



Association of Two Variable Number of Tandem Repeats in the Monoamine Oxidase A Gene Promoter with Schizophrenia

谷藤, 貴紀

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8760号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100489985>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Association of Two Variable Number of Tandem Repeats in the
Monoamine Oxidase A Gene Promoter with Schizophrenia

統合失調症におけるモノアミンオキシダーゼ A 遺伝子プロモーター領域にある
2 つの反復配列多型の関連解析

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

精 神 医 学

(指導教員：菱本明豊教授)

谷 藤 貴 紀

1 序論

統合失調症は、有病率 1%で日常生活に大きく支障をきたす精神疾患の一つである。

統合失調症の病態仮説は、ドパミン仮説が広く知られており、ドパミンアンタゴニスト作用を持つ薬剤が治療において有効とされている。ドパミンを分解する酵素としてモノアミンオキシターゼ（MAO）があり、統合失調症と関連があると先行研究で報告されている。また、統合失調症の発症には遺伝的要因があると多数の研究で報告されている。

MAO は、MAOA と MAOB の 2 種類存在するが 2 つともドパミンの分解に関与しており、X 染色体に両遺伝子は存在する。特に MAOA は、ドパミン以外にもセロトニン等のモノアミンに関与し、統合失調症をはじめとする精神疾患で重要な役割を果たしていると考えられている。MAOA 遺伝子上流には、upstream (u) variable number of tandem repeats (VNTR) と呼ばれる反復配列の機能的多型が存在すると分かっており、2 リピート、3 リピート、5 リピートは低発現アレル、3.5 リピートと 4 リピートは高発現アレルと報告されている。MAOA プロモーター領域遺伝子において、uVNTR と一塩基多型 (SNP) が統合失調症と関連していると報告されているが、結果は一貫していなかった。

近年、MAOA 遺伝子上流に distal (d) VNTR と呼ばれる比較的新しい反復配列の機能的多型が特定され、10 リピートは低発現アレル、9 リピートは高発現アレル、8 と 11 リピートは中等度の発現量のアレルで、12 リピートに関しては分かっていない。最

近の研究で、dVNTR もしくは 2 つの VNTR の組み合わせが uVNTR 単独より MAOA の発現量に関与していると分かった。

dVNTR と uVNTR のハプロタイプと統合失調症の関連を報告した研究はまだされていなかった。我々は、これまで実施されてきた研究を踏まえ、MAOA 遺伝子プロモーター領域にあるこの 2 つの VNTR と SNP と統合失調症の関連性を研究する事とした。

2 方法

2.1 参加者

本研究の対象者は、日本人の統合失調症患者 859 人（男性 446 人：中央値年齢[四分位範囲(IQR)] 55.0[43.0-64.0]、女性 413 人：中央値年齢[IQR] 56.0[44.0-66.0]）および健常対照者 826 人（男性 394 人：中央値年齢[四分位範囲(IQR)] 52.0[34.8-67.0]、女性 432 人：中央値年齢[IQR] 55.0[38.0-67.0]）であった。

統合失調症の診断に際し、少なくとも 2 人の精神科医が Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition (DSM-IV) もしくは DSM-5 に基づいて、非構造化面接と診療録により診断を行った。精神疾患のスクリーニングのため、精神科医が健康なボランティアを非構造化面接で評価した。精神疾患または物質乱用（ニコチン依存症を除く）の現病歴、既往歴、家族歴がない人を組み入れ基準とした。

2.2 VNTR と SNP のジェノタイピング

統合失調症患者と健常対照者から末梢血を採取した。DNA はキットを用いて末梢血サンプルより抽出し、DNA の量と純度は NanoDrop を用いて調べた。抽出した DNA は、解析に使用するまで -80°C で保存した

dVNTR と uVNTR のジェノタイピングは、蛍光フラグメント (6-Fluorescence [FAM]) を用いて解析した。両 VNTR 領域の PCR 産物は、SeqStudio Genetic Analyzer と GeneMapper Software version 6 を用いて解析した。先行研究で統合失調症と関連が報告されていた 2 つの SNP (rs6323 と rs1137070) に関しては、TaqMan 法を用いてジェノタイピングを行った。

2.3 統計解析

統計的有意性を両側 $p < 0.05$ と定義した。データは R version 4.0.0 と EZR software 1.42 を用いて解析した。女性におけるアレル/ハプロタイプの頻度と遺伝的関連は、Haploview version 4.2 を用いて解析した。2 群間の連続変数およびカテゴリー変数についてはカイ二乗検定とマン・ホイットニーの U 検定を用いて分析した。遺伝子型に基づく関連性およびアレル/ハプロタイプの頻度をそれぞれコ克蘭・アーミテージ傾向検定とカイ二乗検定を用いて解析した。女性におけるハーディー・ワインベルグ平衡は、フィッシャーの正確検定を用いて評価した。

3 結果

MAOA が X 染色体に存在するため男性と女性に分けて解析を行った。女性における VNTR と SNP のハーディー・ワインベルグ平衡の解析は、有意な差は認めなかった。

dVNTR と uVNTR、2 つの SNP (rs6323 と rs1137070) の遺伝子型やアレルの頻度は、統合失調症と有意な関連を認めなかった。

ハプロタイプに関しては、9 リピート (dVNTR)・3 リピート (uVNTR)・T (rs6323)・C (rs1137070) が女性の統合失調症と有意な関連を認めた ($p=0.0001$)。この結果に対し 10000 回パーミュレーションテストを実施し、有意な結果である事を確認した ($p=0.0006$)。9 リピート・3 リピート・T・C の組み合わせのハプロタイプは、女性統合失調に関連するリスクとして 2.17 倍のオッズ比であった (オッズ比[95%信頼区間]: 2.17[1.446–3.257])。

4 考察

MAOA 遺伝子の uVNTR や SNPs の統合失調症との関連を調べた研究は複数あるが、その結果は一貫していなかった。本研究において、MAOA 遺伝子プロモーター領域にある dVNTR と uVNTR、2 つの SNP (rs6323 と rs1137070) と統合失調症の関連性を解析した。我々の知る限り、本研究は、dVNTR と統合失調症との関連を検討した最初

の研究である。我々の研究で9リピート (dVNTR)・3リピート (uVNTR)・T (rs6323)・C (rs1137070) のハプロタイプの組み合わせが女性統合失調症患者と関連していることが分かった。

最近の大規模なゲノムワイド関連研究 (GWAS) では、様々な SNP が統合失調症と関連していることが示されているが、本研究で検討した VNTR などの MAOA 遺伝子プロモーター領域の多型は含まれていなかった。したがって、本研究で得られた知見は、統合失調症の病態解明に寄与するものとする。

シナプス間のドパミンの量が多いことが統合失調症の病態に関連していると考えられていることから、MAOA 遺伝子の低発現のハプロタイプの組み合わせが統合失調症患者と関連する仮説を考えた。つまり、低発現アレルでは MAOA の発現量が少ないためドパミンが分解される量が減り、相対的にドパミンの量が多くなると想定される。

我々の得た結果と先行研究を比較すると、3 リピート (uVNTR) -T (rs6323) -C (rs1137070) の組み合わせは、統合失調症に関連していると先行研究で報告されており、3 リピート (uVNTR) アレルは、低発現アレルと報告されている。しかしながら、9 リピート (dVNTR) は、高発現アレルと報告されており我々の仮説とは一致しない結果であった。一方で、MAOA の uVNTR の多型は、特定の脳領域に影響し精神疾患に関連していると報告する研究があり、それぞれの VNTR の多型と脳領域との関連性を考慮する必要があるかもしれない。また、dVNTR と精神疾患を比較した研究はまだほ

とんどなく、dVNTR と uVNTR の組み合わせによる MAOA の発現量や複数の遺伝子が影響した効果に関しては、まだ分からないことも多く、さらなる研究が必要と考える。

我々の研究にはいくつかの限界がある。第一に、サンプルサイズが比較的小さく、我々のサンプル集団は日本人のみで構成されている。我々の知見を検証するためには、サンプルサイズが大きく、母集団の人種が異なる研究が必要である。第2に、縦断的な経過や詳細な症状（例えば、陰性症状が優勢であったか、陽性症状が優勢であったかなど）については考慮していない。最後に、遺伝子多型の解析のみで実際の MAOA の発現量を今回の研究では評価していない。

5 結論

我々は、MAOA 遺伝子プロモーター領域にある dVNTR と uVNTR、2 つの SNP (rs6323 と rs1137070) と統合失調症の関連性を研究した。我々は、9 リピート (dVNTR) ・ 3 リピート (uVNTR) ・ T (rs6323) ・ C (rs1137070) のハプロタイプの組み合わせが女性の統合失調症に関連していることを特定した。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3331 号	氏 名	谷藤 貴紀
論文題目 Title of Dissertation	統合失調症におけるモノアミンオキシダーゼ A 遺伝子 プロモーター領域にある 2 つの反復配列多型の関連解析 Association of Two Variable Number of Tandem Repeats in the Monoamine Oxidase A Gene Promoter with Schizophrenia		
審査委員 Examiner	主 査 松本 理器 Chief Examiner 副 査 矢野 育子 Vice-examiner 副 査 古屋敷 智之 Vice-examiner		

(要旨は 1, 0 0 0 字～2, 0 0 0 字程度)

【背景】

統合失調症は、有病率1%で日常生活に大きく支障をきたす精神疾患の一つである。統合失調症の病態仮説は、ドパミン仮説が広く知られており、ドパミンアンタゴニスト作用を持つ薬剤が治療において有効とされている。ドパミンを分解する酵素としてモノアミンオキシターゼ（MAO）があり、統合失調症と関連があると先行研究で報告されている。また、統合失調症の発症には遺伝的要因があると多数の研究で報告されている。

MAOは、MAOAとMAOBの2種類存在するが2つともドパミンの分解に関与しており、X染色体に両遺伝子は存在する。特にMAOAは、ドパミン以外にもセロトニン等のモノアミンに関与し、統合失調症をはじめとする精神疾患で重要な役割を果たしていると考えられている。MAOA遺伝子のupstream (u) variable number of tandem repeats (VNTR)と呼ばれる反復配列の機能的多型が存在すると分かっており、2リピート、3リピート、5リピートは低発現アレル、3.5リピートと4リピートは高発現アレルと報告されている。MAOAプロモーター領域遺伝子において、uVNTRと一塩基多型（SNP）が統合失調症と関連していると報告されているが、結果は一貫していなかった。

近年、MAOA遺伝子のupstream (u) VNTRと呼ばれる比較的新しい反復配列の機能的多型が特定され、10リピートは低発現アレル、9リピートは高発現アレル、8と11リピートは中等度の発現量のアレルで、12リピートに関しては分かっていない。最近の研究で、dVNTRもしくは2つのVNTRの組み合わせがuVNTR単独よりMAOAの発現量に関与していると分かった。

dVNTRとuVNTRのハプロタイプと統合失調症の関連を報告した研究はまだされていなかった。申請者は、これまで実施されてきた研究を踏まえ、MAOA遺伝子プロモーター領域にあるこの2つのVNTRとSNPと統合失調症の関連性を研究する事とした。

【方法・結果】

＜方法＞

本研究の対象者は、日本人の統合失調症患者859人（男性446人：中央値年齢[四分位範囲(IQR)] 55.0[43.0-64.0]、女性413人：中央値年齢[IQR] 56.0[44.0-66.0]）および健常対照者826人（男性394人：中央値年齢[四分位範囲(IQR)] 52.0[34.8-67.0]、女性432人：中央値年齢[IQR] 55.0[38.0-67.0]）であった。

dVNTRとuVNTRのジェノタイピングは、蛍光フラグメント（6-Fluorescence [FAM]）を用いて解析した。両VNTR領域のPCR産物は、SeqStudio Genetic AnalyzerとGeneMapper Software version 6を用いて解析した。先行研究で統合失調症と関連が報告されていた2つのSNP（rs6323とrs1137070）に関しては、TaqMan法を用いてジェノタイピングを行った。

＜結果＞

女性におけるVNTRとSNPのハーディー・ワインベルグ平衡の解析は、有意な差は認めなかった。

dVNTRとuVNTR、2つのSNP（rs6323とrs1137070）の遺伝子型やアレルの頻度は、統合失調症と有意な関連を認めなかった。

ハプロタイプに関しては、9 リピート (dVNTR)・3 リピート (uVNTR)・T (rs6323)・C (rs1137070) が女性の統合失調症と有意な関連を認めた ($p=0.0001$)。この結果に対し 10000 回パーミュレーションテストを実施し、有意な結果である事を確認した ($p=0.0006$)。9 リピート・3 リピート・T・C の組み合わせのハプロタイプは、女性統合失調に関連するリスクとして 2.17 倍のオッズ比であった(オッズ比[95%信頼区間]:2.17[1.446-3.257])。

【結論】

今回の研究で、申請者は、MAOA 遺伝子プロモーター領域にある dVNTR と uVNTR、2 つの SNP (rs6323 と rs1137070) と統合失調症の関連性を研究した。申請者は、9 リピート (dVNTR)・3 リピート (uVNTR)・T (rs6323)・C (rs1137070) のハプロタイプの組み合わせが女性の統合失調症に関連していることを特定した。これらの知見により、統合失調症の分子生物学的な病態メカニズムの解明や遺伝学的手法を用いた診断技術の開発に寄与することが考えられる。

以上、本研究は、統合失調症に関連する新規の遺伝子多型を明らかにしたものであり、分子生物学的な観点から統合失調症の病因や病態を理解する上で重要な貢献をしたものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。