

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461731

研究課題名(和文)統合失調症の疾患候補遺伝子と症候学による新亜型分類の再考

研究課題名(英文)Reclassification of schizophrenia by candidate gene and symptom

研究代表者

高木 学 (Takaki, Manabu)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：60452570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症約500人の遺伝と臨界期の臨床転帰、社会転帰の関連を調査した。NMDA受容体機能に関する6遺伝子(SLC6A5・DTNBP1・GRM7・PPP3CC・EGR3・PDE4B)7SNPsのうち、SLC6A5遺伝子(rs894747)が、重症度、社会転帰に関連した。PDE4B遺伝子(rs472952)は発症アレル保持数と文字流暢性スコア低得点に関連した。日本人統合失調症GWASの91SNPsでは、各3SNPsが臨床(CSMD1(rs2623659)遺伝子含)、社会転帰に関連し、重症度に関連した3SNPsは治療反応性に関連した。統合失調症患者の転帰に、遺伝要因も影響することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We investigated the association between genetics and clinical or social outcomes of about 500 patients with schizophrenia at the critical period. Among 7 SNPs of 6 genes (SLC6A5, DTNBP1, GRM7, PPP3CC, EGR3, and PDE4B) which participated in NMDA receptor function, rs894747 of SLC6A5 gene was related to severity of illness and social outcome. Rs472952 of PDE4B gene was related to low score of letter fluency test. In 91SNPs of GWAS analysis of Japanese patients with schizophrenia, each 3SNPs including rs2623659 of CSMD1 was related to severity of illness or social outcome. 3SNPs related with severity of illness was also related to treatment resistance. It is interesting that the genetic factor also influenced to the clinical or social outcomes of the patients with schizophrenia.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症 亜型分類 臨床転帰 社会転帰 遺伝子解析 PDE4B リスクアレル Polygenic risk score

1. 研究開始当初の背景

(1) 統合失調症の Missing Heritability

統合失調症は1%の有病率であり、様々な遺伝的検討により、発症への遺伝的要因の関与が確実で、根治が困難な慢性疾患である。しかし、疾患候補遺伝子や CNV 多型が、統合失調症の発症に及ぼす影響は30%程度しかなく「Missing Heritability」といわれる。

(2) 統合失調症の臨床症状や経過の多彩さ

現在、統合失調症は、妄想型、破瓜型、緊張型と3亜型に分類されている。しかし、実際はさまざまな症候群の複合体であると推測される。我々は特に臨床経過に注目して分類を試みる。

(3) 統合失調症診断の困難さ

臨床現場では、様々な治療法が充実し、かえって疾患本来の経過が見えにくくなった。統合失調症と診断された患者が、広汎性発達障害や、解離性障害、双極性感情障害と別の疾患に診断が変更されるケース、臨床像の変化から診断が変更になるケースも増えている。

(4) サンプル均質化の限界

近年の症例対照研究のサンプル数の増加、多施設化により、サンプルが均質化されにくいことが研究の限界となっていると推測する。

2. 研究の目的

(1) 岡山大学のサンプルの特徴と臨界期

統合失調症では、社会機能の悪化は発症初期に生じ、発症後2~5年に安定化する(Plateau effect)。また、75%近くが5年以内に再発し、自殺リスクも2~3年以内が高い。発症初期の約5年間で予後を決定する重要な時期であり、臨界期(Critical Period)と呼ばれる。我々は、発症前~治療開始5年以内の臨床経過に注目する。岡山大学では症例対照研究において500例の統合失調症患者

のDNAサンプルを所有し、岡山大学のサンプルは、臨界期5年間において定型抗精神病薬のみで加療され、非定型抗精神病薬の投与を受けていない、疾病教育、認知行動療法、集団療法、リハビリテーション、福祉支援サービスを十分に受けておらず、発症後の治療の質が比較的均一であり、疾病経過がマスクされるリスクが少ないと推測される。

(2) 臨床経過と就労に注目した検討

統合失調症において発症脆弱性と臨床的・社会的転帰との直接的な関連について検討した研究はまだない。不良な転帰と関連する「リスク」因子を同定することで、重症例に対し早期介入や集約的な治療が可能になり、また良好な転帰と関連する「ベネフィット」因子を同定することで、患者に対しより良い予後予測を提示し、社会参加を促すことが可能になるかもしれない。

3. 研究の方法

(1) 対象

対象者は日本人統合失調症患者455名である。統合失調症の診断は、ICD-10に基づいて2名の精神科医により行った。この研究は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科の倫理委員会の同意を得ている。全ての対象者からインフォームドコンセントに基づいて書面に同意を得た。

(2) 統合失調症患者の臨床・社会転帰の評価方法

臨床転帰の評価には、初診から5年後の臨床全般印象評価尺度-重症度(CGI-S)を用いた。また、初診時のCGI-Sと、治療反応率(初診時CGI-Sから5年後CGI-Sの改善率)を評価し、反応率>20%を「反応群」、反応率20%を「非反応群」と定義した。

統合失調症患者の社会転帰は、社会適応の有無により評価した。就労者や家事従事者、学生を「社会適応群」、入院患者や、家事従事者や学生を除く非就労者を「社会非適応

群」とした。

初診から5年後の年齢、性別、発症から治療開始までの期間(精神病未治療期間: DUP)、発症年齢、入院期間、抗精神病薬量を変数とした。各転帰の群間差の検定はt検定を用いた。

(3) 有力な疾患候補遺伝子の選定方法

選定には二つのアプローチを用いた。

- (A) SZGene データベースにおいて日本人の統合失調症との関連が複数のグループで報告されている
- (B) 日本人統合失調症の GWAS (Ikeda et al, 2011) において、統合失調症の発症と関連が強かった 200SNPs のうち、基準を満たす 91SNPs を選択し、レプリケーション研究においても統合失調症の発症危険アレルであると再現された 46SNPs を「危険アレル」と定義した。

(4) 遺伝子解析と統計解析

(遺伝子解析) TaqMan assay 法を用いた。

(アレルワイズ関連解析) 危険アレル頻度と臨床・社会転帰との関連の検討には、カイ 2 乗片側検定を行った。

(polygenic risk score 解析)

各個人における危険アレルの保持数と臨床・社会転帰の関連についての検討に polygenic risk score 解析を行った。polygenic risk score と臨床・社会転帰との関連の検討には、ロジスティック回帰分析を用いた。

4. 研究成果

(1) グルタミン酸機能を持つ統合失調症疾患候補遺伝子の解析

(遺伝子関連解析)

SZGene において日本人の統合失調症との関連が複数のグループで報告されている、NMDA 受容体機能に関与する 6 遺伝子 (SLC6A5・DTNBP1・GRM7・PPP3CC・EGR3・PDE4B)

の 7SNPs を選択した。

岡山大学サンプルにおいて、PDE4B 遺伝子の rs910694 が統合失調症と関連を認めた (genotype : $p=0.011$ 、allele : $p=0.036$)。またメタ解析においても関連を認めた。

日本人の先行研究を合わせたメタ解析において、SLC6A5 遺伝子の rs894747、DTNBP1 遺伝子の rs3213207、GRM7 遺伝子の rs3749380 においても統合失調症と関連を認めた。

(臨床的・社会的転帰との関連解析)

SLC6A5 遺伝子の rs894747 の G アレルを有する群において、重症度 ($p=0.018$)、社会機能 ($p=0.005$) が共に良好であった。

(polygenic risk score)

重症度・社会適応に与える影響は明らかではなかった。

(考察)

PDE4B の rs910694 は日本人統合失調症との関連が指摘されている (Numata, 2008)。この SNPs は、PDE4B2 アイソフォームの発現を生成する splice junction の近傍にある intron8 に存在し、この近傍の他の SNPs においても統合失調症との関連が指摘されていること (Fetami, 2008) から、今後これらの SNPs においても関連解析・機能解析を検討していく。

SLC6A5 (Solute carrier family 6, member 5) は、NMDA 受容体のコ・アゴニストである GlyT2 をコードする遺伝子で、染色体 11p15 に位置する。rs894747 は日本人統合失調症との関連が指摘されている (Deng, 2008)。この SNPs は、転写開始部位の近傍の intron に存在することから、今後機能解析も検討していく。本研究では、発症リスクアレルを持つ方が転帰が良好との結果になった。発症脆弱性と臨床/社会的転帰の間には、中間表現型や環境要因など様々な要因が介在しており、それらの影響で相反する結果となった可能性が考えられる。

(2) PDE4B の関連解析と臨床表現型との関連解析

PDE4B の遺伝子型・アレル頻度において、rs2180335 (Genotype $P=0.0005$, Allele $P=0.0028$), rs910694 (Genotype $P=0.011$, Allele $P=0.036$), rs472952 (Genotype $P=0.039$, Allele $P=0.021$) の 3 つの SNPs において、有意な関連を認めた。Bonferroni 法による多重検定の補正後も、rs2180335、rs910694 において有意な関連は保たれた。連鎖不平衡解析では、rs2180335-rs910694-rs472952 の 8 つのハプロタイプにおいて有意な関連を認めた (permutation $P=0.002 \sim 0.045$)。またメタ解析において、4 つ全ての SNPs において Bonferroni 補正後も有意な関連が見られた。別の健常者サンプル 405 名を対象に文字流暢性課題を施行し、その総得点の平均値と多型との関連を、年齢・性別・教育年数で調整した重回帰分析を用いて解析したところ、rs472952 において、発症リスクアレル (G アレル) の保持数が相加的に文字流暢性のスコアを低下させた ($P=0.0029$)。

【考察】PDE4B は学習や記憶に関連する cAMP のカスケードの調節因子であり、動物実験においても PDE4 選択的阻害薬である rolipram が、working memory など認知機能障害を改善したという報告もみられる。今回の結果から、PDE4B 遺伝子が統合失調症の発症脆弱性だけでなく、認知機能障害にも関連することが示唆された。

(3) 統合失調症疾患感受性リスクアレルと臨床・社会転帰との関連解析

(臨床・社会転帰における各変数の差)

各転帰における人口統計学的変数の差を解析したところ、不良な転帰 (重症群と社会非適応群) は、若年発症・長い入院期間・多

い抗精神病薬量と関連したが、DUP とは関連しなかった。

(臨床・社会転帰におけるアレルワイズ関連解析)

全ての SNPs は Hardy-Weinberg 平衡から逸脱していなかった。臨床転帰における解析では、重症群の方が非重症群よりも 3 つの SNPs において危険アレル頻度が高かった (rs8116303 : $P=0.002$, rs3129601 : $P=0.004$, rs2623659 : $P=0.011$)。またこの 3SNPs 全てにおいて、治療非反応群のほうが治療反応群よりも高い危険アレル頻度を示し、重症度に関連した SNPs が反応性不良とも関連することが示唆された。一方、初診時の重症度とは関係しなかった。

社会転帰における解析では、社会非適応群の方が社会適応群よりも 3 つの SNPs において危険アレル頻度が高かった (rs2294424 : $P=0.002$, rs6550146 : $P=0.012$, rs8116303 : $P=0.032$)。検出力の解析では 0.80 以上の検出力を得た。

(polygenic risk score 解析)

polygenic risk score と臨床・社会転帰との間には、統計学的に明らかな関連を認めなかった。また、それぞれの転帰に関連した 3SNPs のみで計算した risk score は、各変数で調整後も臨床・社会転帰と有意に関連した。

【考察】関連解析において、臨床転帰 (重症度) と関連する 3SNPs、社会転帰 (社会非適応) と関連する 3SNPs を同定した。加えて、重症度に関連した 3SNPs は治療反応性にも関連しており、重症度と治療反応性は治療抵抗性統合失調症の定義において双方とも重要な要素であるため、統合失調症の発症に関与する SNPs が治療抵抗性統合失調症の予測因子となり得るかもしれない。

臨床転帰と関連を認めた rs2623659 が位置する CUB and Sushi multiple domains-1 (CSMD1) 遺伝子は、補体制御関連タンパクを発現し、中枢神経の発達過程で合成される。CSMD1 遺伝子は近年の大規模 GWAS においても統合失調症との関連が指摘されているほか、

認知機能障害との関連も報告されているが、本研究において統合失調症患者の臨床転帰にも関連する可能性が示唆された。また社会転帰と関連を認めた rs2294424 が位置する C6orf105 遺伝子は、過去の 2 つの GWAS において日本人統合失調症との関連が示唆されている。この遺伝子は、冠動脈疾患や無症候性口蓋裂との遺伝的関連も指摘されているが、機能解析はまだ行われていない。polygenic risk score 解析では、今後より大きなサンプルサイズ・多くの SNPs を用いた解析が必要である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

Saito T, Ikeda M, Mushiroda T, Ozeki T, Kondo K, Shimasaki A, Kawase K, Hashimoto S, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Takeda M, Kamatani Y, Numata S, Ohmori T, Ueno SI, Makinodan M, Nishihata Y, Kubota M, Kimura T, Kanahara N, Hashimoto N, Fujita K, Nemoto K, Fukao T, Suwa T, Noda T, Yada Y, Takaki M, Kida N, Otsuru T, Murakami M, Takahashi A, Kubo M, Hashimoto R, Iwata N. Pharmacogenomic Study of Clozapine-Induced Agranulocytosis/Granulocytopenia in a Japanese Population. Biol Psychiatry. [Epub ahead of print] 2016. 査読あり

Senda M, Bessho K, Oshima E, Sakamoto S, Tanaka K, Tsutsui K, Kanbayashi T, Takaki M, Yoshimura B. Anti-Inflammatory Therapy and Immunotherapy Were Partially Effective in a Patient With Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antibodies and a Special Subgroup of Treatment-Resistant Schizophrenia. J Clin Psychopharmacol. 36(1): 92-93, 2016. 査読あり

Sakamoto S, Takaki M, Okahisa Y, Mizuki Y, Inagaki M, Ujike H, Mitsuhashi T, Takao S, Ikeda M, Uchitomi Y, Iwata N, Yamada N. Individual risk alleles of susceptibility to schizophrenia are associated with poor clinical and social outcomes. J Hum Genet. 61(4): 329-334, 2016. 査読あり

Mizuki Y, Takaki M. Blonanserin Ameliorated the Tendency Toward QTc Prolongation Associated With Risperidone in a Patient With Schizophrenia. J Clin Psychopharmacol. 35(1):101-102, 2015. 査読あり

Takaki M, Okabe N. Aripiprazole may be effective as an add-on treatment in bulimic symptoms of eating disorders. J Clin Psychopharmacol. 35(1):93-95, 2015. 査読あり

Mizuki Y, Takaki M, Okahisa Y, Sakamoto S, Kodama M, Ujike H, Uchitomi Y. Human Rho guanine nucleotide exchange factor 11 gene is associated with schizophrenia in a Japanese population. Hum Psychopharmacol. 29(6):552-558. 2014. 査読あり

Takaki M. Aripiprazole as monotherapy at bedtime was effective for treatment of two cases of obsessive-compulsive disorder and insomnia. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 26(3):E64, 2014. 査読あり

Takaki M, Ujike H. Aripiprazole is effective for treatment of delayed sleep phase syndrome. Clin Neuropharmacol. 37(4):123-124, 2014. 査読あり

Sakamoto S, Takaki M, Okahisa Y, Mizuki Y, Kodama M, Ujike H, Uchitomi Y. Four polymorphisms of the pericentriolar material 1 (PCM1) gene are not associated

with schizophrenia in a Japanese population. Psychiatry Res. 216(2):288-289, 2014. 査読あり

Kaneda Y, Ohmori T, Okahisa Y, Sumiyoshi T, Pu S, Ueoka Y, Takaki M, Nakagome K, Sora I. Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia Consensus Cognitive Battery: validation of the Japanese version. Psychiatry Clin Neurosci., 67: 182-188, 2013. 査読あり

Takaki M, Ujike H. Blonanserin, an antipsychotic and dopamine D(2)/D(3) receptor antagonist, and ameliorated alcohol dependence. Clin Neuropharmacol., 36: 68-69, 2013. 査読あり

Yoshimura B, Hirota T, Takaki M, Kishi Y. Is quetiapine suitable for treatment of acute schizophrenia with catatonic stupor? A case series of 39 patients. Neuropsychiatr Dis Treat. 9: 1565-1571, 2013. 査読あり

〔学会発表〕（計6件）

Okahisa Y, Sakamoto S, Takaki M, Yamada N. Expression profiles and cognitive function as a predictive biomarker of schizophrenia : a pilot study. XXIIIRD World Congress of Psychiatric Genetics, Toronto, Canada, 2015.10.

酒本真次, 高木学, 岡久祐子, 水木寛, 山田了士. NMDA 受容体機能関連遺伝子と統合失調症患者の臨床的・社会的転帰との関連研究. 第37回日本生物学的精神医学会, 東京, 2015. 9.

Sumiyoshi C, Takaki M, Okahisa Y, Patterson T, Harvey P, Sumiyoshi T. The UCSD Performance-based Skills Assessment-brief Japanese Version

(UPSA-B_J): Discriminative Validity for Schizophrenia. 4th Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, 2014.4.

酒本真次, 高木学, 岡久祐子, 水木寛, 稲垣正俊, 氏家寛, 池田匡志, 岩田仲生, 内富庸介. 統合失調症の疾患感受性遺伝子は、臨床・社会転帰とも関連する. 第36回生物学的精神医学会, 奈良, 2014.9.

Sumiyoshi C, Okahisa Y, Takaki M, Nishiyama S, Mizukami Y, Patterson TL, Harvey PD, Sumiyoshi T. Development of the UCSD Performance-based Skills Assessment-Brief (UPSA-B) Japanese version: standardization and cross-national issues. WFSBP Congress 2013 11th World Congress of Biological Psychiatry. Kyoto, 2013.6.

Mizuki Y, Takaki M, Okahisa Y, Sakamoto S, Kodama M, Ujike H, Uchitomi Y. The functional analysis of the human Rho guanine nucleotide exchange factor 11 which is a risk for the paranoid subtype of schizophrenia. WFSBP Congress 2013 11th World Congress of Biological Psychiatry. Kyoto, 2013.6.

〔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〕なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高木学 (TAKAKI Manabu) 岡山大学・大学院
院・助教、研究者番号：60452570

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし