

機関番号：32203

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20790857

研究課題名 (和文) ヘルマンスキー・パドラック症候群合併例からの統合失調症脆弱性決定遺伝子の探索研究

研究課題名 (英文) The discovery research of the vulnerability factor, which is associated with schizophrenia, through familial clustering cases of both Hermansky-Pudlak syndrome and schizophrenia.

研究代表者

齋藤 淳 (SAITO ATSUSHI)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：00453407

研究成果の概要 (和文)：ヘルマンスキー・パドラック症候群(HPS)と精神病性障害との集積家族における解析から、HPS4 遺伝子にナンセンス変異を見出した。この遺伝子変異が、当該家族における HPS の原因と考えられた。この遺伝子が統合失調症にも関与するかを検討するため、統合失調症患者 422 名、健常対照者 578 名を対象に、DNA 多型をベースにした患者 - 対照研究を行い、イントロンに存在する一塩基多型(SNP)の対立遺伝子 (アレル) 頻度が有意に健常対照者に高いことを見出した。また、一部の対象者に対して、認知機能検査 (BACS-J) を行い、当該アレルを有する群において、患者、健常者ともワーキングメモリが高いことが示された。以上より、このアレルが病態に対して何らかの保護的に作用している可能性が考えられ、HPS4 遺伝子が統合失調症の病態に関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：We found the nonsense mutation in the HPS4 gene through sequencing analysis of a familial clustering cases in both Hermansky-Pudlak syndrome (HPS) and psychotic disorders. This mutation probably caused HPS in this family. An association study between the schizophrenics and the controls revealed that minor allele of an intronic single nucleotide polymorphism (SNP) was over-represented in the control samples. And this minor allele was associated with higher working memory. Taken together, genotypic diversity of the HPS4 gene may contribute some pathological aspects of schizophrenia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 20 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
平成 21 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
平成 22 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：精神神経医学

科研費の分科・細目：内科臨床医学・精神神経科学

キーワード：統合失調症、ヘルマンスキー・パドラック症候群、認知機能

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、主に思春期以降に発症し、幻覚・妄想等の特徴的な精神病性症状を伴い、社会機能にも大きな影響を受ける慢性疾患

である。生涯罹患率も約 1%と決して稀ではなく、社会参加が困難となり、予後不良となることも少なくないため、病態の原因究明、より良い治療法の確立が急務となっている。

過去の研究より、遺伝要因の関与が示唆されているが、決定打となる因子の同定には未だ至っていない。他の多因子性疾患と同様、たった一つの遺伝子変異によって疾患を説明することは難しいが、一部症例においては家系内集積が認められ、特に強い遺伝負因の存在が疑われる。このような視点に立ち、我々は常染色体劣性遺伝形式をとる非常に稀な疾患であるヘルマンスキー・パドラック症候群 (HPS) と統合失調症を始めとした精神病性疾患の集積が見られる家族に着目した。図1に家系図を示すが、いとこ婚の夫婦より生まれた子供の内、HPS 罹患者 2 名、統合失調症 2 名、精神病性うつ病 1 名を認めた。HPS 患者は何れも精神疾患を合併していた。また、興味深いことに、HPS の原因遺伝子の一つである HPS7 遺伝子は、Dystrobrevin binding protein 1 (DTNBP1) という別名を持ち、この遺伝子および産物である dysbindin タンパクは統合失調症のリスク因子として注目されている。我々は、この家族に HPS を引き起こしている遺伝子変異が精神疾患にも関与しているのではないかと仮説の下、研究を進めることとした。

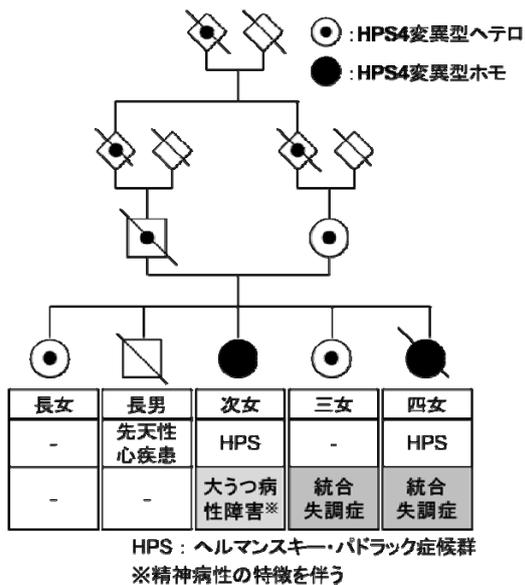


図 1 : 当該家族の家系図 (すでに研究成果の(1)に記した結果も記入してある)

## 2. 研究の目的

HPS, 精神病性疾患集積家族の解析を通して、まず HPS の原因遺伝子を明らかにし、これが統合失調症を始めとした精神病性疾患の病態形成に関与するかを検討する。新たなターゲット遺伝子を見出すことにより、最終的には統合失調症の生物学的マーカーやより良い治療法の確立に繋げて行くことを目標としている。

## 3. 研究の方法

(1) この家族の HPS 患者においては、HPS を引き起こすホモの変異が存在する可能性が高い。当該家族におけるヘルマンスキー・パドラック症候群の原因遺伝子を明らかにするため、HPS1, HPS7 (=Dysbindin), HPS4 と順に DNA 塩基配列解析を行った。

(2) 変異が発見された遺伝子上の多型が、一般例の統合失調症に関与しているか確認するため、一塩基多型 (SNP) をベースとした患者 - 対照研究を行った。対象者は、文書による説明を受け、同意が得られた方で、統合失調症患者 422 名、健常対照者 578 名であった。この研究は、東北大学、および獨協医科大学双方の生命倫理委員会の承認を得て行われた。日本人サンプルにおいて多型性が認められた cSNP (アミノ酸変異を引き起こす SNP) 5 か所とプロモーター活性を有している可能性のある 5' 近接領域の SNP1 か所、21 塩基欠失・挿入多型 1 か所、Haploview を用い、さらに解析すべき tag SNP を 2 か所選択した。合計 9 か所の遺伝子型を決定し、遺伝子型、アリル頻度に対して、カイ 2 乗検定を行った。互いに完全連鎖不平衡 (absolute linkage disequilibrium) 関係にない 5 か所の多型を選び、ハプロタイプを用いた患者 - 対照研究を行った。

(3) また、統合失調症の中間表現型としての認知機能と DNA 多型との関連を統計学的に評価し、遺伝子の病態への関与を検討した。この対象者は、統合失調症患者 207 名、健常対照者 272 名で、全員文書による説明と同意を得た。認知機能評価には Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia Japanese version (BACS-J) を用い、全て対面にて施行した。解析には、two-way ANCOVA (analysis of covariance) を用いた。

(4) 多型と遺伝子発現量との関連を見るため、TaqMan probe (Applied Biosystems) を用いて real-time PCR を行い、末梢血サンプルにおける HPS4 cDNA 量を定量した。多型と発現量の相関については、Mann-Whitney U test を用いて検討した。

## 4. 研究成果

(1) 当該家族におけるヘルマンスキー・パドラック症候群の原因は、HPS4 遺伝子におけるナンセンス変異であった。

HPS1, HPS7 には、変異が見られなかった。図 2 にあるように、HPS4 Exon7 上にナンセンス変異を発見した。これは、既報のイタリアにおける症例に見られたものと一致し、家族以外の日本人サンプルにおいては、発見さ

れなかった。この変異は、HPS 患者である 2 名にのみホモで存在し、HPS の原因となっていることが示唆された。この変異により、タンパクの翻訳が途中でストップする、または haplo insufficiency によりタンパクそのものが安定して発現できないことが示唆された。興味深いことに、ヘテロではあるが、統合失調症のみを発症した三女にもナンセンス変異が見られた。一般の統合失調症においても、この遺伝子の病態への関与の有無について検討する価値があるものと考えられた。

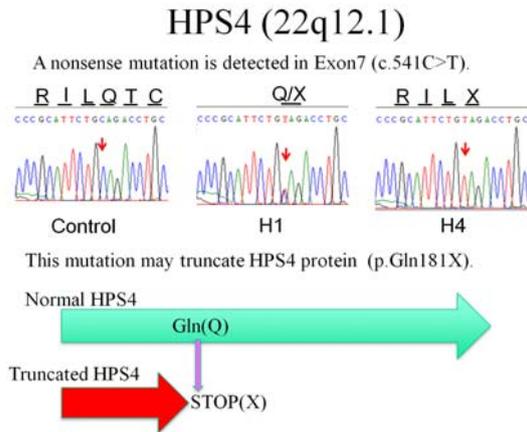


図 2 : HPS4 解析結果 (H1:長女、H4: 四女)

(2)DNA 多型を用いた患者 - 対照研究により、イントロン領域にある一塩基多型 (rs9608491) が疾患に対して保護的に作用することが示唆された。

rs9608491 において、C アリルの頻度 ( $p=0.0082$ )、C/C 遺伝子型の頻度 ( $p=0.0241$ ) が対照群にて高い傾向が見られた。False Discovery Rate (FDR) 法による補正をかけた結果、有意差は消失した ( $q>0.05$ )。ハプロタイプ関連解析の結果、rs9608491 の C アリルを含むハプロタイプ (Hap3) が有意に健常対象者に多く見られ (Permutation P value=0.008)、このアリルが T に変化したハプロタイプ (Hap1) が患者群に有意に多く見られた (Permutation P value=0.037)(Table 1)。

Table 1: Haplotype case-control study in the 5 hISNPs (Permutation test)

No.	Haplotype	Schizophrenics	Frequency	Controls	Frequency	Permutation P-value
1	G-Del-T-G-C	281	0.333	334	0.289	<b>0.037</b> →Hap1
2	A-Del-T-G-G	247	0.293	323	0.279	<b>0.567</b> →Hap2
3	G-Del-C-G-C	116	0.137	209	0.181	<b>0.008</b> →Hap3
4	A-ins-T-A-C	95	0.113	153	0.132	<b>0.191</b> →Hap4
5	A-Del-T-A-C	105	0.124	137	0.119	<b>0.701</b> →Hap5

Haplotype pairs mean rs4822724(A/G)-21bp Insertion(Del/Ins)-rs9608491(C/T)-rs713998(A/G)-rs2014410(C/G) in HPS4.  
Global Permutation P-value was **0.034**.

(3)(2)の多型と一致して、保護的と考えられるアリルを持つ群において、患者、対照者ともにワーキングメモリが高いことが示された。

BACS-J の各項目の成績と遺伝子型について

関連性を検討したところ、(2)において健常者に有意に多く見られたアリルをホモで有する群において、ワーキングメモリの成績が患者・健常者とも有意に高かった (図 3)。

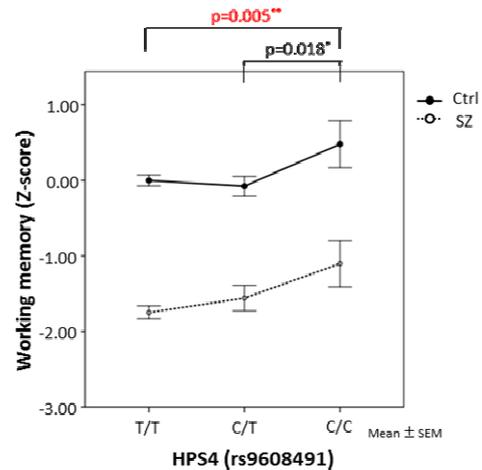


図 3 : ワーキングメモリと rs9608491 の関連

(4)末梢血における mRNA 発現量については、多型による差異を認めなかった。

以上より、統合失調症の病態に HPS4 遺伝子が関与していることが示唆された。それぞれ独立に収集したサンプル・データより解析した結果が整合性を持っていたことは非常に興味深い。しかしながら、rs9608491 が遺伝子発現量の差等に関わっている可能性は低いと考えられ、現在の所その生物学的意義は不明である。この遺伝子は、全体が 1 つの連鎖不平衡ブロックに収まっており、ハプロタイプごとの意義についても検討が必要だろう。

ここまでの成果については、現在論文投稿準備中である。

また、HPS4 タンパクの機能を調べるため、分子生物学的手法を用いた解析を今後も継続していく予定である。HPS4 遺伝子は、この研究を通して新規に注目された遺伝子であり、今後の解析を通して、精神疾患における新たな disease pathway が見出されることが期待される。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① Saito A, Fujikura-Ouchi Y, Ito C, Matsuoka H, Shimoda K, Akiyama K: An association study on polymorphisms in the PEA15, ENTPD4, and GAS2L1 genes and

- schizophrenia. *Psychiatry Res.* 185: 9-15, 2011. (査読有)
- ② Akiyama K, Saito A, Shimoda K: Chronic methamphetamine psychosis after long-term abstinence in Japanese incarcerated patients. *Am J Addict.* 20: 240-9, 2011. (査読有)
- ③ 齋藤 淳、倉富 剛、秋山一文、神谷 篤: DISC1 発見からの 10 年 - 研究の発展と課題 - *精神科* 18: 457-463, 2011. (査読なし)
- ④ 秋山一文、齋藤 淳. 覚せい剤依存の基礎. *脳と心のプライマリーケア*. 第 8 巻、シナジー、2010、印刷中. (査読なし)
- ⑤ 齋藤 淳、秋山一文: 大麻 (マリファナ) と内性カンナビノイド *精神科* 16: 378-382, 2010. (査読なし)
- ⑥ 秋山一文、齋藤 淳: 覚せい剤による依存, 精神症状, 認知障害 *Schizophrenia Frontier* 11: 104-108, 2010. (査読なし)
- ⑦ Saeki Y, Watanabe T, Ueda M, Saito A, Akiyama K, Inoue Y, Hirokane G, Morita S, Yamada N, Shimoda K: Genetic and pharmacokinetic factors affecting the initial pharmacotherapeutic effect of paroxetine in Japanese patients with panic disorder. *Eur J Clin Pharmacol.* 65:685-91, 2009. (査読有)
- ⑧ 齋藤 淳、秋山一文: オメガ-3 脂肪酸 (DHA, EPA) と精神疾患 *精神科* 14: 419-424, 2009. (査読なし)
- ⑨ 秋山一文、齋藤 淳. Lance-Adams症候群 (低酸素脳症). 専門医のための精神科臨床リュミエール 14. pp163-165、中山書店、2009. (査読なし)
- ⑩ 秋山一文、齋藤 淳、渡邊 崇、萩野雅宏. 海馬に局在した海綿状血管腫を伴いカルバマゼピンの単剤療法で発作頻度が減少した複雑部分発作の 1 例. *精神科* 14:254-258, 2009. (査読なし)
- ⑪ Akiyama K, Ishikawa M, Saito A: mRNA expression of activity-regulated cytoskeleton-associated protein (arc) in the amygdala-kindled rats. *Brain Research* 1189:236-246, 2008. (査読有)
- ⑫ Akiyama K, Isao T, Ide S, Ishikawa M, Saito A: mRNA expression of the Nurr1 and NGFI-B nuclear receptor families following acute and chronic administration of methamphetamine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 32:1957-66, 2008. (査読有)
- ⑬ 齋藤 淳、秋山一文: 統合失調症におけ

る GABA 性介在ニューロン仮説 *精神科* 12: 508-512, 2008. (査読なし)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 齋藤 淳、第 38 回 獨協医学会、「新規統合失調症関連遺伝子の DNA 多型解析および、タンパク機能解析」、平成 22 年 12 月 4 日、壬生
- ② Atsushi Saito, The 40<sup>th</sup> Annual Meeting of Society for Neuroscience, “A case of Hermansky-Pudlak syndrome with comorbid schizophrenia” 11/16/2011, San Diego
- ③ 齋藤 淳、第 32 回 日本生物学的精神医学学会、「ヘルマンズキー・パドラック症候群、統合失調症合併例の遺伝子解析」、平成 22 年 10 月 9 日、北九州
- ④ 齋藤 淳、第 18 回 日本精神・行動遺伝医学学会、「ヘルマンズキー・パドラック症候群合併例からの統合失調症脆弱性決定遺伝子の探索研究」、平成 22 年 9 月 18 日、仙台

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

齋藤 淳 (SAITO ATSUSHI)  
獨協医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 00453407