

## 統合失調症多発家系の全エクソーム解析による病因・病態解析

Aleksic Branko<sup>1)</sup>, 遠山美穂<sup>1)</sup>, 高崎悠登<sup>1)</sup>, 萩 朋男<sup>2)</sup>, 尾崎紀夫<sup>1)</sup>

- 1)名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学分野
- 2)名古屋大学環境医学研究所 発生・遺伝分野

### 【研究の背景】

統合失調症の難治性の背景に、病因・病態解明が不詳のため、診断・治療法の開発が進まない点が挙げられる。したがって診断に有用な検査法が待望されているが、診断は面談による精神病候学に基づいて為されており、生化学的な手法は確立されていない。これらのことから発症脆弱性に関与する詳細な分子メカニズムを把握することが喫緊の課題となっている。

統合失調症は、過去の双生児疫学研究や人口調査から遺伝率が 60-80%にのぼると考えられている<sup>1,2)</sup>。過去に行われた遺伝子研究からは、発症にはさまざまな遺伝子変異が関わっていることが報告されている。近年の次世代シーケンサーを使用した統合失調症の全エクソーム解析(Whole-exome sequencing, 以下 WES)からは、タンパク質の働きに影響を与えるアリル頻度 0.02 以下となる極めて頻度の低い変異(Ultra-rare variants, 以下 URVs)が神経細胞のシナプス部位に関連する遺伝子に有意にエンリッチメントすることが報告されており、より頻度の低い変異が統合失調症の発症に密接にかかわっていることが示唆されている<sup>3)</sup>。

このような変異は、過去 5000 年程度の間に蓄積してきていると考えられ、特に日本人の集団においては人種特異的となる<sup>4)</sup>。これらのことから、本邦における統合失調症の病態解明および診断・治療への応用のためには、日本人の統合失調症患者が有する遺伝子変異を探索することが重要であると考えられる。

### 【目的】

本研究では、これらの背景から、発症脆弱性にかかる遺伝子変異が集積していると考えられる統合失調症多発家系を対象とし、WES を行うことで発症脆弱性に関わる変異を効率的に特定することを目標とする。

### 【方法】

2 人以上の統合失調症発症者を有する家系を、対象となる多発家系としてサンプリングを行った。14 家系(統合失調症 29 名、健常家族 10 名)からゲノムサンプル(血液もしくは唾液由来)を抽出し、Agilent 社 SureSelect Human All Exon V5、Illumina 社 Hiseq2500 を用いて WES を実施した。得られたシーケンスデータを、Broad Institute best practices for Germline SNP & Indel Discovery in Whole Genome and Exome Sequence に従い解析を行い、1000genome project、Human Genetic Variation Database によるアリル頻度のフィルターを行い稀な変異を抽出したのち、家系情報を付与し疾患発症脆弱性に関与すると考えられる変異の抽出を行った<sup>5,6)</sup>。また特に発症脆弱性に関与すると考えられた変異に関しては、別の case-control サンプルセットを使用し Genotyping による関連解析を行った。

### 【結果】

今回解析を行った対象家系のうち、特に両親の世代にていと同士の近親婚が行われた家系(統合失調症 2 名、健常家族 1 名含む)に着目したところ、統合失調症のサンプルのみに CNTN6p.S278A および ZNF304p.G462R がホモ接合にて共有されていることが分かった。これらの 2 つの変異に対して遺伝子型判定用のプローブを作成し、統合失調症(SCZ)

/自閉スペクトラム症(ASD)/健常者(CON)を含むサンプル群にて genotyping を行ったところ、それぞれアリルカウント(Minor allele/ Major allele)は *CNTN6* SCZ 3/1464, ASD 0/1008, CON 7/3582, *ZNF304* SCZ 1/2214, ASD 2/1006, CON 1/2889 であり、各群間のアリル頻度については有意差を認めなかった。

## 【考 察】

今回、先行する統合失調症の遺伝子研究の発展をうけて、発症脆弱性に関与すると考えられる遺伝子変異が集積していると考えられる統合失調症の多発家系に着目し全エクソーム解析を行った。

本研究の研究対象となった家系のうち、近親婚である家系に着目しホモ接合となる変異で発症者のみに共有される変異(*CNTN6*, *ZNF304*)を同定した。別の case-control サンプルセットを用いた解析からは明らかな関連性は示されなかった。また追加のホモ接合を有するサンプルも同様にいずれの群からも検出されなかった。このうち *CNTN6* は統合失調症を含む Neurodevelopmental disorders の患者にてこの遺伝子座を含むコピー数多型が報告されている<sup>7~10</sup>。追加の生物学的手法などを用いた検討が必要であると考えられるが、今後の統合失調症に関連する候補遺伝子として期待される。

今後は、残りの家系も含めて日本人の遺伝子変異のパブリックデータベースを用いた厳格なアリル頻度によるフィルターを適用し、患者にのみ共有される URVs のパネルを作成するとともに、これらの変異がどのような遺伝子群にてエンリッチメントするかを検討する方針である<sup>11)</sup>。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

近年、次世代シーケンサーの発展とともに、より広範囲(全エクソン、全ゲノム領域)にわたるシーケンスが可能となり、個人が保有する遺伝子変異を網羅的に解析することができるようになった。本研究では、WES を用いて統合失調症多発家系のサンプルとシーケンスすることで、疾患発症脆弱性に寄与する変異を特定することを企図している。これらの変異は、日本の人口に特異的であり、本邦における統合失調症の診断ツールの開発に応用することが期待される。また、エンリッチメント解析を通じてより詳細な統合失調症発症メカニズムを把握し、今後の治療ターゲットを検討することも重要な目標である。

## 【参考・引用文献】

- 1 Lichtenstein, P. et al. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet* **373**, 234-239, doi:10.1016/S0140-6736(09)60072-6 (2009).
- 2 Cannon, T. D., Kaprio, J., Lonnqvist, J., Huttunen, M. & Koskenvuo, M. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch. Gen. Psychiatry* **55**, 67-74 (1998).
- 3 Genovese, G. et al. Increased burden of ultra-rare protein-altering variants among 4,877 individuals with schizophrenia. *Nat. Neurosci.* **19**, 1433-1441, doi:10.1038/nn.4402 (2016).
- 4 Fu, W. et al. Analysis of 6,515 exomes reveals the recent origin of most human protein-coding variants. *Nature* **493**, 216-220, doi:10.1038/nature11690 (2013).
- 5 Genomes Project, C. et al. A global reference for human genetic variation. *Nature* **526**, 68-74, doi:10.1038/nature15393 (2015).
- 6 Higasa, K. et al. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* **61**, 547-553, doi:10.1038/jhg.2016.12 (2016).
- 7 Gai, X. et al. Rare structural variation of synapse and neurotransmission genes in autism. *Mol. Psychiatry* **17**, 402-411, doi:10.1038/mp.2011.10 (2012).
- 8 Hu, J. et al. *CNTN6* copy number variations in 14 patients: a possible candidate gene for neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *J. Neurodev. Disord.* **7**, 26, doi:10.1186/s11689-015-9122-9 (2015).

- 9 Kashevarova, A. A. *et al.* Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: CNTN6 as a new candidate gene for intellectual disability. *Molecular cytogenetics* **7**, 97, doi:10.1186/s13039-014-0097-0 (2014).
- 10 Pinto, D. *et al.* Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature* **466**, 368-372, doi:10.1038/nature09146 (2010).
- 11 Nagasaki, M. *et al.* Rare variant discovery by deep whole-genome sequencing of 1,070 Japanese individuals. *Nature communications* **6**, 8018, doi:10.1038/ncomms9018 (2015).