

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08067

研究課題名(和文) 統合失調症患者・両親トリオの全エクソーム解析を起点としたリスク遺伝子の同定

研究課題名(英文) Whole-exome sequencing of patients with schizophrenia and their parents

研究代表者

渡部 雄一郎 (Watanabe, Yuichiro)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：90401744

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)：統合失調症の発症に大きな効果をもつリスク遺伝子を同定することを目的として、統合失調症患者・両親60家系(6家系は罹患同胞2人を含む)の計186人を対象として、全エクソーム解析を実施した。両親には存在せず患者で新たに生じたde novoの一塩基変異63個、挿入・欠失35個を候補リスク変異として選択した。サンガー法により、一塩基変異55個(87%)、挿入・欠失7個(35%)の存在が確認された。

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効果をもつ可能性があるde novoの候補リスク変異62個を同定した。この成果を基盤として、候補リスク変異が存在する遺伝子について統合失調症との関連を確認する、候補リスク変異の機能を解析することで、統合失調症の病態解明に結びつくものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Whole-exome sequencing (WES) studies have shown that ultra-rare coding de novo mutations (DNMs) contribute to the genetic etiology of schizophrenia. However, the contribution of DNMs to the risk for schizophrenia remains to be elucidated in the Japanese population. In this study, we attempted to investigate the role of ultra-rare coding DNMs in the genetic etiology of schizophrenia in the Japanese population. We performed WES of 186 individuals from 60 families with schizophrenia to detect DNMs. To confirm DNMs detected, we performed Sanger sequencing. We identified 62 DNMs using WES with depth of 118x and Sanger sequencing.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 統合失調症の遺伝要因

統合失調症の遺伝要因としては、頻度は高いが発症に与える効果は小さいリスク多型と頻度は稀だが大きな効果をもつリスク変異が複雑に関与している。ゲノムワイド関連解析によって、白人では 100 を超える関連座位が ()、日本人では 3 つの関連座位が同定された ()。しかし、個々のリスク多型が統合失調症の発症に与える効果は小さいことから、ゲノムワイド関連解析の成果を病態解明へとつなげるには大きな困難がある。

(2) 統合失調症の全エクソーム解析

統合失調症の病態を解明するための分子基盤を得るには、その発症に大きな効果をもつリスク遺伝子を同定することが重要である。ゲノム中のすべてのエクソン (全エクソーム) の塩基配列を解読 (シーケンス) する全エクソーム解析が実施されるようになり、統合失調症の発症に大きな効果をもつリスク遺伝子として白人では SETD1A 遺伝子が同定された ()。

(3) われわれの取り組み

日本はこの分野で大きな後れを取ってしまっているが、われわれは、統合失調症多発罹患者家系などを対象とした全エクソーム解析を行ってきた ()。

また、国内最大規模の統合失調症患者・両親 131 家系を収集し、20 家系の全エクソーム解析を終えている。両親には存在せず患者で新たに生じた de novo かつ機能的と推定される変異を 9 個同定した。

2. 研究の目的

統合失調症の全エクソーム解析が行われているが、研究開始時点では SETD1A 遺伝子がリスク遺伝子としてただひとつ白人で同定されたのみであり ()、さらなる研究が必要である。本研究の目的は、統合失調症の発症に大きな効果をもつリスク遺伝子を同定することである。

3. 研究の方法

(1) 統合失調症患者・両親の全エクソーム解析

統合失調症患者・両親 60 家系 (6 家系は罹患同胞 2 人を含む) の計 186 人を対象として、全エクソーム解析を実施した。エクソーム濃縮キット (SureSelect Human All Exon V4/5/6 kit または Twist Comprehensive Exome Panel) を用いてエクソーム・ライブラリを作成し、次世代シーケンサー (HiSeq 2000/2500 または NovaSeq 6000) によりシーケンスした。

(2) De novo 変異の同定

FastQC v0.11.9 により品質チェックされたリードを、Burrows-Wheeler Aligner v0.7.17-M-k17 を用いて参照ヒトゲノム (UCSC hg38) にマッピングした。Picard 2.24.0 を用いて PCR 重複を除去した。Genome Analysis Toolkit v4.1.9.0 HaplotypeCaller を用いて変異をコールした。

Triodenovo v0.0.6 を用いて de novo 変異を検出した。変異の注釈づけには SnpEff v4.3 を用いた。検出された de novo 変異のなかで、頻度がきわめて稀で機能的と推定されるものを候補リスク変異として選択した。候補リスク変異の存在を確認するため、サンガー法によりシーケンスした。

(2) 倫理的配慮

本研究は、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針や個人情報保護法を遵守し、新潟大学および各共同研究機関の遺伝子倫理審査委員会で承認されている。対象者 (必要に応じて代諾者) に対して文書を用いて研究計画の内容などについて十分な説明を行い、書面にて研究参加の同意を得た。

4. 研究成果

(1) 統合失調症患者・両親の全エクソーム解析

統合失調症患者・両親 60 家系 (6 家系は罹患同胞 2 人を含む) の全エクソーム解析において、平均深度は 118 であり、標的領域の平均 95% が 15 リード以上でカバーされた (表 1)。

表 1. 全エクソーム解析の対象者、深度、カバー率

	患者	父	母
性別 (男性 : 女性)	33: 33	60: 0	0: 60
年齢 (歳)	31 ± 9	60 ± 10	57 ± 9
深度	116 ± 60	118 ± 59	120 ± 67
カバー率 (%)	94 ± 3	95 ± 2	95 ± 2

(2) De novo 変異の同定

一塩基変異 136 個、挿入・欠失 120 個、計 256 個の de novo 変異が検出された。このうち、一塩基変異 63 個、挿入・欠失 35 個を候補リスク変異として選択した。選択された候補リスク変異のうち、一塩基変異 55 個 (87%)、挿入・欠失 7 個 (35%) の存在が、サンガー法により確認された。

SnEff による注釈付けにより、ナンセンス変異やフレームシフト変異など影響が高度と推定された変異は 11 個、ミスセンス変異など中等度とされた変異は 48 個、スプライス領域変異など低度とされた変異は 3 個であった。

(3) 国内外における位置づけ

国外では大規模な統合失調症患者・両親サンプルを用いた研究が行われ、de novo 変異が統合失調症の発症に大きな効果をもつことが示されている (~)。一方、国内からは患者・両親 18 家系において de novo 変異 9 個を同定したという報告がなされているのみである ()。

今回われわれは患者・両親 60 家系において de novo 変異 62 個を同定した。これらの変異が存在する遺伝子のなかには、統合失調症 ()、双極性障害 ()、神経発達障害 () の発症に大きな効果をもつリスク遺伝子として報告されているものが複数含まれていた。したがって、今回同定された変異の中には真のリスク変異が含まれているものと考えられる。

(4) 今後の展望

われわれは、これまでに患者・両親 144 家系のゲノム DNA サンプルを収集している。今後も残る 84 家系の全エクソーム解析を進める。またサンプリングを継続するとともに、国内多機関共同研究によって解析の対象となる家系数を増やすことで、日本人統合失調症の発症に大きな効果をもつリスク遺伝子の同定を目指す予定である。

<引用文献>

- Pardiñas AF, et al. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat Genet.* 2018;50(3):381-389.
- Ikeda M, et al. Genome-wide association study detected novel susceptibility genes for schizophrenia and shared trans-populations/diseases genetic effect. *Schizophr Bull.* 2019;45(4):824-834.
- Singh T, et al. Rare loss-of-function variants in SETD1A are associated with schizophrenia and developmental disorders. *Nat Neurosci.* 2016;19(4):571-577.
- Takata A, et al. Loss-of-function variants in schizophrenia risk and SETD1A as a candidate susceptibility gene. *Neuron.* 2014;82(4):773-80.
- Watanabe Y, et al. Rare truncating variations and risk of schizophrenia: Whole-exome sequencing in three families with affected siblings and a three-stage follow-up study in a Japanese population. *Psychiatry Res.* 2016;235:13-18.
- Fromer M, et al. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature.* 2014;506(7487):179-84.
- Howrigan DP, et al. Exome sequencing in schizophrenia-affected parent-offspring trios reveals risk conferred by protein-coding de novo mutations. *Nat Neurosci.* 2020;23(2):185-193.
- Rees E, et al. De novo mutations identified by exome sequencing implicate rare missense variants in SLC6A1 in schizophrenia. *Nat Neurosci.* 2020;23(2):179-184.
- Singh T, et al. Rare coding variants in ten genes confer substantial risk for schizophrenia. *Nature.* 2022;604(7906):509-516.
- Nishi A, Numata S, Tajima A, Zhu X, Ito K, Saito A, Kato Y, Kinoshita M, Shimodera S, Ono S, Ochi S, Imamura A, Kurotaki N, Ueno SI, Iwata N, Fukui K, Imoto I, Kamiya A, Ohmori T. De novo non-synonymous TBL1XR1 mutation alters Wnt signaling activity. *Sci Rep.* 2017;7(1):2887.
- Palmer DS, et al. Exome sequencing in bipolar disorder identifies AKAP11 as a risk gene shared with schizophrenia. *Nat Genet.* 2022;54(5):541-547.
- Kaplanis J, et al. Evidence for 28 genetic disorders discovered by combining healthcare and research data. *Nature.* 2020;586(7831):757-762.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hoya Satoshi, Watanabe Yuichiro, Nunokawa Ayako, Otsuka Ikuo, Shibuya Masako, Igeta Hirofumi, Hishimoto Akitoyo, Someya Toshiyuki	4. 巻 30
2. 論文標題 Whole-exome sequencing in a family with a monozygotic twin pair concordant for schizophrenia and a follow-up case-control study of identified de-novo variants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychiatric Genetics	6. 最初と最後の頁 60～63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/YPG.0000000000000250	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 Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Saito T, Kondo K, Shimasaki A, Kawase K, Sakusabe T, Iwayama Y, Toyota T, Wakuda T, Kikuchi M, Kanahara N, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Hoya S, Aleksic B, Kushima I et al.	4. 巻 45
2. 論文標題 Genome-wide association study detected novel susceptibility genes for schizophrenia and shared trans-populations/diseases genetic effect	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Schizophr Bull	6. 最初と最後の頁 824-834
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/schbul/sby140	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 Igeta H, Watanabe Y, Morikawa R, Ikeda M, Otsuka I, Hoya S, Koizumi M, Egawa J, Hishimoto A, Iwata N, Someya T	4. 巻 15
2. 論文標題 Rare compound heterozygous missense SPATA7 variations and risk of schizophrenia; whole-exome sequencing in a consanguineous family with affected siblings, follow-up sequencing and a case-control study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropsychiatr Dis Treat	6. 最初と最後の頁 2353-2363
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/NDT.S218773. eCollection 2019	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11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡部雄一郎, 保谷智史, 布川綾子, 澁谷雅子, 井桁裕文, 森川亮, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症罹患状態一致一卵性双生児家系の全エクソーム解析および症例・対照研究
3. 学会等名 第116回日本精神神経学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森川亮, Arta Kurniawan Reza, 保谷智史, 渡部雄一郎, 井桁裕文, 染矢俊幸
2. 発表標題 日本人における統合失調症患者・両親トリオ32家系の全エクソーム解析
3. 学会等名 第116回日本精神神経学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井桁裕文, 渡部雄一郎, 保谷智史, 森川亮, 小泉暢大栄, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症罹患同胞対・両親の全エクソームシーケンス
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 布川綾子, 渡部雄一郎, 金子尚史, 村竹辰之, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症多発罹患家系において疾患と共分離する変異の検索
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎賢志, 大塚郁夫, 渡部雄一郎, 朴秀賢, 新名尚史, 平田尚士, 蓬萊政, 染矢俊幸, 曾良一郎, 菱本明豊
2. 発表標題 統合失調症におけるマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の血清濃度増加と遺伝子多型関連解析
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂井美和子, 渡部雄一郎, 染矢俊幸, 荒木一明, 澁谷雅子, 新里和弘, 大島健一, 國井泰人, 矢部博興, 松本純弥, 和田明, 日野瑞城, 橋本健志, 菱本明豊, 北村登, 入谷修司, 白川治, 前田潔, 宮下哲典, 丹羽真一, 高橋均, 柿田明美, 桑野良三, 那波宏之
2. 発表標題 統合失調症患者の脳内ゲノムにおけるコピー数変異の評価
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森川亮, 井桁裕文, 渡部雄一郎, 保谷智史, 澁谷雅子, 江川純, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症患者におけるSETD1A遺伝子のシーケンス
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 保谷智史, 渡部雄一郎, 布川綾子, 井桁裕文, 森川亮, 澁谷雅子, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症罹患状態一致一卵性双生児家系のエクソーム解析
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井桁裕文, 渡部雄一郎, 保谷智史, 森川亮, 小泉暢大, 染矢俊幸
2. 発表標題 SPATA7遺伝子の複合ヘテロ接合体変異と統合失調症の発症リスク: 罹患同胞対と両親の全エクソームシーケンスおよび症例・対照研究
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 保谷智史, 渡部雄一郎, 澁谷雅子, 井桁裕文, 森川亮, 染矢俊幸
2. 発表標題 統合失調症発症に大きな影響力をもつ de novo 変異の探索: 患者・両親トリオ24家系の全エクソーム解析
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関