

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19754

研究課題名(和文) 近親婚の両親を持つ統合失調症罹患同胞のエクソーム解析に基づくリスク遺伝子の確定

研究課題名(英文) Searching for risk genes for schizophrenia based on a whole-exome sequencing of a consanguineous family with affected siblings

研究代表者

井桁 裕文 (Igeta, Hirofumi)

新潟大学・医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：10751026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症の発症に大きな効果を持つ変異を同定するため、統合失調症罹患同胞2人ととこ婚の両親を対象としたエクソーム解析および症例・対照研究(症例2,837、対照3,951)を行った。エクソーム解析により、罹患同胞2人がホモ接合で共有しているHEBP2遺伝子p.Arg140Gln変異およびUPK2遺伝子p.Arg152Cys変異を候補リスク変異として同定した。症例・対照研究では両変異とも統合失調症との有意な関連は認められなかった。本研究の結果、HEBP2遺伝子p.Arg140Gln変異およびUPK2遺伝子p.Arg152Cys変異は日本人における統合失調症発症リスクであるとは言えなかった。

研究成果の概要(英文)：Whole-exome sequencing (WES) studies of multiplex families are likely be a promising strategy for identifying causative variations for common diseases. We performed a WES study in two affected siblings and their unaffected parents who were second cousins from a multiplex schizophrenia family. Potential risk variations prioritized via WES were further tested for associations with schizophrenia in a total of 2,837 patients and 3,951 controls. Via WES, we identified two uncommon homozygous recessive missense variations, p.Arg140Gln in HEBP2 and p.Arg152Cys in UPK2, shared by two affected siblings. In a case-control study, these variations were not significantly associated with schizophrenia, although there was only one homozygous mutant allele carrier of p.Arg152Cys in UPK2 in patients, but not in controls. Our data do not support the role of p.Arg140Gln in HEBP2 and p.Arg152Cys in UPK2 in conferring substantial risk for schizophrenia in the Japanese population.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：精神医学 分子遺伝学 統合失調症 エクソーム解析

1. 研究開始当初の背景

統合失調症の病因として様々な仮説が唱えられているが、遺伝率が0.8と高く遺伝要因の関与が大きいと考えられる(Owen et al., 2016)。今日までに統合失調症のゲノムワイド関連解析によって多くのリスク多型が同定された(Ripke et al., 2014; Li et al., 2017; Ikeda et al., 2013)。しかし個々のリスク多型が統合失調症の発症に与える効果は小さく、病態の解明につなげることは困難である。頻度は稀であっても統合失調症の発症に大きな効果を持つ変異を同定することが、病態解明のために重要であると考えられる。研究開始当初は、統合失調症の発症に大きな効果を持つ稀な変異は確定されていなかった(Fromer et al. 2014; Purcell et al., 2014)。

複数の統合失調症罹患同胞が存在し、その両親が非罹患で近親婚である家系には、発症に大きな効果を持つ稀なリスク変異が潜性遺伝形式で伝達されている可能性が高いと考えられる(Timms et al., 2013)。そこで我々は、はとこ婚の両親を持つ統合失調症罹患同胞2人を含む家系に着目した。

2. 研究の目的

統合失調症の発症に大きな効果を持つ稀な変異を確定することが本研究の目的である。これによって統合失調症の病態解明へとつなげ、根本的治療法の開発へと結び付けることが最終的な目標である。

3. 研究の方法

本研究は新潟大学およびすべての共同研究機関の遺伝子倫理審査委員会において承認されており、対象者から書面によって研究参加の同意を得た。

エクソーム解析

統合失調症罹患同胞2人(#3、#4) はとこ婚かつ非罹患である両親(#1、#2)の計4人を対象とした(図1)。

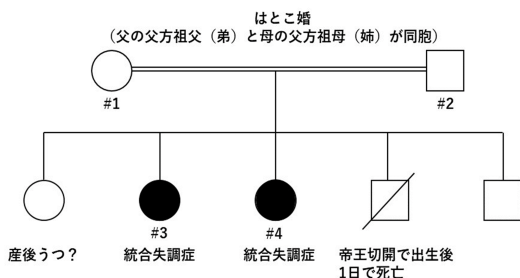


図1 家系図

対象者の血液から抽出したゲノムDNAを、SureSelect XT Human All Exon Kit V6を用いて全エクソンを濃縮し、シーケンスライブ

ラリーを作成した。これにタグ配列を付加した上で4サンプルを混合し、HiSeq2500システムを用いてエクソームシーケンスを実施した。

これによって検出された変異を、常染色体上、シーケンス深度が10以上、罹患同胞が潜性ホモ接合遺伝形式で共有、効果量が高度または中等度、アレル頻度が5%未満、という条件でフィルタリングし、候補リスク変異を選択した。

In Silico 解析

候補リスク変異の機能を予測するためにin silico解析を行った。これには、Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT; <http://sift.bii.a-star.edu.sg/index.html>)、Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2; <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、Combined Annotation Dependent Depletion (CADD; <http://cadd.gs.washington.edu/home>)を用いた。

症例・対照研究

候補リスク変異が統合失調症の発症に関連しているかどうかを確認するため、症例・対照研究(2,837対3,951)を行った。

藤田保健衛生大学、神戸大学、新潟大学で収集された症例・対照サンプルをTaqMan法でタイピングした。

またJapanese individuals from the Human Genetic Variation Database (HGVD) v1.42および1000 Genomes Project (1K) phase 3に登録されている健常日本人サンプルを対照サンプルに追加した(表1)。

表1 症例・対照サンプル

施設名	患者	対照
藤田保健衛生大学	1,111	1,125
神戸大学	920	841
新潟大学	806	673
HGVD	-	1,208
1K	-	104
合計	2,837	3,951

4. 研究成果

エクソーム解析

エクソームシーケンスにより、213,038個の変異が検出された。フィルタリングの結果、HEBP2遺伝子 Arg140Gln 変異(rs3734303)およびUPK2遺伝子 Arg152Cys 変異(rs137900462)の2つが候補リスク変異として選択された(表2)。

表2 フィルタリング

フィルタリング	残った変異の数
全検出	213,038
常染色体上	209,389
シーケンス深度が 10 以上	102,293
罹患同胞が潜性ホモ接合で共有	605
効果量が高度または中等度	60
アレル頻度が 5%未満	2

In Silico 解析

両候補リスク変異とも、SIFT では “ Tolerated (耐容) ”、PolyPhen-2 では “ Probably damaging (おそらく有害) ” と予測された。CADD スコアは両者とも 32 であり、上位 0.1% の有害な変異であると予測された (表 3)。

表3 候補リスク変異

dbSNP ID	rs3734303	rs137900462
染色体	6	11
位置	138727288	118828842
アレル	G/A	C/T
遺伝子	HEBP2	UPK2
機能予測		
SIFT	Tolerated	Tolerated
PolyPhen-2	Probably Damaging	Probably damaging
CADD	32	32
変異アレル頻度		
HGVD	0.038	0.020
1K	0.034	0.019
gnomAD	0.007	0.002

症例・対照研究

両リスク変異のホモ接合と統合失調症との有意な関連は認めなかった (表 4)。ただし、rs137900462 変異のホモ接合は、対照者では認められず症例では 1 例に認められた。

表4 症例・対照研究

変異	rs3734303	rs137900462
症例		
変異無し	2,640	2,722
変異ヘテロ	189	112
変異ホモ	4	1
対照		
変異無し	3,664	3,755
変異ヘテロ	265	172
変異ホモ	7	0
P 値	0.77	0.42
オッズ比	0.79	-
95%信頼区間	0.23-2.71	-

考察

はとこ婚の両親を持つ統合失調症罹患同胞 2 人を含む家系のエクソーム解析によって、HEBP2 遺伝子および UPK2 遺伝子のミスセンス変異を候補リスク変異として同定した。

In silico 解析では、両候補リスク変異とも機能的に有害である可能性が示唆された。これらの変異の機能的な影響を確認するためには、機能解析をする必要がある。

症例・対照研究では両変異のホモ接合と統合失調症との関連は認めなかった。しかし UPK2 遺伝子 Arg152Cys 変異のホモ接合は家系の罹患同胞 2 人を含め患者 3 例のみで認められた。アレル頻度を 0.02、有病率を 0.01、変異ホモ接合体の相対危険度を 5 (潜性モデル) と仮定した場合、本研究での検出力は 0.52 であった。今後、サンプル数を増やすことで統合失調症との関連が認められるかもしれない。

ヘム結合タンパク質 2 は、酸化ストレス下においてミトコンドリア膜透過性を高め壊死性細胞死を促進させることが報告されている (Szigeti et al., 2006)。ウロプラキン 2 は尿路上皮に存在する膜蛋白質であり、尿路上皮癌患者の末梢血においてウロプラキン 2 の mRNA が発現することから腫瘍マーカーとしての有効性が示唆されている (Hoang et al., 2014)。HEBP2 遺伝子や UPK2 遺伝子が、統合失調症の病因に関与することを示唆する報告はこれまでなく、さらなる研究が必要である。

本研究ではエクソームシーケンスのフィルタリングでは潜性ホモ接合を条件としたことから、複合ヘテロ接合体を見逃している可能性は否定できない。このため、今後は複合ヘテロ接合体についても候補リスク変異検索を行う予定である。

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 1 件)

井桁裕文、渡部雄一郎、布川綾子、井上絵美子、保谷智史、澁谷雅子、江川純、染矢俊幸。統合失調症の発症に大きな効果量を持つリスク変異の同定：はとこ婚の両親と罹患同胞 2 人のエクソーム解析からの展開。新潟県医師会報 815: 9, 2018

〔学会発表〕(計 1 件)

井桁裕文、渡部雄一郎、布川綾子、井上絵美子、保谷智史、澁谷雅子、江川純、染矢俊幸。はとこ婚の両親を持つ統合失調症罹患同胞家系のエクソーム解析。第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会 合同年会 2017 年 9 月 28 日 ~ 2017 年 9 月 30 日。札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井桁 裕文 (IGETA HIROFUMI)

新潟大学医学部・非常勤講師

研究者番号：10751026