

## 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 4 月 2 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890065

研究課題名（和文）

トリプトファン水酸化酵素 2 遺伝子が統合失調症の発症脆弱性に果たす役割

研究課題名（英文）

The role of the tryptophan hydroxylase 2 gene in susceptibility to schizophrenia

研究代表者

布川 綾子 (NUNOKAWA AYAKO)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：90584607

研究成果の概要（和文）：

トリプトファン水酸化酵素 2 (tryptophan hydroxylase 2, *TPH2*) 遺伝子が、統合失調症の発症脆弱性に関与している可能性を検証するため、16 のタグ塩基多型、タンパク質コード領域のリシークエンスにより同定された 2 つのミスセンス変異、2 つのコピー数多様性の計 20 マーカーについて、2 つの独立したサンプル（症例 626・対照 620、症例 2007・対照 2195）を用いた二段階関連解析を実施したが、有意な関連は認められなかった。本研究の結果から、*TPH2* 遺伝子は統合失調症の発症脆弱性に関与していないであろうことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To assess whether the tryptophan hydroxylase 2 (*TPH2*) gene is implicated in vulnerability to schizophrenia, we conducted a two-stage case-control association study in Japanese individuals. In the first stage, we examined a total of 20 markers, including tagging single nucleotide polymorphisms (SNPs), rare missense variations identified through resequencing of protein coding regions, and common copy number variations, in 626 patients and 620 controls. In the second stage, we further investigated potentially associated SNPs in 2007 patients and 2195 controls. However, no evidence was obtained for the associations. Our results suggest that *TPH2* does not confer increased susceptibility to schizophrenia in the Japanese population.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,230,000	369,000	1,599,000
2011 年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	708,000	3,068,000

研究分野：精神医学

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：統合失調症、リシークエンス、コピー数多様性、タグ塩基変異

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) 統合失調症の遺伝要因

統合失調症は生涯有病危険率が約 1%と高

く、思春期に発症し社会機能の低下を伴い慢性に経過する精神疾患である。現在の診断・治療法は十分なものとは言えず、病態解明に

よる進展が切望されている。統合失調症は遺伝要因と環境要因が相互に影響して発症する複雑疾患と考えられているが、その遺伝率は約 80%と推定され遺伝的要因の関与が大きい (Owen et al., 2009)。このため、分子遺伝研究は統合失調症の病態解明における最も有力なアプローチとして期待されている。

### (2) 統合失調症のセロトニン仮説

分子遺伝研究や脳画像研究などから得られた多くの成果により、セロトニン神経の機能障害が統合失調症の病態に関与していると考えられている (Lieberman et al., 1998)。脳内のセロトニンは主として tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) により合成されることから (Zhang et al., 2004)、TPH2 遺伝子は統合失調症の有力な候補遺伝子である。

### (3) TPH2 遺伝子と統合失調症との関連研究

TPH2 遺伝子と統合失調症との関連についての先行研究には、サンプル数やマーカー数が十分でないことによる検出力不足などの問題点が存在する (De Luca et al., 2005; Higashi et al., 2007; Kim and Yoon, 2011; Serretti et al., 2011; Shiroiwa et al., 2010; Tee et al., 2010; Zhang et al., 2011)。このため、TPH2 遺伝子が統合失調症の発症脆弱性に関与している可能性について、より良いデザインを用いたさらなる研究が必要である。

## 2. 研究の目的

二段階の症例-対照研究により TPH2 遺伝子上に存在すると考えられる統合失調症の感受性座位の同定を目指す。

## 3. 研究の方法

本研究計画はすべての参加研究機関における倫理審査委員会の承認を得ている。対象者には本研究計画について十分な説明を行い、研究参加について書面による同意を得た。

### (1) スクリーニング解析

#### ①対象者

精神疾患の診断・統計マニュアル (DSM-IV) の基準により統合失調症と診断された患者 626 人と精神疾患の既往のない対照者 620 人である。

#### ②タグ一塩基多型

HapMap 日本人データ (#24; マイナー・アレル頻度 0.5%以上) から、 $r^2$  が 0.8 以上の条件のもと、Tagger プログラムの pairwise tagging only モードにより選択された 17 のタグ一塩基多型の中で、TaqMan プローブの合成が可能であった 16 の一塩基多型を TaqMan 法により解析した (Watanabe et al., 2006)。

#### ③稀なミスセンス変異

患者 101 人の DNA サンプルを用いて、TPH2 遺伝子のタンパク質コード領域を直接シーケンス法によりリシーケンスし

(Nunokawa et al., 2010)、同定された稀なミスセンス変異に加え、以前にわれわれが (Egawa et al., 2012) 自閉性障害患者で同定した稀なミスセンス変異を TaqMan 法により解析した。

#### ④コピー数多様性

Database of Genetic Variants に登録されている TPH2 遺伝子の 2 つのコピー数多様性 (Variation\_113385, Variation\_42978) について、前者は TaqMan プローブを用いたりアルタイム PCR 法により解析し (Watanabe et al., 2010)、後者は PCR 産物のサイズにより解析した。

### (2) 確認解析

#### ①対象者

統合失調症患者 2007 人と対照者 2195 人である。

#### ②マーカー

スクリーニング解析で統合失調症との有意な関連が認められた 3 つの一塩基多型 (rs2129575, rs1487275, rs17110747)、患者のみで同定され対照者では同定されなかった稀なミスセンス変異 p. R225Q (rs13989603) の計 4 マーカーを TaqMan 法により解析した。

## 4. 研究成果

### (1) スクリーニング解析

#### ①タグ一塩基多型

3 つの一塩基多型 (rs2129575, rs1487275, rs17110747) と統合失調症との有意な関連が認められた (表 1)。

表 1. タグ一塩基多型のスクリーニング解析

一塩基多型	マイナーアレ ル頻度		P 値
	症例	対照	
rs7963717	0.106	0.109	0.7705
rs11178999	0.503	0.482	0.2950
rs4565946	0.365	0.333	0.0917
rs2129575	0.533	0.482	<b>0.0117</b>
rs1386488	0.094	0.083	0.3386
rs17110489	0.335	0.363	0.1314
rs17110566	0.137	0.130	0.6019
rs11179027	0.415	0.446	0.1154
rs4760820	0.115	0.120	0.7361
rs1386498	0.365	0.369	0.8574
rs11179043	0.129	0.132	0.8198
rs12231356	0.086	0.073	0.2153
rs1487275	0.238	0.290	<b>0.0032</b>
rs11179059	0.401	0.435	0.0879
rs11179064	0.203	0.188	0.3450
rs17110747	0.204	0.246	<b>0.0130</b>

## ②稀なミスセンス変異

タンパク質コード領域のリシークエンスにより同定された7つの変異の中で、ミスセンス変異はrs78162420 (p. S41Y) のみであった(表2)。

表2. リシークエンスにより同定された変異

変異	dbSNP ID	タンパク質
c. -52A>G	rs11178998	5' UTR
c. 122C>A	rs78162420	p. S41Y
c. IVS3+23G>A	-	-
c. 936A>G	rs7305115	p. P312P
c. 1125A>T	rs4290270	p. A375A
c. IVS10+79C>T	rs41317120	-
c. *149G>A	rs41317118	3' UTR

このミスセンス変異に加え、以前にわれわれが (Egawa et al., 2012) 自閉性障害患者で同定した稀なミスセンス変異 rs13989603 (p. R225Q) を解析したところ、rs13989603 (p. R225Q) は患者のみで同定され対照者では同定されなかった(表3)。

表3. ミスセンス変異のスクリーニング解析

変異	マイナーアレル頻度		P 値
	症例	対照	
rs78162420	0.042	0.045	0.6579
rs13989603	0.002	0.000	0.4998

## ③コピー数多様性

2つのコピー数多様性と統合失調症との有意な関連は認められなかった(表4)。

表4. コピー数多様性のスクリーニング解析

コピー数多様性群	コピー数			P 値
	0	1	2	
Variation_113385				
症例	487	123	13	0.2835
対照	498	113	9	
Variation_42978				
症例	11	141	473	0.7376
対照	7	153	459	

## (2) 確認解析

スクリーニング解析において、統合失調症との有意な関連が認められた3つの一塩基多型 (rs2129575, rs1487275, rs17110747)、患者のみで同定され健常対照者では同定されなかった稀なミスセンス変異 rs13989603 (p. R225Q) を解析した。しかし、統合失調症との有意な関連は確認されなかった(表5)。

表5. 確認解析

一塩基多型	マイナーアレル頻度		P 値
	症例	対照	
rs2129575	0.473	0.493	0.0634
rs139896303	0.0008	0.0002	0.3117
rs1487275	0.266	0.275	0.4034
rs17110747	0.218	0.224	0.4947

## (3) 考察

## ①頻度の高い多型

比較的小規模なサンプルと限られた数のマーカーを用いた先行研究では、頻度の高い多型と統合失調症との有意な関連は認められていない(De Luca et al., 2005; Higashi et al., 2007; Kim and Yoon, 2011; Serretti et al., 2011; Shirowa et al., 2010; Tee et al., 2010; Zhang et al., 2011)。大規模サンプルを用いた本研究においてもターゲット塩基多型と統合失調症との有意な関連は認められなかった。これらのことから、TPH2 遺伝子の頻度の高い多型は、統合失調症の発症脆弱性に関与していないであろうことが示唆された。

## ②稀なミスセンス変異

われわれが知る限り、稀なミスセンス変異と統合失調症との関連はこれまでに報告されていない。リシークエンスにより同定された rs78162420 (p. S41Y) は、TPH2 のセロトニン合成能を減弱させる機能的な変異であるが (Lin et al., 2007)、スクリーニング解析において統合失調症との有意な関連は認められなかった。加えて rs13989603 (p. R225Q) も解析したが、2つの独立したサンプルを合わせても統合失調症との有意な関連は認められなかった(オッズ比 5.2、95%信頼区間 0.62~45.3)。ただし、Q アレル頻度は患者群 5/5126、対照群 1/5396 と極めて稀であり、われわれの大規模サンプルでも検出力が十分とは言えず、より大規模なサンプルを用いたさらなる研究が必要である。

## ③コピー数多様性

イントロン領域内にある頻度の高い2つのコピー数多様性と統合失調症との有意な関連は認められなかった。この結果は、TPH2 遺伝子上の稀なコピー数多様性が統合失調症の発症脆弱性に関与する可能性を否定するものではないが、最近のゲノムワイド関連解析によっても TPH2 遺伝子上の稀なコピー数多様性と統合失調症との関連は報告されていない (Levinson et al., 2011)。

## (4) 結論

われわれの二段階関連解析の結果から、TPH2 遺伝子は統合失調症の発症脆弱性に関与していないであろうことが示唆された。

## 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5件)

- ① Abe R, Watanabe Y, Tachibana A, Nunokawa A, Shindo M, Hasegawa N, Someya T. Exploration of a possible association between the tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene and panic

symptoms induced by carbon dioxide in healthy individuals. *Psychiatry Res.* 2012 Feb 23. [Epub ahead of print]. 査読有.

- ② Egawa J, Watanabe Y, Nunokawa A, Endo T, Kaneko N, Tamura R, Sugiyama T, Someya T. A detailed association analysis between the tryptophan hydroxylase 2 (*TPH2*) gene and autism spectrum disorders in a Japanese population. *Psychiatry Res.* 2012 Feb 21. [Epub ahead of print]. 査読有.
- ③ Watanabe Y, Egawa J, Iijima Y, Nunokawa A, Kaneko N, Shibuya M, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Tochigi M, Kunugi H, Itokawa M, Ozaki N, Hashimoto R, Someya T. A two-stage case-control association study between the tryptophan hydroxylase 2 (*TPH2*) gene and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res.* 2012 Feb 17. [Epub ahead of print]. 査読有.
- ④ Watanabe Y, Nunokawa A, Kaneko N, Someya T. A case-control study and meta-analysis of association between a common copy number variation of the *glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1)* gene and schizophrenia. *Schizophr Res.* 2010; 124(1-3):236-237. 査読有.
- ⑤ Amagane H, Watanabe Y, Kaneko N, Nunokawa A, Muratake T, Ishiguro H, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, Hashimoto R, Itokawa M, Ozaki N, Someya T. Failure to find an association between *myosin heavy chain 9, non-muscle (MYH9)* and schizophrenia: a three-stage case-control association study. *Schizophr Res.* 2010; 118(1-3):106-112. 査読有.

[学会発表] (計4件)

- ① 金子尚史, 渡部雄一郎, 村竹辰之, 布川綾子, 染矢俊幸. 統合失調症多発罹患家系における全ゲノムコピー数多型検索. 第32回日本生物学的精神医学会. 2010年10月9日. リーガロイヤルホテル小倉(北九州市).
- ② 渡部雄一郎, 天金秀樹, 金子尚史, 布川綾子, 村竹辰之, 石黒浩毅, 有波忠雄, 氏家寛, 稲田俊也, 岩田仲生, 功刀浩, 佐々木司, 橋本亮太, 糸川昌成, 尾崎紀夫, 染矢俊幸. ミオシン重鎖9遺伝子は統合失調症と関連しない. 2010年10月9日. リーガロイヤルホテル小倉(北九州市).
- ③ 布川綾子, 渡部雄一郎, 金子尚史, 須貝

拓朗, 矢崎沙織, 有波忠雄, 氏家寛, 稲田俊也, 岩田仲生, 功刀浩, 佐々木司, 糸川昌成, 尾崎紀夫, 橋本亮太, 染矢俊幸. ドパミン D3 受容体遺伝子と統合失調症のリスク. 2010年10月9日. リーガロイヤルホテル小倉(北九州市).

- ④ 江川純, 渡部雄一郎, 布川綾子, 金子尚史, 遠藤太郎, 田村立, 増澤菜生, 杉山登志郎, 染矢俊幸. トリプトファン水酸化酵素2 (*TPH2*) 遺伝子と広汎性発達障害との関連解析. 2010年10月9日. リーガロイヤルホテル小倉(北九州市).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

布川 綾子 (NUNOKAWA AYAKO)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号: 90584607