

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 C

研究期間：平成 22 年度～24 年度

課題番号：22591256

研究課題名（和文）

ゲノムワイド関連研究によるパニック障害の候補遺伝子研究

研究課題名（英文）

Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population.

研究代表者

梅景 正 (UMEKAGE TADASHI)

東京大学・環境安全本部・准教授

研究者番号：20323587

研究成果の概要(和文):

本研究は、パニック障害患者を対象に一般健常成人をコントロールとしてゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い、候補補遺伝子の特定を目指したものである。これまでに行った 2 つの GWAS をもとにメタ解析を行い(患者 718 名、健常対照 1717 名)、候補部位を同定した。さらに、TaqMan 解析法を用いて独立したサンプル(患者 329 名、健常対照 861 名)にて確認実験を行った。その結果、有意な関連を持つ遺伝子を見出した。また、2 つの GWAS 解析の結果からパスウェイ解析を行い、イノシトールリン脂質結合、軸索輸送、転写因子活性、内分泌制御などのパスウェイが有意に関連することを見出した。

研究成果の概要(英文):

In this study, we conducted a genome-wide association study (GWAS) in two independent data sets using the Affymetrix Mapping 500K Array or Genome-Wide Human SNP Array 6.0. We obtained imputed genotypes for each GWAS and performed a meta-analysis of two GWAS data sets (718 cases and 1717 controls). For follow-up, 12 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were tested in 329 cases and 861 controls. Gene ontology enrichment and candidate gene analyses were conducted using the GWAS or meta-analysis results. We also applied the polygenic score analysis to our two GWAS samples to test the hypothesis of polygenic components contributing to PD. Our findings suggest that large sets of common variants of small effects collectively account for risk of PD.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
22 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
23 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
24 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野:精神神経科学

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:Panic Disorder, GWAS, SNP

1. 研究開始当初の背景

パニック障害は、一旦発症すると強い不安感のため生活に支障をきたし、広場恐怖が合併すると生活圏が非常に狭くなり通勤ができなくなるなど社会生活に大きな支障となる。パニック障害の年間罹患率は約1%、生涯罹患率は2-2.5%（パニック発作は7-9%）と高率であり、早急に病態の解明、治療法の進展が急務である。疾患コスト研究では、不安障害の患者の直接治療費全体は、統合失調症のそれとほぼ同額であり（Andrews 1991）、さらに精神疾患では直接治療費以外に生産性の低下と損失による同規模の費用がかかっている（Rice 1992）との報告がある。パニック障害について確実な候補遺伝子は見いだされていない。不安障害家系で15番長腕の重複配列部分が存在するとの有望な所見もあるが（Gratacos, 2001）、追試した結果は陰性であった。その理由としては、i)大規模な分子遺伝研究がない（現在まで、関連研究・連鎖研究を合わせても50程度の報告にすぎず、関連研究ではそのほとんどが200例以下のサンプル数であり300例を超える研究はほとんどない）、ii)遺伝的・環境的異種性がある、iii)多重検定などの統計上の補正が不十分である。

2. 研究の目的

本研究は日本人のパニック障害患者を対象に一般健康成人をコントロールとしてゲノムワイド関連解析（Genome wide association study：GWAS）を行ない、候補遺伝子の同定を目指すものである。

3. 研究の方法

2009年のGWAS解析は2段階で行い、第1段階では50万SNPsチップを用いたGWASを1次サンプル（患者200人、対照200人）で行い、更にその結果から候補と考えられるSNPsを選択し、1次サンプルと重複しない2次サンプル558人を対象に、DigiTag2法を用いたタイピングによりcase-controlとの比較を行い解析した。2009年のGWAS報告の結果と今回新たに行なったGWASとのメタ解

析の結果、候補部位33か所を見出した。

(1) パニック障害患者DNAサンプリング

不安障害専門クリニックの臨床フィールドの協力を得て研究を行ってきた。日本人パニック障害患者のサンプルを1300例収集（東大・三重大1000例、大分大・千葉大・新潟大・理研など300例）した。

(2) 遺伝子多型解析

2009年のGWAS報告の結果と今回新たに行なったGWASをもとにメタ解析を行い（患者718名、健常対照1717名）、候補部位33か所を同定した。TaqMan解析法を用いて、独立したサンプル（患者329名、健常対照861名）にて確認実験を行い、有意な関連をもつ遺伝子（8番長腕）を見出した。また、2つのGWAS解析の結果からパスウェイ解析を行い、神経膜の輸送体や細胞接着、カルシウム伝達などのパスウェイが有意に関連することを見出した。一つ一つの遺伝子の病気に及ぼす影響は小さいことが考えられた。

(3) 心理・臨床データの解析

DNAサンプル収集と同時に、詳しい臨床症状、心理・性格検査（anxiety sensitivity質問紙、NEO-PI-R, STAI等）を行うとともに、さらに生活習慣や環境要因の聞き取り調査を継続した。見出された候補遺伝子を中心に、個々の遺伝子単独の検討だけでなく、遺伝子-環境相互作用解析、関連する遺伝子全体の把握を目指した。

本研究は、以下の点に大きな特徴がある。

1)十分なサンプル数は、統計学的検出力が増し、遺伝子研究で確実な結果を得られる。

2)我が国独自のデータを得ることは、日本人にあった治療法の開発を行うために必須である。

3)パニック障害は、多くの遺伝要因と環境要因が複合して発症すると考えられており、環境要因の一つの要因を取り去る、または生活習慣を改善するだけでも、症状を改善させる可能性がある。遺伝因が環境因と関連がある場合は、直接治療に結びつけられる可能性が大きい。

4)パニック障害1,300例以上のサンプルについて、遺伝要因、環境要因、心理・臨床情

報をまとめた大きなデータベースが出来上がることになり、今後の研究の基盤を提供できる。

5) 有力な候補遺伝子が見いだされた際は、ノックアウトマウス作成などによる機能解析のステップに進むことができ、病態解明に役立つ。

4. 研究成果

日本人のサンプル 231 人のパニック障害 (PD) 患者、対照 407 人で、Phosphodiesterase (PDE4B) の 14 SNPs のタイピングを行った。ハプロタイプ分析で DE4B と PD 患者との間で有意な関連 $p=0.031$ を見出し、PDE4B は PD の病態に関連していることを示した。PDE4B は、精神疾患、気分障害、不安障害との関連が指摘されている。また、日本人 PD 595 人、対照 626 人について、PD の病因と genome-wide copy number variation (CNV) との関連について検討して、2 つの common CNV clusters (9p11.2, 19p13.32-33) と PD が関連していることを示した。19p13.32-33 は、ZNF (zinc finger protein 541) を含む領域であり、PD と血清 zinc 濃度との関連を示した既報を支持した。

さらに、genome-wide CNV association study (535 PD cases and 1520 controls) を行い、Common duplication in 16p11.2 について Bonferroni-corrected P values < 0.05 であった。

次に、2009 年の GWAS 報告の結果と今回新たに行なった GWAS をもとにメタ解析を行い (患者 718 名、健常対照 1717 名)、候補部位 33 か所を同定した。さらに、TaqMan 解析法を用いて、独立したサンプル (患者 329 名、健常対照 861 名) にて確認実験を行った。その結果、8 番長腕 (8q23-q24) に位置する SNTB1 (syntrophin beta 1) 遺伝子が有意な関連を持つことを見出した ($OR=0.67$)。syntrophin 遺伝子は、神経伝達物質との結合やその輸送体の神経膜への移動などを行なう蛋白を生成する。統合失調症関連遺伝子の Dysbindin (DTNBP1) 遺伝子と複合を作ることも報告されている。他にも神経伝達物質のアドレナリン受容体との結合を通じて、血圧の調整を行い、パニック障害に心血管系疾患の合併率が

多いことから、興味深い結果と考える。この他にも、2 つの GWAS 解析の結果からパルスウェイ解析を行い、神経膜の輸送体や細胞接着、カルシウム伝達などのパルスウェイが有意に関連することが見出された。こうした関連パルスウェイに含まれる遺伝子としては、CDH13, CTNNA2, RELN, NRXN1, CACNA2D1, GRIN2B, ITPR3 などの大きく分類して、神経発達関連遺伝子群と神経伝達遺伝子群があることが示唆された。以上、これまでの不安障害を含めた報告の中では最大規模の解析結果から有意な遺伝子群がパニック障害に関連することが分かった。一方で一つ一つの遺伝子の病気に及ぼす影響は小さいことから、多数の遺伝子の相互作用ならびに環境との相互作用から疾患発症につながる可能性も示唆された。

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 8 件)

① Otowa T 1/32, Umekage T 17/32, Sasaki T 32/32, Meta-analysis of genome-wide association studies for panic disorder in the Japanese population. Translational Psychiatry 2012 13;2:e186

doi:10.1038/tp.2012.89. 査読有

② Sugaya N, Otowa T 7/18, Umekage T 9/18, Sasaki T 17/18. Prevalence of bipolar disorder in panic disorder patients in the Japanese population. J Affect Disord. 2013; 147(1-3):411-5. doi: 10.1016/j.jad.2012.10.014. 査読有

③ Kawamura Y, Otowa T 2/21, Umekage T 14/21, Sasaki T 17/18. A genome-wide CNV association study on panic disorder in a Japanese population. J Hum Genet. 2011;56(12):852-6. doi: 10.1038/jhg.2011.117 査読有

④ Otowa T 1/14, Umekage T 8/14, Sasaki T 14/14, An association analysis of Per2 with panic disorder in the Japanese population. J Hum Genet. 2011;56(10):748-50. doi: 10.1038/jhg.2011.94. 査読有

⑤Otowa T1/16, Umekage T 11/16 , Sasaki T16/16, Association of RGS2 variants with panic disorder in a Japanese population. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011;156B(4):430-4.

doi:10.1002/ajmg.b.31178. 査読有

⑥Otowa T 1/14, Umekage T 8/14, Sasaki T 14/14, Association study of PDE4B with panic disorder in the Japanese population. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011;35(2):545-9. doi:

10.1016/j.pnpbp.2010.12.013. 査読有

⑦Otowa T 1/7, Umekage T 3/7, Sasaki T 7/7, No association between CLOCK gene 3111C/T polymorphism and personality traits in healthy Japanese subjects. Psychiatry Clin Neurosci. 2011;65(6):604. doi: 10.1111/j. 査読有

⑧Otowa T 1/17, Umekage T 11/17, Sasaki T 17/17, Replication of a genome-wide association study of panic disorder in a Japanese population. 2010;55(2):91-6. doi: 10.1038/jhg.2009.127. 査読有

[学会発表] (計3件)

⑩Otowa T 1/32, Umekage T 17/32, Sasaki T 32/32, Meta-analysis of genome-wide association studies for panic disorder in the Japanese population. The 20th World Congress of Psychiatric Genetics. Hamburg 2012 査読有

②Kawamura Y1/20, Otowa T 2/20, Umekage T 14/20, Sasaki T 20/20, A genome-wide CNV association study on panic disorder in a Japanese population. XVIII World Congress on Psychiatric Athens, 2010 査読有

③I Fukui1/8, Umekage T 6/8, A Randomized Controlled Trial (RCT) of Computerized Cognitive-Behavior Therapy (CCBT) for Panic Disorder with Agoraphobia. The World Congress of Behavioral and Cognitive Therapies 2010 Boston 査読有

6. 研究組織

(1)研究代表者

梅景 正 (UMEKAGE TADASHI)

東京大学環境安全本部・准教授

研究者番号：20323587

(2)連携研究者

佐々木司 (SASAKI TSUKASA)

東京大学教育学研究科・教授

研究者番号：50235256

音羽健司 (OTOWA KENJI)

東京大学医学部附属病院・助教

研究者番号：70456119