

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670516

研究課題名(和文) 精神疾患モデル動物発見を企図したニホンザルを対象とする精神疾患発症関連変異の探索

研究課題名(英文) Genetic screening of Japanese macaque aiming at discovery of primate models for psychiatric disorders

研究代表者

尾崎 紀夫 (Ozaki, Norio)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40281480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：精神疾患の発症に強い影響を及ぼすゲノムコピー数変異(CNV)が同定されている。本研究では精神疾患の霊長類モデルを発見する為ニホンザルのCNV解析を実施し精神疾患関連CNVを探索した。335頭の全ゲノムCNVデータから神経発達関連遺伝子(GRM5、NGF、BDNF、ADORA2A)に機能的影響を与えるCNVを同定した。ADORA2A領域の重複は精神疾患・神経発達症との関連が報告されているが、本個体の行動観察では明らかな異常を認めず今後詳細な表現型解析が必要だ。結果、ニホンザルのCNV解析から精神疾患の霊長類モデルの候補を同定しニホンザルのゲノム解析が精神疾患モデルの樹立に寄与する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Recent genomic studies of psychiatric disorders have identified rare copy number variants (CNVs) with large effect size. In order to discover primate model for psychiatric disorders, we have performed genome-wide CNV screening in Japanese macaque. As a result, we detected CNVs overlapping neurodevelopmental genes including GRM5, NGF, BDNF, and ADORA2A. In particular, a duplication of ADORA2A region was previously implicated in psychiatric and neurodevelopmental disorders. Abnormal behaviors were not identified in one Japanese macaque with ADORA2A duplication, and a detailed phenotype analysis will be necessary in the future. In conclusion, we discovered candidates of primate model for psychiatric disorders, confirming the usefulness of CNV analyses for Japanese macaque.

研究分野：精神医学、ゲノム医学

キーワード：ニホンザル CNV

1. 研究開始当初の背景

統合失調症や自閉スペクトラム症を含む精神疾患のゲノム解析から、発症に強い影響を与える稀なゲノムコピー数変異 (copy number variation: CNV) が同定されている。CNV は 1kb ~ 数 Mb の染色体領域の欠失・重複を指し、遺伝子のコピー数変化、遺伝子破壊、遺伝子融合、ポジション効果などを介して遺伝子発現に影響を及ぼす。しかし、これらゲノム変異から精神疾患の発症に至る分子メカニズムは未だ不明である。霊長類はゲノム構造、脳構造、高次脳機能の観点からヒトに近く、ゲノム解析から精神疾患関連 CNV をもつ個体を見つけ出すことができれば、精神疾患の有用なモデルとなる可能性がある。

2. 研究の目的

ニホンザル (*Macaca fuscata*) を対象にゲノムワイドに CNV 解析を実施し、ヒト精神疾患の発症に強く関わる CNV を有するニホンザルを見つけ出す。また、個体へのアクセスが可能な場合には、CNV を持つニホンザルにおいて行動を含めた表現型を解析し、精神疾患の霊長類モデルとしての妥当性を確認する。

3. 研究の方法

京都大学霊長類研究所の今井啓雄准教授よりニホンザル 379 頭の末梢血由来ゲノムの提供を受けた。comparative genomic hybridization 法 (CGH 法) を用いて全ゲノムにわたる CNV 解析を実施し、ヒト精神疾患に関連する CNV の探索を行った。CNV の同定は解析ソフト Nexus の FASST2 segmentation アルゴリズムを用いて実施した。ゲノムデータの quality control (QC) を行い、高精度の CNV を得た。一部の CNV は高解像度 CGH 法で再現性の確認も行った。

4. 研究成果

ニホンザル 379 頭の解析を実施し、QC 後に 335 頭分の高精度 CNV データを得た。全体で 5904 個の CNV を同定した。精神疾患の発症に強く関与する CNV は神経発達に影響を与えるものが多いことから、その関連遺伝子に影響するものに着目した。その結果、精神疾患の発症に関与する可能性のある複数の CNV を同定した。具体的には、14 番染色体の GRM5 遺伝子 (glutamate receptor, metabotropic 5) を含む 4.3Mb の大規模重複を同定した。GRM5 は重複の断端に位置し、遺伝子が破壊されている可能性がある。またヒト健常者では 2Mb を超えるサイズの CNV はほとんど存在しないことから病的意義の可能性が示唆された。さらに 1 番染色体の NGF 遺伝子 (nerve growth factor) を含む領域の欠失 (812kb)、14 番染色体の BDNF 遺伝子 (brain-derived neurotrophic factor) を含む領域の重複 (1.0Mb) を同定した。なお、上記 3 つの CNV は特定の地域の個体にのみに認められ、明らかな地域特異性があった。

以下、本研究で同定した CNV、サイズ、含まれる遺伝子を示す (図 1 ~ 4)。

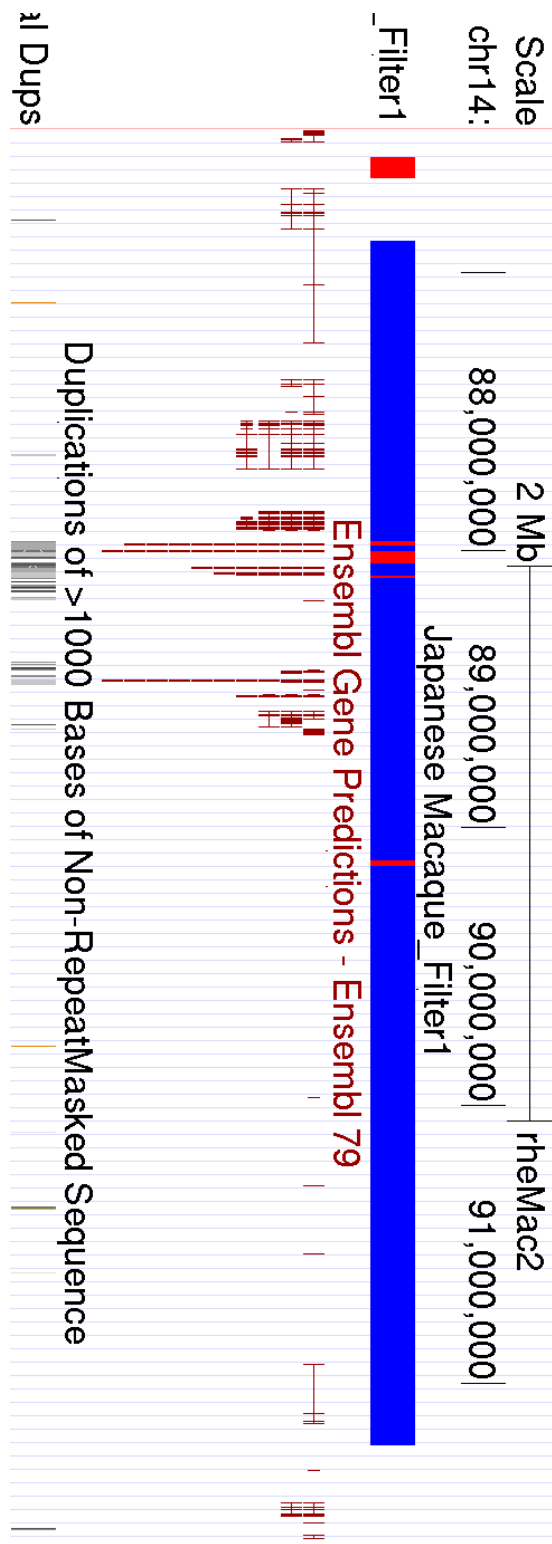


図 1 14 番染色体の重複
chr14:86883573-91224608 (4.3Mb)
GRM5, TYR, NOX4, FOLH1, TRIM64, TRIM51,
TRIM49B, TRIM64C, TRIM49L1, NAALAD2,
CHORDC1, CDH23

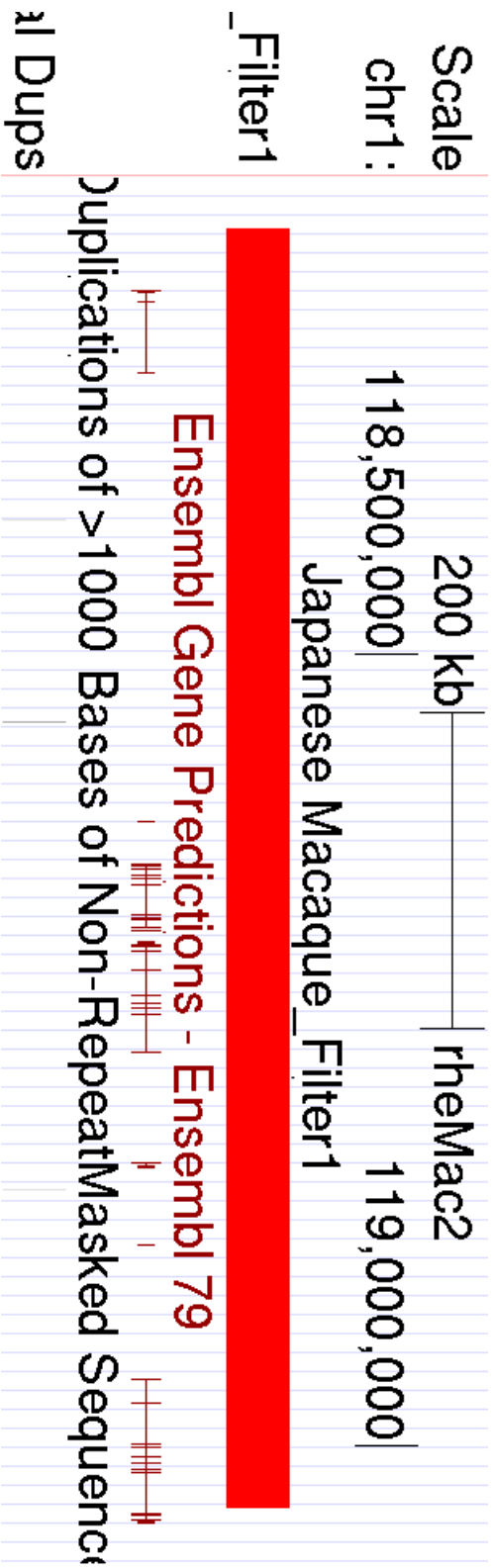


図2 *NGF*を含む1番染色体の欠失
chr1:118228640-119041554 (812kb)
NGF, NHLH2, SLC22A15, LOC711681, VANGL1, CASQ2

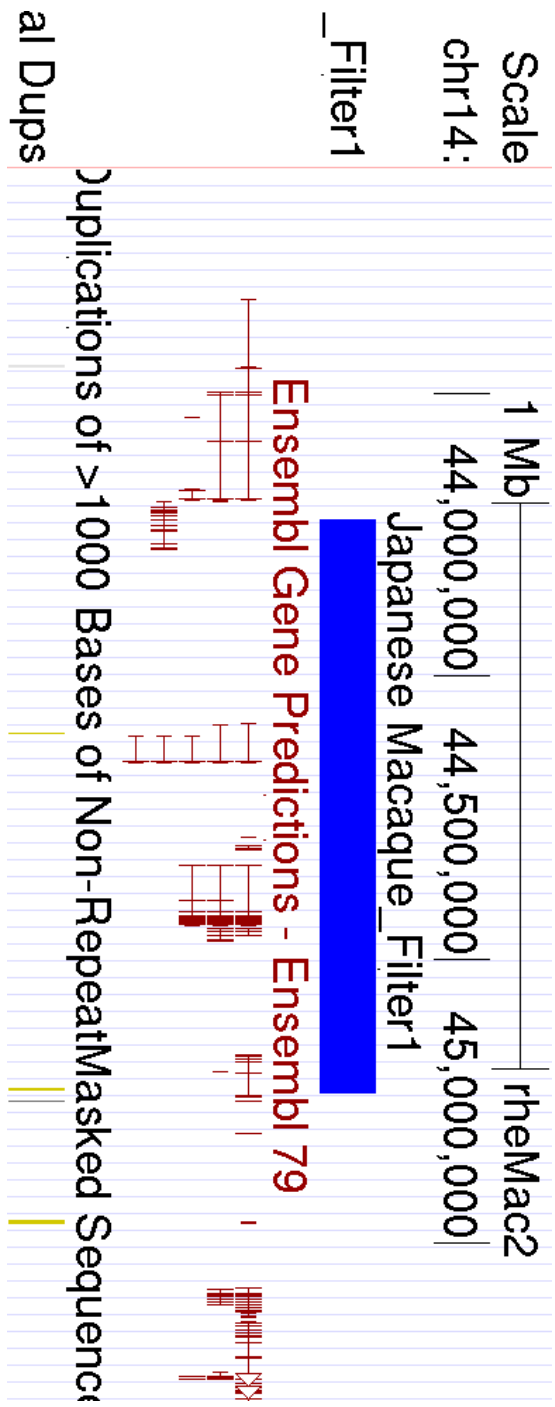


図3 *BDNF*を含む14番染色体の重複
chr14:43720938-44737703 (1.0Mb)
KIF18A, BDNF, LIN7C, LGR4, CCDC34, BBOX1

さらに、ニホンザル1頭において10番染色体のADORA2A遺伝子(adenosine A2a receptor)を含む領域に590kbの重複を同定した。ヒトの相同領域22q11.23の重複は統合失調症やその他の神経発達症との関連が報告されている。本重複をもつ個体の観察を実施したが、明らかな行動異常は見出されなかった。

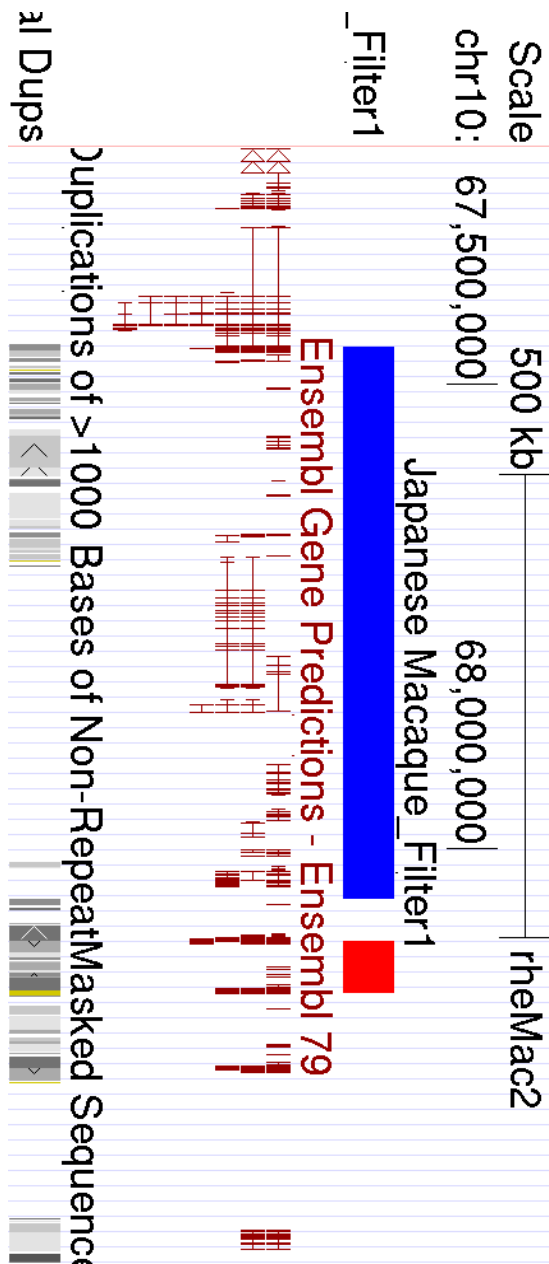


図4 ADORA2Aを含む領域の重複
chr10:67457220-68055412 (590kb)
BCR, LOC709740, SPECC1L, ADORA2A, UPB1,
C22orf13, SNRPD3, LOC708086, GGT1

以上、ニホンザルを対象とした大規模 CNV 解析を実施し、精神疾患との関連が示唆される複数の CNV を同定した。霊長類を対象に精神疾患に関連した CNV を探索した研究はこれまでほとんど報告がなく、今回得られた知見の新規性は高い。特にここで挙げた4つの CNV はグルタミン酸受容体 (GRM5)、神経栄養因子 (NGF, BDNF)、アデノシン受容体 (ADORA2A) を含み、各個体の表現型に影響を与える可能性が高い。今回は ADORA2A 重複をもつ個体について行動観察のみ実施し、特記すべき異常は見いだせなかったが、本重複は精神疾患や神経発達症との関連が報告されている。詳細な表現型解析から何らかの知見が得られる可能性がある。今後さらにオープンフィールドテストや社会相互作用の評価、認知機能テスト、脳画像検査を実施し、精神疾患モデルとしての妥当性を検証する必要があると考えられた。

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6件)

Kimura H, Tsuboi D, Wang C, Kushima I, Koide T, Ikeda M, Iwayama Y, Toyota T, Yamamoto N, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Banno M, Xing J, Takasaki Y, Yoshida M, Aleksic B, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Inada T, Suzuki M, Ujike H, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Iwata N, Kaibuchi K, Ozaki N: Identification of Rare, Single-Nucleotide Mutations in NDE1 and Their Contributions to Schizophrenia Susceptibility. Schizophr Bull 41(3):744-753, 2015 doi: 10.1093/schbul/sbu147. , 査読有り

Shishido E, Aleksic B, Ozaki N: Copy-number variation in the pathogenesis of autism spectrum disorder. Psychiatry Clin Neurosci 68 (2):85-95, 2014 doi: 10.1111/pcn.12128. , 査読有り

Wang C, Koide T, Kimura H, Kunimoto S, Yoshimi A, Nakamura Y, Kushima I, Banno M, Kawano N, Takasaki Y, Xing J, Noda Y, Mouri A, Aleksic B, Ikeda M, Okada T, Iidaka T, Inada T, Iwata N, Ozaki N: Novel rare variants in F-box protein 45 (FBX045) in schizophrenia. Schizophr Res 157 (1-3):149-56, 2014 doi: 10.1016/j.schres.2014.04.032. , 査読有り

Xing J, Wang C, Kimura H, Takasaki Y, Kunimoto S, Yoshimi A, Nakamura Y, Koide T, Banno M, Kushima I, Uno Y, Okada T, Aleksic B, Ikeda M, Iwata N, Ozaki N: Resequencing and Association Analysis of PTPRA, a Possible Susceptibility Gene for Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders. PLoS One 9 (11):e112531, 2014 doi: 10.1371/journal.pone.0112531. , 査読有り

Aleksic B, Kushima I, Hashimoto R, Ohi K, Ikeda M, Yoshimi A, Nakamura Y, Ito Y, Okochi T, Fukuo Y, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Ujike H, Suzuki M, Inada T, Takeda M, Kaibuchi K, Iwata N, Ozaki N: Analysis of the VAV3 as Candidate Gene for Schizophrenia: Evidences From Voxel-Based Morphometry and Mutation Screening. Schizophr Bull 39 (3):720-8, 2013 doi: 10.1093/schbul/sbs038. , 査読有り

Aleksic B, Kushima I, Ohye T, Ikeda M, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Koide T, Iritani S, Kurahashi H, Iwata N, Ozaki N: Definition and refinement of the 7q36.3 duplication region associated with schizophrenia. Sci Rep 3 2587, 2013 doi: 10.1038/srep02587. , 査読有り

〔学会発表〕(計4件)

尾崎紀夫: 遺伝カウンセリングからゲノム解析による病態解明へ, in 第10回日本統合失調症学会 シンポジウム 2: 統合失調症の歴史と未来への展望. 都市センターホテル (東京都千代田区), 2015.3.27

尾崎紀夫: シンポジウム: 稀な遺伝子変異の同定から精神疾患の克服へ, in 日本臨床精神神経薬理学会・神経精神薬理学会合同年会. 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市), 2014.11.20

尾崎紀夫: 病態に基づく精神医学診断体系, in 第37回日本神経科学大会 基礎脳科学者のための精神疾患臨床ABC教育コース. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 2014.9.11

尾崎紀夫: 特別講演: 自閉症スペクトラム障害のゲノム解析研究-診断上の課題

を踏まえて, in 第37回日本小児遺伝学会学術集会. 名古屋市立大学桜山キャンパス(愛知県名古屋市), 2014.4.10

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾崎 紀夫 (OZAKI, Norio)
名古屋大学・医学(系)研究科・教授
研究者番号: 40281480

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

今井 啓雄 (IMAI, Hiroo)
京都大学・霊長類研究所・准教授
研究者番号: 60314176