
A β 病理を駆動する新規分子経路の同定： プレシジョン医療に向けて

Identification of Novel Molecular Pathways Driving A β Pathology: Toward Precision Medicine

大阪大学 認知症プレシジョン医療開発学 寄附講座／寄附講座教授

森原剛史*

はじめに

ある疾患に関する遺伝子の同定に成功すれば、間もなく良い薬が開発されその疾患は克服されるとかつて期待されていた。遺伝子解析技術の革命的な進歩などのおかげで毎年数千の疾患関連遺伝子座位が Genome Wide Association Study (GWAS) などで発見される時代が到来した¹⁾。しかしながら疾患の克服は期待通りのスピードでは達成されていない。なぜだろうか。大きな理由のひとつは疾患関連遺伝子の機能解析がわずかしか進んでいないからである。大量の疾患関連遺伝子の同定成功は、皮肉なことに機能が未解明な疾患関連遺伝子を多量に生むことになった²⁾。つまり疾患関連遺伝子の同定は疾患克服の最初の困難にすぎず、疾患関連遺伝子の機能解析さらには疾患パスウェイ解明という次の困難の大きさが顕在化した。機能解析は相変わらず労働集約的な研究のままである。つまり Post-GWAS 時代と呼ばれる現在の疾患解明のボトルネックは、遺伝子機能解析や疾患パスウェイ解明である。

Post-GWAS 時代の課題

ヒト疾患遺伝子研究は、革命的に効率化したシーケンシング技術の恩恵を受け大きく発展した。しかしながら多因子疾患の新たなリスク遺伝子同定には 1 万から数十万の検体など膨大な研究リソースを必要とする。もはや通常の研究室が実行できる規模の研究ではなく、多数の研究室やしばしば国を越えた研究共同体が、時には数百人の研究者が協働して

達成できる研究である。そして膨大な研究資源を投入した GWAS 等で同定された lead SNP は疾患と統計学的に関連があるというだけで、lead SNP 自体が疾患原因変異というわけではない。lead SNP がアミノ酸置換を伴うミスセンス変異であれば、この変異と遺伝子が疾患リスクそのものであることはほぼ間違いなく、機能解析も変異により産生される異常蛋白質と正常のたんぱく質を比較から始めればよいだろう。しかしそのような幸運な lead SNP はまれであり多くの lead SNP は non-coding 領域にあり、原因となる変異もわからない。リスク遺伝子は lead SNP に一番近い遺伝子だと考えたいが、離れた遺伝子が原因遺伝子であることもままある。そしてたとえ原因となる non-coding 領域の変異が突き止められたとしても、蛋白質異常を伴わない原因遺伝子の疾患における機能解析は難しい。ようするに遺伝子研究で発見される情報は塩基配列情報の変異であるが、これが non-coding 領域の場合塩基配列情報の効率的な解釈手段を我々はまだ持っていないのである。この状況を打破するため塩基配列情報だけではなく発現情報も加えて原因変異や遺伝子の決定と遺伝子の機能解析を行うという解決法が提案され functional genomics と呼ばれることもある。functional genomics は現状打破のコンセプトとしてはおそらく正しいが、具体的方法は残念ながらまだ手探りの段階である。

* Takashi Morihara: Endowed Chair Professor, Department of Precision Medicine for Dementia, Osaka University Graduate School of Medicine

アルツハイマー病の関連遺伝子機能解析の現状

アルツハイマー病においても状況は同じである。現在約40のアルツハイマー病リスク遺伝子座位が同定されたが、その多くは機能解明に至っていない^{2,3)}。各遺伝子の機能解明には膨大な努力が必要である。たとえば家族性アルツハイマー病の原因遺伝子として同定された presenilin 変異のほとんどはアミノ酸置換を伴う変異（ミスセンス変異）であり、原因となる遺伝子の決定は（発見当時の技術では大変な研究であったが）容易であり、変異により産生される異常蛋白質と正常の蛋白質を比較する機能解析が可能だったにもかかわらず、その機能解明には10年以上かかった。1993年に同定されたリスク遺伝子 APOE の場合もアミノ酸置換を伴う変異であるにもかかわらず AD での機能は30年近くたった現在も未だによくわかっていない。近年の GWAS で同定された AD リスク SNP の多くは non-coding 領域にあり、疾患に対する効果量も APOE よりもはるかに小さいため、遺伝子同定も機能解析も大変困難である。

小さな研究室でアルツハイマー病の新規発症分子パスウェイを明らかにする

このような状況の中、我々の小さな研究チームと共同研究者はアルツハイマー病リスク遺伝子の機能解明だけでなく、新規疾患パスウェイまで一気に明らかにすることに成功した。まずなぜ GWAS に膨大な研究リソースが必要か我々は考えた。ヒトの背景

遺伝子の複雑な多様性、統制が取れない環境因子、臨床診断の曖昧さが遺伝子研究の障害になっている。我々はヒトの代わりにマウスを使えばこれらの問題が簡単に解決できると考えた。さらに lead SNP が原因遺伝子を明らかにしない問題は、ゲノムの代わりに遺伝子発現を解析対象にすれば解決できると考えた。具体的には、最初にアルツハイマー病になりにくいマウス系統は存在するか検討した。そして DBA/2 系統が背景遺伝子にあると、APP Tg マウスの脳内 Aβ 蓄積量が 1/3~1/4 と大幅に少ないことを見いだした。DBA/2 はアルツハイマー病になりにくいマウスであった。では DBA/2 系統のどの遺伝子が Aβ 蓄積量を抑制しているのだろうか。まず Aβ 病理が出現しない non-Tg マウスをもちいて、DBA/2 系統だけで発現量が異なる遺伝子群を抽出した。この遺伝子発現量の違いは Aβ 蓄積による 2 次的変化ではなく、純粋に背景遺伝子が原因である。次に DBA/2 その他の系統を交配することで背景遺伝子を混合させた APP Tg マウスを用意した。これらのマウスの脳内 Aβ 蓄積量と発現量が相関する遺伝子を、先に抽出した遺伝子群の中から探した。こうして Aβ 病理駆動遺伝子産物 Klc1 splice variant E (Klc1vE) を同定した^{4,5)}。またこのマウス transcriptomics ヒト GWAS を統合解析することで、さらに 2 つの AD 関連遺伝子も報告した⁶⁾。

DBA 由来の Klc1 アレルを持つマウスは脳における Klc1vE の発現が低く Aβ 蓄積量も少なかった。我々も

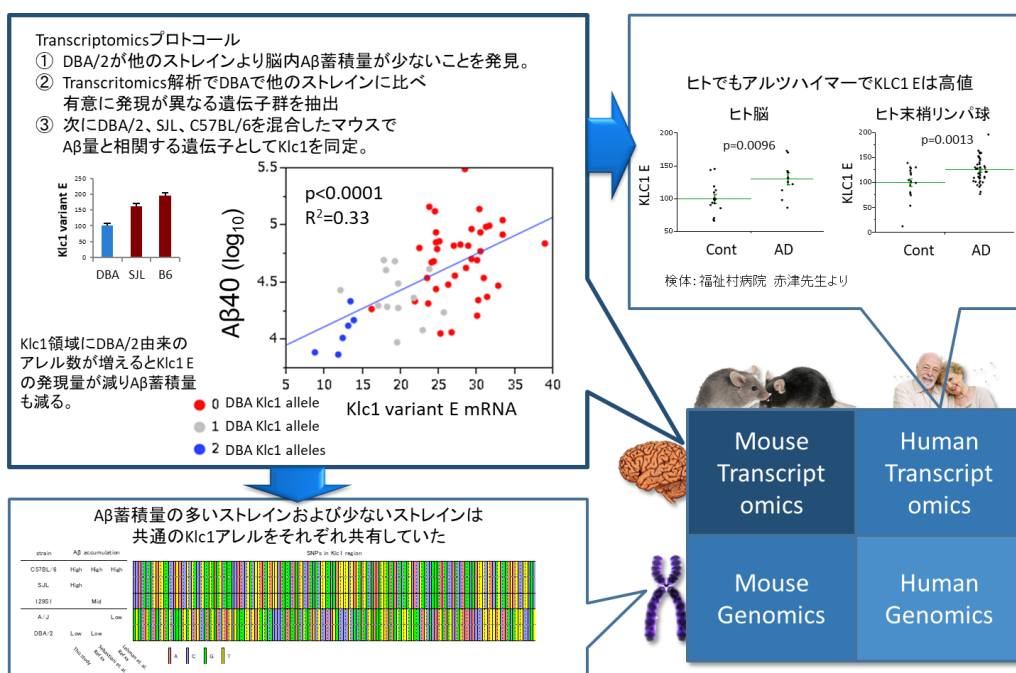


図 1 Aβ 蓄積促進因子として kinesin light chain 1 (Klc1) splice variant E が同定された。

含めて6つの研究グループが7つのマウス系統間でAβ病理の出現しやすさが有意に異なることが報告されているが、その原因となる背景遺伝子を同定したのは我々のみである。そこでKlc1が7つのマウス系統のAβ病理の出現しやすさを説明しているのか確認するためKlc1領域のSNPsを調べた。Aβ病理が出現しやすいマウス系統は共通のKlc1アレルをもちKlc1vE高値であり、出現しにくい系統は別のKlc1アレルを共有しKlc1vE低値であった(図1左下 一部の結果は投稿準備中)。そしてヒト剖検脳ではアルツハイマー病でKLC1vEが高値であった。

マウスではKlc1アレルがKlc1vE発現量を規定しAβ病理の出現しやすさも決定していた。ヒトのKLC1vEの発現量を規定しているのは何だろうか？マウス同様KLC1アレルだろうか、それとも未知の遺伝子だろうか。我々はGWASでアルツハイマー病リスク遺伝子として同定されたものの、アルツハイマー病における機能が不明な遺伝子Xに注目した。遺伝子Xが作る蛋白がKLC1と強く結合していることを網羅的解析で見出し、遺伝子XがKLC1のスプライシングを制御していることを培養細胞及び人種が異なる2種類の剖検脳で明らかにした(投稿準備中)。アルツハイマー病リスク遺伝子→KLC1vE→Aβ病理という新たなアルツハイマー病の発症分子パスウェイを明らかにした。

アルツハイマー病は複雑な疾患であるのに、解明されている発症分子パスウェイは極めて単純で分子の数も少ない。例えば脂質異常症では多数の発症分子パスウェイが解明され、様々な作用機序が異なる治療法が開発されている。アルツハイマー病も他の多因子疾患のように、しっかり発症分子パスウェイを解明し十分な数の治療ターゲットを提供することが疾患克服のために重要である。

文献

- 1) Gallagher, M. D., & Chen-Plotkin, A. S. (2018). The Post-GWAS Era: From Association to Function. *American Journal of Human Genetics*, **102**(5), 717–730. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.04.002>
- 2) Novikova, G., Andrews, S. J., Renton, A. E., & Marcora, E. (2021). Beyond association: successes

and challenges in linking non-coding genetic variation to functional consequences that modulate Alzheimer's disease risk. *Molecular Neurodegeneration*, **16**(1), 1–13.

<https://doi.org/10.1186/s13024-021-00449-0>

- 3) Sierksma, A., Escott-Price, V., & de Strooper, B. (2020). Translating genetic risk of Alzheimer's disease into mechanistic insight and drug targets. *Science*, **370**(6512), 61–66. <https://doi.org/10.1126/science.abb8575>
- 4) Gan, K. J., Morihara, T., & Silverman, M. A. (2015). Atlas stumbled: Kinesin light chain-1 variant E triggers a vicious cycle of axonal transport disruption and amyloid-β generation in Alzheimer's disease. *BioEssays*, **37**(2), 131–141. <https://doi.org/10.1002/bies.201400131>
- 5) Morihara, T., Hayashi, N., Yokokoji, M., Akatsu, H., Silverman, M. a, Kimura, N., Sato, M., Saito, Y., Suzuki, T., Yanagida, K., Kodama, T. S., Tanaka, T., Okochi, M., Tagami, S., Kazui, H., Kudo, T., Hashimoto, R., Itoh, N., Nishitomi, K., ... Takeda, M. (2014). Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid-β accumulation modifier. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**(7), 2638–2643. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307345111>
- 6) Yamaguchi-Kabata, Y., Morihara, T., Ohara, T., Ninomiya, T., Takahashi, A., Akatsu, H., Hashizume, Y., Hayashi, N., Shigemizu, D., Boroevich, K. A., Ikeda, M., Kubo, M., Takeda, M., & Tsunoda, T. (2018). Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid-β accumulation in Alzheimer's disease. *Human Genetics*, **137**(6–7), 521–533. <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1906-z>

この論文は、2021年6月5日(土)第34回老年期認知症研究会で発表された内容です。