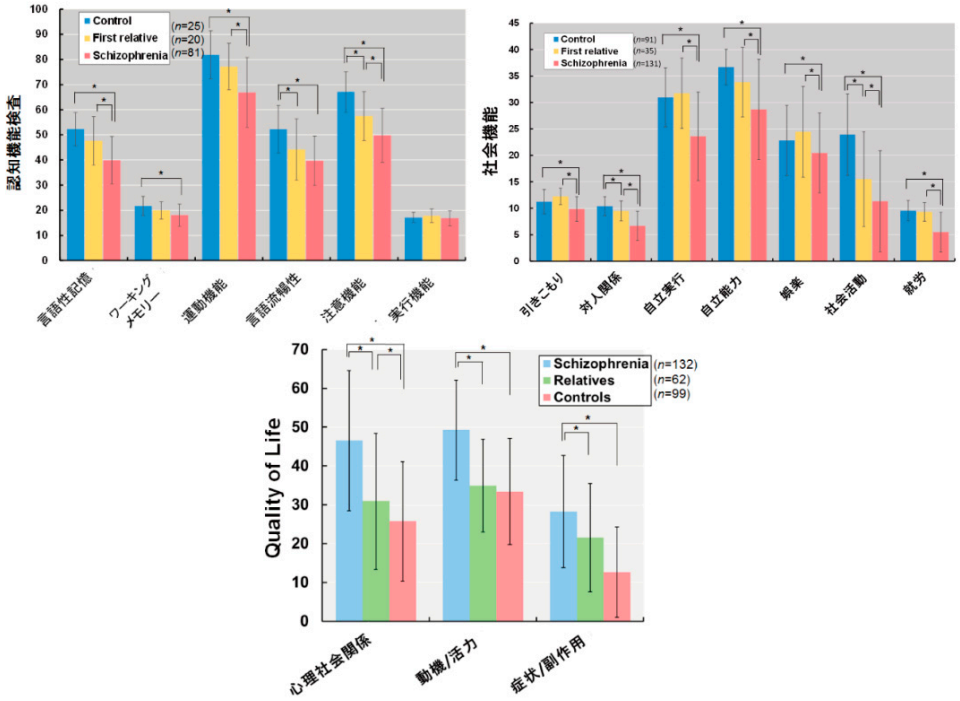
167　統合失調症非罹患近親者における包括的中間表現型解析	大井　一高

【目的】統合失調症は、遺伝率 80%の多因子遺伝疾患である。同胞を含むその非罹患第 1 度近親者は、患者の半分の遺伝的リスクを有する。非罹患近親者は、罹患期間、重症度および服薬の影響を受けず統合失調症にて障害される認知機能、脳構造、神経生理機能などの中間表現型との関連の検討に有用である。しかし、サンプル収集が難しく世界的にも非罹患近親者を対象とした中間表現型研究は少ない。本研究では、統合失調症の非罹患近親者における包括的中間表現型解析を行い統合失調症の分子遺伝学的基盤の解明を試みた。

【方法】認知機能、社会機能、Quality of Life（QoL）などを用いて、統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者および健常者間で包括的中間表現型解析を行った。3 群間における候補中間表現型の比較は analysis of covariance（ANCOVA）にて解析した。候補中間表現型を従属変数、診断を独立変数とした。さらに、Fisher's Least Significant Difference にて *post hoc* 解析を行った（図、**post hoc* $p < 0.05$）。

【結果】認知機能では言語流暢性と注意機能、社会機能では対人関係と社会活動、QoL では心理社会関係において統合失調症と健常者間の差異だけでなく、非罹患第 1 度近親者はその中間の障害であることを見出した（図）。これらは 3 群間で差異を認め、有用な中間表現型であることが示唆された。さらに、診断情報に関係なく認知機能結果のみを用いて対象者を 3 群の認知機能 Cluster：（ｉ）認知機能正常群（Cluster 1）、（ii）中等度認知機能障害群（Cluster 2）、（iii）重度認知機能障害群（Cluster 3）に分類した。認知機能が正常域である Cluster 1 は主に健常者と非罹患者から形成され、認知機能障害が重度である Cluster 3 は患者と非罹患者から形成された。認知機能障害が中等度の Cluster 2 は各群から形成された。さらに、認知機能と脳構造画像を用いて、前帯状回体積における診断効果および認知機能 Cluster 効果を同定した。以上より統合失調症患者、非罹患近親者、健常者はスペクトラムと知られているが認知機能障害もスペクトラムであり、認知機能は特に前部帯状回と関連していることが示唆された。

統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者および健常者における認知機能、社会機能、QoL の差異



167. 統合失調症非罹患近親者における包括的中間表現型解析

大井　一高

金沢医科大学 医学部 精神神経科学講座

Key words：統合失調症，非罹患第 1 度近親者，中間表現型，ゲノム研究

緒　言

統合失調症は、幻覚・妄想などの陽性症状、意欲低下・感情鈍麻などの陰性症状、認知機能障害などを認め、社会機能の低下を生じる精神障害である。統合失調症は、人口の約 1%が罹患し、80%の高い遺伝率を示す多因子遺伝疾患であり、病態には多数の遺伝子が関わっている。これまでに統合失調症の大規模な全ゲノム関連解析研究（GWAS）により、*ZNF804A*、*NRGN*、*CNNM2*、*AS3MT*、*CACNA1C* などの遺伝子や *mir137*、MHC 領域など 108 個のゲノム座位内の 128 個の独立した遺伝子多型と統合失調症との関連が報告されている［1］。しかし、ほとんどの遺伝子多型の機能は解明されておらず、また、これら遺伝子多型のみで疾患の遺伝基盤を説明するには未だ十分ではない。

そこで、統合失調症と同様に多因子遺伝の遺伝様式を示す脳構造や知的機能（IQ）などを中間表現型として用いてゲノム研究が行われるようになってきている。中間表現型とは、疾患と遺伝子との関連を仲介する表現型であり、疾患と遺伝子間の関連の強さと比べ遺伝子との関連がより強固であると考えられている。中間表現型は、以下の 6 つの条件を満たすものである。①遺伝性がある、②量的に測定可能である、③精神障害の弧発例において精神障害や症状と関連する、④長期にわたり安定している、⑤精神障害の家系内で精神障害を持たないものにおいても発現が認められる、⑥精神障害の家系内では、精神障害を持つものでは持たないものより関連が強い［2, 3］。統合失調症の中間表現型として、言語性記憶、注意・集中力、遅延再生記憶、言語流暢性、実行機能、IQ などの認知機能、脳構造画像、拡散テンソル画像、resting state 機能的 MRI などの脳 MRI 画像、プレパルス抑制テスト（PPI）、事象関連電位、近赤外分光分析法（NIRS）を用いて測定した脳賦活化などの神経生理機能、NEO、TCI、SPQ などのパーソナリティー傾向が挙げられる。しかし、①、②、③の条件に関しては比較的よく検討されているが、④、⑤、⑥に関しては十分な検討がなされていない。その原因として、④に関しては検討に期間を要すること、⑤と⑥に関してはサンプル収集の難しさが挙げられる。

近年、統合失調症の中間表現型として脳構造や IQ を用いたゲノム研究は多くなされるようになってきたが、その他の中間表現型と言われる表現型に関しては、長期安定性や非罹患近親者における障害についての検討がいまだ十分とは言えないまま、ゲノム研究に用いられているのが現状である。統合失調症の分子遺伝基盤を解明するために、このような検討不十分な表現型を中間表現型として遺伝子研究に用いることは、統合失調症のゲノム研究を複雑化してしまう懸念がある。発端者の半分の遺伝的リスクを有する非罹患近親者（特に同胞）は、患者と年齢が近く年齢を患者群と合わせることができ、中間表現型に対する加齢による影響を最小限にして評価できるメリットがある。また、非罹患近親者は、罹患期間、障害重症度および服薬の影響を受けないことから、中間表現型との関連の検討に有用である。

本研究では、統合失調症患者と健常者のみではなく、統合失調症の非罹患第 1 度近親者も対象とした認知機能、脳構造、社会機能、QoL などの包括的中間表現型解析を行い、有望な中間表現型を同定することを目的とした［4］。

方 法

1. 対象

金沢医科大学病院およびその関連病院の入院・外来より統合失調症患者およびその非罹患第 1 度近親者をリクルートした。統合失調症患者の診断は *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* 第 5 版（DSM-5）を用いて行った。非罹患第 1 度近親者は、これまでに精神科受診歴あるいは向精神薬服用歴のない者を対象とした。健常者は大学病院スタッフおよび公募にてリクルートを行った。健常者はこれまでに精神神経科受診歴あるいは向精神薬服用歴が無いという条件に加えて、第 2 親等内に精神神経科受診歴および向精神薬服用歴のない者を対象とした。さらに、各対象群において中枢神経系に影響を及ぼす可能性のある交絡因子（脳外傷、内分泌疾患、代謝疾患、膠原病、癌、心疾患など）を有する者を可能な限り厳格に除外して、サンプルの質を確保した。その結果、認知機能においては統合失調症患者 81 例、非罹患近親者 20 例、健常者 25 例［4］、社会機能においては統合失調症患者 131 例、非罹患近親者 35 例、健常者 91 例（In preparation）、QoL においては統合失調症患者 132 例、非罹患近親者 62 例、健常者 99 例（In submission）を対象とした。

2. 候補中間表現型の評価

認知機能検査として、Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia（BACS）を用いて統合失調症患者で障害される言語性記憶、ワーキングメモリー、運動機能、注意機能、語流暢性および遂行機能の 6 項目を、社会機能検査として、Social Functioning Scale（SFS）を用いてひきこもり、対人関係、自立実行、自立能力、娯楽、社会参加、就労の 7 項目を、QoL として、Schizophrenia Quality Of Life Scale（SQLS）を用いて心理社会関係、動機/活力、症状/副作用の 3 項目を評価した。BACS と SFS 各項目は高得点が高い認知機能および社会機能を意味するのに対して、SQLS は高得点が QoL の低下を示している。BACS 6 項目は年齢、性別を補正した値を用いて評価した。

3. 頭部 magnetic resonance imaging（MRI）撮像

BACS を施行した統合失調症患者 76 例、非罹患近親者 17 例、健常者 24 例に対して Siemens 3T Magnetom Trio, a Tim System（Siemens、Erlangen、Germany）を用いて頭部 MRI T1 画像（MP-RAGE TS = 1420 ms、inversion time = 800 ms、echo time = 2.08 ms、flip angle = 9°、resolution = 1 × 1 × 1 mm^3、matrix size = 256 × 256）を撮像した。MRI 画像は Statistical Parametric Mapping 8 program（SPM8）の voxel-based morphometry（VBM）8 toolbox を用いて処理した［5〜7］。

4. 統計解析

3 群間における候補中間表現型の比較は analysis of variance（ANOVA）あるいは analysis of covariance（ANCOVA）にて解析した。候補中間表現型を従属変数、診断を独立変数、SFS と SQLS においては年齢、性別を共変量とした。さらに、Fisher's Least Significant Difference（LSD）にて *post hoc* 解析を行った。認知機能に関しては、*k*-means 法（$n = 3$）を用いて、3 つの診断群に関係なく BASC 6 項目の点数より対象者を 3 群に clustering した。

頭部 MRI 画像は、脳灰白質体積における診断効果（1, 健常者; 2, 近親者; 3, 患者）および認知機能 clustering 効果（1, cluster 1; 2, cluster 2; 3, cluster 3）を SPM8 の重回帰分析を用いて評価した。年齢、性別は共変量として処理した。voxel-level の閾値 $P_{uncorrected} < 0.001$ にて効果を探索した後、多重比較補正のために cluster level の閾値 family-wise error（*FWE*）-$_{corrected}$ $P < 0.05$ を本研究の有意水準とした。

結果および考察

1. 統合失調症における有望な中間表現型の同定

BACS 6 項目では実行機能を除く 5 項目において統合失調症患者と健常者間の差異を認めた（$p < 0.05$, 図 1）。SFS および QoL では全ての項目で患者健常者間の差異を認めた（$p < 0.05$）。統合失調症患者は健常者と比較して、認知機能、社会機能、QoL の低下を示した。さらに、BACS では注意機能と言語流暢性、SFS では対人関係と社会活動、SQLS では心理社会関係において非罹患第 1 度近親者と健常者間の差異を認めた（$p < 0.05$）。これらは統合失調症における有望な中間表現型である可能性が示唆された。

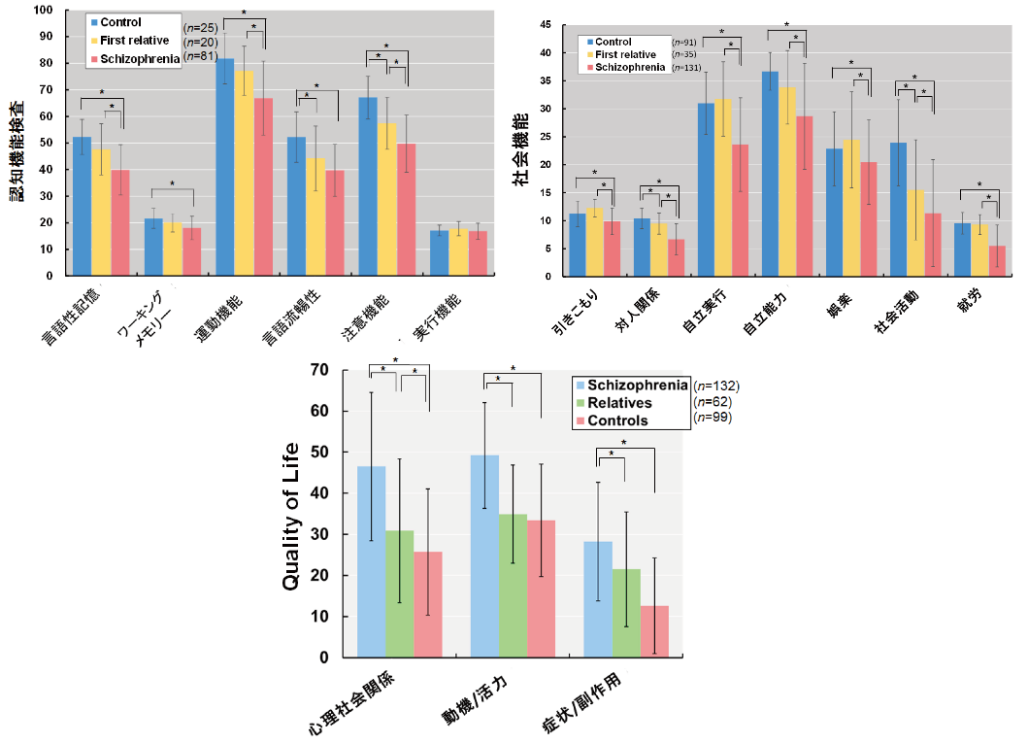


図 1　統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者および健常者における認知機能、社会機能、QoL の差異
* *post hoc* $p < 0.05$。

2. BACS6 項目に基づく認知機能 Clustering

統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者および健常者という診断に関わらず、BACS を用いて対象者を 3 群に clustering することで、認知機能障害の程度により（ｉ）認知機能正常群（cluster 1）、（ii）中等度認知機能障害群（cluster 2）、（iii）重度認知機能障害群（cluster 3）に分類した（図 2）。認知機能 Cluster（1～3）間で有意な認知機能の差異を認めた（$p < 0.05$）。それぞれの認知機能 cluster 群は、主に統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者、健常者という診断の影響を受けていた。すなわち、（ｉ）には健常者、（ii）には健常者と非罹患第 1 度近親者、（iii）は統合失調症が多く含まれていた。一方で、統合失調症患者の中にも（ｉ）が 10%、（ii）が 40%含まれることは、統合失調症患者群の中にも認知機能障害を認めない一群の存在を示唆しており、統合失調症における認知機能障害が均質な障害でないことを示唆している。

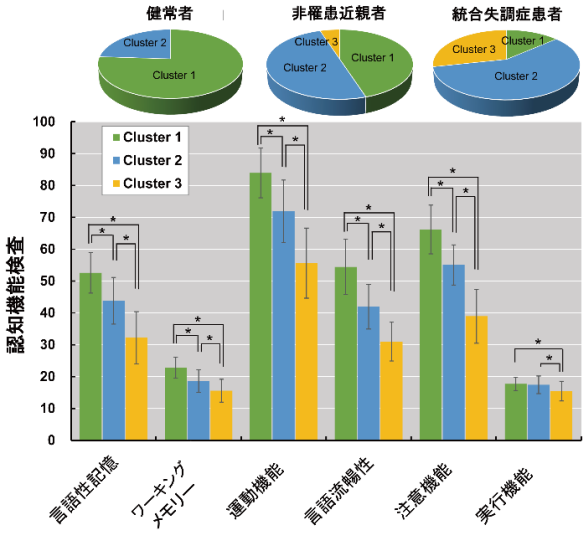


図 2　BACS 6 項目に基づく認知機能 clustering における認知機能の差異

円グラフは各診断群における Cluster 1-3 の割合を示す。 * *post hoc* $p < 0.05$。

3. 認知機能 clustering が脳構造に及ぼす影響

さらに、認知機能 clustering の臨床的重要性を検討するために、統合失調症患者、非罹患第 1 度近親者、健常者といった診断や認知機能 clustering が脳構造に及ぼす影響を VBM を用いて検討した。図 3 に示すように、これまでの報告同様［8〜10］、前頭・側頭葉や前部帯状回体積が統合失調症患者 > 非罹患第 1 度近親者 > 健常者の順に減少していることを見出した（診断効果; 図 3、winter color map）。同様に、認知機能 clustering が前頭・側頭葉や前部帯状回といった診断効果を認めた領域と同部位の体積減少と関連することを見出した（認知機能 clustering 効果; 図 3、hot color map）。前頭・側頭葉や前部帯状回体積が Cluster 3 > Cluster 2 > Cluster 1 の順に減少していた。前部帯状回体積（$x, y, z = 1.5, 40.5, 19.5$）における診断効果（図 4A; $T = 5.19$）および認知機能 Clustering 効果（図 4B, $T = 4.35$）を図 4 に示した。しかし、診断効果と認知機能 clustering 効果領域の重複は、診断グループと認知機能 clustering グループに含まれる対象者が重複するため、予測可能な結果と考えられた。

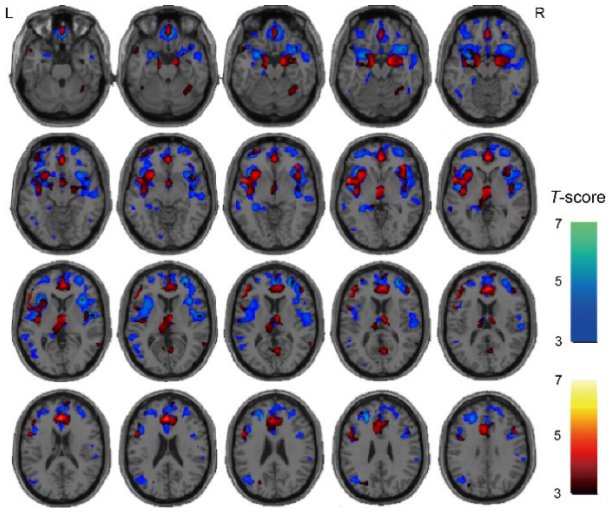


図 3.　全脳灰白質における診断効果（統合失調症患者 < 非罹患第 1 度近親者 < 健常者; winter color map）および診断 clustering 効果（Cluster 3 < Cluster 2 < Cluster 1; hot color map）。

そのため、診断効果のVBM解析に認知機能clusteringを共変量に加え（図4C）あるいは認知機能clustering効果のVBM解析に診断を共変量に加え再解析を行った。脳構造における認知機能clustering効果は診断効果よりも弱いため、診断効果補正後ほぼすべての認知機能clustering効果は消失した。一方、診断効果を認知機能clustering効果にて補正しても前頭・側頭葉は有意に統合失調症患者で小さいままであったのに対して、前部帯状回体積の差は消失した（図4C）。さらに、前部帯状回において診断効果と認知機能clusteringの相加作用を認めた（図4D、$T = 5.49$）。

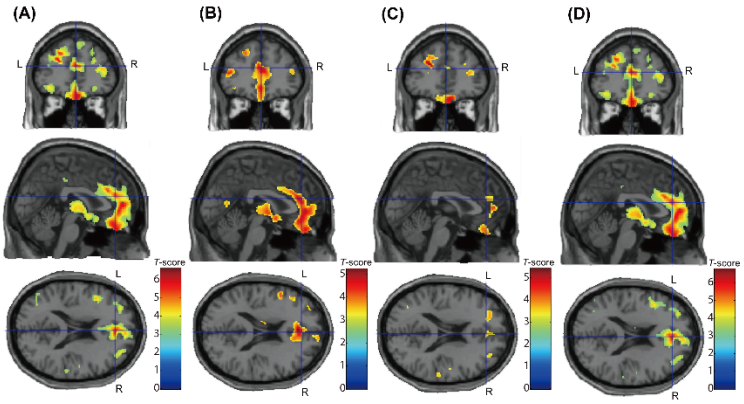


図4. 前部帯状回体積（$x, y, z = 1.5, 40.5, 19.5$）における診断効果

（A）認知機能clustering効果。（B）認知機能clustering効果補正後の診断効果。

（C）および診断効果と認知機能clustering効果の相加作用。（D）Cluster size > 100, $P_{uncorrected} < 0.001$。

これらの結果は、前部帯状回体積が認知機能とより密に関連していることを間接的に示唆する結果である。統合失調症患者、非罹患近親者、健常者という診断自体はスペクトラムであることが知られているが、認知機能障害もスペクトラムであることが示唆された。今後、認知機能やそれと関連する前部帯状回体積と遺伝子多型および遺伝子発現との関連を調べることで、統合失調症の病態解明研究を遂行していく。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、金沢医科大学医学部精神神経科学の嶋田貴充、上原隆、川﨑康弘である。本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文　献

1) Ripke S, et al., Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. Nature. 2014. Jul 24;511(7510):421-7. Epub 2014 Jul 22. PMID: 25056061 doi: 10.1038/nature13595.

2) Ohi K, et al., Glutamate Networks Implicate Cognitive Impairments in Schizophrenia: Genome-Wide Association Studies of 52 Cognitive Phenotypes. Schizophr Bull. 2015. Jul;41(4):909-18. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25537281 doi: 10.1093/schbul/sbu171.

3) Rasetti R, Weinberger DR, Intermediate phenotypes in psychiatric disorders. Curr Opin Genet. Dev, 2011. Jun;21(3):340-8. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21376566 doi: 10.1016/j.gde.2011.02.003.

4) Ohi K, et al., Cognitive clustering in schizophrenia patients, their first-degree relatives and healthy subjects is associated with anterior cingulate cortex volume. Neuroimage Clin. 2017. Aug 8;16:248-256. eCollection 2017. PMID: 28831376 doi: 10.1016/j.nicl.2017.08.008.

5) Hashimoto R, et al., Common variants at 1p36 are associated with superior frontal gyrus volume. Transl Psychiatry. 2014. Oct 21;4:e472. PMID: 25335168 doi: 10.1038/tp.2014.110.

6) Ohi, K, et al., Genetic risk variants of schizophrenia associated with left superior temporal gyrus volume. Cortex. 2014. Sep;58:23-6. Epub 2014 Jun 4. PMID: 24956223 doi: 10.1016/j.cortex.2014.05.011.
7) Ohi K, et al., The impact of the genome-wide supported variant in the cyclin M2 gene on gray matter morphology in schizophrenia. Behav Brain Funct. 2012. Oct 25;9:40. PMID: 24160291 doi: 10.1186/1744-9081-9-40.
8) Fornito A, et al., Anatomical abnormalities of the anterior cingulate cortex in schizophrenia: bridging the gap between neuroimaging and neuropathology. Schizophr Bull. 2009. Sep;35(5):973-93. Epub 2008 Apr 23. PMID: 18436528 doi: 10.1093/schbul/sbn025.
9) Goghari VM, et al., Regionally specific cortical thinning and gray matter abnormalities in the healthy relatives of schizophrenia patients. Cereb Cortex. 2007. Feb;17(2):415-24. Epub 2006 Mar 17. PMID: 16547347 doi: 10.1093/cercor/bhj158
10) Bhojraj TS, et al., Gray matter loss in young relatives at risk for schizophrenia: relation with prodromal psychopathology. Neuroimage. 2011. Jan;54 Suppl 1:S272-9. Epub 2010 May 2 PMID: 20441795 doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.04.257.