

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 元 年 6 月 25 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16369

研究課題名（和文）統合失調症罹患二卵性双生児家系のエクソーム解析を起点としたリスク遺伝子の追究

研究課題名（英文）Investigation of risk gene for schizophrenia via whole exome sequence of family with an affected twin pair

研究代表者

保谷 智史（Hoya, Satoshi）

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：50748580

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：統合失調症の発症に大きな影響力をもつ稀なリスク遺伝子を同定するため、以下の研究を行った。まず、統合失調症罹患状態一致双生児を含む家系のエクソーム解析を行い、罹患双生児が共有する3つのde novoミスセンス変異を同定した。さらに、3つの変異について、症例・対照サンプル（1,760対1,508）を用いてタイピングを行ったが、これらの変異は症例、対照いずれにおいても同定されなかった。本研究では、統合失調症の発症に大きな影響力をもつ可能性がある3つのde novo変異を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症の発症に大きな影響力をもつ可能性がある、3つの変異を同定した。統合失調症の病態解明のために、今後、これらの変異の機能解析など、さらなる研究の蓄積が期待される。

研究成果の概要（英文）：To identify rare variants with strong effects on developing schizophrenia, we performed the following study. First, we performed whole exome sequence (WES) of family with an affected twin pair. We identified three de novo missense variants shared by affected twins. Next, we genotyped the three missense variants in 1,760 patients and 1,508 controls. However, all 3,268 individuals were homozygous for the reference allele of these variants. We identified three variants that may have a role in developing schizophrenia.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 罹患双生児 エクソーム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は遺伝要因と環境要因が相互に影響し合っ

て発症に至ると考えられているが、遺伝要因の関与が大きいと推定されている（Owen et al., 2016）。このためゲノム解析は統合失調症の病態解明における最も有力なアプローチとして期待されている。

統合失調症の発症には、頻度は高いが影響力は小さいリスク多型と頻度は稀だが影響力は大きいリスク変異の両方が関与している（図1）。ゲノムワイド関連解析によって多くのリスク多型が同定されたが（Ripke et al., 2014）、個々のリスク多型が発症に与える影響力は小さく、その成果を病態解明へとつなげることは難しい。統合失調症の病態を解明するためには、頻度は稀だが影響力の大きいリスク変異を同定することが重要である。

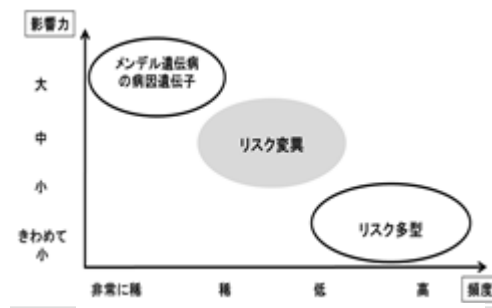


図1 リスク多型とリスク変異

ゲノム中の全エクソンをシーケンスするエクソーム解析が行われるようになり、統合失調症の発症に大きな影響力をもつ稀なリスク遺伝子として *SETD1A* 遺伝子が同定された（Singh et al., 2016; Takata et al., 2016）。しかし、遺伝要因の一部が明らかにされたに過ぎず、さらなる研究が必要だった。

複数の罹患者がいる家系には、統合失調症の発症に大きな影響力をもつ稀なリスク遺伝子が存在する可能性が高いことから（Timms et al., 2013; Homann et al., 2016; Zhou et al., 2016）、研究代表者は、罹患者である双生児を含む家系のエクソーム解析をもとに、候補リスク遺伝子の同定を試みた。

### 2. 研究の目的

統合失調症罹患者である双生児を含む家系のエクソーム解析をもとに、発症に大きな影響力をもつ稀なリスク遺伝子を同定することが目的である。

### 3. 研究の方法（図2）

本研究は新潟大学および共同研究機関の遺伝子倫理審査委員会承認され、対象者からは書面にて研究参加の同意を得た。

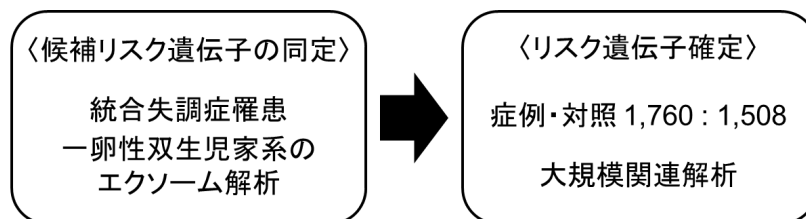


図2 研究の流れ

#### （1）エクソーム解析

統合失調症の発症に大きな影響力をもつ稀な候補リスク遺伝子を同定するため、統合失調症に罹患した双生児を含む家系（図2）のエクソーム解析を行った。

まず、AmpFISTR Identifier キットを用いて、家系内計6名の血縁鑑定を行った。続いて、6名のゲノムDNAを用いて SureSelect Human All Exon V6 キットによりターゲット領域を濃縮し、HiSeq システムにてエクソームシーケンスを行った。シーケンスデータについて、GATK による変異検出および snpEff によるアノテーションを行った。

検出された変異について、1）罹患双生児が共有、2）両親、非罹患同胞は保有しない、3）変異の影響が高度または中等度、4）HGVD（the Human Genetic Variation Database）でのアレル頻度が1%未満または登録なし、という条件でフィルタリングを行い、3つのミスセンス変異を候補リスク変異として選択した。これらの変異をサンガーシーケンスで確認した。

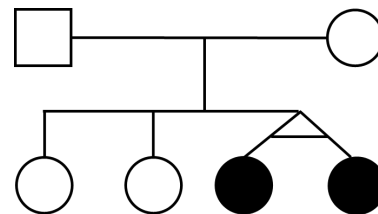


図2 罹患双生児家系

#### （2）症例対照研究

十分な検出力をもつ症例・対照サンプルを用いた大規模関連解析により、候補リスク変異が、特定の家系のみでなく、一般的に統合失調症の発症に大きな影響力をもつかどうかを確認した。

具体的には、ハイスループット・タイピング装置（ABI-7900HT）を用い、症例・対照サン

プル (1,760 対 1,508) について、これらの候補リスク変異をタイピングした。

#### 4. 研究成果

##### (1) エクソーム解析

キットを用いて血縁鑑定を行ったところ、罹患双生児は一卵性であることが判明した。  
エクソーム解析をフィルタリングし、3つの de novo ミスセンス変異を同定した (表1)。

表1 エクソーム解析

フィルタリング	変異数
コール	64,201
常染色体	63,238
変異の影響	
高度	868
中等度	12,199
罹患一卵性双生児が共有	9,863
両親、非罹患同胞は保有しない	4
アレル頻度が1%未満または登録なし	3

すなわち、CPT2 遺伝子 Ala283Thr 変異、CPSF3 遺伝子 Val584Ile 変異、RNF148 遺伝子 Val210Ile 変異である。このうち CPSF3 遺伝子 Val584Ile 変異は、CADD スコアが 22.3 で最も有害な変異 1%に含まれると機能予測された (表2)。

表2 候補リスク変異

遺伝子	タンパク質	In silico 解析		
		SIFT	PolyPhen-2	CADD
CPT2	p.Ala283Thr	Tolerated	Benign	0.805
CPSF3	p.Val584Ile	Tolerated	Benign	22.3
RNF148	p.Val210Ile	Tolerated	Benign	4.152

SIFT, Sorting Intolerant from Tolerant; PolyPhen-2, Polymorphism Phenotyping v2; CADD, Combined Annotation Dependent Depletion

候補リスク変異の頻度を、公的データベースである BBBWGS (BioBank Japan Whole-Genome Sequencing) jMorp (Japanese Multi Omics Reference Panel) 1KGP (1000 Genomes Project) gnomAD (the Genome Aggregation Database) を用いて検索したが、いずれの変異もデータベースに登録されていない、あるいは極めて稀な変異だった。

##### (2) 症例対照研究

これらの候補リスク変異は症例、対照いずれにおいても同定されなかった。

##### (3) 考察

機能予測の結果からは、本研究で同定された3つの候補リスク変異のうち、特に CPSF3 遺伝子 Val584Ile 変異が最も有望な候補リスク変異と思われた。CPSF3 遺伝子は mRNA 前駆体の成熟に関与することが知られているが (Mandel et al., 2006) 統合失調症の発症に寄与する機序は不明であり、今後機能解析を行う必要がある。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

#### 6. 研究組織

(1) 研究分担者  
なし

(2) 研究協力者  
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。