

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 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791120

研究課題名（和文）日本人における統合失調症のゲノムワイド関連研究およびそのフォローアップ

研究課題名（英文）Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population and follow-up study

研究代表者

Aleksic Branko

名古屋大学・大学院医学系研究科・特任准教授

研究者番号：60547511

研究成果の概要（和文）：シナプス足場タンパク質の *MAGI2* はグルタミン酸受容体を含む多様な機能分子と相互作用し、統合失調症の認知機能障害との関連が示唆されている。本研究では *MAGI2* の遺伝子多型と統合失調症の関連解析を行い、さらにその多型が認知機能に与える影響について検討を行った。その結果、*MAGI2* の 2 つの遺伝子多型（rs2190665、rs4729938）が統合失調症と関連し、さらに rs2190665 は統合失調症に特徴的な実行機能障害にも関与することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：A synapse scaffolding protein, *MAGI2*, interacts with a variety of functional molecules including glutamate receptors and is presumed to be relevant to cognitive impairment in schizophrenia. In this study, we conducted an association analysis of *MAGI2* in schizophrenia and evaluated an effect of this gene on cognitive function. As a result, two polymorphisms (rs2190665, rs4729938) showed suggestive evidence of association with schizophrenia. In addition, rs2190665 was found to be related to impairment of executive function.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：精神科遺伝学

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：JGWAS, *MAGI2*、統合失調症、認知機能、実行機能

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は有病率が約 1%と頻度が高く、陽性症状、陰性症状、認知機能障害で特徴づけられる疾患である。統合失調症の発症に遺伝要因が強く関与することが知られ、近年の報告によれば、その遺伝率は 64%と見積もられている。これまでに数多くの遺伝解析が行

われたが、未だその解明はなされていない。

統合失調症の機能的予後の研究から、認知機能障害が重要な規定因子であることが報告された。認知機能には実行機能、情報処理速度、注意、作動記憶、言語学習などが含まれ、本疾患の中核症状と位置づけられる。統合失調症の認知機能障害の分子メカニズム

としてシナプス可塑性の障害が想定されている。これまでに関連が指摘されたシナプス足場タンパク質として、membrane-associated guanylate kinase (MAGUK) family や inverted MAGUK (MAGIs) が知られる。MAGI2 は脳特異的発現を示し、興奮性シナプスにおいて NMDA 受容体と相互作用することが報告されている。

MAGI2 はヒト染色体の 7q21 に位置し、サイズの大きな遺伝子である。ゲノムコピー数変異解析から本遺伝子の欠失が統合失調症の発症を高めることが報告された。神経生物学的観点から、MAGI2 は AMPA 型/NMDA 型のグルタミン酸受容体のリクルートに関与する。またシナプス足場タンパク質として知られる MAGI2 はグルタミン酸シナプスで NMDA 受容体、Neuroigin1、 β -catenin を含む機能分子と相互作用し、GABA シナプスで β -dystroglycan や neuroigin2 を含む機能分子と相互作用する。

MAGI2 と統合失調症あるいは認知機能障害との関連を検討した遺伝解析は実施されていない。そこで、本研究では日本人統合失調症の全ゲノム関連解析 (JGWAS) データに基づいて、MAGI2 の遺伝子多型と統合失調症あるいは認知機能障害との関連を検討した。

2. 研究の目的

MAGI2 の遺伝子多型と統合失調症の関連を遺伝統計学的に検討する。さらに統合失調症に関連した認知機能障害 (実行機能障害) との関連も検討する。

3. 研究の方法

(1) 被験者

① JGWAS sample set

JGWAS では患者群 575 名 (年齢 43.5 ± 14.8 歳) と健常者群 564 名 (44.0 ± 14.4 歳) からなるサンプルセットを用いた。被験者は互いに血縁関係がなく、日本の本州に在住の日本人である。

② confirmation sample set

JGWAS で選択された遺伝子多型 (SNP) のフォローアップ解析として、患者群 1624 名 (46.5 ± 14.5 歳、男性 50.6%) と健常者群 1621 名 (45.1 ± 14.0 歳、男性 49.0%) からなるサンプルセット (confirmation sample set) を用いて関連解析を実施した。

③ cognitive function sample set

認知機能解析では、患者群 114 名 (年齢 44.9 ± 13.5 歳、男性 60.5%) と健常者群 91 名 (年齢 24.9 ± 6.17 歳、男性 64.8%) からなるサンプルセット (cognitive function sample set) を用いた。全ての被験者は日本人である。

なお、統合失調症の診断は Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) に基づいて行った。健常者は非構造化面接を行い、精神疾患の既往歴がないことを確認した。

本研究は名古屋大学および共同研究機関の倫理委員会の承認を受け、全ての対象者には研究に関しての十分な説明を行い、文書による同意を得た。

(2) SNP の選択

JGWAS のデータセットに基づいて、MAGI2 の関連解析で検討する候補 SNP を選択した。具体的には、Affymetrix 5.0 array に含まれる MAGI2 領域の SNP の中で、①健常者群での minor allele frequency (MAF) $>5\%$ 、②遺伝子型のコールレート $>90\%$ 、③ハーディ・ワインベルグ平衡からの逸脱がない ($p > 0.001$)、という条件を満たす SNP を選択。さらに連鎖不平衡構造を考慮し、JGWAS で関連シグナル ($p < 0.01$) を示す候補 SNP を選択した。候補 SNP は独立サンプルセット (confirmation sample set) で統合失調症との関連を検討した。

(3) 遺伝子型決定とデータ解析

ゲノム DNA は被験者の末梢血から標準的な方法で抽出された。confirmation sample set の遺伝子型決定は fluorescence-based allelic discrimination assay を用いて行った。低品質の DNA サンプルを除外するため、データは SNP のコールレートとハーディ・ワインベルグ平衡からの逸脱に基づいてフィルタリングをかけた。allele-wise の関連解析は Fisher's exact test を用い、有意水準 0.05 で両側検定を行った。

検出力を上げるため、confirmation sample set と JGWAS sample set の joint analysis を Cochran-Mantel-Haenszel stratified analysis を用いて実施した。また関連解析の結果の異質性の評価は Breslow-Day test を用いて実施した。ともに PLINK v1.07 を使用した。

(4) 認知機能評価

実行機能 (executive function) を評価するため、Wisconsin Card Sorting Test を用いた。本研究ではコンピュータで施行可能な修正版 (慶応版 WCST: KWCST) を用いた。KWCST のアウトカムとして、達成カテゴリー数 (CA)、ネルソン型の保続エラー数 (PEN) を用いた。

(5) 認知機能解析

2つの SNP について WCST で測定された認知機能に与える影響を検討した。患者群 114 名、健常者群 91 名のデータを用いた。本研究では KWCST の CA と PE の得点から KWCST の総合

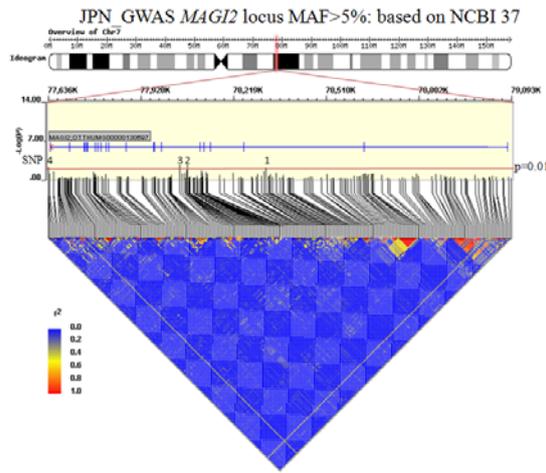
点を算出したうえで、Zスコアに換算して解析を行った。各 SNP の遺伝子型で分けられた 2 群間の Zスコアの比較をスチューデントの t 検定を用いて実施した。なお、患者群と健常者群は分けて解析を行った。

4. 研究成果

(1) 関連解析

JGWS データセットにおける *MAGI2* 領域の連鎖不平衡構造、allelic p value、4 つの候補 SNP の位置情報を図 1 に示す。

図 1



関連シグナル ($p < 0.01$) を認めた 4 つの候補 SNP、すなわち、rs2190665, rs10260177, rs2215379, rs4729938 を選択した (表 1)。

表 1

Number	SNP	Physical Position ¹	LD block	M	m	JGWS (Cases 575, Controls 564)					
						Cases	Controls	P-value ²	OR ³	L95	U95
1	rs2190665	78322159	Intron	1	C G	0.40	0.46	0.0098	0.80	0.68	0.95
2	rs10260177	78075634	Intron	2	T C	0.03	0.05	0.0028	0.50	0.32	0.80
3	rs2215379	78050595	Intron	3	C T	0.18	0.23	0.0037	0.74	0.60	0.91
4	rs4729938	77637379	Intergenic	4	C G	0.36	0.30	0.0077	1.27	1.07	1.52

選択した SNP について confirmation sample set で統合失調症との関連解析を行ったが、関連を示す SNP ($p < 0.05$) は確認できなかった。しかし、joint analysis (JGWS sample set + confirmation sample set) では、2 つの SNP の関連が確認できた。(rs2190665: $p = 0.0033$, rs4729938; $p = 0.027$) (表 2)

表 2

Number	SNP	Confirmation sample (n=3245)						Confirmation sample + JGWS (n=4353)					
		Cases	Controls	P-value ¹	OR ²	L95	U95	HWEP ³	P-value ¹	OR ²	L95	U95	P.BD ⁴
1	rs2190665	0.39	0.42	0.06	0.91	0.82	1.01	0.79	0.0033	0.88	0.80	0.96	0.22
2	rs10260177	0.04	0.04	0.39	1.12	0.87	1.44	0.49	0.44	0.92	0.74	1.14	0.003
3	rs2215379	0.21	0.21	0.85	1.01	0.89	1.15	0.88	0.18	0.93	0.84	1.03	0.01
4	rs4729938	0.32	0.31	0.33	1.06	0.95	1.18	0.72	0.027	1.11	1.01	1.22	0.08

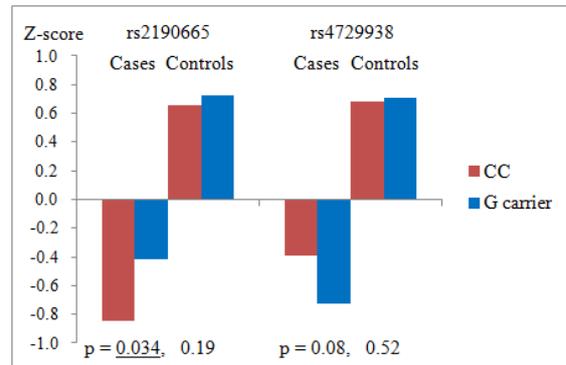
(2) 認知機能解析

関連解析の結果に基づき、rs2190665 と rs4729938 の SNP が実行機能に与える影響を WCST のデータを用いて検討した。なお、2 つの SNP において、遺伝子型による臨床的特徴の差異は認めなかった (表 3)。

表 3

	rs2190665 G: Protective allele						rs4729938 G: Risk allele					
	Cases (n=114)			Controls (n=91)			Cases (n=114)			Controls (n=91)		
	C	G carrier	P-value ¹	C	G carrier	P-value ¹	C	G carrier	P-value ¹	C	G carrier	P-value ¹
	mean	mean		mean	mean		mean	mean		mean	mean	
	SD	SD		SD	SD		SD	SD		SD	SD	
Sex (Male/Female)	20/18	49/27	0.23	22/11	37/21	0.82	29/28	40/17	0.05	24/12	35/20	0.83
Age (years)	46.2	44.2	0.47	24.8	24.9	0.90	43.3	46.5	0.21	24.8	24.9	0.91
Education (years)	12.1	12.3	0.72	14.6	15.2	0.21	12.2	12.2	0.93	15.1	14.9	0.69
CPZeq doses (mg/day)	2.1	2.2	0.93	395.1	364.4	0.93	2.1	2.3	0.93	352.0	354.3	0.19
Age at onset (years)	10.8	9.7	0.63	18.7	17.7	0.71	27.2	26.1	0.58	10.2	9.9	0.88
Duration of illness (years)	18.7	17.7	0.71	13.8	12.9	0.71	18.9	20.2	0.08	12.5	13.6	0.13
PANSS Positive (7-49)	16.9	15.5	0.21	6.2	4.7	0.21	5.0	5.4	0.32	15.2	16.7	0.13
PANSS Negative (7-49)	19.1	18.2	0.43	18.7	17.7	0.71	18.0	19.0	0.32	5.4	5.4	0.93
PANSS General (16-112)	37.1	34.7	0.16	9.4	8.4	0.16	33.9	37.1	0.054	8.4	8.9	0.054
WCST composite score of CA and PEN	-0.85	-0.41	0.034	0.65	0.72	0.19	0.30	0.73	0.08	0.68	0.71	0.48
	1.11	0.97		0.29	0.15		1.00	1.04		0.28	0.16	

rs2190665 では、患者群において protective allele (G) を有する群がそれ以外の群と比較して、WCST 得点が高かったが ($p = 0.034$)、健常者では 2 群間で有意な差は認めなかった。一方、rs4729938 では、患者群では risk allele (G) を有する群において WCST 得点が最も低い傾向を示した ($p = 0.08$)。



(3) 研究の意義と展望

日本人統合失調症を対象とした本研究から *MAGI2* の 2 つの遺伝子多型 (rs2190665, rs4729938) が統合失調症の発症脆弱性に与えることが明らかになった。さらに rs2190665 は統合失調症患者に特徴的な実行機能障害にも関与する可能性が示された。*MAGI2* はシナプス足場タンパク質として多様な機能分子と相互作用し、認知機能障害への関与が示唆されていたが、本研究で確認された意義は大きい。一方、上述の遺伝子多型の影響は比較的小さいことから、今後は大きい効果を持つ稀なゲノムコピー数変異の探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3件)

- ① Koide T, Aleksic B (corresponding author), Kikuchi T, Banno M, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Iidaka t, Ozaki N. Evaluation of factors affecting Continuous Performance Test Identical Pairs Version score of schizophrenic patients in a Japanese clinical sample Schizophrenia Research and Treatment, 査読有, 2012, In press
- ② Ikeda M, Aleksic B (equal contribution), Kinoshita Y, Okochi T, Kawashima K, Kushima I, Ito Y, Nakamura Y, Kishi T, Okumura T, Fukuo Y, Williams HJ, Hamshere ML, Ivanov D, Inada T, Suzuki M, Hashimoto R, Ujike H, Takeda M, Craddock N, Kaibuchi K, Owen MJ, Ozaki N, O'Donovan MC, Iwata N. Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. Biol Psychiatry. 査読有, 69(5):472-8. 2011
- ③ Banno M, Koide T, Aleksic B (corresponding author), Yamada K, Kikuchi T, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Kushima I, Ikeda M, Inada T, Yoshikawa T, Iwata N, Ozaki N. A case control association study and cognitive function analysis of neuropilin and tolloid-like 1 gene and schizophrenia in the Japanese population. PLoS One. 査読有, 6(12):e28929. 2011

[学会発表] (計3件)

- ① Koide T, Aleksic B, Yoshimi A, et al. Association study and expression analysis between MAGI2 and schizophrenia. Paper presented at: WCPG 2011, world congress of psychiatric genetics; September 10-14, 2011; Omni Shoreham Hotel, Washintong, DC, United States.

- ② Koide T, Aleksic B, Ikeda M, et al. Association study and cognitive function analysis of MAGI2 as a candidate gene for schizophrenia. Paper presented at: WFSBP 2011: world congress of biological psychiatry; 29 May - 02 June, 2011; Prague, Czech Republic.

- ③ Koide T, Aleksic B, Yoshimi A, et al. Association study and expression analysis between MAGI2 and schizophrenia. Paper presented at: 名古屋大学グローバル COE プログラム 機能分子医学への神経疾患・腫瘍の融合拠点第3回国際シンポジウム; December 8-9, 2011; ミッドランドホール、ミッドランドスクエア、名古屋市、日本

[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

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

アレクシッチ ブランコ (Aleksic Branko)
名古屋大学・大学院医学系研究科・特任准教授

研究者番号: 60547511

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし