

168. シナプス機能障害に着目した統合失調症のゲノム解析

久島 周

名古屋大学 高等研究院 (医)

Key words : ゲノムコピー数変異, 統合失調症, シナプス

緒 言

統合失調症の病因・病態には不明の点が多いが、疫学研究からは遺伝要因の強い関与が示唆されている。近年のゲノム解析から発症に強い影響を与える頻度の稀なゲノム変異が多数同定され、シナプス機能障害の重要性が支持されている。本研究では、ゲノムコピー数変異 (CNV) の大規模解析を行い、*in silico* 解析、家系解析、表現型解析を実施し、統合失調症におけるシナプス機能障害の関与について検討を行った。

方 法

1,699 名の統合失調症患者と 824 名の健常者を対象に高解像度アレイ CGH (NimbleGen 720k Whole-Genome Tiling array) を用いてゲノムコピー数変異 (CNV) 解析を実施した。CNV calling は Nexus Copy Number software v7.5 (BioDiscovery) を用い、quality control を経て、稀な (<1%) CNV を得た。なお、本研究は名古屋大学医学部倫理審査委員会において承認を受けた。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理 (匿名化) などを徹底した。

1. CNV データの *in silico* 解析

CNV 解析で患者・健常者合わせて 7,066 個の稀な (<1%) CNV を得た。シナプス障害との関連を検討するため、CNV データに基づいて Gene set analysis を行い、患者 CNV が有意に集積するシナプス関連遺伝子セットを探索した。検討した 8 つの遺伝子セットは、既報の研究から選択し、postsynaptic density (PSD)、PSD/ARC、PSD/NMDAR、PSD/PSD-95、PSD/mGluR5、presynapse、presynapse/synaptic vesicle、presynapse/presynaptic active zone に局在する遺伝子群を含む。gene set analysis は患者・健常者間の CNV サイズと CNV 数の差を考慮し、logistic regression model に基づく方法で実施した。多重比較の補正は Holm 法を用いて行い、有意水準は 0.05 とした。

2. CNV の家系解析

患者及びその両親の CNV 解析を行い、*de novo* CNV の探索を行った。稀な CNV の中でも、*de novo* CNV は特に発症との関係が強く示唆されている。CNV 解析は上述と同じ方法で実施し、TaqMan copy number assay を用いた確認も実施した。

3. 臨床表現型の解析

シナプス関連遺伝子の欠失が同定された患者について、後方視的に臨床情報を収集し、表現型を詳しく解析した。具体的には、発症年齢、治療歴、精神症状などを含む。

結 果

1. Gene set analysis では 8 つのシナプス関連遺伝子セットの中で 7 つのセット (PSD、PSD/NMDAR、PSD/PSD-95、PSD/mGluR5、Presynapse、Presynapse/Synaptic vesicle、Presynapse/Presynaptic active zone) におい

て、患者 CNV の有意に高い集積を認めた (Holm-adjusted $P < 0.05$) (Table1)。最も強い関連は、PSD/mGluR5 で認めた (OR=3.63、Holm-adjusted $P = 0.015$)¹⁾。

2. 29 家系の解析から、11 個の de novo CNV を同定した。反復性 CNV として 22q11.2 欠失、3q29 欠失、16p11.2 重複、小規模 CNV として CACNA1H 欠失、MBD5 欠失を同定し、これら CNV が本疾患の発症に強く関与するとの知見を得た¹⁾。

3. シナプス関連遺伝子 DLG2 (discs large homolog 2) の欠失をもつ 3 名の統合失調症患者の表現型を Table2 にまとめた。DLG2 は PSD においてタンパク質複合体形成の足場として機能し、受容体やイオンチャネルなどの適切な配置に重要である。3 名とも主症状として妄想、幻聴を認め、治療歴では 1 名は入院歴なく、2 名は入院歴を認めた (8 年と 33 年)。調査時の抗精神病薬投与量 (クロルプロマジン換算値) は 100~684 mg/日だった。抗精神病薬に対する治療抵抗性を示した患者はいなかった¹⁾。

Table 1. Gene set analysis results

(a) Synapse-related gene sets	N genes	N genes hit by CNVs	OR (95% CI)	P_{emp}	Holm-adjusted P
PSD	685	134	1.39 (1.05, 1.84)	0.00038	0.0034
PSD/ARC	28	12	1.55 (0.77, 3.13)	0.062	0.12
PSD/NMDAR	61	15	2.62 (1.11, 6.18)	0.0029	0.015
PSD/PSD-95	65	25	1.96 (1.08, 3.54)	0.00072	0.005
PSD/mGluR5	39	6	3.63 (0.84, 15.74)	0.0038	0.015
Presynapse	431	91	1.37 (1.00, 1.88)	0.0011	0.0066
Presynapse/Synaptic vesicle	344	76	1.33 (0.95, 1.84)	0.0066	0.02
Presynapse/Pre-synaptic active zone	173	31	2.79 (1.25, 6.21)	0.00008	0.00088

All tests were one-sided assuming enrichment in cases using exonic CNVs. "N genes" and "N genes hit by CNVs" refer to the number of genes in the set and the number of unique genes that had at least one exonic CNV hit (≥ 1 bp overlap), respectively. OR indicates the increase in risk for schizophrenia correcting for rate and size of exonic CNVs. P_{emp} was calculated by 100,000 permutations.

Abbreviations: ARC, activity-regulated cytoskeleton-associated complex; CI, confidence interval; CNV, copy number variation; NMDAR, N-methyl-D-aspartate receptor; OR, odds ratio; PSD, postsynaptic density

Table 2. Phenotype data for patients with DLG2 deletion

		Patient1	Patient2	Patient3
Diagnosis		Schizophrenia	Schizophrenia	Schizophrenia
Age/sex		37/M	54/F	58/F
Education (years)		12 y	12 y	9 y
Age at Onset (years old)		35 yo	31 yo	15 yo
Core symptoms		Persecutory delusions, auditory hallucinations, negative symptoms	Delusions, auditory hallucinations, mood swing, aggressive outbursts	Delusions, hallucinations, social withdrawal
Hospitalizations: number and duration (year)		0, 0	11, 8 y	5, 33 y
Treatment	Antipsychotics (chlorpromazine equivalent)	100 mg/day	684 mg/day	400 mg/day
	Treatment resistance	None	None	None
Brain imaging/laboratory tests				CT: frontal atrophy, lateral ventricular enlargement

<< DLG2 欠失をもつ 3 名の統合失調症患者の臨床表現型 >>

Abbreviations: SCZ, schizophrenia

考 察

統合失調症の病態にシナプス機能障害が関与することが既報の研究から示唆されており、本研究の CNV 解析からも支持する結果を得た。CNV データの gene set analysis からは、シナプスで機能する遺伝子群が統合失調症の発症に関与することが示唆された。最近報告されたエキソーム解析でも稀な一塩基変異のシナプス関連遺伝子群への集積が報告されている。患者で同定した *De novo* CNV にもシナプス機能に重要な働きを持つ遺伝子が含まれ (22q11.2 欠失: *COMT*, 3q29 欠失: *DLG1* など)、シナプス関連遺伝子の病因への関与をさらに裏付けた。統合失調症の既報の CNV 解析では、患者の臨床表現型について報告されることは少なかった。本研究ではシナプス関連遺伝子 *DLG2* 欠失をもつ患者 3 名について検討したが、一般の統合失調症患者と臨床表現型の点で大きな相違はなかった。本研究は少数例の後方視的な評価であり、前向きで大規模な検討によって *DLG2* 欠失の臨床的特徴が見出される可能性がある。

共同研究者

本研究の共同研究者は、名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野の尾崎紀夫先生とアレクシッチ・ブランコ先生である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing J, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M,

Cheng MC, Chunag YA, Chen CH, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Yamamoto T, Iwata N, Ozaki N. High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Molecular Psychiatry*. 2016 May 31. doi:10.1038/mp.2016.88. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27240532.