アルツハイマー病罹患同胞対、孤発性アルツハイマー病症例におけるアルツハイマー病発症に関連する遺伝子の探索

本研究開発の目的は、アルツハイマー病罹患同胞対のノンパラメトリック連鎖解析、および、エクソーム解析に基づき、アルツハイマー病発症のリスクを高める遺伝子を同定することを目的としている。

罹患同胞対解析については、81家系173名（一部3同胞家系も含む）を用いて、Affymetrix SNP 6.0を用いて genotyping を行った。Genotyping Console を用いて SNP を抽出し、SNP-HiTLink と Allegro version 2 を用いてノンパラメトリック連鎖解析を行った。NPLスコア $>3$ となる領域を見いだした。このうちDNA量に余裕のある62家系129名についてはSureSelect V4+UTRs/SureSelect V5+UTRs と HiSeq2000/2500 を用いてエクソーム解析を行った。BWA を用いて参照配列への alignment を行い、SAMtools を用いて変異を抽出した。コントロール667名のエクソームデータを用いて、同胞で共通する変異を抽出した。既知のメンデル遺伝性の認知症性疾患（*PSEN1*, *PSEN2*, *GRN*, *MAPT*, *PRNP*, *CSF1R* など）における変異の有無について検討した後、ゲノムワイド関連解析で見いだされている遺伝子の rare variants（アレル頻度1%以下）を探索し、8家系で rare variants を共有する遺伝子を同定した。

研究開始後、平成27年度に追加予算を頂き、孤発性アルツハイマー病の大規模エクソーム関連解析を開始することができた。平成27年度には患者・対照者各々350名、平成28年度には患者・対照者各々96名について上記と同様の方法でエクソーム解析を行った。Single marker association test により、APOE ( $p=1.08 \times 10^{-28}$ , Odds ratio 3.94)に加え、オッズ比 $>1.0$ となり  $p < 10^{-4}$  となる変異を2遺伝子3変異見だし、今後解析を行う上で有力な候補遺伝子と考えられた。

#### 2. 孤発性アルツハイマー病の発症リスクを高める遺伝子の探索

孤発性アルツハイマー病に関しては、2190名の患者（男性570名、女性1,407名）及び健常対照者2498名（男性902名、女性1,226名）についてのDNAリソースの整備を行い、APOE多型のタイピングを完了した。アルツハイマー病群でAPOE $\epsilon 4$ のアレル頻度が有意に高く、 $\epsilon 2$ アレル頻度が有意に低いことが確認された。欧米人アルツハイマー病においてTREM2 rare variant (p.R47H) が遺伝的リスクとなると報告されたため、本研究において、日本人アルツハイマー病・健常対照者サンプルについてTREM2 rare variant の検討を行った。日本人アルツハイマー病におけるTREM2 p.R47Hのアレル頻度は0.04% (1/2,477)であった。健常高齢者のアレル頻度(0.08%)と比較して、TREM2 rare variant は有意なリスク遺伝子とはならなかった。それ以外に見いだされたp.H157Y, p.L211P rare variant についても、患者・対照者で有意差は認めなかった。このことから、アルツハイマー病のレアバリエントには人種差があることが推察された。また、アルツハイマー病罹患同胞対のエクソーム解析で見出された rare variant について孤発例症例を用いた症例-対照解析を行い、オッズ比が2程度の効果をこれらの rare variant が有することを明らかにした。

### 3. アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進

アルツハイマー病の自然歴を前向き研究として取得するコホート研究の推進については、2015年2月(東京大学)、2015年4月(新潟大学)に各学内倫理委員会の承認を得ることができた。コホートデータベースの構築については、厳しい監査・モニタリングに耐えうるデータ管理システムの構築を目的に Viedoc を活用した臨床評価 EDC システムの構築を行った。画像検査(脳MRI、PIB-PET、FDG-PET)の撮像条件決定、LUMINEX アッセイを用いた脳脊髄液などのバイオマーカー測定のプロトコル作成、各神経心理検査の信頼性および妥当性の確保、認知症患者の神経心理検査や対応の経験に富む臨床心理士やCRCの確保、などのコホート環境調整に時間を要したが、コホート研究のより詳細かつ精度の高いデータ収集を行う基盤を整えることができた。2016年3月より東京大学で研究参加者組み入れを開始、新潟大学でも同7月より組み入れを開始した。2016年度末までに17名がDNAおよびRNA抽出、脳脊髄液採取、PET検査やMRIなどの画像検査、各神経心理検査を含むスクリーニングおよびベースライン評価を完了し、ベースライン時に採取したDNAを用いた網羅的ゲノム配列解析も行った。

Alzheimer disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by progressive cognitive dysfunction. To identify molecular bases of Alzheimer's disease, we have taken three approaches, including 1. Elucidation of genes underlying development of AD, focusing on affected sib pairs and a large case series of sporadic AD, 2. Search for susceptibility genes associated with increased risk for AD, and 3. Prospective study (registry of AD) for acquisition of the natural history of AD.

To elucidate genes based on affected sib pairs with AD, we conducted genome-wide genotyping, and nonparametric linkage study using the 173 patients from 81 families. In addition, we further conducted whole exome-sequence analysis of 129 patients from 62 families, where sufficient amount of genomic DNAs is available. The linkage study revealed a locus with an NPL score exceeding 3. Exome analysis of the affected sib-pairs revealed pathogenic mutations in *PSEN1* and *CSF1R*, which were considered to be pathogenic. From the rest of 60 families, we found a gene in which rare variants are shared in 8 families.

The search for susceptibility genes was conducted on 2190 AD cases and 2498 control subjects in whom APOE genotyping had been completed. We revealed that TREM2 p.R47H variant, which is a risk factor in European and North American populations, is not a risk in the Japanese population. The finding indicate that rare risk variants conferring susceptibility to AD may vary among populations. Rare variants, which were suggested by affected sib-pair analysis, had a moderate risk (odds score: around 2) in the case-control settings.

To start the cohort study on AD, "Cohort and comprehensive genome studies to elucidate fundamental molecular bases of Alzheimer disease" was approved by institutional review boards at The University of Tokyo in February 2015 and at Niigata University in April 2015. Viedoc was used as EDC system and optimized for the cohort study. We have optimized detailed parameters for brain MRI, PIB-PET and FDG-PET, protocols to measure CSF and serum biomarkers using the LUMINEX assay, and neuropsychological examinations. We started recruiting research

participants from March 2016 at the University of Tokyo and from July 2016 at Niigata University. At the end of March, 17 participants completed their screening and baseline visits including collection of CSF, serum, DNA, RNA, brain MRI, PIB-PET, FDG-PET and neuropsychological examinations. We initiated whole exome-sequence analysis using genomic DNAs collected at the baseline visit.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

### III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Miyagawa T, Iwata A. Subjective memory complaints. *Nihon Rinsho*. 2016 Mar; 74(3): 451-4.
2. 宮川統爾, 岩田淳, 岩坪威. 先制医療のためのアルツハイマー病再定義と疾患修飾薬の現状. *腎臓内科・泌尿器科*. 2016年7月; 4(1): 90-6.

- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 岩田 淳, プレクリニカル期を対象としたアルツハイマー病臨床研究, 第 34 回日本神経治療学会, 2016, 米子, シンポジウム, 2016/11/4
2. 岩田 淳, アルツハイマー型認知症の前駆期, そして前臨床期への治療介入, 第 21 回日本神経精神医学会, 2016, 熊本, シンポジウム, 2016/9/17

- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 岩田 淳, アルツハイマー病克服への挑戦と希望, 脳腫瘍の外科学会, 2016, 東京, 市民公開講座, 2016/11/13, 国内
2. 岩田 淳, アルツハイマー病克服への挑戦と希望, 第 57 回日本神経学会学術大会こうべ神経内科ウィーク, 2016, 神戸, 市民公開講座, 2016/5/18, 国内

- (4) 特許出願