

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：33916
 研究種目：基盤研究(B) (一般)
 研究期間：2013～2015
 課題番号：25293253
 研究課題名(和文)統合失調症における遺伝要因構築の新規認識方法の開発—失われた遺伝率を求めて—

 研究課題名(英文)Detecting genetic component of schizophrenia

 研究代表者
 岩田 仲生 (Iwata, Nakao)

 藤田保健衛生大学・医学部・教授

 研究者番号：60312112

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,000,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症の全ゲノム関連解析では、複数個のリスクとなりうる遺伝子が同定されている。しかし、それらのみでは遺伝率の全てを説明することが出来ず、この「失われた遺伝率」を説明するために、稀な変異の関与が考えられる。
 本研究では、5000名のサンプルを用いたGWASとターゲットリシーケンスを行った。しかし、頻度の高いSNPあるいは稀な変異においても有意な関連は得られなかった。ポリジェニックを利用した解析を実施した所、本サンプルにおいて、確実に遺伝要因が存在することが示唆されている。したがって、この失われた遺伝率を説明するためには、本サンプル数では検出力不足であり、さらなるサンプル数が必須である。

研究成果の概要(英文)：A number of genome-wide association studies (GWASs) for schizophrenia have conducted, and now detected multiple susceptibility genes. However, as such locus cannot fully explain the heritability (i.e. missing heritability), rare variants may be the key factor to detect the whole range of the schizophrenia risk. In this study, we conducted a GWAS (for the common variants: SNP) and a target resequencing (for previously implicated loci) in the Japanese population, to detect the susceptibility genes for schizophrenia.
 Approximately 5,000 subjects were genotyped, however, we could not find any significant association in SNP nor SNVs with schizophrenia.
 Specifically, to examine the existence of the genetic risk within our samples, we conducted a polygenic component analysis: we did find significant enrichment of the risk alleles in our cases, implying accumulative genetic risk exists. Further sample size will be required to identify individual susceptibility SNP for schizophrenia.

研究分野：精神科遺伝学

キーワード：遺伝学

1. 研究開始当初の背景

2000年代後半からDNAチップ解析及びバイオインフォマティク技術に立脚した全ゲノム解析が、主要な精神疾患 - 特に遺伝要因の高い統合失調症と双極性障害について精力的に推進されてきた。遺伝要因の目安となる遺伝率が80%程度と見積もられる両疾患については、Common disease-common variant (CD-CV) 仮説に基づく網羅的解析によってその遺伝要因が解明されると予測されていた。しかし既に数万単位のメガ解析が行われているが、遺伝要因として明確になったのはその数%に過ぎない。特に同定されるCVのeffect size (ES) は大きくとも1.2程度であり、数百~数千程度と想定されるCVを全て同定できたとしても80%の遺伝要因全ては説明できず、新たな認識論が模索されるようになった。

一方精神遅滞やてんかん、一部の発達障害において頻度は非常に低いがESの大きな遺伝要因として一塩基置換 (SNV)、ヒトゲノムコピー数多型 (Copy Number Variation: CNV) の関与が指摘されるにつれ、こうしたrare variant (RV) のなかで大きなESのものを検討するCD-RV仮説による検索が、次世代シーケンシング技術の実用化と平行して進められるようになった。大規模な全エクソン領域のシーケンシング解析が現在世界的に進められつつある。次世代シーケンシングによる大規模サンプルでの解析は非常に頻度の少ない新たな変異を次々と見出しつつ、これまでにない莫大な情報量を創出している。その後の解析にはさらなる多数サンプルのタイピング解析と同時に、既存の小さなESのCVとの関連性をどう捉えるのか、また加えて環境要因との相互作用をどのように検討するかは手つかずのままである。むしろCD-CVとCD-RVを二律背反と捉えてCD-CVの限界や未到達の要因をCD-RVで補完しようとする研究提案が多くなっている。

日本人サンプルによる精神疾患遺伝学研究の我が国での取り組みは、世界の情勢からは遅れ気味であるが、一方で階層化が少ないより均一な人種構造と十分な人口規模があり、かつ臨床情報その他の医療水準が高度な日本人サンプルでの解析は、雑多な人種構造や臨床環境の違い、科学的文化の異種性を含んだサンプルで行われている欧米白人データでは解明できなかった様々な問題点を克服しうる可能性がある。さらに全ゲノム解析特に全ゲノム関連解析 (Genome Wide Association Study: GWAS) は日本で最初に実用化された技術であり、我が国においては世界と比肩しうるレベルの研究が推進されており、ゲノムコホートを次世代の科学技術政策の中心とし、医療イノベーションの基盤技術として推し進めることが既に決定している。こうした状況の中で、特に精神疾患において重要な新たな疾患遺伝要因構築の認

識法の開発の可能性が存在している。

2. 研究の目的

本研究では、遺伝学的にアドバンテージのある日本人統合失調症サンプルを使用し、GWASによるCVとターゲットリシークエンスによるRVを利用し、包括的に統合失調症のリスクを同定することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) GWAS

日本人統合失調症2054名と正常対照者2926名をIllumina OmniExpressExomeチップにより90万個のSNPを決定した。様々なQuality Control (QC)を経て、1%以上の頻度のある52万個のSNPを関連解析の対象とした。

(2) ターゲットリシークエンス

上述のGWASで用いたサンプルの一部(503名の統合失調症と300名の正常対照者)を用い、既報の統合失調症メガ解析から選出した20遺伝子のエクソン領域をキャプチャーするカスタムメイド濃縮をデザインし (NexteraDNA sample prep kitを使用)、Illumina Miseqを用いて塩基配列を決定した。

得られたrow dataは、マッピング、重複リードの除去など、Miseq Reporterのdefault settingで行い、GATKによるQuality controlを施行、最終的にQUAL scoreが100のSNV、ins/delを残した。さらに、SNPEffによりアノテーションを行い、high impactな効果を持つnonsense mutationとframe shiftを起こすins/delを同定した。それらを上記の2000名の統合失調症および同数の正常対照者においても遺伝子型を決定し、関連解析を行った。

(3) 統合的統計解析

GWASとターゲットシーケンスにおける関連解析は、カイ二乗検定あるいはFisherの性格検定を用い、SNPあるいはSNVの関連性を検討した。GWASでの有意水準は、 5×10^{-8} を、ターゲットシーケンスでの有意水準は、 1×10^{-5} とした。

また、Polygenic modelを想定した解析も行った。今回は、既報のPolygenic Component解析を利用した。この解析においては、2個のデータセット (discovery setとtarget set)が必要となる。そのため、サンプル数の多いGWASで用いたサンプルをランダムに2つに分割し、一つをdiscovery set、もう一つをtarget setとして、discoveryで定義されたりリスク(この場合、 $P < 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5$ と緩めの有意水準を使用)から算出されるPolygenic scoreが、targetの統合失調症で高い値を示すかを検討した。このランダム分割を1000回施行し、その平均を算出した。

4. 研究成果

(1) GWAS

日本人統合失調症 2054 名と正常対照者 2923 名が QC の結果、対象となった。頻度の高い SNP においては、最も有意な関連でも P が 10^{-7} レベルと、ゲノムワイドな有意水準に達する SNP は同定できなかった。

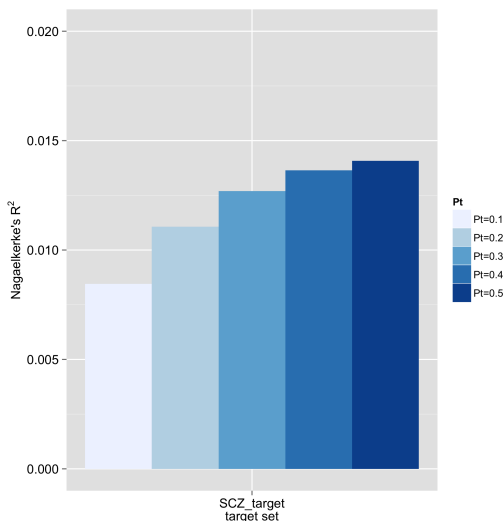
(2) ターゲットシーケンス

既報の GWAS を基に選出した候補遺伝子について、ターゲットリシーケンスを行い、LoF となるうる 50 個の SNV と Ins/Del を同定した。これらを追試セットで関連解析を実施したが、ここでも有意な関連を得ることが出来なかった。

(3) 統合的統計解析

日本人サンプルを用いた Polygenic Component 解析では、ターゲットリシーケンスの結果をこのモデルに反映することも可能であったが、その頻度の低さから、ほとんど Polygenic Score に影響を与えなかったため、GWAS のデータでの結果を重要視した。その結果、統合失調症において、有意に高い Polygenic Score を示した (best $P=1.6 \times 10^{-4}$: $P < 0.5$ の水準)。他方、その寄与率は既報に比べ、非常に低いものであった (Nagelkerke's $R^2 = 1.4\%$)。その理由としては、サンプル数が少ないことによる検出力不足が考えられた。

しかし、本結果では、統合失調症内における遺伝的リスクが存在することが示され、未だ検出力不足により同定できていないが、確実に遺伝的リスクは存在することを意味する。



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 5 件)

1) Ikeda M, Yoshimura R, Hashimoto R, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Ohi K, Tochigi M, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Sasaki T, Tokunaga K, Kasai K, Takeda M, Nakamura J, Ozaki N, and Iwata N Genetic overlap between antipsychotic response and susceptibility to schizophrenia. J Clin Psychopharmacol. 35, 1, 85-8, 2015 (査読有)

2) Hatano M, Ikeda M, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Esaki K, Umene-Nakano W, Yoshimura R, Nakamura J, Ozaki N, and Iwata N No support for replication of the genetic variants identified by a recent mega-analysis of the treatment response to antidepressants. J Hum Genet. 60, 6, 343-4, 2015 (査読有)

3) Saito T, Kondo K, Iwayama Y, Shimasaki A, Aleksic B, Yamada K, Toyota T, Hattori E, Esaki K, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ozaki N, Ikeda M, and Iwata N Replication and cross-phenotype study based upon schizophrenia GWASs data in the Japanese population: support for association of MHC region with psychosis. Am J Med Genet. 165B, 5, 421-7, 2014 (査読有)

4) Ikeda M, Shimasaki A, Takahashi A, Kondo K, Saito T, Kawase K, Esaki K, Otsuka Y, Mano K, Kubo M, and Iwata N Genome-wide environment interaction between depressive state and stressful life events. J Clin Psychiatry. 77, 1, e29-30, 2016 (査読有)

5) Saito T, Ikeda M, Mushirola T, Ozeki T, Kondo K, Shimasaki A, Kawase K, Hashimoto S, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Takeda M, Kamatani Y, Numata S, Ohmori T, Ueno SI, Makinodan M, Nishihata Y, Kubota M, Kimura T, Kanahara N, Hashimoto N, Fujita K, Nemoto K, Fukao T, Suwa T, Noda T, Yada Y, Takaki M, Kida N, Otsuru T, Murakami M, Takahashi A, Kubo M, Hashimoto R, and Iwata N Pharmacogenomic Study of Clozapine Induced Agranulocytosis /Granulocytopenia in a Japanese Population. Biol Psychiatry. 2016 in press (査読有)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕 出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田仲生 (IWATA, Nakao)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号：6 0 3 1 2 1 1 2

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：