

平成 21 年 4 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007 年度～2008 年度  
 課題番号：19591392  
 研究課題名（和文） CGH アレイによる統合失調症リスク遺伝子の検索と機能解析  
 研究課題名（英文） Search and functional analysis for candidate gene of schizophrenia by CGH array method.  
 研究代表者 尾關 祐二（OZEKI YUJI）  
 獨協医科大学・医学部・准教授  
 研究者番号：90303768

研究成果の概要：統合失調症患者を対象に Comparative Genomic Hybridization (CGH) アレイにて 17q11 部分に 1.4Mb のヘテロな欠失がある患者を見出し、症例報告を行った。次に 348 人の一般的な統合失調症患者と 350 人の健常被験者を対象に *PMP22* の関連解析を行ったが関連はなく、新たな *PMP22* のコピー数多型を示す患者も見られなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
平成 20 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：脳神経疾患、脳・神経、遺伝子、統合失調症、CGH アレイ

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は成人の有病率が 0.5～1.5% (DSM-IV-TR 診断基準) とされるよく見られる疾患である。幻覚・妄想だけでなく、思考の貧困や意欲の欠如といった社会性が低下する症状を併発する慢性疾患であるため、本人の苦悩は深刻であり、介護に携わる家人の負担も無視できるものではない。また、経済的な損失といった観点からも、この疾患の苦痛が推測される。カナダでは統合失調症に

対する治療への費用と社会機能の低下による経済的損失を、年間 68.5 億カナダドルと計算する報告がある (Blackhouse G et al, Curr Med Res Opin. 2005)。同様にアメリカでは 2002 年の 1 年間で 627 億ドルと試算する報告がある (Wu EQ et al J Clin Psychiatry. 2005)。これら状況は、統合失調症の改善が急務であることを示している。そこで治療法の開発を考ええたとき、現在不明である病態生理の解明がその近道になると考えられ、そのために

はこれまでの研究報告を整理し発展させることが必要であると考えた。これまでの報告で重要なもののひとつとして、遺伝学的な所見があげられる。これまでの遺伝学的な知見は、統合失調症が多因子遺伝であることを示しており、染色体上でいくつかの責任部位を指摘するに至っている(1p21.1, 1q23.3-q31.1, 1q42, 6p22.3-p21.1, 8p22-21.1, 13q22-34, 14q11.2, 17p11.2-q25.1, 20p11.2, 22q11-13 など(Lewis C et al Am J Hum Genet 2003, Arinami T Am J Hum Genet 2005)。特に22q11欠失症候群では心奇形、顔貌異常など多くの症状とともに、症例の25%で統合失調症を発症すると報告されており、22q11の部位を対象とした遺伝子検索が続けられている(Bassett AS et al Biol. Psychiat. 1999)。また、他に遺伝学的な情報から得られたものとして、*disc1*を挙げることができる。1990年、スコットランドで染色体の転座:t(1;11)(q42.1;q14.3)が世代間で受け継がれている単一家系が報告され、転座を持つもののみが25%程度の高率で統合失調症を発症することが報告された(St Clair DM et al, Lancet 1990)。その転座により切断された遺伝子として、*disc1*(Disrupted-In-Schizophrenia-1)が報告された。*disc1*は当初その働きが不明であったが、我々の機能解析によって、神経発達に関与していることが明らかになりつつあり(Ozeki Y(申請者)et al, PNAS 2003)、これまで、疫学・神経病理学・形態画像などで指摘されていた統合失調症の神経発達障害仮説を分子レベルで実体化できる可能性が高まっている。一般にDuchenne型筋ジストロフィーなどの遺伝性疾患が転座や欠損などまれな症例を手がかりに責任遺伝子が決定されており、統合失調症研究でも同様の研究発展が期待される。

分担研究者の功刀らは本研究申請時点で横浜市大松本直通教授と共同で統合失調症患者を対象に Comparative Genomic Hybridization (CGH)アレイを用いた染色体

微細欠失のスクリーニングを行い、17q11部分に欠失がある患者を見出していた。この染色体領域はこれまでも統合失調症との連鎖が報告されている(Park N, Mol. Psychiatry 2004)。罹患同胞対法を用いた連鎖解析でも17p11.2が連鎖部位として報告されており(Williams N, Am. J. Hum. Genet. 2003)、この染色体領域に統合失調症のリスク遺伝子が存在する可能性が高いと考え、この領域に存在する遺伝子と統合失調症との関連について検討することとした。特に、我々は17p11に存在する遺伝子のひとつ、peripheral myelin protein 22 (*PMP22*)に注目した。*PMP22*はシュワン細胞に発現しており、この遺伝子の重複によりシャルコーマリートウス病の一部が生じ、一方の遺伝子を欠失した場合には遺伝性圧脆弱性ニューロパチーが生じるなど、末梢神経障害と関連しているが、*PMP22*はオリゴデンドロサイトにも出現していることが知られている。2006年、Dracheva Sらは統合失調症患者の死後脳を対象としてオリゴデンドロサイト/ミエリン関連遺伝子のmRNAの発現量を定量的PCR法で計測し、*PMP22*を含む関連遺伝子の一部の発現量が低下していることを報告した。2005年にKatselも同様に統合失調症患者の死後脳を用いたマイクロアレイで*PMP22*を含むオリゴデンドロサイト/ミエリン関連遺伝子の低下を報告した(Kastel P et al Schizoph. Res. 2005)。オリゴデンドロサイト/ミエリンと統合失調症との関連は以前より報告されている。2001年にはHakakらがマイクロアレイで統合失調症患者死後脳の前頭葉背外側部での遺伝子発現を検討し、オリゴデンドロサイトの機能低下を指摘し(Hakak Y et al PNAS 2001)、その後の死後脳を用いた研究でも同様の結果が報告されている(Tkachev D et al Lancet 2003, Aston C et al J. Neurosci. Res. 2004)。他の手法を用いた報告でも、統合失調症患者でオリゴデンドロサイトの異常が指摘されている。画像研究ではFoongらはミエリンとアクソンの異常を検出する magnetization transfer

imaging法を用いて統合失調症患者25名と健常者30名で比較し、統合失調症患者で異常が見られることを報告しており(Foong J et al J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 2000)、Diffusion tensor imagingによって白質に異常があることも、いくつかの研究により一致して報告されている(Buchsbaum M et al Biol Psychiatry. 2006, Szeszko P Am J Psychiatry 2005)。組織学的な検索でも、統合失調症患者の死後脳ではオリゴデンドロサイトが減少しているとの報告が見られる(Uranova N et al Schizophr. Res. 2004, Hof P et al Biol. Psychiatry 2003)。これら統合失調症とオリゴデンドロサイト/ミエリンの関係に関する報告を考えれば、PMP22は重要な鍵分子(候補遺伝子)である可能性があるが、いまだにこの遺伝子と統合失調症との関連を詳細に検討した研究はなかったため、本研究を行うこととした。

## 2. 研究の目的

上述の通り、我々はすでに17q11部分に欠失がある患者を見出していることから、その部位の欠失が一般的な統合失調症にどの程度関連しているかを調べることを目的とした。関連解析により一般統合失調症患者でPMP22が疾患の発症と関連しているのか、コピー数多型を示す患者がいるのかを探すことを第一の目的とした。もし異常が見出された場合には、分子生物学的などのような経路に問題が生じるかを明らかにすることとしていた。

## 3. 研究の方法

本研究開始時点で、統合失調症30名を対象にComparative Genomic Hybridization (CGH)法を用いた染色体微細欠失のスクリーニングが終了していた。CGH法はすべてのヒト染色体を対象に、染色体コピー数の変化を測定する技術である。この結果PMP22が欠失している統合失調症患者一名を見出している。

この結果を受けてPMP22自体が統合失調症と関連するか否かについて検討した。具体的には348人の一般的な統合失調症患者と350人

の健常者を対象にABI社製のTaqManプローブを用いたSNPの解析及びその結果を用いたハプロタイプ解析を行った。SNP解析にはABI社製のABI prism 7900を用いた。また同時に、同様のTaqMqnプローブを用いてデルターデルタCt法を用いて、各DNA検体のPMP22コピー数解析を行った。

## 4. 研究成果

Comparative Genomic Hybridization (CGH)法により見出された、17q11部分に1.4Mbのヘテロな欠失がある患者の症例報告を行った。次に、一般的な統合失調症患者でもPMP22が疾患の発症と関連があるかどうかを348人の統合失調症患者と350人の健常被験者を関連解析で比較したが関連は見出せなかった。また、コピー数多型に関しても同一の患者を対象に検討したが、PMP22のコピー数多型を示す統合失調症患者は見られなかった。以上の結果から、一般の統合失調症患者でPMP22の異常化関連しているものはあっても非常にまれであると推測された。しかし、本研究からだけではPMP22の遺伝子異常が統合失調症の発症と関連していることを否定できるものではなく、また、PMP22が関連する生物学的な現象全体でみると統合失調の発症と関連している可能性がある。実際、PMP22は中枢神経のオリゴデンドロサイトに発現しており、脳画像研究や脳組織学的研究は統合失調症患者でオリゴデンドロサイトの異常が予測されている。上述のように、統合失調症患者の死後脳を対象とした遺伝子発現アレイを用いた検討ではPMP22の発現量が低下していることも報告されていることから、引き続きPMP22は注目すべき遺伝子であることには変わりはないと考えている。今後PMP22異常の生物学的な意味合いを検討し、PMP22を含む生物学的な現象と統合失調症の関係を調べてゆくことが、今後の統合失調症研究の進歩に寄与する可能性があると考えられる。

## 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 1 件)

**Yuji Ozeki**, Takeshi Mizuguchi, Naotsugu Hirabayashi, Masafumi Ogawa, Naomi Ohmura, Miyuki Moriuchi, Naoki Haradae, Naomichi Matsumoto, Hiroshi Kunugi A case of schizophrenia with chromosomal microdeletion of 17p11.2 containing a myelin-related gene *PMP22*. The Open Psychiatry Journal 2; 1-4, 2008 (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

**Yuji Ozeki**, Takeshi Mizuguchi, Naotsugu Hirabayashi, Tomoko Shizuno, Naomi Ohmura, Miyuki Moriuchi, Naoki Harada, Hiroaki Hori, Kunimasa Arima, Osamu Saitoh, Naomichi Matsumoto, Hiroshi Kunugi Chromosomal microdeletion of shizophrenia - Microdeletion screening and association study of PMP22 gene - October 9, 2008 New York, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

尾關 祐二 (OZEKI YUJI)

獨協医科大学 医学部 准教授

研究者番号：90303768

### (2) 研究分担者

功刀 浩 (KUNUGI HIROSHI)

国立精神神経センター 神経研究所 疾病

研究第三部 部長

研究者番号：40234471

### (3) 連携研究者

なし