

(様式5)

令和5年度新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

ゲノム情報を基盤とした認知症の病態解明

研究代表者 尾崎 浩一¹⁾
研究分担者 宮下 哲典²⁾

- 1) 国立長寿医療研究センター研究所 メディカルゲノムセンター
- 2) 新潟大学脳研究所 遺伝子機能解析学分野

研究要旨

日本における認知症の患者は2025年までに700万人以上が罹患すると推測されており、早急に効果的な予防策や治療薬を開発する必要がある。現時点での認知症治療薬開発については、アルツハイマー病をターゲットしたアミロイドβに対する一部の抗体薬が認知症進行を緩やかに抑える作用があるとして認可されているが、未だ十分な効果が上がっていないのが現状である。これは、認知症の根本的な病態が解明されていないことが大きな理由である。一方で、ADの発症には遺伝的要因が大きく(58%~79%)関与していることが疫学研究により証明されているが、ゲノム構造には人種差があり、日本人における疾患全容を理解するためには日本人に特化した解析が必要になる。本研究では日本人に特化した大規模ゲノム解析から遺伝要因群を網羅的に同定し、臨床情報、オミクスデータと統合、連関解析することにより仮説フリーにて認知症の疾患発症、進展機構の全容を把握し、個人に最適かつ効果的な予防法、治療法の開発といったプレジジョン・メディシンも基盤形成を目指す。

A. 研究目的

大部分の認知症は、糖尿病や虚血性心疾患と同様に生活習慣病と捉えることができ、環境因子と遺伝因子が複雑に絡み合っており発症すると考えられる。これまでの双子疫学研究による認知症、特にアルツハイマー病(AD)の発症に与える遺伝因子の割合(遺伝率)は60%~80%であることが報告されており、その大部分を遺伝因子が占めていることが明らかとなっている。したがって、遺伝因子群を同定し、ポリジェニックリスクスコアなどを分子マーカーとして使用することや、その役割を精査することから疾患の分子メカニズムが解明でき、エビデンスに基づく予防法や治療法の開発に大きく貢献できる。一方、これまでに欧米において認知症のゲノム解析が

大規模に施行され70個程度の関連座位が同定されているが、日本人において再検証されたのはこの中のわずか数座位である。この違いは欧米人と日本人のゲノム構造の根本的な違いに大きく依存すると考えられ、日本人ゲノムに特化した大規模ゲノム解析が重要になる。また、欧米の解析で同定された疾患座位のどの遺伝子がどのように疾患に関わるかと言った疾患の原因もほとんど明らかにではないのが現状である。本提案研究ではゲノム医学を基盤として我々が同定してきた新規認知症関連候補座位群について異なるサンプルによる再検証を行うと同時に、ゲノム領域を絞り込み(ファインマッピング)、真の疾患関連遺伝子群の同定とその機能解明を進める。これらの解析とこれまでに引き続き進め

ている高精度かつ高深度な全ゲノム関連解析、全 RNA 解析（トランスクリプトーム解析、血球由来）との統合解析を施行し、より多くの疾患原因、感受性座位を絞り込むことにより、包括的な疾患パスウェイの同定、ドラッグリポジショニングの開発やよりドラガビリティーの高い創薬標的分子群の同定、疾患予測モデル構築からの予知診断法の開発を機械学習、AI 等も駆使して進め臨床応用に繋げる。これまでに日本人を基盤とした認知症などの老年病の大規模 GWAS、大規模な全 RNA 解析を統合したスタディーデザインにて研究が行われた例は他にはなく、世界的に見ても独創的かつ画期的であり、真の病態解明からエビデンスに基づく診断、創薬を見据えた研究開発を目的としている。

B. 研究方法（倫理面への配慮を含む）

国立長寿医療研究センターバイオバンク（NCGG バイオバンク）、新潟大学脳研究所およびバイオバンクジャパンによりリクルートされた認知症及びコントロールサンプルを用いて解析を行った。WGSライブラリの作成はイルミナ社TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kitにより行い、NovaSeq 6000あるいは HiSeq X Tenにより配列決定を行った。全ゲノム配列解析により同定した候補バリエーションについてはCombined Annotation Dependent Depletion score (CADD)等によりさらに絞り込んだ。ゲノムワイドな認知症関連遺伝子座位の同定についてはNCGGバイオバンクよりアジアスクリーニングアレイジェノタイプングデータをダウンロードしインシリコで関連解析を施行した。ゲノムワイド関連解析（GWAS）による疾患関連遺伝子の同定にはplinkを使用し、ロジスティック回帰モデルにより算出した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター倫理・利益相反委員会の承認を得て施行されている。すべての検体におい

て書面による同意を取得していると共に、研究対象者個人の尊厳と人権の尊重、個人情報の保護等について倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行している。国立研究開発法人国立長寿医療研究センターの定める「保有する個人情報の保護に関する規程」に基づき、個人情報保護管理者が厳格に守秘する。

C. 研究結果

レビー小体型（DLB）、正常圧水頭（NPH）、血管性認知症（VaD）、前頭側頭型認知症（FTD）についてケースのサンプル数は少ないが日本人における GWAS および遺伝子ベース解析、機能的アノテーション解析さらに UK バイオバンクとのトランスエスニックメタ解析を進めた。日本人 DLB GWAS において詳細な解析（211 DLB vs 6172 controls）を行った。既知の APOE 領域（*APOC1P1*）との強い関連が再現できていると共に、新規にゲノムワイド有意水準を満たす座位を 10 番染色体上に同定した。本座位と NCGG 血液細胞トランスクリプトームデータにおける遺伝子発現量座位関係について解析を行ったところ、小胞体において、多種多様なタンパク質の膜組み込みや膜透過およびタンパク分解に関連する「トランスロコン」と呼ばれ分子装置の構成タンパクの一つをコードする遺伝子が DLB と統計学的な有意性を持って関連することが挙がってきている。この分子は脳各部位において高発現しており、小胞体ストレスに関与することから神経変性疾患の中でも特に DLB に関連する可能性が示唆される。また本 GWAS データを用いた他疾患との遺伝的相関（Genetic correlation）について連鎖不平衡を利用した方法（連鎖不平衡スコア回帰）により精査したところ、虚血性脳卒中と有意な相関を示しており遺伝学的な観点から虚血性脳梗塞と DLB が関連することを見出している。これらの知見から今回同定した遺伝的バリエーションが DLB におけるバイオマーカーや脳梗塞の層別化に利用できる可能性があり、現在構築中の

DLB PRS (現在検証サンプルを収集中) と組み合わせることにより DLB の正確な予知も含めた診断に寄与できると共に新規関連遺伝子の機能解析を通じた真の DLB 病態解明が期待できる。

D. 考察

GWAS を通してレビー小体認知症においても新たな疾患関連遺伝子座位が同定されており、今後、解析を拡大化することによりデータ精査し、さらに新たな疾患関連遺伝子座位群が同定できるものと考えている。それにより未だ正体が解明されていない認知症の病態解明に貢献できるものと期待している。

E. 結論

本研究では大規模ゲノム関連解析を通して認知症の疾患関連遺伝子座位群を網羅的に同定してきている。特に日本では急速な高齢化社会が進んでおり、アルツハイマー病を含めた認知症のケアが急務となる。認知症関連遺伝子群の同定および機能的側面の解明からこれまでに知られていない認知症発症メカニズム解明の糸口を見いだせる可能性があり、ドラッグターゲットな分子の同定から革新的な治療薬の開発が期待できる。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

- 1) CRISPR/Cas9-mediated knock-in cells of the late-onset Alzheimer's disease-risk variant, SHARPIN G186R, reveal reduced NF- κ B pathway and accelerated A β secretion. Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, Shigemizu D, Niida S, Ozaki K. *Journal of Human Genetics* 69 (5):171-176 (2024). doi: 10.1038/s10038-024-01224-x.
- 2) The HLA-DRB1*09:01-DQB1*03:03 haplotype is associated with the risk for late-onset Alzheimer's disease in APOE ϵ 4-negative Japanese adults. Shigemizu D, Fukunaga K, Yamakawa A, Suganuma M, Fujita K, Kimura T, Mushiroda T, Sakurai T, Niida S, Ozaki K. *NPJ Aging* 10(1):3 (2023). doi: 10.1038/s41514-023-00131-3.

- 3) Trans-ethnic Genomic Informed Risk Assessment for Alzheimer's disease: An International Hundred K+ Cohorts Consortium Study. Sleiman PM, Qu H, Connolly JJ, Mentch F, Pereira A, Lotufo PA, Tollman S, Choudhury A, Ramsay M, Kato N, Ozaki K, Mitsumori R, Jeon J, Hong CH, Son SJ, Roh HW, Lee D, Mukadam N, Foote IF, Marshall C, Butterworth A, Prins BP, Glessner J, Hakonarson H, on behalf of the DAC and IHCC consortium. *Alzheimer's & Dementia* 2023 Jul 14. doi: 10.1002/alz.13378.
- 4) Classification and deep-learning-based prediction of Alzheimer disease subtypes by using genomic data. Shigemizu D, Akiyama S, Suganuma M, Furutani M, Yamakawa A, Nakano Y, Ozaki K, Niida S. *Translational Psychiatry* 13 (1): 232 (2023). doi: 10.1038/s41398-023-02531-1.
- 5) Le Guen Y, Luo G, Ambati A, Damotte V, Jansen I, Yu E, Nicolas A, de Rojas I, Leal TP, Miyashita A, Bellenguez C, Lian MM, Parveen K, Morizono T, Park H, Grenier-Boley B, Naito T, Küçükali F, Talyanski SD, Satake W, Yogeshwar SM, Sempere V, Alvarez V, Arosio B, Belloy ME, Benussi L, Boland A, Borroni B, Bullido MJ, Caffarra P, Clarimon J, Daniele JA, Darling D, Debette S, Deleuze JF, Dichgans M, Dufouil C, During E, Düzel E, Galimberti D, Garcia-Ribas G, Garcia-Alberca JM, Garcia-González P, Giedraitis V, Goldhardt O, Graff C, Grünblatt E, Hanon O, Hausner L, Heilmann-Heimbach S, Holstege H, Hort J, Jung YJ, Jürgen D, Kuulasmaa T, Ling L, van der Lugt A, Masullo C, Mecocci P, Mehrabian S, de Mendonça A, Mercè B, Mir P, Moebus S, Moreno F, Nacmias B, Nicolas G, Niida S, Nordestgaard BG, Oksenberg J, Papenberg G, Parnetti L, Pasquier F, Pastor P, Peters O, Pijnenburg YAL, Piñol-Ripoll G, Popp J, Porcel LM, Puerta R, Pérez-Tur J, Rainero I, Ramakers I, Real LM, Riedel-Heller S, Rodriguez-Rodriguez E, Royo JL, Rujescu D, Scarmeas N, Scheltens P, Scherbaum N, Schneider A, Seripa D, Solfrizzi V, Spalletta G, Squassina A, van Swieten J, Sánchez-Valle R, Tegos T, Tremolizzo L, Vyhnalek M, Verhey F, Wiltfang J, Zhang J, Williams J, Amouyel P, Jessen F, Kehoe P, Andreassen O, Van Duin C, Tsolaki M, Sánchez-Juan P, Frikke-Schmidt R, Sleegers K,

- Toda T, Ingelsson M, Okada Y, Rossi G, Hiltunen M, Gim J, Ozaki K, Sims R, Foo JN, van der Flier W, Ikeuchi T, Ramirez A, Matta I, Ruiz A, Gan-Or Z, Lambert JC, Greicius MD, Mignot E. Multiancestry analysis of the HLA locus in Alzheimer's and Parkinson's diseases uncovers a shared adaptive immune response mediated by HLA-DRB1*04 subtypes. *PNAS USA* 120: e2302720120, 2023.
- 6) Kikuchi M, Miyashita A, Hara N, Kasuga K, Saito Y, Murayama S, Kakita A, Akatsu H, Ozaki K, Niida S, Kuwano R, Iwatsubo T, Nakaya A, Ikeuchi T, ADNI, J-ADNI. Polygenic effects on the risk of Alzheimer's disease in the Japanese population. *Alzheimer Research Therapy* 16:45, 2024.
- 7) 尾崎浩一, 日本人における大規模ゲノム・オミクス解析を用いた認知症研究, 神経内科 特集1 認知症の病態・診断・治療 VOL. 98 NO. 2 p171-178 (2023年2月号).
- 8) 尾崎浩一「日本人の新たなアルツハイマー病リスク遺伝子」Dementia Japan, Vol. 37 NO. 2 April, p239-249 (2023).
- Human Genetics 2023, 2023/11/3, Washington DC, 国外,ポスター.
5. Identification of an East Asian-specific variant associated with Lewy bodies dementia by genome-wide association study in Japanese subjects. Mitsumori R, Asanomi Y, Shigemizu D, Akiyama S, Morizono T, Niida S, and Ozaki K, The American Society of Human Genetics 2023, 2023/11/3, Washington DC, 国外, ポスター.
6. CRISPR/Cas9-mediated knock-in of late-onset Alzheimer's disease-risk variant, SHARPIN G186R, lessens the NF- κ B pathway and accelerates A β secretion, Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, Shigemizu D, Niida S, and Ozaki K, The American Society of Human Genetics 2023, 2023/11/2, Washington DC, 国外, ポスター.
7. RNA-seq data analysis identifies blood-based biomarkers for diagnosis and disease progression of Alzheimer's disease. Yamakawa A, Mitsumori R, Suganuma M, Akiyama S, Niida S, Ozaki K, and Shigemizu D, The American Society of Human Genetics 2023, 2023/11/2. Washington DC, 国外, ポスター.
8. 遅発性アルツハイマー病のリスクとなる SHARPIN 新規機能的ミスセンスバリアントの同定と機能解析, 浅海裕也, 尾崎浩一, 第 96 回日本生化学会大会, 2023/11/1, 福岡, 国内, 口頭.
9. 大規模ゲノム解析を基盤とした老年病研究, 尾崎浩一, 広島大学大学院セミナー, 2023/10/30, Web 開催, 国内, 講演.
10. 尾崎浩一, ゲノム解析を基盤とした老年病研究, 予測ゲノミクスオンラインセミナー 2023, 2023/10/24, Web 開催, 国内, 講演
11. Genomic research on dementia in the Japanese population. Shigemizu D, Ozaki K. (Oral, Invited, English) Human Genetics Asia 2023, 東京, 2023/10/12, 国内, 口頭.
12. Knock-in of late-onset Alzheimer's disease-risk variant SHARPIN G186R lessens NF- κ B pathway and accelerates A β secretion. Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, Shigemizu D,

2. 学会発表

1. 大規模ゲノム解析を基盤とした老年病研究, 尾崎浩一, 第二回堺市認知症セミナー, 2024/2/3, 大阪府, 国内, 講演.
2. 遺伝子発現データに基づくアルツハイマー病移行予測診断システムの開発. 山川明子, 光森理紗, 菅沼睦美, 秋山真太郎, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 重水大智. 第 42 回日本認知症学会学術集会, 2023/11/25, 奈良, 国内, ポスター
3. 日本人集団で見つかったレビー小体型認知症に関連する MFSD3 多型の機能解析, 木村哲晃, 菅沼睦美, 澤村嘉代子, 浅海裕也, 細山徹, 下田修義, 小木曾昇, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 重水大智, 第 42 回日本認知症学会学術集会, 2023/11/25, 奈良, 国内, ポスター
4. Functional analysis of MFSD3 associated with dementia with Lewy bodies. Kimura T, Suganuma M, Hosoyama T, Sawamura K, Shimoda N, Ogiso N, Niida S, Ozaki K, and Shigemizu D, The American Society of

- Niida S, Ozaki K. Human Genetics Asia 2023 東京, 2023/10/12, 国内, ポスター.
13. Exploration of blood-based biomarkers to predict the progression of Alzheimer's disease by RNA-sequencing data analysis, Yamakawa A, Mitsumori R, Suganuma M, Akiyama S, Niida S, Ozaki K, and Shigemizu D, Human Genetics Asia 2023, 2023/10/12, 東京, 国内, ポスター.
 14. A genome wide association study identifies an East Asian-specific risk variant for Lewy body dementia in Japanese, Mitsumori R, Asanomi Y, Shigemizu D, Akiyama S, Morizono T, Niida S, and Ozaki K, Human Genetics Asia 2023, 東京, 2023/10/12, 国内, ポスター.
 15. East Asian-specific late-onset Alzheimer's disease risk variant alters the endogenous SHARPIN function, Asanomi Y, Shigemizu D, Akiyama S, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG) Asia/Oceania Regional Congress 2023, 横浜, 2023/6/12, 国内, ポスター.
 16. MFSD3 loss of function with dementia with Lewy bodies causes an increase of butyrylcholinesterase activity in the brain, Kimura T, Suganuma M, Sawamura K, Hosoyama T, Ogiso N, Niida S, Ozaki K, and Shigemizu D, International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG) Asia/Oceania Regional Congress 2023, 横浜, 2023/6/12, 国内, ポスター.
 17. Genome wide association study identifies new genetic risk loci for dementia with Lewy body in Japanese. Mitsumori R, Asanomi Y, Shigemizu D, Akiyama S, Morizono T, Niida S, and Ozaki K. International Association of Gerontology and Geriatrics (IAGG) Asia/Oceania Regional Congress 2023, 横浜, 2023/6/13, 国内, ポスター.
 18. 日本人および民族間横断的ゲノムワイド関連解析によるレビー小体認知症感受性座位の探索, 光森理紗, 浅海裕也, 重水大智, 秋山真太郎, 森園隆, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 第31回日本医学会総会 2023 東京, 東京, 2023/4/21, 国内, ポスター.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし