

平成 30 年 8 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：2014～2016

課題番号：26293266

研究課題名(和文)古典的HLAタイプと統合失調症の関連解析

研究課題名(英文)Association analysis between classical HLA and schizophrenia

研究代表者

池田 匡志 (Ikeda, Masashi)

藤田保健衛生大学・医学部・准教授

研究者番号：60424933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：HLAを含むMHC領域は、統合失調症の全ゲノム関連解析の結果、遺伝要因として確実なリスクとして認識されている。本研究では、過去に十分なサンプルサイズを用いた解析を行っていない古典的HLAに再度焦点を当て、リスクとなりうる特定のHLAアレルを同定することにある。新規統合失調症サンプル約2500名と、正常対照者約3000名を対象として、特定のHLAと統合失調症が関連するかどうかを検討した。しかし、有意な関連を示す特定HLAアレルは認められなかった。本結果より、少なくとも日本人においては古典的HLAとの関連を示しているものではないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：MHC region including HLA is promising candidate region for schizophrenia based on genome-wide association studies (GWASs). In this study, we focused on the classical HLA, and conducted association analysis using relatively large sample size (2500 schizophrenia and 3000 controls in the Japanese population). However, we could not detect significant association between specific HLA allele and schizophrenia. In summary we speculate that the GWAS signal in the MHC region may not point the classical HLA, but non-HLA genes as risk genes for schizophrenia.

研究分野：医歯薬学

キーワード：臨床精神分子遺伝学

1. 研究開始当初の背景

主要な精神疾患である統合失調症は、養子・家系研究など疫学的研究の成果から、遺伝的要因が高い疾患であることが判明している。その遺伝率は約 80%と極めて高く、連鎖解析や候補遺伝子関連研究が盛んに行われてきたが、確定的と言えるリスクの同定には至らなかった。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ス技術に立脚した全ゲノム関連解析 (GWAS) が確立され、複数個の確定的リスク同定に至り、統合失調症の発症のリスクとなりうる遺伝子が報告され始めている。しかし、同時にこの「リスク」の効果量 (effect size) は極めて小さく、オッズ比では各一塩基多型 (SNP) は 1.2 以下のリスクしか持たないことも同時に判明した。

その中でも、特に 6 番染色体に存在する主要組織適合遺伝子集合体 (MHC) 領域は、白人を中心とする複数の GWAS で、確定的といえる有意水準 (genome-wide significance: $P < 5 \times 10^{-8}$) を超え、最新のメガ解析 (GWAS のメタ解析) においても、他のリスク遺伝子と別格の有意水準を示している (Psychiatric GWAS Consortium: Nat Genet, 2015. $P \sim 10^{-30}$)。

他方、申請者が施行した日本人統合失調症の小規模 GWAS (575 名の統合失調症と 564 名の対照者) では、この領域に広範な有意差は認めなかったが、ヒト白血球型抗原 (HLA) class II 近傍の *NOTCH4* に唯一関連のピークを認めた (Ikeda et al. Biol Psychiatry, 2010)。その後、サンプル数を拡大した追試解析では、*NOTCH4* の SNP に、日本人統合失調症研究において初めて、かつ唯一の genome-wide significance を報告した (Ikeda et al. Mol Psychiatry, 2013)。さらに、2012 年度より統合失調症 2000 名と対照者 7000 名を用いた GWAS を新規に行っている (後述)。サンプル数を数倍に拡大した結果、2010 年に行った GWAS 以上に MHC 領域の広い範囲に渡る領域で有意なトレンドを示す関連が、予備的な結果として得られている。

精神疾患以外の GWAS の結果を鑑みると、相当数の疾患において MHC 領域に有意な関連を得ている。また、その多くは、古典的 HLA の特定のタイプが疾患に関与することが報告されている。これら知見で、最も興味深い点は、SNP などのマーカーに比べて (odds 比 ~ 1.2 以下)、HLA 型の effect size は大きいこと (odds 比 ~ 1.5 以上) にある。すなわち、それまでの pre-GWAS 時代

ではサンプル数が少ないがために (～数百サンプル) 見逃されていたと推測される。上述より、タイプによって結合分子が異なる HLA は機能に影響があり、従って「真のリスクの可能性はある」からこそ、effect size は大きくなっていると考えられる。

2. 研究の目的

前述のように、統合失調症のリスクとして、HLA を含む MHC 領域は日本人においても確実に存在する。MHC 領域は、6 番染色体の 25~35Mb に渡る広範な領域であるが、その中には非常に多くの遺伝子が存在する。しかも、この領域の連鎖不平衡は複雑であり、非常に長い範囲に渡り連鎖不平衡にあるため、マーカーで有意な関連を得たとしても、「真の疾患感受性遺伝子 (あるいは多型)」を絞り込むことは困難とされる。

以上を踏まえ、本研究では、過去十分なサンプルサイズを用いた解析が行われていない古典的 HLA に焦点を当てることで、「機能に影響のある」特定の HLA 型が統合失調症に関連するかを検討することを主目的とする。

3. 研究の方法

我々がこれまで GWAS を行ってきた日本人サンプルは統合失調症 2000 名、双極性障害 1500 名、対照者は共同研究サンプルを加えて約 7000 名である。そのうち、GWAS を施行中のサンプルの中から、2500 名の統合失調症サンプルと 3000 名の正常対照者に関し、Luminex 法を用いた HLA タイピングを行い、関連解析を実施した。

4. 研究成果

本研究で用いたサンプルで、最も有意な関連が得られたのは、HLA-B のアレルであり、 $P = 3 \times 10^{-3}$ 、Odds ratio = 0.67 であった。しかし、これらは多重比較を考慮すると有意でなかったため、有意な関連を示す特定 HLA アレルは認められなかったと結論付けられる。本結果では、古典的 HLA (非精神疾患の感受性としては、effect size は高いと推測される) の関連解析では最大規模のサンプルを用いたにもかかわらず、白人を中心に有意な関連を得ている HLA 領域では、少なくとも日本人においては古典的 HLA との関連を示しているものではなく、non-HLA 遺伝子が関連している可能性を示唆している。すなわち、non-HLA 遺伝子にある「機能に影響する多型」が統合失調症の感受性に関連することが推測される。特に、最近報告されている補体成分の一つをコードする C4 の多型が統合失調症と MHC 領域の関連を説明するキー分子となっている可能性が考えられる (Sekar et al.

Nature, 2016)。従って、今後本領域に位置する non-HLA 遺伝子、特に C4 をターゲットとした解析などを行う必要がある。

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 10 件)

- 1) Yamaki N, Hishimoto A, Otsuka I, Sasada T, Boku S, Saito T, Yasuda Y, Yamamori H, Ikeda M, Ikeda M, Sora I, Iwata N, and Hashimoto R Optimizing outcomes in clozapine rechallenge following neutropenia using human leukocyte antigen typing: A case report. *Psychiatry Clin Neurosci.* 71, 4, 289-290, 2017 doi: 10.1111/pcn.12505. (査読有り)
- 2) Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, Okahisa Y, Kunugi H, Mori N, Sasaki T, Ohmori T, Okamoto Y, Kawasaki H, Shimodera S, Kato T, Yoneda H, Yoshimura R, Iyo M, Matsuda K, Akiyama M, Ashikawa K, Kashiwase K, Tokunaga K, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Kawase K, Kitajima T, Matsuo K, Itokawa M, Someya T, Inada T, Hashimoto R, Inoue T, Akiyama K, Tanii H, Arai H, Kanba S, Ozaki N, Kusumi I, Yoshikawa T, Kubo M, and Iwata N A genome-wide association study identifies two novel susceptibility loci and trans population polygenicity associated with bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 2017 in press, doi: 10.1038/mp.2016.259. (査読有り)
- 3) Watanabe Y, Nunokawa A, Shibuya M, Ikeda M, Hishimoto A, Kondo K, Egawa J, Kaneko N, Muratake T, Saito T, Okazaki S, Shimasaki A, Igeta H, Inoue E, Hoya S, Sugai T, Sora I, Iwata N, and

Someya T Rare truncating variations and risk of schizophrenia: Whole-exome sequencing in three families with affected siblings and a three-stage follow-up study in a Japanese population. *Psychiatry Res.* 235, 13-8, 2016 doi: 10.1016/j.psychres.2015.12.011. (査読有り)

4) Takasaki Y, Koide T, Wang C, Kimura H, Xing J, Kushima I, Ishizuka K, Mori D, Sekiguchi M, Ikeda M, Aizawa M, Tsurumaru N, Iwayama Y, Yoshimi A, Arioka Y, Yoshida M, Noma H, Oya-Ito T, Nakamura Y, Kunimoto S, Aleksic B, Uno Y, Okada T, Ujike H, Egawa J, Kuwabara H, Someya T, Yoshikawa T, Iwata N, and Ozaki N Mutation screening of GRIN2B in schizophrenia and autism spectrum disorder in a Japanese population. *Sci Rep.* 6, 33311, 2016 doi: 10.1038/srep33311. (査読有り)

5) Saito T, Ikeda M, Mushiroda 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.* 80, 8, 636-642, 2016 doi: 10.1016/j.biopsych.2015.12.006. (査読有り)

6) Saito T, Ikeda M, Hashimoto R,

Iwata N, Members of the Clozapine Pharmacogenomics Consortium of Japan are the f, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Kondo K, Shimasaki A, Kawase K, Miyata M, Mushiroda T, Ozeki T, Kubo M, Fujita K, Kida N, Nakai M, Otsuru T, Fukuji Y, Murakami M, Mizuno K, Shiratsuchi T, Numata S, Ohmori T, Ueno SI, Yada Y, Tanaka S, Kishi Y, Takaki M, Mamoto A, Taniguchi N, Sawa Y, Watanabe H, Noda T, Amano Y, Kimura T, Fukao T, Suwa T, Murai T, Kubota M, Ueda K, Tabuse H, Kanahara N, Kawai N, Nemoto K, Makinodan M, Nishihata Y, Hashimoto N, Kusumi I, Fujii Y, Miyata R, Hirakawa K, and Ozaki N Transethnic Replication Study to Assess the Association Between Clozapine-Induced Agranulocytosis/Granulocytopenia and Genes at 12p12.2 in a Japanese Population. *Biol Psychiatry*. 2016 doi: 10.1016/j.biopsych.2016.12.009. (査読有り)

7) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing J, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Yamamoto T, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M, Cheng MC, Chuang YA, Chen CH, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, and Ozaki N High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry*. 2016 doi: 10.1038/mp.2016.88. (査読有

り)

8) Kawase K, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Takahashi A, Kamatani Y, Kawabe N, Hashimoto S, Ikeda M, Kubo M, Yoshioka K, and Iwata N Risk factors and clinical characteristics of the depressive state induced by pegylated interferon therapy in patients with hepatitis C virus infection: A prospective study. *Psychiatry Clin Neurosci*. 70, 11, 489-497, 2016 doi: 10.1111/pcn.12424. (査読有り)

9) 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 doi: 10.4088/JCP.15l10127. (査読有り)

10) 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. *Journal of clinical psychopharmacology*. 35, 1, 85-8, 2015 doi: 10.1097/JCP.0000000000000268. (査読有り)

[学会発表] (計 6 件)

- 1) 池田匡志 : 若手研究者育成プログラム～池田匡志の場合～日本生物学的精神医学会 (招待講演)、2016/9/8、福岡国際会議場、福岡
- 2) 池田匡志 : 精神疾患のゲノム研究、日本精神神経学会招待講演)、2016/6/4、大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル大阪、大阪
- 3) 池田匡志 : 精神科遺伝子研究 : 臨床応用への問題点と 今後の戦略～

PGxに焦点を当てて、日本臨床精神神経薬理学会（招待講演）、2015/10/29、京王プラザホテル、東京

- 4) 池田匡志：精神疾患の薬理ゲノム学、日本生物学的精神医学会（招待講演）、2015/9/26、タワーホール船堀、東京
- 5) 池田匡志：CLZ誘発性無顆粒球症・顆粒球減少症の薬理ゲノム学的解析、日本精神神経薬理学会（招待講演）、2016/7/3、ソウル
- 6) 池田匡志：Pharmacogenomics in Psychiatry、Interenational Congress of Human Genetics（招待講演）、2016/4/5、京都

〔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

池田 匡志 (Ikeda, Masashi)
藤田保健衛生大学・医学部・准教授
研究者番号：60424933

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：