

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 18日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590360

研究課題名（和文） 統合失調症感受性遺伝子多型の進化医学的解析

研究課題名（英文） Molecular evolutionary analysis of schizophrenia susceptibility genes.

研究代表者

柴田 弘紀 (SHIBATA HIROKI)

九州大学・生体防御医学研究所・ゲノム機能学分野

研究者番号：80315093

研究成果の概要（和文）：

「ありふれた疾患（common disease）」の一つである統合失調症を対象とした進化医学的解析を行った。疾患感受性アレルの集団内での維持機構を解明するために、「統合失調症感受性遺伝子アレルが平衡選択で維持されている」という仮説を立て、全変異検出と頻度スペクトラム法（Tajima's D （以下 TD ））による中立性の検定と、合体シミュレーションによる系図解析を行った。統合失調症感受性遺伝子として、*BDNF*、*SLC18A1*、*COMT*、*DRD1*、*DRD2*、*DRD4*について、有意な関連が報告されたSNPの周辺領域各7 kbおよび上流領域5 kbを対象に、ヒト72検体、チンパンジー24検体の全変異検出をダイレクトシーケンシングにより行った。その結果、*DRD2*遺伝子の統合失調症感受性SNPs（rs6275, rs6277）周辺、及び*COMT*の統合失調症感受性多型rs4680（Val158Met）周辺において、ヒト特異的かつヒト3大集団に共通な平衡淘汰を検出した。合体シミュレーションにより*COMT*の統合失調症感受性多型rs4680周辺領域を構成するハプロタイプの年代測定を行ったところ、この領域のTMRCAはヨーロッパ人とアフリカ系アメリカ人では非常に古く、100万年を越えていた。また、得られた遺伝子系図は、ヨーロッパ人とアジア人においては平衡淘汰を強く支持していた。統合失調症感受性多型の存在する領域で検出された平衡淘汰のターゲットは、統合失調症及び高次脳機能に関連する表現型であった可能性が高いと考えられ、統合失調症感受性多型の平衡選択仮説を部分的に証明できた。

研究成果の概要（英文）：

Schizophrenia has a relatively strong genetic background ($\lambda_s = 10$). Because of the typically adolescent onset and the loss of sociality in patients, schizophrenia susceptibility alleles are expected to be selected out through generations. However, the prevalence is stably high at ~1% in any of the populations surveyed. To explain the paradox, I hypothesized that the schizophrenia susceptibility alleles are maintained by the non-neutral process such as balancing selection. To test this hypothesis, I sequenced six schizophrenia susceptibility genes, *BDNF*, *SLC18A1*, *COMT*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD4* from 72 unrelated humans (24 Caucasians, 24 African Americans and 24 Japanese) and 24 unrelated chimpanzees as non-human controls. Using the variation data set, I examined neutrality by the summary statistics approach such as Tajima's method. I identified a significant signal of balancing selection in the regions of coding SNPs in *DRD2* (rs6275, rs6277) and in *COMT* (rs4680). All of these SNPs a significant association has been frequently reported with schizophrenia. By coalescent simulation I dated the haplotypes in the selected regions in both genes to be > 1 MYA. I conclude that some of the schizophrenia susceptible alleles have been maintained by balancing selection of which the target may be the phenotypes related to schizophrenia as well as human brain functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：進化医学・集団遺伝学・自然選択・統合失調症

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、遺伝要因が強く関与する多因子病であり、遺伝率は70%以上と推定されている。また地域や集団を問わず均一かつ高頻度（1%）に出現するきわめて特異な多因子疾患である。若年で発症後、その精神症状から罹患者は子孫をもつことが極めて困難になるため、感受性遺伝子変異が平衡選択等の非中立的過程によって集団中に維持されている可能性が指摘されているが、統合失調症感受性遺伝子変異についての平衡選択の検証はなされていなかった。

2. 研究の目的

「統合失調症感受性変異の平衡選択による維持」仮説を、統合失調症感受性 SNP として同定された16箇所について検証する。これらは、これまで報告された全ての感受性遺伝子探索研究を統合したメタ解析（Allen et al 2008）で、統合失調症への関連が最も強く支持された遺伝子群である。これらの統合失調症感受性 SNP の周辺領域5 kb の全変異検出と自然選択の検出を行い、統合失調症に関連した平衡選択を受けた遺伝子領域の同定を試みる。

3. 研究の方法

上述の16個の多型をSZGeneで示されているメタ解析の有意性の順位にしたがって解析を進める。本年度は既に一部研究を開始している *SLC18A1*、*DRD1* などの10個の遺伝子の解析を行う。各領域をいくつかのPCR断片に分割し、統合失調症感受性遺伝子探索の際に収集した健常日本人検体24名と、Coriellから購入した非血縁の欧米人24名、アフリカ系アメリカ人24名の計72検体について塩基配列を決定し、全変異検出を行う。得られた全変異情報をDnaSP等のプログラムを用いてTajima's test、Fu and Li's test等の頻度スペクトラム法により解析し、その領域の中立

進化を統計的に検定する。中立からの有意な逸脱（=自然選択）が検出された領域については、チンパンジー24検体での全変異検出と中立性の検定を行い、見出した自然選択がヒト特異的であることを確認する。ヒト特異的な自然選択を受けた領域についてPhaseプログラムを用いてハプロタイプを再構成する。またGeneTreeプログラムによる合体シミュレーションを行い、各ハプロタイプの分岐年代を推定することで、自然選択を受けた時期の特定を試みる。

4. 研究成果

統合失調症感受性遺伝子として、*BDNF*、*SLC18A1*、*COMT*、*DRD1*、*DRD2*、*DRD4* について、有意な関連が報告されたSNPの周辺領域各7 kbおよび上流領域5 kbを対象に、ヒト72検体、チンパンジー24検体の全変異検出をダイレクトシーケンシングにより行った（図1）。

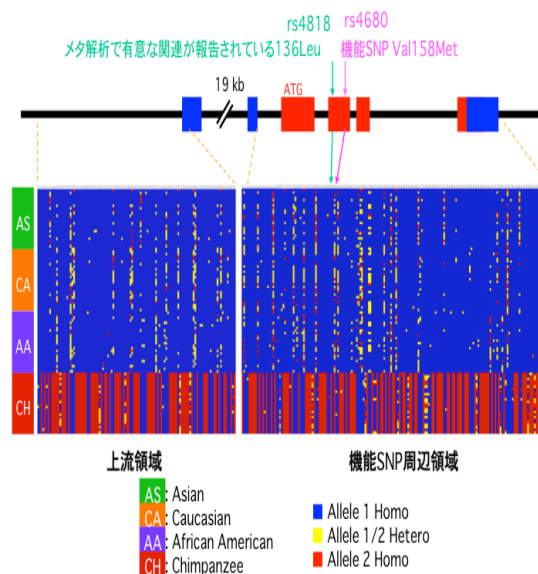


図1: 全変異検出(*COMT*の例)

その結果、*DRD2* において統合失調症との強い関連を示す SNPs (rs6275, rs6277) 周辺において、ヒト特異的なかつヒト3大集団に共通な平衡淘汰を検出した (TD = +2.15 - +2.71)。また、古くから統合失調症との関連が示唆されてきた *COMT* の非同義 SNP、rs4680 (Val158Met) 周辺領域において、ヨーロッパ人で有意な正の TD が観察され (+2.10)、日本人集団とアフリカ系アメリカ人集団においても有意ではないものの同様の傾向 (TD = +1.46 (日本人), TD = +1.76 (アフリカ系アメリカ人)) が見られた (図2)。

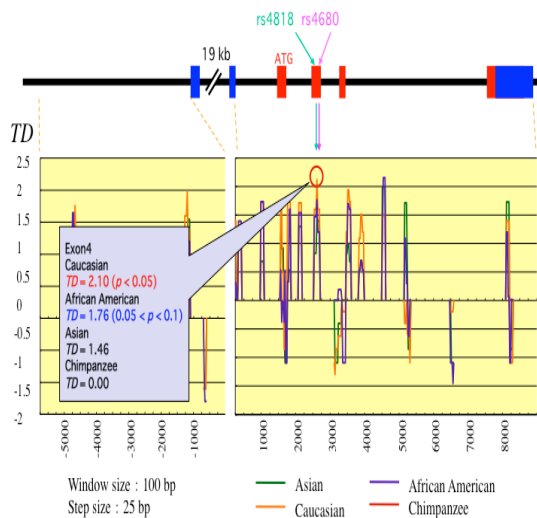


図2: 中立からの逸脱の検出(*COMT*の例)

表1: 合体シミュレーションによるTMRCA推定(*COMT*の例)

	Upstream region		Exon and intron		
	TMRCA in $2N_e$	N_e	TMRCA in years	TMRCA in $2N_e$	TMRCA in years
Asian	2.03 ± 0.59	6,721	546,605	1.46 ± 0.36	16,878
Caucasian	2.69 ± 0.74	7,238	777,651	1.97 ± 0.56	14,090
African American	1.18 ± 0.28	12,408	587,494	1.29 ± 0.35	25,310
Chimpanzee	1.31 ± 0.40	6,203	325,285	1.07 ± 0.33	4,810

COMT の rs4680 (Val158Met) 周辺について、合体シミュレーションによりこの領域を構成するハプロタイプの年代測定を行ったところ、この領域の TMRCA はヨーロッパ人とアフリカ系アメリカ人では非常に古く、100万年を越えていた。また、得られた遺伝子系図は、ヨーロッパ人とアジア人においては平衡淘汰を強く支持していた。統合失調症感受性多型の存在する領域で検出された平衡淘汰のターゲットは、統合失調症及び高次脳機能に関連する表現型であった可能性が高いと考えられ、統合失調症感受性多型の平衡選択仮説を部分的に証明できた。

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4件)

① Goto H, Watanabe K, Araragi N, Kageyama R, Tanaka K, Kuroki Y, Toyoda A, Hattori M, Sakaki Y, Fujiyama A, Fukumaki Y, Shibata H. The identification and functional implications of human-specific "fixed" amino acid substitutions in the glutamate receptor family. *BMC Evol Biol*. 査読有、9:224 (2009).

② Miura S, Shibata H, Kida H, Noda K, Toyama T, Iwasaki N, Iwaki A, Ayabe M, Aizawa H, Taniwaki T, Fukumaki Y. Partial *SPAST* and *DPY30* deletions in a Japanese spastic paraplegia type 4 family. *Neurogenetics* 査読有、12(1):25-31 (2011).

③ Deng X, Takaki H, Wang L, Kuroki T, Nakahara T, Hashimoto K, Ninomiya H, Arinami T, Inada T, Ujike H, Itokawa M, Tochigi M, Watanabe Y, Someya T, Kunugi H, Iwata N, Ozaki N, Shibata H, Fukumaki Y. Positive association of phencyclidine-responsive genes, *PDE4A* and *PLAT*, with schizophrenia. *Am J Med Genet Neuropsychiatr Genet*. 査読有、156(7):850-858 (2011).

④ Nakagome S, Mano S, Kozlowski L, Bujnicki JM, Shibata H, Fukumaki Y, Kidd JR, Kidd KK, Kawamura S, Oota H. Crohn's disease risk alleles on the *NOD2* locus have been maintained by natural selection on standing variation. *Mol Biol Evol*. 査読有、2012 Mar 5. [Epub ahead of print]

[学会発表] (計20件)

① Shibata H, Tanaka K, Watanabe K, Goto H, Mano S, Takenaka O, Fukumaki Y. Molecular Evolutionary Study Of The Ionotropic Glutamate-Receptor Gene Family As Schizophrenia Susceptibility Genes: Human-Specific Balancing Selection In *GRIN2B* Upstream Region. The 8th International Workshop on Advanced Genomics: Expansion of Genome Science, Tokyo, Japan. 2009年6月16-18日

② 柴田弘紀、森田 彩、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 高次脳機能関連遺伝子群の分子進化的解析: 代謝調節型グルタミン酸受容体遺伝子群における自然選択

の検出. 第 11 回日本進化学会大会、札幌.
2009 年 9 月 02-04 日

③ 柴田弘紀、森田 彩、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 高次脳機能関連遺伝子群の分子進化学的解析：代謝調節型グルタミン酸受容体遺伝子群における自然選択の検出. 第 81 回日本遺伝学会大会、松本.
2009 年 9 月 16-18 日

④ 服巻保幸、山本 健、孫 竹、岡 晃、猪子英俊、有波忠雄、岩田仲生、尾崎紀夫、柴田弘紀. 統合失調症の STR マーカーによるゲノムワイド関連解析. 日本人類遺伝学会第 54 回大会、東京. 2009 年 9 月 23-26 日

⑤ 柴田弘紀、森田 彩、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 高次脳機能関連遺伝子群の分子進化学的解析：代謝調節型グルタミン酸受容体遺伝子群における自然選択の検出. 日本人類遺伝学会第 54 回大会、東京. 2009 年 9 月 23-26 日

⑥ Shibata H, Watanabe K, Tanaka K, Goto H, Mano S, Takenaka O, Fukumaki Y. Molecular evolutionary study of the ionotropic glutamate-receptor gene family as schizophrenia susceptibility genes: human-specific balancing selection in the *GRIN2B* upstream region. 59th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Honolulu, HI. 2009 年 10 月 21-24 日

⑦ Fukumaki Y, Yamamoto K, Sun Z, Oka A, Inoko H, Arinami T, Iwata N, Ozaki N, Shibata H. Genome-wide association study of schizophrenia using STR markers. 9th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Honolulu, HI. 2009 年 10 月 21-24 日

⑧ Uchida M, Fukumaki Y, Shibata S. Molecular evolutionary study of the COMT gene as a schizophrenia susceptibility gene. 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜.
2009 年 12 月 09-12 日

⑨ 服巻保幸、山本 健、岡 晃、猪子英俊、有波忠雄、岩田仲生、尾崎紀夫、柴田弘紀. マイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症のゲノムワイド関連解析. 第 5 回日本統合失調症学会、福岡. 2010 年 03 月 26-27 日

⑩ 柴田弘紀、田中邦佳、渡邊和典、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 統合失

調症感受性遺伝子としてのグルタミン酸受容体遺伝子群の集団遺伝学的手法による自然選択の検出. 第 5 回日本統合失調症学会、福岡. 2010 年 03 月 26-27 日

⑪ Shibata H, Tanaka K, Watanabe K, Goto H, Mano S, Takenaka O, Fukumaki Y. Molecular evolutionary study of the ionotropic glutamate-receptor gene family as schizophrenia susceptibility genes: human-specific balancing selection in *GRIN2B* upstream region. International Symposium on Biodiversity Sciences "Genome, Evolution and Environment", Nagoya, Japan. 2010 年 07 月 31-8 月 03 日

⑫ 柴田弘紀. 統合失調症の原因を進化的手法で探る～天才とナントカは紙一重か?～(ワークショップ). 第 12 回日本進化学会大会、東京. 2010 年 8 月 2-5 日

⑬ 柴田弘紀、内田麻衣子、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 統合失調症感受性遺伝子 *COMT* に見出される中立進化からの逸脱. 第 82 回日本遺伝学会大会、札幌. 2010 年 9 月 20-23 日

⑭ 鄧 湘東、柴田弘紀、高木宏美、王 麗香、黒木俊秀、中原 辰雄、橋本喜次郎、岩田仲生、尾崎紀夫、有波忠雄、服巻保幸. 統合失調症関連候補遺伝子としての PCP 応答遺伝子探索と関連解析. 日本人類遺伝学会第 55 回大会、さいたま. 2010 年 10 月 27-30 日

⑮ 柴田弘紀、内田麻衣子、後藤大輝、間野修平、竹中 修、服巻保幸. 統合失調症感受性遺伝子 *COMT* に見出される中立進化からの逸脱. 日本人類遺伝学会第 55 回大会、さいたま. 2010 年 10 月 27-30 日

⑯ Shibata H, Uchida M, Goto H, Mano S, Takenaka O, Fukumaki Y. Resequencing of the catechol-O-methyltransferase gene, COMT revealed non-neutral processes associated with schizophrenia. 60th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Washington, DC. 2010 年 11 月 02-06 日

⑰ Liang Y, Fukumaki Y, Shibata H. Resequencing of dopamine receptor genes DRD1 and DRD2 as schizophrenia susceptibility genes revealed non-neutral process possibly associated with schizophrenia. 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会、神戸. 2010 年 12 月 07-10 日

⑱ Nakagome S, Mano S, Kozlowski L, Bujnicki JM, Shibata H, Fukumaki Y, Kidd JR, Kidd KK, Kawamura S, Oota H. Population specific susceptibility to Crohn's disease and signals of natural selection on standing variation. 12th International Congress of Human Genetics / 61st Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Montreal, Canada. 2011年10月11-15日

⑲ Shibata H, Miura S, Kida H, Noda K, Kaku Y, Iwaki A, Ayabe M, Taniwaki T, Fukumaki Y. Exome sequencing approach to identify the responsible variant for a novel type of hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominancy in the lower extremities found in a Japanese descent. 12th International Congress of Human Genetics / 61st Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Montreal, Canada. 2011年10月11-15日

⑳ Shibata S. Non-neutral evolution observed in schizophrenia susceptibility genes. (ワークショップ) 第34回日本分子生物学会年会、横浜. 2011年12月13-16日

[図書] (計1件)

柴田弘紀(共著). ヒトは病気とともに進化した(仮題)勁草書房.(2012)印刷中.

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 弘紀 (SHIBATA HIROKI)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号：80315093

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし