

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

アルツハイマー病シングルセルデータを用いた統合ゲノミクス解析

研究代表者 菊地 正隆¹⁾

研究分担者 池内 健²⁾, 宮下 哲典²⁾ 原 範和²⁾

¹⁾ 東京大学 大学院新領域創成科学研究科 ²⁾ 新潟大学脳研究所 遺伝子機能解析学

研究要旨

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 患者剖検脳においてバルク RNA-seq やシングルセル RNA-seq を行う。情報科学的手法によりこれら網羅的遺伝子発現データから各検体の反応性グリア細胞を含む各種細胞種の割合を推定する。脳研究所・遺伝子機能解析学分野 (宮下准教授) で解析された AD 患者における全ゲノムシーケンシングデータ、エクソームシーケンシングデータ、一塩基多型データを用い、反応性グリア細胞の割合と関連する遺伝子座をゲノムワイドな量的形質遺伝子座解析により同定する。

A. 研究目的

近年のアルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) のシングルセル解析では、遺伝的素因によって脳細胞種レベルで AD 病態が異なる可能性を示唆している。例えば AD 患者脳に蓄積した A β を察知したミクログリアは A β 貪食能を示す反応性ミクログリアへ変化することが報告されている。興味深いことにこの反応性ミクログリアが TREM2 遺伝子変異をもつ場合には惹起されにくい。つまり TREM2 遺伝子変異をもつ患者は生まれながらにして脳内に蓄積した A β を分解しにくいミクログリア脆弱性を示すことを意味している。このことは個人がもつ様々な遺伝的素因によって脳内の種々の細胞種における疾患反応性が異なることを示唆している。また AD に対する細胞種特異的な遺伝的脆弱性は人種によっても大きく異なると推測される。そこで本申請では日本人剖検脳のシングルセル解析を行い、各患者のゲノムデータと紐付けた統合的な解析を行うことで細胞種特異的な遺伝的脆弱性を明らかにする。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

本申請では剖検脳を有する検体に関してバルク RNA-seq やシングルセル RNA-seq を行う。情報科学的手法によりこれら網羅的遺伝子発現データから各検体の反応性グリア細胞を含む各種細胞種の割合を推定する。反応性グリア細胞の割合と関連する遺伝子座をゲノムワイドな量的形質遺伝子座解析により同定する。遺伝子機能解析学分野では健常者およびアルツハイマー病患者のゲノムデータを SNP アレイで測定しており、約 180 万箇所の SNP マーカーをジェノタイピングしている。過去の申請では SNP アレイに載っていない領域のジェノタイピングを行うための手法であるインピュテーション解析を実施し、各検体の多遺伝子効果を定量化したポリジェニックリスクスコアをすでに算出しているため、これらデータも解析に用いる。また一部の検体では全ゲノムシーケンシング解析およびエクソームシーケンシング解析も完了しているため、そのようなデータも補足的に用いる。

本研究は東京大学研究倫理審査委員会においてヒトゲノム研究審査を経て承認を得ている (承

認番号：18-多機関共同)。また新潟大学遺伝子倫理審査委員会において遺伝子解析研究計画審査を経て承認を得ている(承認番号：G2015-0850)。

C. 研究結果

本年度は剖検脳を用いたシングル核 RNA-seq 解析とポリジェニックリスクスコアによる解析を行った。

新潟大学脳研究所 遺伝子機能解析学教室より受領した 15 検体から剖検された前頭皮質のシングル核 RNA-seq データを解析した。解析の結果、神経細胞の他、アストロサイトやミクログリア、オリゴデンドロサイト、オリゴデンドロサイト前駆細胞、血管内皮細胞などの細胞クラスタが同定された。さらにミクログリアを再クラスタリング解析するとミクログリアの他、T 細胞やマクロファージなどのサブクラスタも見つかった。AD 患者群と健常者の比較解析では、従来の報告の通り、AD 患者では反応性ミクログリアを示唆する遺伝子群が発現増加していることなどもわかった。

またポリジェニックリスクスコア解析では軽度認知機能障害者を APOE ε 4 保因者と非保因者に分け、さらにポリジェニックリスクスコアによる層別化を行い、それぞれの群におけるアルツハイマー病への移行の速さを Cox 比例ハザード解析により比較した。その結果、APOE ε 4 をもたない軽度認知機能障害者のうち、ポリジェニックリスクスコアが低い群よりも高い群の方が有意にアルツハイマー病への移行が早いことがわかった。このポリジェニックリスクスコアが高い APOE ε 4 非保因者は APOE ε 4 保因者と同程度の速さでアルツハイマー病へ移行することもわかった。以上の結果を Alzheimer's Research & Therapy 誌に発表し、プレス発表も行った。

D. 考察

ポリジェニックリスクスコア解析では APOE ε 4 非保因者においてポリジェニックリスクスコアが高い群は低い群と比べて AD への移行が早いことが示された。このことから APOE ε 4 非保因者では単一遺伝因子では説明されないような多遺伝子性が病態に関与することが示唆される。

E. 結論

本研究では脳組織を用いたシングル核 RNA-seq 解析を実施し、先行研究と合致するように AD 患者群では反応性ミクログリアが亢進することが示唆された。さらにポリジェニックリスクスコアを用いた解析では APOE ε 4 非保因者において AD への移行を予測できることが示唆された。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

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. *Alzheimers Res Ther.* 2024 Feb 27;16(1):45. doi: 10.1186/s13195-024-01414-x.

2. 学会発表

該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。