

(様式 5)

令和 6 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

大規模ゲノムオミクス解析を基盤とした認知症研究

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

本邦における認知症罹患者は 2030 年になると 523 万人にのぼることが推定されており、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、特に孤発性アルツハイマー病 (LOAD) 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

大規模 GWAS として日本人 LOAD 5,066 サンプル、コントロール 16,716 サンプルを用い、NCGG 全ゲノム配列データ約 3,200 例を利用して独自に構築した擬似全ゲノム配列参照パネルを用いたインピュテーションを施行することにより約800万個のバリエーションを遺伝統計学的に検定した。ここで統計値 $P = 1 \times 10^{-6}$ 未満のバリエーション群について GWAS とは異なる追加コホート (LOAD ケース 1,404 例のおよびコントロール群 4,052 例) を用いて再検証解析を行う 2 段階のストラテジーを取った。大規模 LOAD GWAS においては、9 個の GWAS 有意性 ($P < 5 \times 10^{-8}$) および 8 個の示唆的有意性 ($P < 1 \times 10^{-6}$) を示す LOAD 感受性候補座位群を同定した。これらの中で、*APOE*、*ABCA7*、*IGH gene cluster*、*SORL1*、*HLA-DRA* および *BIN1* 座位については既報であり、本研究においても再現性が確認できた。一方、その他の 11 座位は新規座位であり、これらについてさらに追加の 1,404 例の LOAD ケースおよび 4,052 例のコントロールを用いて再検証解析を行った。結果として再検証データを加えることで新規に GWAS 有意性を保持する 3 座位群を同定している。これらの 3 座位については欧米人では頻度が少ない、あるいは大きく頻度が異なるといった日本人に特徴的な座位であることを確認している。また、GWAS 有意性座位に加えて再検証解析において示唆的有意性を示す座位をさらに 3 座位同定している。このデータにおける遺伝子ベースでの GWAS においても単一バリエーションによる GWAS 座位内の遺伝子が統計学的に有意な LOAD 関連遺伝子であることを同定している。同定した新規遺伝子はニューレキシンファミリー

タンパク質をコードする。このファミリータンパクは接着分子としてニューロン-グリア相互作用に関係しており、神経系における細胞間認識に働くことも知られている。また、自閉スペクトラム症で変異が発見されている。このように確実な新規 LOAD 関連分子として興味深い遺伝子を同定することに成功した。

また、GWAS に加え Transcriptome-wide association study (TWAS)も施行した。TWAS とは GWAS の結果と遺伝子発現量の形質座位 (expression Quantitative Trait loci; eQTL) データを統合して患者群における関連遺伝子の発現量を推定し疾患遺伝子を同定する手法である。この TWAS によりインテグリン関連分子や接着分子を含めた3個の新規 LOAD 関連遺伝子群を同定している。

さらにUKバイオバンク使用許可データ(63,416 LOAD cases, 169,293 Controls)を用いた日本人データとのトランスエスニックメタ解析ではGWAS 有意性を10座位、示唆的有意性を17座位同定した(図3)。この中で新規遺伝子座位として、GWAS 有意性が3箇所、示唆的有意性を12箇所同定している。トランスエスニックメタ解析におけるTWASにおいても新規16遺伝子(炎症、細胞接着、細胞増殖、脂質代謝や血管収縮等に関連する分子群)を発見している。さらに、これらのデータを用いたドラッグリポジショニング解析では、血圧および高脂血症における治療薬がLOAD 治療薬候補として統計学的有意性を持ってこれまで通り挙がってきている。

D. 考察

GWAS を通して孤発性アルツハイマー型認知症に関連する新たな疾患関連遺伝子座位が同定されており、今後、さらに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の同定から病態解明ができるものと考えている。

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、革新的な予知予防法や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) A genome-wide association study identifies a novel East Asian-specific locus for dementia with Lewy bodies in Japanese subjects. Mitsumori R, Asanomi Y, Morizono T, Shigemizu D, Niida S, Ozaki K. *Molecular Medicine* 2025; 31: 87. doi: 10.1186/s10020-025-01115-7.
- 2) Population-specific non-coding and coding putative causal variants shape quantitative traits. Koyama S, Liu X, Koike Y, Hikino K, Koido M, Li W, Akaki K, Tomizuka K, Ito S, Otomo N, Suetsugu H, Yoshino S, Akiyama M, Saito K, Ishikawa Y, Benner C, Natarajan P, Ellinor PT, Mushiroda T, Horikoshi M, Ikeda I, Iwata N, Matsuda K, Biobank Japan Project, Niida S, Ozaki K, Momozawa Y, Ikegawa S, Takeuchi O, Ito K, Terao C. *Nature Genetics* 2024 56(10):2027-2035. doi: 10.1038/s41588-024-01913-5.
- 3) Whole-genome sequencing to identify rare variants in East Asian patients with dementia with Lewy bodies. Kimura T, Fujita K, Sakurai T, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D. *NPJ Aging* 2024; 10: 52. doi: 10.1038/s41514-024-00180-2.
- 4) Alzheimer's disease may develop from changes in the immune system, cell cycle, and protein processing following alterations in ribosome function. Yamakawa A, Suganuma M, Mitsumori R, Niida S, Ozaki K, Shigemizu D. *Scientific Reports* 2025; 15: 3838. doi: 10.1038/s41598-025-88526-y.

- 5) 尾崎浩一「日本人におけるアルツハイマー病のゲノムワイド関連解析」BIO Clinica 40 (3), 2025 年 3 月号(2 月 10 日発行) p31-35.
- 6) 尾崎浩一「大規模ゲノムワイド関連解析の始まり」BIO Clinica 40 (1), 2025 年 1 月号(12 月 10 日発行) p33-37.
- 7) 尾崎浩一「日本発、世界初のゲノムワイド関連解析」BIO Clinica 39 (11), 2024 年 10 月号(9 月 10 日発行) p33-38.

2. 学会発表

1. 重水大智, 中村昭範, 加藤隆司, 二橋尚志, 櫻井圭太, 武田章敬, 新畑豊, 尾崎浩一, 新飯田俊平, BATON/STREAM study group. アミロイド β の蓄積速度に関連する全ゲノム解析に基づく遺伝子変異の探索.」第 43 回日本認知症学会学術集会. 2024/11 月 22 日. 郡山 口頭、国内
2. Mitsumori R, Asanomi Y, Miyashita A, Morizono T, Hara N, Shigemizu D, Ikeuchi T, Niida S, and Ozaki K. Identification of multiple new loci associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese. American Society of Human Genetics 2024 Annual Meeting. 2024 年 11 月 7 日. Denver, CO, USA. ポスター、国外
3. Asanomi Y, Kimura T, Shimoda N, Shigemizu D, Niida S, and Ozaki K. Functional analyses for the late-onset Alzheimer's disease-risk variants of *SHARPIN* using CRISPR/Cas9-mediated knock-in cells. American Society of Human Genetics 2024 Annual Meeting. 2024 年 11 月 9 日 Denver, CO, USA.. ポスター、国外
4. 光森理紗, 浅海裕也, 宮下哲典, 森園隆, 原範和, 重水大智, 池内健, 新飯田俊平, 尾崎浩一. Genome-wide association study for late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population. 日本人類遺伝学会第 69 回大会. 2024 年 10 月 10 日. 札幌 口頭、国内
5. 浅海裕也, 木村哲晃, 下田修義, 重水大智, 新飯田俊平, 尾崎 浩一. Functional analyses of the late-onset Alzheimer's disease-risk *SHARPIN* variants using CRISPR/Cas9 knock-in cells. 日本人類遺伝学会第 69 回大会. 2024 年 10 月 12 日. 札幌 ポスター、国内
6. 木村哲晃, 藤田康介, 櫻井孝, 新飯田俊平, 尾崎浩一, 重水大智. Whole genome sequencing reveals East Asian specific rare variants in CDH23

associated with dementia with Lewy bodies. 日本人類遺伝学会第 69 回大会. 2024 年 10 月 10 日. 札幌 口頭、国内

7. Shigemizu D, Nakamura A, Kato T, Nihashi T, Sakurai K, Takeda A, Arahata Y, Ozaki K, Niida S, BATON/STREAM study group. Exploration Of Genetic Variants Associated With The Rate Of Amyloid- β Accumulation Using Whole-genome Sequencing. Alzheimer's Association International Conference (AAIC). Advancements: Modernizing Diagnosis. 2024 年 9 月 18 日. 東京 ポスター、国内
8. 光森理紗, 浅海裕也, 宮下哲典, 森園隆, 原範和, 重水大智, 池内健, 新飯田俊平, 尾崎浩一. 日本人における孤発性アルツハイマー病の大規模ゲノムワイド関連解析. 6NC リトリート 2024. 2024 年 4 月 13 日. 東京. ポスター、国内

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