

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2014

課題番号：26893108

研究課題名(和文) 希なゲノムコピー数変異に着目した統合失調症の分子病態研究

研究課題名(英文) Analysis of rare copy number variations in schizophrenia

研究代表者

久島 周 (Kushima, Itaru)

名古屋大学・高等研究院(医)・特任助教

研究者番号：00732645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,100,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症の発症に希なゲノムコピー数変異(CNV)が関与することが知られている。4つの病的意義の明確なCNV(1q21.1欠失、3q29欠失、16p13.11重複、22q11.21欠失)について、患者の表現型を後方視的に検討し、神経発達症や先天性疾患を高い率で認めた。家系解析からは3q29欠失、22q11.21欠失が de novo 変異であることを確認し、その病的意義を明確化した。患者・健常者のCNVデータから、統合失調症の病態にシナプス機能障害が存在することを確認した。

研究成果の概要(英文)：Rare copy number variations (CNVs) are known to be involved in risk for schizophrenia (SCZ). Phenotypes of patients with 4 SCZ-associated CNVs were examined in detail, and high rate of comorbidity of neurodevelopmental disorders and/or congenital diseases was observed. In trio analysis, deletions at 3q29 and 22q11.21 were found to be de novo, providing additional evidence for their clinical significance. In bioinformatics analysis of CNV data, synaptic dysfunction was identified as an underlying mechanism for SCZ.

研究分野：精神医学

キーワード：CNV 統合失調症

1. 研究開始当初の背景

多数の疫学研究から、統合失調症の発症に遺伝的要因が強く関与することが知られている。近年のゲノム解析技術の進歩を背景に、発症に強い影響を与える頻度の低い稀な遺伝子変異が多数同定されつつある。その1つである、ゲノムコピー数変異 (copy number variation; CNV) は染色体上のゲノム DNA が通常 2 コピーのところ、1 コピー以下 (欠失)、あるいは 3 コピー以上 (重複) となる変異を指す。これまでの研究から 11 の稀な (<1%) 大規模 CNV が統合失調症のリスク変異として同定されている (1q21.1 欠失、*NRXN1* 欠失、3q29 欠失、15q11.2 欠失、15q13.3 欠失、22q11.21 欠失、1q21.1 重複、7q11.23 重複、15q11.2-q13.1 重複、16p11.2 重複、16p13.11 重複)。一方でこれら病的意義のある CNV を持った統合失調症患者の臨床的特徴については十分に明らかにされていない。また患者の CNV 解析から、病的意義が既に明確になっている CNV 以外にも多数の稀な CNV が同定されているが、患者で同定した CNV が全体としてどのような生物学的機能に影響を与えるかについても十分に明確にされていない。これらの点を明らかにすることは、ゲノム解析に基づいた補助診断検査法の確立、病因・病態の解明や創薬に役立つことが期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は下記の3つである。

(1) 統合失調症の発症リスクに強く関わる大規模 CNV について、患者の臨床的特徴を詳細に明らかにする。具体的には、家族歴、発達歴、発症年齢、精神症状、治療内容、治療反応性、身体合併症、検査所見 (脳画像所見を含む) 等について、レトロスペクティブに確認を行う。

(2) 患者の両親からゲノムの提供を受け、CNV 解析を行い、患者で同定した CNV が *de novo* 変異 (親から受け継いだ変異ではなく、ある個体において新しく発生した変異) か否かを確認する。*De novo* 変異であることが確認できれば、その変異が統合失調症の発症に関与することを強く支持する証左となる。

(3) 患者・健常者の CNV データをもとに *in silico* 解析を実施し、統合失調症で同定した CNV がどのような生物学的機能に影響を与えるかを、遺伝子ネットワーク障害の観点から検討する。

以上の検討から、ゲノム解析に基づく補助診断検査法の開発、病因・病態の解明に繋がる成果が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 統合失調症の発症への関与が明確になっている大規模 CNV として、1q21.1 欠失、

3q29 欠失、16p13.11 重複、22q11.21 欠失を持つ患者を同定した。患者の家族歴、発達歴、精神症状、治療反応性、検査所見 (脳画像所見を含む) の多面的な臨床データをレトロスペクティブに収集し、各 CNV と表現型の関係性を明確化した。

(2) 上述の大規模 CNV は発症への影響が強く、*de novo* 変異の率が比較的高いと報告されている。逆に *de novo* 変異であることを示すことができれば、その変異の病的意義を示す重要な証左となる。CNV を同定した患者の両親からもゲノムを得て、アレイ CGH (Roche NimbleGen Human CGH 3x720k Whole-Genome Tiling v3.0 Array) を用いて CNV 解析を行い、*de novo* か *inherited* の確認を行った。CNV のコーリングは、Nexus Copy Number software (BioDiscovery, Inc., El Segundo, CA) の Fast Adaptive States Segmentation Technique 2 (FASST2) segmentation algorithm を用いた。

(3) 統合失調症患者および健常者 CNV データから、本疾患の分子基盤にどのような遺伝子ネットワーク障害が関与するかバイオインフォマティクス的手法を用いて検討した。既報からシナプス機能障害の関与が示唆されていることに着目し、健常者 CNV に対して患者 CNV がシナプス関連遺伝子に有意に集積しているかを gene set enrichment 解析で検討した。なお、患者 CNV は健常者 CNV よりも総数が多く、サイズも大きいことから、gene set enrichment 解析ではその点を考慮した手法 (--cnv-enrichment-test, PLoS Genet. 2010 Sep 9;6(9):e1001097) を用いた。シナプス関連遺伝子セットは、シナプスのプロテオミクス解析のデータベース (G2C::Synapse Proteomics Datasets: <http://www.genes2cognition.org/>) から得た。Gene set enrichment 解析は PLINK (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/cnv.shtml>) を用いて実施した。

4. 研究成果

(1) 統合失調症の発症に強く関わる CNV について、患者の臨床表現型の確認をレトロスペクティブに実施した。対象の CNV は、1q21.1 欠失 (chr1:144400000-146400000)、3q29 欠失 (chr3:197200000-198800000)、16p13.11 重複 (chr16:153000000-162000000)、22q11.21 欠失 (chr22:171000000-201000000) とした (カッコ内は NCBI36 における CNV 領域の位置)。いずれの CNV も non-allelic homologous recombination (NAHR) の機序によって segmental duplication の領域に起こる反復性 CNV (recurrent CNV) である。発症に与える影響の強さは、オッズ比で各 8.4、57.7、2.3、> 30 と報告されている (Br J Psychiatry. 2014 Feb;204(2):108-14.)。以下、各 CNV の

臨床表現型について述べたうえで、同定した CNV を図示した。

1q21.1 欠失をもつ患者 4 名から臨床情報を得た。家族歴はいずれも認めず、軽度の知的能力障害が併存する患者 1 名を確認した。発症年齢は 16-41 歳で、主要な精神症状は被害妄想や幻覚であった。入院の治療歴は 3 名にあり、うち 1 名は計 45 年に及ぶ長期入院だった。確認できた範囲では、治療抵抗性を示す患者はいなかった。脳画像では 1 名の患者で前頭葉の軽度萎縮を認めた。

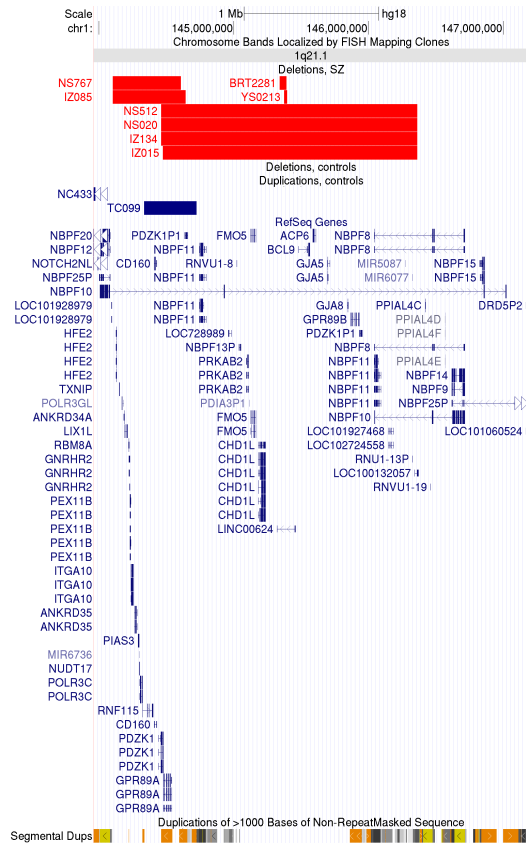


図 1 1q21.1 欠失

3q29 欠失をもつ患者 2 名から臨床情報を得た。患者 1 名でパーキンソン病と自殺の家族歴を認めた。家族歴を認めた患者の発達歴・既往歴では、低出生体重 (2000g) および動脈管開存症や斜視の合併を認めた。両患者の発症年齢は 20 歳、15 歳で、ともに被害妄想、幻聴が主要な精神症状として認められた。動脈管開存症をもつ患者は治療抵抗性の基準を満たし、調査時にクロルプロマジン換算 (CP 換算) で 1935mg/日の抗精神病薬の投薬を受けていたが、著明な陽性症状の改善は認められず現在に至っていた。脳画像所見では、患者 1 名で前頭葉の萎縮を認めた。

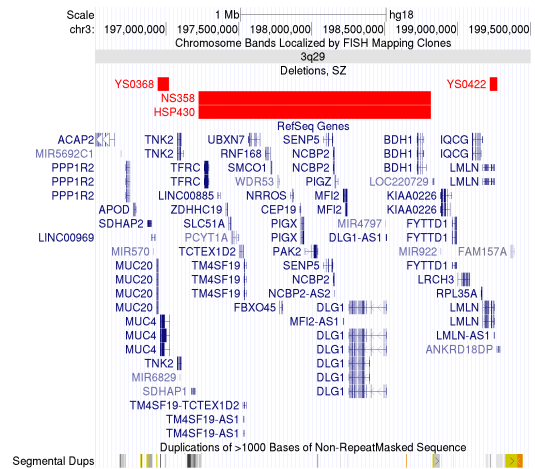


図 2 3q29 欠失

16p13.11 重複をもつ患者 1 名から臨床情報を得た。精神疾患の家族歴を認め、先天性股関節脱臼の既往もあったが、その他の発達上の問題は認めなかった。20 歳時に統合失調症を発症し、以後、治療抵抗性の幻覚、妄想が持続していた。CP 換算で 2000mg の抗精神病薬治療でも効果が乏しく、治療抵抗性の基準を満たすと判断された。



図 3 16p13.11 重複

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Miyata T, Itohawa M. Replication of enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2014 Jan;68(1):83-4. 査読有
doi: 10.1111/pcn.12081.

〔学会発表〕(計2件)

久島 周、統合失調症のゲノムコピー数変異(CNV)解析、第10回日本統合失調症学会、都市センターホテル(東京都千代田区)、2015.3.27

久島 周、統合失調症のゲノムコピー数変異(CNV)解析、第3回霊長類認知ゲノムクワークショップ、東京大学(東京都文京区)、2015.3.25

〔その他〕

ホームページ

http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6391/6404/seishinigaku_seishinseibutsugaku.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

久島 周 (KUSHIMA Itaru)

名古屋大学・高等研究院(医)・特任助教

研究者番号: 00732645

(2)研究分担者

なし