

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15513

研究課題名（和文）Genotype-to-phenotypeによる精神障害の新たな病態解明

研究課題名（英文）Translation of rare missense variants of disease-causing genes into molecular risk mechanisms to clinical phenotypes

研究代表者

石塚 佳奈子 (Ishizuka, Kanako)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90801449

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ほとんどの精神疾患は、遺伝要因や環境要因と偶然の影響を受ける複雑性疾患である。本研究課題は遺伝要因の影響が大きい神経発達症を対象とした。脳神経系の発生から維持に関わる遺伝子群に着目し、「ありふれた疾患は頻度の低いゲノム変異の影響を受ける」という仮説に基づいて、遺伝統計学的に疾患との関連が示唆されるゲノム変異を探索した。さらに、基礎研究者の支援を受けてゲノム変異がタンパクの機能や構造にもたらす変化を詳細に解析し、ゲノム変異保有者の臨床表現型と照らし合わせてその影響と想定されるメカニズムを検討した。本研究を通じて精神疾患の生物学的な理解につながる成果が得られたと考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、精神疾患の発症や臨床経過に関与する遺伝要因が一義的なものではなく、きわめて複雑であることを裏付けた点である。このことは同時に、精神疾患に対する誤解や偏見を払拭しうる点で社会的意義がある。

精神疾患の原因論は遺伝か環境の二分法に陥りやすい。また、精神疾患の家族歴に関する懸念は多くの患者家族が意識しながらも臨床場面では話題になりにくい。そこで、精神科の臨床場面における遺伝の話題の取り扱いや遺伝カウンセリングの実際について、国内外の学会・学術誌で発表と提案を行った。

研究成果の概要（英文）：The development of psychiatric disorders involves the integration of genetic and environmental factors, and it is particularly difficult to disentangle the relationship between phenotypic, genotypic, and environmental factors. Since neurodevelopmental disorders are currently considered to be a predominantly heritable condition, we investigated the impact of rare variants of brain-specific genes on neurodevelopmental disorders. A combination of data through phenotypic assessment of participants with variants, in vivo functional analysis and in silico three-dimensional structural modeling suggests that the detected variants may be associated with a wide range of neurodevelopmental disorder phenotypes beyond the current pathological classification. Further studies are needed to confirm these associations and to elucidate potential mechanisms.

研究分野：Child and adolescent psychiatry

キーワード：ゲノム変異 神経発達症 遺伝環境相互作用 遺伝カウンセリング 複雑性疾患 臨床表現型

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人口の1%以上が罹患する自閉スペクトラム症と統合失調症は、遺伝要因の寄与が大きい。青年期までに顕在化して長期の臨床経過をたどり、患者家族の心理的負担や社会的損失が大きいことから、予防的・治療的介入の開発が急務である。また、精神症候学による現在の臨床診断は生物学的に極めて不均質である。これを解決するべく、遺伝要因と表現型から診断分類を見直す **genotype-to-phenotype** が進んでいる。両疾患の病態解明において、既存の診断分類を超えた遺伝要因の理解は不可欠と言える。

2. 研究の目的

自閉スペクトラム症と統合失調症は共通の遺伝学的基盤をもつ複雑性疾患であり、すでにくつつかの遺伝子と両疾患の強い関連が知られている。本研究計画は **common disease, rare variant (CDRV)** 仮説に基づき、頻度が低く疾患への関与が大きいゲノム変異を起点に、既存の診断分類を超えて遺伝子型に基づいた疾患横断的な分類の再構築を目指した。

3. 研究の方法

本研究課題では、頻度が低いゲノム変異のうち、主に一塩基変異に着目して次世代シーケンサーを用いた解析を行なった。既報を踏まえ、酸化ストレスに関わる **GLO1**、放射状グリア繊維に沿った神経細胞の移動に関わる **ASTN** と、シナプス構築や神経伝達物質の放出機構に関わる **NRXN1** を解析した。まず初めに、日本人の自閉スペクトラム症・統合失調症患者 **562** 人のゲノムからそれぞれのタンパク質をコードする遺伝子領域の変異を探索し、公的な健常者データベースを参照して頻度1%未満の一塩基変異を抽出した。日本人の健常者ゲノムを用いて関連解析を行い、精神疾患との遺伝統計学的に関連する一塩基変異を検出した。また、重度の神経発達症を呈する患者において、細胞接着・細胞骨格の保持に関わる **FBLIM1** と、脳神経細胞移動やシナプス可塑性に寄与する **RELN** をコードする領域の欠失を検出した。検出した一塩基変異や染色体微細欠失がタンパク機能や構造に及ぼす影響を明らかにするため、基礎研究者と連携して機能解析と構造解析を行なった。

4. 研究成果

患者群のゲノム解析を通じて、**GLO1** をコードする遺伝子領域でフレームシフト変異が検出された。このゲノム変異について関連解析を行ったところ、患者群・健常者群双方に一定の頻度で見出され(表1)、精神疾患に直接影響を及ぼすというよりは、日本人集団における **polymorphism** のひとつと考えるのが妥当と考察した。**ASTN** をコードする遺伝子領域では、患者群において、健常群と比較して統計学的に有意な低頻度の一塩基変異の集積を認めた(表2)。**FBLIM1**・**RELN** 領域の欠失については、モデル動物や細胞を用いた解析により、脳神経系発達早期の神経細胞移動を阻害する可能性が示唆された。分子生物学的な機能解析の結果とゲノム変異保有者の臨床表現型を結びつけて考察した。以上の成果は国際学会や国際学術誌にて発表した。**NRXN1** についても同様の解析を行い、国際学術誌に投稿中である。

表1 GLO1-p.P122fs の関連解析から、患者群とコントロール群で頻度に統計学的有意差を認めなかった

Exon	Ref	Val	Position	Variant	Schizophrenia			Control	
					Allele count ^a	MAF	P value ^b	Allele count ^a	MAF
4	G	-	6:38682819	P122fs	3/2564 (one male; two female)	0.0012	0.25	8/3528 (four male; four female)	0.0023

Genomic position is based on NCBI builds GRCh38. Amino acid position is based on NCBI reference sequence NP_001328.1.

MAF, minor allele frequency; Ref, reference; Val, variant.

^aMinor allele/total allele.

^bP values were calculated by one-tailed Fisher's exact test.

表 2 ASTN2 のコード領域で検出された低頻度の一塩基変異は疾患群に集積していた

Minor Allele Frequency	All SNVs detected within <i>ASTN2</i>			NM_014010(ENST00000361209) Coding exons only		
	iJGVD (Control)	Ion Torrent (Case)	<i>P</i> Value	iJGVD (Control)	Ion Torrent (Case)	<i>P</i> Value
<1%	236/4098	100/1124	0.0002	101/4098	38/1124	0.0592
<0.5%	162/4098	66/1124	0.0043	80/4098	13/1124	0.0437
<0.1%	53/4098	21/1124	0.0989	23/4098	7/1124	0.4754

Minor allele count/all count
P values are from one-sided Fisher's exact test

また、精神疾患の家族歴に関する懸念は、多くの患者家族が意識しながらも臨床場面で話題になりにくかった。医療者であっても、精神疾患と遺伝の関係をわかりやすく説明するのは難しい。そこで、本研究課題から得られた精神疾患の遺伝学的知見を臨床に還元する遺伝カウンセリングの実際を国内外の学会で発表すると同時に、これからの精神科医療と遺伝学の結びつきに関するディスカッションを行なった。また、遺伝学を精神医学に還元するために必要な臨床姿勢につき、家族歴を中心に論じた論文は精神神経学会誌に掲載された。さらに、遺伝学的検査により確定診断し得た症例を日本語学術誌で報告して、現病歴・表現型に基づく臨床評価の必要性を論じた。これらの知見は一般向けの講演会にも取り込み、精神疾患に対する偏見の払拭に努めた。

以上、本研究期間において genotype-to-phenotype につながる知見を得て社会に還元できたと考える。引き続き、研究活動と研究成果の還元を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kushima Itaru, Aleksic Branko, Nakatochi Masahiro, Shimamura Teppei, Okada Takashi, Uno Yota, Morikawa Mako, Ishizuka Kanako, 他72名	4. 巻 24
2. 論文標題 Comparative Analyses of Copy-Number Variation in Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia Reveal Etiological Overlap and Biological Insights	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2838 ~ 2856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.08.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sawahata Masahito, Mori Daisuke, Arioka Yuko, Kubo Hisako, Kushima Itaru, Kitagawa Kanako, Sobue Akira, Shishido Emiko, Sekiguchi Mariko, Kodama Akiko, Ikeda Ryosuke, Aleksic Branko, Kimura Hiroki, Ishizuka Kanako, Nagai Taku, Kaibuchi Kozo, Nabeshima Toshitaka, Yamada Kiyofumi, Ozaki Norio	4. 巻 74
2. 論文標題 Generation and analysis of novel ReIn deleted mouse model corresponding to exonic ReIn deletion in schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 318-327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.12993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 石塚佳奈子, 尾崎紀夫	4. 巻 121
2. 論文標題 「遺伝」を継承と多様性で語る精神科医療に 精神疾患の遺伝要因を当事者やその家族とどう話し合うか	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本精神神経学会雑誌	6. 最初と最後の頁 602-611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 瀬名波徹, 石塚佳奈子, 久島周, 尾崎紀夫	4. 巻 36
2. 論文標題 分子精神医学の気になる進歩: ゲノム医学領域の進展を中心に	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 精神科	6. 最初と最後の頁 92-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka K. Tabata H. Ito H. Kushima I. Noda M. Yoshimi A. Usami M. Watanabe K. Morikawa M. Uno Y. Okada T. Mori D. Aleksic B. Ozaki N. Nagata KI.	4. 巻 5
2. 論文標題 Possible involvement of a cell adhesion molecule, Migfilin, in brain development and pathogenesis of autism spectrum disorders.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 789-802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jnr.24194	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka K. Kimura H. Kushima I. Inada T. Okahisa Y. Ikeda M. Iwata N. Mori D. Aleksic B. Ozaki N.	4. 巻 28
2. 論文標題 Assessment of a glyoxalase I frameshift variant, p.P122fs, in Japanese patients with schizophrenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Psychiatr Genet	6. 最初と最後の頁 90-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/YPG.0000000000000204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arioka Yuko, Shishido Emiko, Kubo Hisako, Kushima Itaru, Yoshimi Akira, Kimura Hiroki, Ishizuka Kanako, Aleksic Branko, Maeda Takuji, Ishikawa Mitsuru, Kuzumaki Naoko, Okano Hideyuki, Mori Daisuke, Ozaki Norio.	4. 巻 8
2. 論文標題 Single-cell trajectory analysis of human homogenous neurons carrying a rare RELN variant	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-018-0177-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 石塚佳奈子, 尾崎紀夫
2. 発表標題 日常臨床で話題になる家族の発症リスク
3. 学会等名 第60回日本児童青年精神医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanako Ishizuka, Branko Aleksic, Ozaki Norio
2. 発表標題 Discussion with patients and their families about genetic factors of autism spectrum disorders: a case report.
3. 学会等名 The 27th World Congress of Psychiatric Genetics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanako Ishizuka, Miho Toyama, Branko Aleksic, Norio Ozaki
2. 発表標題 Investigation of novel rare variants in ASTN2 in Japanese patients with autism spectrum disorders and schizophrenia
3. 学会等名 American Society of Human Genetics 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石塚佳奈子, 尾崎紀夫
2. 発表標題 あえて遺伝の話をしよう
3. 学会等名 第59回日本児童青年精神医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石塚佳奈子
2. 発表標題 Investigation of novel rare variants in NRXN1 contributes to the increased risk of autism spectrum disorders and schizophrenia
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会大会合同年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 石塚佳奈子 (著者 / 編者・永井良三)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1800
3. 書名 知的能力障害 / 今日の診断指針第8版	

1. 著者名 石塚佳奈子 (編者・飯高哲也)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 理工図書	5. 総ページ数 450
3. 書名 神経発達症 / メディカルスタッフ専門基礎科目シリーズ 精神医学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>ホームページ等 https://researchmap.jp/7000020870 https://www.med.nagoya-u.ac.jp/seisin/</p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----