

機関番号：13101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791116

研究課題名 (和文) 統合失調症多発罹患家系におけるコピー数多型の検索

研究課題名 (英文) Copy number variation and risk of schizophrenia: a genome-wide analysis in a multiplex pedigree

研究代表者

金子 尚史 (KANEKO NAOSHI)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：40515657

研究成果の概要 (和文)：

統合失調症の発症におけるコピー数多型 (CNV) の役割を明らかにするため、日本人の多発罹患家系を解析し、さらに罹患者と対照者の間で関連解析を行った。マイクロアレイを用いて家系を解析し、罹患者においてコピー数に偏りのある CNV を見出した。この CNV について定量的リアルタイム PCR 法により、家系内のコピー数を確認した。罹患者 5 名、罹患状態不明 1 名において完全欠失しており、1 名の罹患者では 1 コピーであった。非罹患者では完全欠失が見られず、2 コピー 2 名、1 コピー 6 名だった。しかし、同法を用いて症例 627 名および対照 620 名のコピー数を確認したところ両者においてコピー数に有意差は見られなかった。以上の結果から、本 CNV が統合失調症の発症に寄与している可能性が低いことが示された。

研究成果の概要 (英文)：

We conducted a genome-wide copy number variation (CNV) screening in a large multiplex schizophrenia pedigree and performed a follow up case-control study. In screening using microarray method, we found a CNV which potentially co-segregated with schizophrenia. We analyzed This CNV by means of a TaqMan real-time PCR assay and found complete deletions of CNVs in five of six affected individuals and an individual with affection status of unknown. We also conducted a case-control study in 627 patients of schizophrenia and 620 healthy controls. There was no significant association between complete deletions of the CNVs and schizophrenia. Taken together, these results suggest that the CNV may not confer increased susceptibility to schizophrenia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：臨床精神分子遺伝学，コピー数多型，統合失調症，関連解析

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、複数の遺伝的要因と環境的要因が相互に影響して発症する複雑疾患と考えられており、遺伝率が 0.80、罹患者の同胞の相対罹患危険度 λ_s が 10 と遺伝的要因の関与が大きい (Cardno and Gottesman, 2000; Riley and Kendler, 2004).

われわれは、日本人統合失調症多発罹患大家系を見出し、その大家系サンプルを対象とした全ゲノム連鎖研究を行って、当該家系での 2 つの統合失調症連鎖領域を明らかにした (Kaneko et al., 2007). 日本人統合失調症多発罹患大家系の全常染色体領域におけるゲノムスキャンの単点解析の結果、染色体 4q において有意な連鎖に相当する領域が、3q において連鎖を示唆する水準の領域が見出されている。

一方、1kbp 以上にわたる、遺伝子を含む領域のコピー数の個体差であるコピー数多型 (copy number variation: CNV) と神経発達障害を含む多くの疾患との関連が報告されており、統合失調症との関連も注目されている (Cantor and Geschwind, 2008; Cook Jr and Scherer, 2008).

単一の遺伝的背景を持つ多発罹患大家系において発症に関与する CNV が存在すれば、発症に大きな影響を与える稀な CNV が想定される。関連研究によりこのような CNV を同定するためには、非常に大規模なサンプルを用いる必要がある。多発家系を用いて、全ゲノム領域において網羅的に CNV を検索する事により、統合失調症の発症脆弱性に関与する CNV および遺伝子を効率的に同定できる可能性がある。しかし、我々の知る限り研究開始時において単一家系を用いた全ゲノム CNV 解析の報告はない。

日本人多発罹患大家系を用いて、網羅的に CNV を検索し、統合失調症の発症に関与する CNV を明らかにすることは、他に類を見ない有望な手法と考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、われわれが見出した統合失調症大家系において、CNV を全ゲノム領域について網羅的に検索し、家系内において確認された CNV について症例-対照サンプルを用いて関連研究を行うことで、当該 CNV と統合失調症との関連を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、一次解析として日本人統合失調症多発罹患家系について、マイクロアレイを用いて全ゲノム領域の CNV を網羅的に検索し、二次解析として、見出された CNV について、

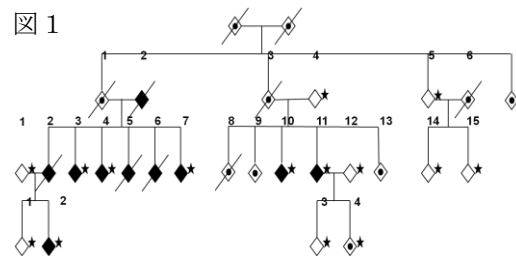
罹患者および健常対照者の CNV を定量的リアルタイム法により同定し、統合失調症との関連を検討した。

(1) 対象

一次解析：

日本人多発罹患家系の構成員 15 名について解析を行った。罹患者 6 名は DSM-IV により統合失調症と診断された。非罹患者については、精神科医による面接により、罹患状態にないと判断された。1 名については、重度の精神遅滞を有し、罹患状態が不明であった。

(図 1)



黒：罹患者，白抜き：非罹患者，黒点：罹患状態不明，右肩星印：DNA サンプル解析
※プライバシー保護のため、性別および研究に支障のない範囲の家系構成員を省略している。

二次解析：

DSM-IV により診断された日本人統合失調症罹患者 627 名 (男性 334 名，平均年齢 39.9 ± 13.9 歳) および精神疾患の既往歴および家族歴のない健常対照者 620 名 (男性 317 名，平均年齢 38.2 ± 10.6 歳) を対象とした。

(2) CNV 解析

末梢血よりゲノム DNA を抽出し解析した。

一次解析：

15 名のサンプルを対象にして、6,000 以上の common CNV および 5,000 以上の rare CNV について HumanOmni1-Quad BeadChip

(Illumina 社，米国) を用いて解析した。

見出された CNVR7606_full (Conrad et al., 2010) について ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems 社，米国) を用いた TaqMan 法により定量的リアルタイム PCR を行い、同 CNV のコピー数を確認した。

二次解析：

対象サンプルについて、上記と同様に定量的リアルタイム PCR を行い、各サンプルのコピー数を同定した。

関連解析には、 χ^2 検定を用いた。

4. 研究成果

一次解析：

(1) マイクロアレイによる解析

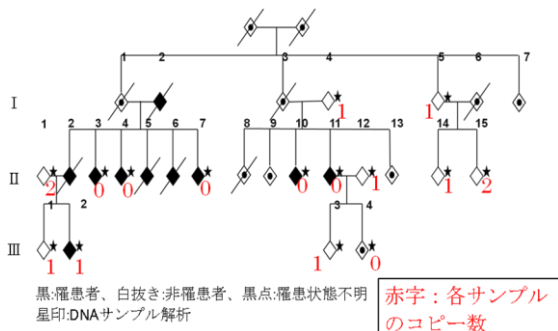
家系内に計 947 カ所の CNV 候補領域を見出した。罹患者の平均は 244.00 カ所、非罹患者の平均は 272.25 カ所であった。

罹患者 6 名中 5 名および罹患者状態不明 1 名において 19q12 領域に 1.2-2.7kb に渡る完全欠失 (コピー数: CN 0) が見られた。同領域は CNVR7606_full (Conrad et al., 2010) に一致していた。他のサンプルは CN 2 と判定された。

(2) 定量的リアルタイム PCR 法によるコピー数の確認

CNVR7606_full について、定量的リアルタイム PCR 法によりコピー数の確認を行ったところ、アレイ法により CN 2 と判定されたサンプルの内、罹患者 1 名、非罹患者 6 名が CN 1、非罹患者 2 名が CN 2 であった。アレイ法により CN 0 と判定されたサンプルは、いずれも CN 0 であった。(図 2)

図 2：家系内におけるコピー数 (CN)



二次解析：

家系における検索により、罹患者 5 名および罹患者状態不明 1 名のみで CNVR7606_full の完全欠失が見られたため、CNVR7606_full について定量的リアルタイム PCR 法により症例および対照サンプルについて、コピー数を確認した。

症例サンプル 627 名中 622 名、対照 620 名中 614 名でコピー数を同定できた。

症例-対照間で、CN 0 の頻度に有意差は見られなかった。(表)

表：症例、対照サンプルにおける CNVR7606_full のコピー数

コピー数(CN)	2	1	0
症例	128	325	169
対照	123	330	161

χ^2 検定

2x3 table: $\chi^2 = 0.280, P = 0.869$
CN 0 vs CN1&2: $\chi^2 = 0.098, P = 0.706$

統合失調症多発罹患者家系における全ゲノム領域のコピー数多型検索を行い、家系内の罹患者 (6 名中 5 名) およびのみで完全欠失している CNVR7606_full を見出した。しかしこの CNV は common CNV であり、本研究の二次解析でも日本人の約 80% に同 CNV が見られ、症例および対照の間で、CN 0 の頻度に有意差は見られなかった。よって、統合失調症の発症に同 CNV が関与している可能性は低いものと思われた。

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 1 件)

- ① Watanabe Y, Nunokawa A, Kaneko N, Someya T.: A case-control study and meta-analysis of association between a common copy number variation of the glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) gene and schizophrenia. (letter) Schizophr Res. 124(1-3):236-237, 2010. 査読有。

[学会発表] (計 1 件)

- ① 金子尚史, 渡部雄一郎, 村竹辰之, 布川綾子, 染矢俊幸: 統合失調症多発罹患者家系における全ゲノムコピー数多型の検索。第 32 回日本生物学的精神医学会。2010.10.9. 福岡。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 尚史 (KANEKO NAOSHI)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号: 40515657

(2) 研究協力者

渡部 雄一郎 (WATANABE YUICHIRO)

新潟大学・保健管理本部・講師

研究者番号: 90401744

布川 綾子 (NUNOKAWA AYAKO)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号：90584607

染矢 俊幸 (SOMEYA TOSHIYUKI)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号：50187902