

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16620

研究課題名（和文）統合失調症における体細胞変異の同定：患者・両親トリオを用いた高深度シーケンス

研究課題名（英文）Identification of somatic mutations in schizophrenia: deep sequencing of a parent-offspring trios

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

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症患者・両親60家系の統合失調症患者DNAサンプルに対し次世代シーケンサー（NovaSeq6000）による高深度（ 346 ± 96 ）の全エクソーム解析を行った。患者それぞれの全エクソーム解析データ（高深度+通常深度）に対し、両親の全エクソーム解析データ（通常深度）を参照として体細胞変異の検索を行い、115個の体細胞変異が検出された。そのうち28個の体細胞変異に対して次世代シーケンサーによる超高深度（平均深度79,940）のターゲットシーケンスを行った。残りの87個の体細胞変異に対し超高深度ターゲットシーケンスをおこなうためのプライマーを設計した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、統合失調症の発症に大きな効果を持つ体細胞変異を同定し、その病態解明および根本的な治療法開発の分子基盤を得ることである。体細胞変異が精神疾患の病態に関与している可能性が示唆されているが、これまで体細胞変異の検出は困難であった。本研究では、統合失調症患者・両親トリオを用いて、高深度の全エクソーム解析を行い体細胞変異の検索を行った。この研究を進展させ統合失調症の発症に大きな効果を持つ体細胞変異が同定されれば、その病態解明へと結びつけることが可能となる。

研究成果の概要（英文）：Among the DNA samples collected from 60 families with schizophrenia patients and their parents, we performed high-depth (346 ± 96) whole exome analysis on the DNA samples of schizophrenia patients using a next-generation sequencer (NovaSeq6000). Using the parent's whole exome data (normal depth) as a reference, the patient's whole exome data (high depth and normal depth) were searched for somatic mutations, and 115 somatic mutations were detected. Of these, 28 somatic mutations were subjected to ultra-deep (average depth 79,940) targeted sequencing using a next-generation sequencer. Primers were designed for ultra-deep targeted sequencing of the remaining 87 somatic mutations.

研究分野：精神医学分野

キーワード：統合失調症 分子遺伝学 体細胞変異 高深度全エクソーム解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 統合失調症の病態を解明し根本的な治療法を開発するための分子基盤を得るには、頻度は稀であっても発症に大きな効果を持つリスク変異を同定することが重要である。次世代シーケンサーの登場によって、大規模サンプルを用いた全エクソーム解析が行われるようになった。これにより、de novo 変異が統合失調症の発症に大きな効果を持つことが明らかにされ (Fromer et al., 2014)、リスク遺伝子として SETD1A 遺伝子が同定されている (Singh et al., 2016; Takata et al., 2016)。

(2) De novo 変異には生殖細胞系列の変異と体細胞変異が含まれるが、これまで体細胞変異の検出は困難であった。近年、解析手法の進展によって、体細胞変異が精神疾患の病態に関与している可能性が示唆され注目を集めている。統合失調症では、死後脳における LINE-1 (ゲノム上を転移するレトロトランスポゾン) の増加 (Bundo et al., 2014; Doyle et al., 2017) に加え、いくつかの体細胞変異 (コピー数変異や一塩基変異) が報告されている (Kim et al., 2013; Sakai et al., 2015; Fullard et al., 2019)。統合失調症の分子遺伝学の分野で日本は大きな後れを取ってしまっているが、体細胞変異に関する研究は国際的にもまだ乏しいのが現状である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、統合失調症の発症に大きな効果を持つ体細胞変異を同定することである。本研究の成果を基盤として、患者死後脳の遺伝子発現解析、iPS 細胞や遺伝子改変動物のモデル研究などに発展させ、統合失調症の病態解明を目指す。さらには、根本的な治療法の開発に結び付けることが最終目標である。

3. 研究の方法

本研究では、(1) 高深度の全エクソーム解析、(2) 高深度のターゲットシーケンスという 2 つの手法を組み合わせ、統合失調症の発症に大きな効果を持つ体細胞変異を同定する。

(1) 高深度の全エクソーム解析

統合失調症患者・両親 60 家系の末梢血ゲノム DNA サンプルを用いて、通常深度の全エクソーム解析データを既に得ている。その中から de novo 変異を検索し、サンガーシーケンスで確認を行う。次世代シーケンサー (NovaSeq6000) による高深度の全エクソーム解析を行う。患者それぞれの全エクソーム解析データ (高深度 + 通常深度) に対し、両親の全エクソーム解析データ (通常深度) を参照として体細胞変異の検索を行う。

(2) 高深度のターゲットシーケンス

高深度の全エクソーム解析で検出された体細胞変異について、高深度のターゲットシーケンスを実施し、その存在を確認する。具体的には、体細胞変異を含む標的領域について、次世代シーケンサー (Miseq) による高深度のターゲットシーケンスを行う。対象とするゲノム DNA サンプルは、当該の患者・両親トリオの末梢血に加え、可能であれば患者から爪や毛髪 (脳と同じ外胚葉由来) の提供を新たに受ける。

4. 研究成果

(1) 統合失調症患者・両親 60 家系の末梢血ゲノム DNA サンプルを用い、通常深度 (116 ± 60) の全エクソーム解析で検出された生殖細胞系列変異 83 個に対し、サンガーシーケンス法にて確認を行った。60 家系のうち 2021 年度に 34 家系、2022 年度に 26 家系の統合失調症患者 DNA サンプルに対し次世代シーケンサー (NovaSeq6000) による高深度 (346 ± 96) の全エクソーム解析を行った。患者それぞれの全エクソーム解析データ (高深度 + 通常深度) に対し、両親の全エクソーム解析データ (通常深度) を参照として体細胞変異の検索を行い、2021 年度に 28 個、2022 年度に 87 個の体細胞変異が検出された。

(2) 2021 年度に検出された 28 個の体細胞変異に対して次世代シーケンサーによる超高深度 (平均深度 79,940) のターゲットシーケンスを行った。超高深度ターゲットシーケンスと高深度全

エクソームシーケンスのアレル割合は相関していた ($R^2=0.95$)。2022 年度に検出された 87 個の体細胞変異に対し超高深度ターゲットシーケンスをおこなうためのプライマーを設計した。

(3) 体細胞変異が精神疾患の病態に関与している可能性が示唆されているが、これまで体細胞変異の検出は困難であった。本研究では、統合失調症患者・両親トリオを用いて、高深度の全エクソーム解析を行い体細胞変異の検索を行っている。これにより統合失調症の発症に大きな効果を持つ体細胞変異が同定されれば、その病態解明へと結びつけることが可能となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------