

パーキンソン病をはじめとする神経疾患の分子遺伝学的研究

西岡健弥、船山学、吉野浩代、李元哲、大垣光太郎、池田彩、シルビオ コネデラ、林田有紗、代田健祐

1) パーキンソン病および認知症関連遺伝子の網羅的変異解析システムの開発

当研究グループでは、全国から送られてくる家族性パーキンソン病の遺伝子解析を次世代シーケンサーを用い継続的に行っている。ionPGM システム (Thermo Fisher Scientific) を用いて、家族性パーキンソン病および認知症関連遺伝子、合計 29 遺伝子の網羅的変異解析システムの基盤を作成した。29 遺伝子のすべてのエクソンを同時にスクリーニングすることにより、サンガー法の時代よりも、より短期間で広範囲の解析を行うことが可能となった。例えば代表的な家族性パーキンソン病の原因遺伝子である *LRRK2* は、51 の exon を有する巨大な遺伝子であり、サンガー法の時代には解析部位は限定されていた。ionPGM の導入によりすべての exon の解析が可能となった。多遺伝子間の関連解析にも強みを発揮できる手法である。今年度はパーキンソン病および関連疾患患者 363 例を解析した。約半年程度で解析結果を各担当医へ送付している。同時に正常コントロール群も解析しており、日本人や高齢者固有の変異やリスクバリエーションの評価も行っていく。引き続き、国内外の遺伝子解析の依頼を受けながら、患者サンプル数を上げて進めて行く。(李、吉野、船山、西岡)

2) 常染色体劣性遺伝性パーキンソン病 (ARPD) の遺伝子変異解析

若年発症パーキンソニズムと認知症の臨床像を呈する ARPD の新しい原因遺伝子である *VPS13C* について解析を進めている。*VPS13C* は 2016 年フランスの Alexis Brice らの

研究チームにより同定された家族性パーキンソン病の原因遺伝子である。15番染色体長腕22に位置し、86の exon を有する遺伝子である。20-40歳代で発症し、進行性のパーキンソニズムと認知症をきたし、比較的予後不良の経過を辿る。その脳病理像はびまん性レヴィ小体病に合致する。VPS13Cも巨大な遺伝子であり、上記 ionPGM による解析手法が威力を発揮している。これまでの解析結果からコントロールに比べ、パーキンソン病患者から数多くのレアバリエーションが見つかっており、現在それらを包括した解析を行っている（林田、吉野、李、船山、西岡）。引き続き ionPGM の中に組み込まれた PRKN, PINK1, DJ-1, APT13A2, FBXO7 といった常染色体劣性遺伝子群の解析も行っている。データベースの中にある、既知の遺伝子が同定されていない、近親婚のある劣性遺伝形式を取る家系についても、whole exome sequencing などを用いて新規原因遺伝子の単離を目指している。

3) 常染色体優性遺伝性パーキンソン病 (ADPD) の遺伝子変異解析

我々の研究グループより、日本のある地域に住む常染色体優性遺伝を取るパーキンソン病の大家系から、全ゲノムシーケンス、連鎖解析を行い、新規の原因遺伝子である CHCHD2 を同定した。患者群の特徴として認知症の合併頻度は少なく、レボドパに良好な反応を示し、比較的良好的な経過を辿る（船山, Lancet Neurol 2015）。追加として、孤発性パーキンソン病から新規変異 p.R8H を同定し報告した（池田, Parkinsonism Related Disord 2017）。引き続きこれら家系群の追跡調査を行っている。CHCHD2 は CHCHD protein family (1-10) に属する。CHCHD2 と同様に mitochondrial target sequence を持つ CHCHD10 は、筋萎縮性側索硬化症や前側頭葉型認知症の原因遺伝子である。CHCHD2, CHCHD10 は複合体を形成し、ミトコンドリア機能不全を招き、神経細胞変性をきたす。酸化ストレスが関与する。CHCHD protein family は幅広い神経変性疾患に関与している可能性があり、今後これらについても解析を進めていく。

b) パーキンソン病の病理学的な hallmark は、レヴィ小体である。レヴィ小体の主

要な構成成分は α シヌクレインであり、 α シヌクレインをコードする遺伝子が *SNCA* である。*SNCA* のミスセンス変異である p.A53V の homozygote 変異をもつ家系について、PET study も含め、臨床遺伝学的解析を行い報告した。(吉野 Neurobiol Aging 2017)

b) 新規常染色体パーキンソン病の原因遺伝子 *TMEM230* について日本人患者 182 例を解析したが病的とおもわれる変異はなく、本邦では頻度の低いことが明らかとなった (コネデラ、李、船山、吉野、西岡. Parkinsonism Related Disord 2018)。

4) その他の関連遺伝子変異解析

a) *GCHI* 変異は歴史的にはドーパ反応性ジストニア (瀬川病) の原因遺伝子として知られている。近年、*GCHI* 変異がパーキンソン病のリスク因子となりうるとする報告があった。このため、我々も当科に保管されている DNA bank から、パーキンソン病群 268 例と、ドーパ反応性ジストニア群 26 例について、*GCHI* 変異解析を行った。結果、パーキンソン病群から 5 例、ドーパ反応性ジストニア群から 7 例の *GCHI* 変異患者を同定した。いずれも発症年齢は幅広く、中高齢発症、20-40 歳の発症群、20 歳以下の発症群を認めた。同一家系内にも、パーキンソン病やドーパ反応性ジストニアが混在していた。遺伝形式は、常染色体優性、劣性、孤発型と幅広く認められた。(吉野 Journal of Neurology 2019)。

b) 多系統萎縮症および家族性パーキンソン病患者における *COQ2* の変異解析を実施した結果、家族性パーキンソン病患者から 2 種類の稀なバリエントを見出した。さらに *COQ2* の特定バリエントがパーキンソン病発症と関連することを示した。(三笠 J Neural Transm 2018)。

c) 前述のとおり、*CHCHD10* は筋萎縮性側索硬化症と関係することが知られている。このためその相同遺伝子である *CHCHD2* と筋萎縮性側索硬化症との関連を解析するため Japanese consortium of amyotrophic lateral sclerosis (JACALS) から 944 例の筋萎縮性側索硬化症

の DNA 検体の提供を受け、CHCHD2 のスクリーニング解析を行った。その結果、2 例の患者から新規レアバリエントを同定した (池田)。

5) *PRKN* 1 アレル変異で PD を発症するメカニズムの解明

当研究グループは 1998 年に劣性遺伝性若年性パーキンソン病の原因遺伝子として、*PRKN* 遺伝子の 2 アレル変異 (homozygote 変異や compound heterozygote 変異) を単離した。*PRKN* 遺伝子変異を持つ患者群は、40 歳以下の若年発症、抗パーキンソン病薬に極めて良好な反応を示し、sleep benefit やジストニアといった症状を合併する傾向がある等、典型的な孤発型パーキンソン病とは異なる点を多く認める。またその脳病理像も、原則的にはレヴィ小体の出現を認めないことも、相違点として上げられる。さらに *PRKN* 遺伝子 1 アレル変異 (heterozygote 変異) においては、パーキンソン病を発症する群と発症しない群が存在することを同定した。我々は、1 アレル変異で発症する群において、遺伝学的修飾因子 (genetic modifier) が存在すると仮説を立て、*PRKN* のイントロン領域に発症に関与するバリエントが存在する可能性、また *PRKN* 遺伝子以外に疾患を修飾する遺伝子がある可能性を考えた。現在国立遺伝研と共同研究にて、これらの遺伝子変異の可能性について、サンプル数を増やしながら解析を行っている (大垣)。

6) 遺伝子 (DNA、RNA) バンク事業の推進

当施設では、1998 年に世界で 2 番目のパーキンソン病の原因遺伝子 *PARK2* (*PRKN*) を単離した。その後、*PARK* シリーズの遺伝子が次々に同定されている。2017 年度の、*PRKN* 遺伝子をはじめとしたパーキンソン病関連の遺伝子変異解析および遺伝子診断症例数は 411 例であった。院内、関連病院をはじめ、脳神経内科ホームページからの解析依頼も増えている。2018 年 6 月末現在、日本はもとより世界各国から検体が集まり、症例 5030 検体、正常コントロール 670 検体からなる世界有数の遺伝子バンクを構築した (吉野、李、林田、西岡、船山、大垣、池田、コネデラ、代田)。

上記バンク事業においては担当医師、患者さんのご協力、ご尽力無くしては成り立たず、この場をお借りして御礼と引き続きのご協力をお願い申し上げます。遺伝子解析依頼は、原則各

担当の医師から依頼を受け、担当医に結果をお返しています。

Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease (GEOPD) consortium の結成

遺伝性パーキンソン病やパーキンソン病の分子病態の研究者が集う、年に1度のセミクローズドの学会を定期的に行っている。2004年から開催され、2015年には当研究室が主催し、東京で行いました。海外の研究者との学術的な交流を継続することにより、さらなる研究の発展を目指している。

将来的な展望

家族性パーキンソン病の原因遺伝子ですが、毎年1つずつ新規遺伝子が同定されており、2018年は *LRP10* の発見がありました。いずれも孤発型パーキンソン病にどの程度関与するのかは不明な点も多いのですが、分子病態の解明を推進する上で、重要な手がかりになります。一つの原因遺伝子が分かれば、そこから遺伝子改変動物を作成し、動物モデルの中でその分子の脳内の発現機序や機能が分かります。また遺伝子が同定された患者さんの末梢血から iPS 細胞を樹立し、ドーパミン神経細胞に分化させて、その遺伝子の細胞内におけるふるまいを直接的に調べることが可能です。ドーパミン神経細胞の破綻をきたす原因を、詳細に調べることができます。

分子病態レベルの解明により、その病原性となる異常蛋白の発現を抑えるような、新しい治療薬の開発が可能となります。実際にパーキンソン病に蓄積する α シヌクレイン蛋白質の発現を抑える抗体療法の治験が欧米で開始となりました。良い結果が得られれば、パーキンソン病の進行を抑制する新しい治療になる可能性があります。本邦では iPS 細胞の移植療法が京都大学で開始となったことは記憶に新しいところです。脊髄性筋萎縮症では、遺伝子の欠失、変異を復する核酸医療が臨床の現場に出てきており、良好な治療効果を生んでいます。

ゲノム解析の面では、全ゲノムシーケンスを低価格で短時間で解析する技術が進んでおり、

将来的には臨床の現場で個々の患者さんの全ゲノムシーケンスを行い、人工知能(AI)と絡めながら、各患者さんの疾患のなりやすさ、なりにくさ、薬剤の副作用の出やすさ、出にくさといった、個々の患者さんの特性を調べながら、その治療法を選択するプレジジョンメディシンが可能になることでしょう。分子病態の解明が、直接的に患者さんの利益に還元できる時代が、さらに近づいていると言えます。我々の研究グループも時代に追いつき、追い越すような病態解明を目指しています。また同時に、このように大きく変化する医学、医療の中で、それに随時対応できるような若手人材の育成も行っています(船山学、西岡健弥)。

パーキンソン病関連遺伝子							
<i>SNCA (PARK1,4)</i>	<i>parkin (PARK2)</i>	<i>UCH-L1 (PARK5)</i>	<i>PINK1 (PARK6)</i>	<i>DJ-1 (PARK7)</i>	<i>LRRK2 (PARK8)</i>	<i>ATP13A2 (PARK9)</i>	<i>GIGYF2 (PARK11)</i>
<i>HTRA2 (PARK13)</i>	<i>PLA2G6 (PARK14)</i>	<i>FBXO7 (PARK15)</i>	<i>VPS35 (PARK17)</i>	<i>EIF4G1 (PARK18)</i>	<i>DNAJC6 (PARK19)</i>	<i>SYNJ1 (PARK20)</i>	<i>DNAJC13 (PARK21)</i>
<i>CHCHD2 (PARK22)</i>	<i>VPS13C (PARK23)</i>	<i>GCH1</i>	<i>NR4A2</i>	<i>RAB7L1</i>	<i>BST1</i>	<i>C19orf12</i>	<i>RAB39B</i>
認知症関連遺伝子							
<i>MAPT</i>	<i>PSEN1</i>	<i>GRN</i>	<i>APP</i>	<i>APOE</i>			

表1.パーキンソン病および認知症関連遺伝子網羅的変異解析システムで解析可能な遺伝子