

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461725

研究課題名(和文) 多発家系・一卵性双生児不一致例の解析による精神疾患・発達障害の新規候補遺伝子同定

研究課題名(英文) Search for the candidate genes for mental and developmental disorders by analyzing family and discordant twin samples

研究代表者

栃木 衛 (Tochigi, Mamoru)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：40456116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症、双極性障害、パニック障害などを含む精神疾患、および自閉症、トゥレット障害などを含む発達障害などの精神科領域の疾患について、多発家系、孤発例家系や一卵性双生児不一致例についてDNAサンプルの蓄積を図った。また、これらのサンプルについて、次世代シーケンサーを利用したエクソーム解析や、マイクロアレイを利用した解析を行うことにより、統合失調症およびトゥレット障害の有力な候補遺伝子の同定に至った。

研究成果の概要(英文)：We collected the DNA samples of the family, sporadic, and discordant twin patients of mental and developmental disorders, including schizophrenia, bipolar disorder, panic disorder, autism, and Tourette disorder. Through analyzing exome sequencing by using next-generation sequencer and microarray, the several candidate genes were collected for schizophrenia and Tourette disorder.

研究分野：精神科遺伝学

キーワード：精神疾患 発達障害 候補遺伝子 多発家系 一卵性双生児

1. 研究開始当初の背景

精神科領域の疾患、すなわち統合失調症、双極性障害、パニック障害などを含む精神疾患、および自閉症、トゥレット障害などを含む発達障害については、遺伝要因の関与という観察事実から、遺伝学的研究が病態解明の切り口となることが期待され、多くの研究が行われてきた。特に近年、分子遺伝学的な技術が急速に進歩するようになってからは、本領域における研究もめざましい進展を見せており、報告者らも統合失調症や自閉症の国内コンソーシアムへの参加による DNA サンプルの拡充に寄与するとともに、一塩基多型 (SNP)、コピー数多型 (CNV)、DNA メチル化などを解析の手がかりとした研究にも携わって多数の成果をあげてきた。しかし、染色体異常に伴って発症する場合や一部の症候群を除けば、現在のところはっきりした原因遺伝子の同定にまでは至っていない。その理由の1つは、これまでの研究の多くが、一般集団中にも存在する比較的頻度の高い遺伝子多型が疾患の発症に関与するという Common Variant-Common Disease (CVCD) 仮説に基づいて探索を進めていたことにあると考えられる。実際、近年発表された白人集団を対象とする統合失調症のゲノムワイド関連研究は 25,000 名の患者群と同数の健常対照群を用いたものであるが、有意な関連を示した多型であってもオッズ比は 1 に近いものばかりという結果であった (Ripke, 20th World Congress on Psychiatric Genetics)。つまり、寄与度が極めて高く、その変異のみで疾患の発症に至るような common variant の存在については否定的な知見が出揃いつつあり、今後、精神科領域において CVCD 仮説に基づいた遺伝研究を進めても大きなブレイクスルーにつながる可能性は低い状況にあると思われる。

一方で、近年利用可能となった次世代シーケンサーを活用することにより、主に自閉症やトゥレット障害を対象として新たな候補遺伝子を同定する例が報告されている (O'Roak et al., 2009; Sundaram et al., 2011; Yu et al., 2013)。これらの成果は、頻度は稀ではあるが疾患発症への寄与度の高い変異の存在を想定する Multiple Rare Variant-Common Disease (MRVCD) 仮説に基づくものであり、対象となった特定の罹患者については成因の大部分を説明できる可能性がある。つまり、特定の疾患について罹患者に共通の原因を探るといった発想から、遺伝要因の強い特定の家系や孤発例に絞った解析に切り替えることにより、一部の罹患者であっても寄与度の高い遺伝要因を明らかにできる可能性が高まっている。実際に、報告者らは 4 世代にわたり自閉症性障害を発症している家系を対象としたエクソーム解析を行い、疾患と完全に共分離している複数の候補遺伝子を見出している (60th American Society of Human Genetics など) で発表)。今

後、多くの多発家系を同様の手法で解析することにより、異なる候補遺伝子の知見が蓄積され、各疾患に固有の障害経路が徐々に明らかとなる可能性もある。

また、極めて特殊な家系の例として、一卵性双生児不一致例が挙げられる。一卵性双生児においては理論上、ゲノム上の塩基配列は同一と考えられるため、CNV や DNA メチル化など、塩基配列によらないゲノム上の変異が疾患発症に寄与していると考えられる。これまで、一卵性双生児不一致例を用いた解析は、精神科領域においては、申請者の知る限り芽球化細胞において遺伝子発現の差を見出すことから候補遺伝子の特定に至った研究 (Kakiuchi et al., 2003) しかなく、近年利用可能となったマイクロアレイや次世代シーケンサーを活用すれば不一致例の解析から新たな候補遺伝子が見出される可能性も大きい。

本研究計画では、このような状況を背景として、精神疾患および発達障害について多発家系や一卵性双生児不一致例を見出し、MRVCD 仮説に基づいた分子遺伝学的解析を行って、新たな疾患解明の手がかりを得ることを目的とした。報告者らは、これまでに統合失調症や自閉症性障害を中心に、複数の多発家系、孤発家系、一卵性双生児不一致例の DNA サンプルを得ており、研究期間内にさらなるサンプルの充実に努めるとともに、これらを解析することによって新たな候補遺伝子の同定を目指すこととした。

2. 研究の目的

精神科領域の疾患について、多発家系、孤発例の家系、一卵性双生児不一致例について DNA サンプルの蓄積を図った。疾患としては、多発家系については統合失調症と自閉症性障害、孤発例についてはトゥレット障害、一卵性双生児不一致例については統合失調症を中心として収集することを目指したが、疾患の種類に関わらず研究計画の目的に沿う症例であれば対象とした。多発家系および孤発例家系については、エクソーム解析により候補遺伝子を同定することを目標とした。一卵性双生児不一致例については、CNV 解析および DNA メチル化解析をゲノムワイドに行うことにより候補遺伝子を同定することを目標とした。

3. 研究の方法

帝京大学医学部附属病院、東京大学医学部附属病院、および関連病院の通院患者を中心に、その家族にも協力を求め、血液の提供を受けることにより、多発家系、孤発例の家系、一卵性双生児不一致例について DNA サンプルの蓄積を図った。多発家系・孤発例の家系であれば次世代シーケンサーを利用したエクソーム解析を行い、一卵性双生児不一致例であればマイクロアレイを利用した CNV 解析・DNA メチル化解析を中心に行うことによ

り、各家系で原因となっている遺伝子変異の同定を試みた。候補となる変異が同定されれば、多数例の患者・健常対照群サンプルで確認を行うとともに、各種アッセイ系や遺伝子導入などの技術を応用し、変異によってもたらされる機能異常についての解析を進めるものとした。

4. 研究成果

(1)研究期間を通して、帝京大学医学部附属病院、東京大学医学部附属病院、および関連病院の通院患者を中心に、その家族にも協力を求め、血液試料の帝京を受けることにより、多発家系、孤発例の家系、一卵性双生児不一致例について DNA サンプルの蓄積を図った。(2)統合失調症の一卵性双生児不一致例について行った、リンパ芽球を用いたマイクロアレイによる DNA 発現解析の結果からは、有力な候補遺伝子が同定された。当該遺伝子についての多数例を用いた関連の確認や、機能異常の解析については今後の課題とした。一方、DNA メチル化解析の結果では、2 組の一卵性双生児不一致例についてペア内で有意差を認めるマイクロアレイ上のプローブは存在せず、有力な候補遺伝子の同定にまでは至らなかった。

(3)トゥレット障害のエクソーム解析については、複数の孤発例を対象とした結果から複数の候補遺伝子群を同定したため、これを Eriguchi et al. (in press)としてまとめて発表した。また、孤発例に限定せずに多数例の患者群をエクソーム解析し、健常データと比較することによっても、候補遺伝子を同定することができた。これについては、サンプルを追加した上で変異の存在および意義についての確認を行った。さらに、これらに関連してトゥレット障害の有力候補遺伝子である *SLITRK1* についての日本人集団における関連の有無を追試し、報告した (Inai et al., 2015)。

(4)パニック障害患者サンプルの DNA メチル化について、マイクロアレイを用いてゲノムワイドに解析した結果を Shimada-Sugimoto et al. (2017)にまとめた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Eriguchi Y, Kuwabara H, Inai A, Kawakubo Y, Nishimura F, Kakiuchi C, Tochigi M, Ohashi J, Aoki N, Kato K, Ishiura H, Mitsui J, Tsuji S, Doi K, Yoshimura J, Morishita S, Shimada T, Furukawa M, Umekage T, Sasaki T, Kasai K, Kano Y, Identification of candidate genes involved in the etiology of sporadic Tourette syndrome by exome sequencing. Am J Med Genet Part B in press.

Shimada-Sugimoto M, Otowa T, Miyagawa T, Umekage T, Kawamura Y, Bundo M, Iwamoto K, Tochigi M, Kasai K, Kaiya H, Tani H, Okazaki Y, Tokunaga K, Sasaki T. Epigenome-wide association study of DNA methylation in panic disorder. Clin Epigenetics 9:6, 2017.

Inai A, Tochigi M, Kuwabara H, Nishimura F, Kato K, Eriguchi Y, Shimada T, Furukawa M, Kawamura Y, Sasaki T, Kakiuchi C, Kasai K, Kano Y. Analysis of *SLITRK1* in Japanese patients with Tourette syndrome using a next generation sequencer. Psychiatr Genet 25: 256-258, 2015.

〔学会発表〕(計 4 件)

Shimada-Sugimoto M, Otowa T, Miyagawa T, Tochigi M, Sugaya N, Kawamura Y, Umekage T, Kaiya H, Kasai K, Tani H, Okazaki Y, Tokunaga K, Sasaki T. Epigenome-wide association study of DNA methylation in panic disorder. American Society of Human Genetics 66th Annual Meeting, Oct 18th-22nd, 2016, Vancouver

Yoshikawa A, Nishimura F, Tochigi M, Kawamura Y, Umekage T, Kato K, Sasaki T, Ohashi Y, Iwamoto K, Kasai K, Kakiuchi C. Evaluating detected rare variants of glycine cleavage system genes in schizophrenia with metabolomics profilings. XXII World Congress on Psychiatric Genetics, Oct 12nd-16th, 2014, Copenhagen

Inai A, Kuwabara H, Nishimura F, Kato K, Yousuke E, Shimada T, Furukawa M, Sasaki T, Tochigi M, Kakiuchi C, Kasai K, Kano Y. Targeted re-sequencing of *SLITRK1* in Japanese patients with Tourette syndrome using next-generation sequencing. XXII World Congress on Psychiatric Genetics, Oct 12nd-16th, 2014, Copenhagen

吉川茜、西村文親、稲井彩、西岡将基、江里口洋介、高屋淳彦、栃木衛、河村代志也、梅景正、加藤佳代子、佐々木司、笠井清登、垣内千尋。統合失調症病態における NMDA 受容体スイッチング制御因子の遺伝学的検討。第 36 回日本生物学的精神医学会年会、2014 年 9 月 29 日 - 10 月 1 日、奈良

〔図書〕(計 1 件)

栃木衛・パニック症・広場恐怖症・下山
晴彦、中嶋義文(編)公認心理師必修 精
神医療・臨床心理の知識と技法、医学書
院、東京、2016、pp72-74.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栃木 衛 (TOCHIGI, Mamoru)
帝京大学・医学部・准教授
研究者番号：40456116

(2) 研究分担者

桑原 斉 (KUWABARA, Hitoshi)
東京大学・バリアフリー支援室・准教授
研究者番号：50456117

垣内 千尋 (KAKIUCHI, Chihiro)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：90342766

(3) 研究協力者

佐々木 司 (SASAKI, Tsukasa)
池淵 恵美 (IKEBUCHI, Emi)
赤羽 晃寿 (AKAHANE, Akihisa)