

ノンコーディング領域を考慮したゲノムコピー数変異による精神疾患研究

久島 周

名古屋大学 医学部附属病院ゲノム医療センター 大学院医学系研究科 精神医学分野

【研究の背景】

双極性障害(BD)、統合失調症(SCZ)、自閉スペクトラム症(ASD)は、発症に遺伝要因が強く関与する。加えて、3疾患の間で遺伝要因が共有されていることが疫学研究から示唆されている。こういった知見をふまえて、3疾患のゲノム解析が実施されてきた。SCZやASDのゲノムコピー数変異(CNV)解析では、両疾患で共通するCNVが多数同定されているが¹⁾、BDを含めた3疾患の比較解析はこれまで報告されていない。さらに、タンパク質をコードする遺伝子が存在しないノンコーディング領域のCNVについても、3疾患の病因との関連は検討されていない。

【目 的】

CNV データから3疾患の病態パスウェイを検出するとともに、疾患間の類似性を定量化する。加えて、ノンコーディング領域のCNVの病因への関与を明らかにする。

【方 法】

BD1818例、SCZ3014例、ASD1205例および健常者2671例(CONT)の全ゲノムCNV解析を実施し、quality controlを行ったうえで、頻度が1%以下の稀なCNVを得た。Gene ontology(GO)の遺伝子セット(遺伝子数150-500)を用いて、健常者CNVと比較して、患者CNVが集積する遺伝子セットを、ロジスティック回帰分析を行って検討した。解析は、欠失、重複、欠失+重複の3パターンで解析した。加えて、ノンコーディング領域のCNVの病因への関与を検討するため、遺伝子調節領域であるエンハンサーおよびプロモーター領域に患者CNVが集積するか検討した。

【結 果】

GOの遺伝子セットに基づく解析

BD、SCZ、ASDで有意な遺伝子セットを、各々、1、352、100個同定した。図1は、有意な遺伝子セットを図示したものであるが、生物学的機能に基づいて13の生物学的パスウェイに分類された。SCZとASDは多くのパスウェイ(Synapse & Neuronal cell adhesion、DNA/chromatin integrity、Cell cycle regulation、Transcriptional regulation、Small GTPase signaling、Oxidative stress response、Cell growth & Organ developmentなど)が共通していることを見出した。

一方、BDではchromatin modificationに関連した遺伝子セットとの関連を見出した。この遺伝子セットはSCZとASDとも関連した。

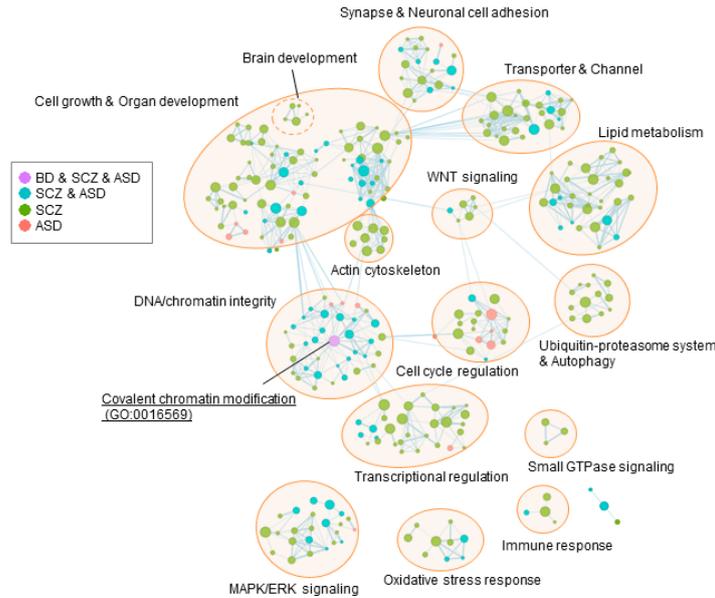


図1. 同定された遺伝子セットのクラスター図

遺伝子セット解析の結果に基づく相関分析を実施した。疾患別、欠失のみ(del)、重複のみ(dup)、欠失+重複(deldup)に注目した相関分析の結果を図2に示した。図2の通り、さまざまな組み合わせで有意な相関が確認されていた。例えば、赤枠で囲まれた部分は、3疾患間でdeldupの相関を評価した結果であり、全ての疾患間で有意な相関を示した。BDとの相関と比べ、SCZ-ASD間の相関がより強く確認されていた(SCZ-ASD: $r=0.48$, BD-SCZ: $r=0.25$, BD-ASD: $r=0.31$)。この結果からSCZとASDの病態メカニズムの高い類似性が示唆された。一方で、SCZ/ASDとBD間でも有意な相関を確認したことから、SCZ/ASDとBDの間にも病態上の共通性が示唆された。

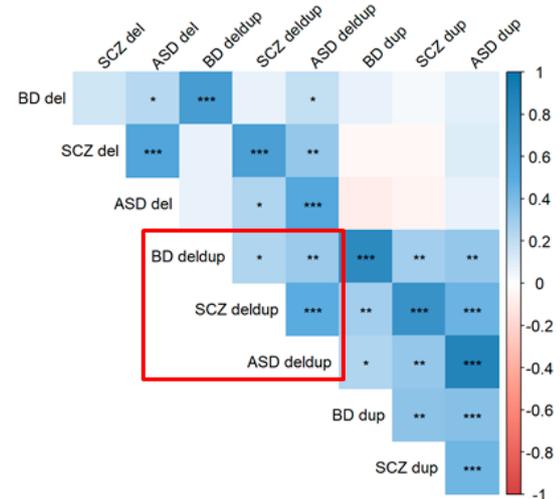


図2. 遺伝子セット解析に基づく疾患間の相関
*** $P < 0.00000001$, ** $P < 0.0001$, * $P < 0.05$

ノンコーディング領域 CNV を考慮した解析

ノンコーディング領域を考慮した分析として、最初に、ノンコーディング領域 CNV 全体が精神疾患と関連するか評価を行った。ノンコーディング領域の規定は、公開されているデータベースに基づいて行った。具体的にはエピゲノム情報のデータベースである ENCODE、Roadmap Epigenome、PsychENCODE プロジェクトのからデータを取得し、脳や他の組織のエンハンサー領域/プロモーター領域などの遺伝子調節領域を規定した。得られた遺伝子調節領域と、CNV データを照合し、調節領域との重複塩基長としてデータ化した。この重複塩基長と各精神疾患との関連を評価したところ、9種類の脳組織(脳の前尾状回、帯状回、胚軸、海馬中央部、下側頭葉、黒質、背外側前頭葉皮質、脳角状回、女性胎児脳、男性胎児脳)における調節領域がSCZとASDと有意に関連した(結果の例:表1)。以上の結果から、遺伝子発現制御領域 CNVもまた、精神疾患発症に寄与し、特に脳組織において機能している領域が重要であることを示した。

表1. ENCODE+Roadmap EpigenomeとCNVの関連(SCZ, ASDの上位3結果を記載)

疾患	CNV type	Regulatory elements	OR (95% CI)	P
SCZ	Deletion	Enhancer in brain angular gyrus	1.07 (1.03, 1.11)	$< 1 \times 10^{-5}$
	Deletion	Enhancer in brain anterior caudate	1.06 (1.04, 1.1)	$< 1 \times 10^{-5}$
	Deletion	Enhancer in brain cingulate gyrus	1.06 (1.03, 1.09)	$< 1 \times 10^{-5}$
ASD	Duplication	Enhancer in brain anterior caudate	1.03 (1.01, 1.04)	$< 1 \times 10^{-5}$
	Duplication	Enhancer in brain cingulate gyrus	1.02 (1.01, 1.04)	$< 1 \times 10^{-5}$
	Duplication	Enhancer in brain germinal matrix	1.04 (1.02, 1.06)	$< 1 \times 10^{-5}$

OR: CNV 1kb当たりのオッズ比. 検定はpermutation test(10万回)で実施

【考 察】

遺伝子セット解析結果に基づく相関解析から、3疾患の間での病態の有意な相関を認めたことから、3疾患の病態は類似性が確認できた。特に SCZ と ASD の相関は高く、次に、BD と ASD、SCZ と BD、の順番であった。BD と有意な関連を示した遺伝子セットは1つのみであったが、有意でない遺伝子セットを含めた全体で、疾患間の相関を調べることで、3疾患間の相関を確認できたと考えられる。

ノンコーディング領域の CNV では、神経細胞で確認された制御領域(エンハンサー、プロモーター)に、SCZ と ASD の CNV が有意に集積することを確認した。これら制御領域は、神経細胞で発現する遺伝子の発現レベルを調節していることから、患者 CNV の集積で遺伝子発現レベルの調整異常がゲノムワイドにみられる可能性が示唆された。この点は、モデル細胞を用いて実験的に確認する必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

BD、SCZ、ASD の3疾患には共通の病態が存在することが示唆された。BD、SCZ、ASD の3疾患は、精神症状、認知機能障害の点でも共通性が指摘されており、患者の診断・治療を行う上でも、この精神疾患の連続性は考慮する必要がある。

【参考・引用文献】

1. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Okada T, Uno Y, Morikawa M, Ishizuka K, Shiino T, Kimura H, Arioka Y, Yoshimi A, Takasaki Y, Yu Y, Nakamura Y, Yamamoto M, Iidaka T, Iritani S, Inada T, Ogawa N, Shishido E, Torii Y, Kawano N, Omura Y, Yoshikawa T, Uchiyama T, Yamamoto T, Ikeda M, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Someya T, Watanabe Y, Egawa J, Nunokawa A, Itokawa M, Arai M, Miyashita M, Kobori A, Suzuki M, Takahashi T, Usami M, Kodaira M, Watanabe K, Sasaki T, Kuwabara H, Tochigi M, Nishimura F, Yamasue H, Eriguchi Y, Benner S, Kojima M, Yassin W, Munesue T, Yokoyama S, Kimura R, Funabiki Y, Kosaka H, Ishitobi M, Ohmori T, Numata S, Yoshikawa T, Toyota T, Yamakawa K, Suzuki T, Inoue Y, Nakaoka K, Goto YI, Inagaki M, Hashimoto N, Kusumi I, Son S, Murai T, Ikegame T, Okada N, Kasai K, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki N. Comparative Analyses of Copy-Number Variation in Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia Reveal Etiological Overlap and Biological Insights. Cell Rep. 2018 Sep 11;24(11):2838-2856.