



# Common genetic variations in TPH1/TPH2 genes are not associated with schizophrenia in Japanese population

白岩, 恭一

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2011-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5189

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005189>

※ 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。



氏 名	白岩 恭一
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博い第 5189 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 23 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Common genetic variations in TPH1/TPH2 genes are not associated with schizophrenia in Japanese population (TPH1/TPH2 遺伝子の一般的な遺伝子多型は日本人において統合失調症とは関係しない)

審 査 委 員

主 査	教 授	西尾 久英
	教 授	上野 易弘
	教 授	甲村 英二

(課程博士関係)

## 学位論文の内容要旨

### Common genetic variations in *TPH1/TPH2* genes are not associated with schizophrenia in Japanese population

TPH1/TPH2 遺伝子の一般的な遺伝子多型は日本人において統合失調症とは  
相関しない

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻  
精神医学  
(指導教員：戸田 達史 教授)

白岩 恭一

## [概要]

統合失調症は主要な精神障害の一つであり、遺伝因子と環境要因によって起こると言われているがその原因はまだ解明されていない。統合失調症の遺伝的要因について、家族研究、双子研究、養子研究などの報告によれば遺伝率はおおよそ 80%程度と見積もられている。しかしながら、これまで世界中で 780 もの候補遺伝子について統合失調症との関連研究がおこなわれているにもかかわらず、明らかに原因があると断定された遺伝子や遺伝子変異はまだ見つかっていない。

セロトニン／ドパミン拮抗作用の安定という概念に基づく非定型抗精神病薬は、統合失調症におけるセロトニンの影響を示している。統合失調症におけるセロトニン伝達経路の変化に関してこれまで、(1)セロトニン代謝や 5-HIAA 濃度に関する脳脊髄液での研究、(2)セロトニン、5-HIAA、セロトニントランスポーター、セロトニンレセプターに関する死後脳研究、(3)中枢セロトニン系の反応性を証明する薬理学的研究などの報告がある。

これらのことからセロトニン系の遺伝子変異は統合失調症における有力な候補遺伝子の一つになると考えられる。トリプトファン水酸化酵素アイソフォーム 1 (TPH1) はセロトニン合成における律速酵素であり、単一塩基多型 (SNP) で統合失調症との相関が報告されている。また最近、新たに神経型アイソフォームである TPH2 が同定されたが、統合失調症における関連研究はこれまでのところ標本数の少ない 2 つの研究しか報告されていない。そこで、今回私たちは 720 人の日本人について TPH2 遺伝子多型の関連研究を行い、

さらに TPH1 rs1800532 について追実験とアジア人種でのメタ解析を行った。

#### [対象および方法]

症例は統合失調症患者 343 例（男性 157 例；平均年齢  $51.4 \pm 11.7$  歳、女性 186 例；平均年齢  $53.7 \pm 13.9$  歳）、少なくとも 2 名の精神科医による非構造化面接によって DSM-IV に基づいて診断された。症例の 80% 以上は精神症状のために 1 年以上入院しており、物質乱用や器質性疾患の既往は無い。健常対照者は 377 例（男性 162 例；平均年齢  $39.6 \pm 16.0$  歳、女性 215 例；平均年齢  $45.0 \pm 15.4$  歳）、一親等者までに精神疾患の既往は無い。

TPH2 遺伝子の SNP 選定には HapMap データベースを参照し、TPH2 遺伝子上にある 12 個の tagSNP とプロモーター上の 3 つの tagSNP を tagger プログラムを用いて選定した。このうち 4 つの SNP はエクソン上の cSNP であった。遺伝子型決定のために患者と健常者の末梢血からヨウ化ナトリウム法によって白血球 DNA を抽出した。TPH2 rs11178997 は PCR-RFLP 法を用い、それ以外の全ての SNP は TaqMan アッセイ法を用いて遺伝子型を決定した。

統計学的解析を用いて遺伝子型頻度、アレル頻度、ハプロタイプ頻度について症例対照者間での相関の有無を検討し、さらに TPH1 rs1800532 についてはアジア人でのメタ解析も行った。

#### [結果]

TPH2 遺伝子の 15 の tagSNP はいずれも遺伝子型頻度、アレル頻度において症例対照者間での有意差は見られなかった。また LD パターンとハプロタイプ頻度の解析も行い、4 つの LD ブロックが存在することが分かったが、いずれのハプロタイプも症例対照者間で有意差は見られなかった。

TPH1 rs1800532 も遺伝子型頻度、アレル頻度ともに症例対照者間での有意差は見られなかった。この結果を含むアジア人種でのメタ解析においても症例対照者間の有意差は見られなかったが、C アレル保持者は統合失調症症例群 (0.483) が健常者群 (0.509) よりも少ない傾向があった ( $P=0.06$ ,  $OR=0.90$ )。

#### [考察]

これまで 2 つのグループが TPH2 の遺伝子多型と統合失調症について相関がないことを報告しているが、いずれも標本数やマーカー数が少なかった。今回私たちは 15 個の tagSNP について中等度の標本サイズで統合失調症との相関を調べたが、これまでの報告と同様に私たちも相関を見つけることはできなかった。さらに、TPH1 rs1800532 はこれまで統合失調症での相関が強いと言われていたため今回追実験を行ったが相関は認められず、またメタ解析においてもアジア人種での相関は見られなかった。最近報告された 3 つのメタ解析はいずれも白人種とアジア人種を合わせたものであり、アジア人種だけのものではない。

TPH1 rs1800532 の A アレルの頻度はアジア人種と白人種では明らかに異なっている。このため今回私たちはアジア人種のみを選んで解析を行った。

セロトニンの機能不全が統合失調症の発症機序に関与していることがこれまで様々な報告から示唆されている。TPH1、TPH2 はともにセロトニン伝達経路の調整に大きな役割をもっているため、その遺伝子変異は症例対照研究の対象として適当である。しかしながら、最近のゲノムワイド関連研究ではまれなミスセンス変異や構造変異が主要な精神障害に関与していることが示されている。明らかな構造変異は統合失調症に相対的な危険を与えるだけでなく他の精神障害の発症にも寄与していると考えられている。それゆえに、SNP のような一般的な遺伝子変異による疾患脆弱性への影響を検出するのは限界がある。

今回の研究の限界点は2つある。1つ目は標本数である。統合失調症関連研究におけるSNPの影響はオッズ比で1.2以下と言われている。このため、SNPの影響がないことを示すためには少なくとも症例、健常対照者それぞれ1000サンプル必要と考えられる。今回、TPH1 rs1800532 においてはメタ解析でそれぞれ1000サンプルを越えたが、TPH2 については1000サンプルに満たなかった。また、ハプロタイプ解析はより強く疾患表現系での有意差を検出する力があるので、今回有意差が見られなかったことは今後も注意深く検討する必要がある。二つ目は選択バイアスを完全に排除できていないということである。これは、対象者の精神状態を診断する構造化面接を使用しなかったためである。

TPH1 の遺伝子変異は自殺行動と関連があると推察されており、TPH2 のSNP もまた自

殺行動への関連が集中的に調べられていることから、統合失調症罹患者の自殺行動との相関を調べることは興味深いかもしれない。

結論として、TPH1、TPH2 においてよく見られる遺伝子多型は日本人の統合失調症とは関連しないようである。ほとんどの精神障害の病態生理は多遺伝子性であり、ほとんどの精神医学的状态の病因は多因子性であることには留意しなければならないが、統合失調症の発症機序には遺伝的要素が関与している。統合失調症の新たな候補遺伝子を探索する今後の研究は、統合失調症のリスクが高い個人を同定する手助けとなり治療の一助となるであろう。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2149号	氏 名	白岩 恭一
論文題目 Title of Dissertation	<p>Common genetic variations in <i>TPH1/TPH2</i> genes are not associated with schizophrenia in Japanese population</p> <p>TPH1/TPH2 遺伝子の一般的な遺伝子多型は日本人において統合失調症とは関連しない</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 西尾 久英 Chief Examiner</p> <p>副 査 野島 弘 Vice-examiner</p> <p>副 査 甲村 英二 Vice-examiner</p>		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

## 〔概要〕

統合失調症は主要な精神障害の一つであり、遺伝因子と環境要因によって起こると言われているがその原因はまだ解明されていない。統合失調症の遺伝的要因について、家族研究、双子研究、養子研究などの報告によれば遺伝率はおよそ 80%程度と見積もられている。しかしながら、これまで世界中で 780 もの候補遺伝子について統合失調症との関連研究がおこなわれているにも関わらず、明らかに原因があると断定された遺伝子や遺伝子変異はまだ見つかっていない。

セロトニン／ドパミン拮抗作用の安定という概念に基づく非定型抗精神病薬は、統合失調症におけるセロトニンの影響を示している。統合失調症におけるセロトニン伝達経路の変化に関してこれまで、(1)セロトニン代謝や 5-HIAA 濃度に関する脳脊髄液での研究、(2)セロトニン、5-HIAA、セロトニントランスポーター、セロトニンレセプターに関する死後脳研究、(3)中枢セロトニン系の反応性を証明する薬理学的研究などの報告がある。

これらのことからセロトニン系の遺伝子変異は統合失調症における有力な候補遺伝子の一つになると考えられる。トリプトファン水酸化酵素アイソフォーム 1 (TPH1) はセロトニン合成における律速酵素であり、単一塩基多型 (SNP) で統合失調症との相関が報告されている。また最近、新たに神経型アイソフォームである TPH2 が同定されたが、統合失調症における関連研究はこれまでのところ標本数の少ない 2 つの研究しか報告されていない。そこで、今回研究者らは 720 人の日本人について TPH2 遺伝子多型の関連研究を行い、さらに TPH1 rs1800532 について追実験とアジア人種でのメタ解析を行った。

## 〔対象および方法〕

症例は統合失調症患者 343 例（男性 157 例；平均年齢 51.4±11.7 歳、女性 186 例；平均年齢 53.7±13.9 歳）、少なくとも 2 名の精神科医による非構造化面接によって DSM-IV に基づいて診断された。症例の 80% 以上は精神症状のために 1 年以上入院しており、物質乱用や器質性疾患の既往は無い。健常対照者は 377 例（男性 162 例；平均年齢 39.6±16.0 歳、女性 215 例；平均年齢 45.0±16.4 歳）、一親等者までに精神疾患の既往は無い。

TPH2 遺伝子の SNP 選定には HapMap データベースを参照し、TPH2 遺伝子上にある 12 個の tagSNP とプロモーター上の 3 つの tagSNP を tagger プログラムを用いて選定した。このうち 4 つの

SNP はエクソン上の cSNP であった。遺伝子型決定のために患者と健常者の末梢血からヨウ化ナトリウム法によって白血球 DNA を抽出した。TPH2 rs11178997 は PCR-RFLP 法を用い、それ以外の全ての SNP は TaqMan アッセイ法を用いて遺伝子型を決定した。

統計学的解析を用いて遺伝子型頻度、アレル頻度、ハプロタイプ頻度について症例対照者間での相関の有無を検討し、さらに TPH1 rs1800532 についてはアジア人でのメタ解析も行った。

#### [結果]

TPH2 遺伝子の 15 の tagSNP はいずれも遺伝子型頻度、アレル頻度において症例対照者間での有意差は見られなかった。また LD パターンとハプロタイプ頻度の解析も行い、4 つの LD ブロックが存在することが分かったが、いずれのハプロタイプも症例対照者間で有意差は見られなかった。

TPH1 rs1800532 も遺伝子型頻度、アレル頻度ともに症例対照者間での有意差は見られなかった。この結果を含むアジア人種でのメタ解析においても症例対照者間の有意差は見られなかったが、C アレル保持者は統合失調症症例群 (0.483) が健常者群 (0.509) よりも少ない傾向があった ( $P=0.06$ ,  $OR=0.90$ )。

#### [考察]

これまで2つのグループが TPH2 の遺伝子多型と統合失調症について相関がないことを報告しているが、いずれも標本数やマーカー数が少なかった。今回研究者らは 15 個の tagSNP について中等度の標本サイズで統合失調症との相関を調べたが、これまでの報告と同様に研究者らも相関を見つけることはできなかった。さらに、TPH1 rs1800532 はこれまで統合失調症での相関が強いと言われていたため今回追実験を行ったが相関は認められず、またメタ解析においてもアジア人種での相関は見られなかった。最近報告された 3 つのメタ解析はいずれも白人種とアジア人種を合わせたものであり、アジア人種だけのものではない。TPH1 rs1800532 の A アレルの頻度はアジア人種と白人種では明らかに異なっている。このため今回研究者らはアジア人種のみを選んで解析を行った。

セロトニンの機能不全が統合失調症の発症機序に関与していることがこれまで様々な報告から示唆されている。TPH1、TPH2 はともにセロトニン伝達経路の調整に大きな役割をもっているため、その

遺伝子変異は症例対照研究の対象として適当である。しかしながら、最近のゲノムワイド相関研究ではまれなミスセンス変異や構造変異が主要な精神障害に関与していることが示されている。明らかな構造変異は統合失調症に相対的な危険を与えるだけでなく他の精神障害の発症にも寄与していると考えられている。それゆえに、SNP のような一般的な遺伝子変異による疾患脆弱性への影響を検出するのは限界がある。

今回の研究の限界点は 2 つある。1 つ目は標本数である。統合失調症相関研究における SNP の影響はオッズ比で 1.2 以下と言われている。このため、SNP の影響がないことを示すためには少なくとも症例、健常対照者それぞれ 1000 サンプル必要と考えられる。今回、TPH1 rs1800532 においてはメタ解析でそれぞれ 1000 サンプルを超えたが、TPH2 については 1000 サンプルに満たなかった。また、ハプロタイプ解析はより強く疾患表現系での有意差を検出する力があるので、今回有意差は見られなかったことは今後も注意深く検討する必要がある。二つ目は選択バイアスを完全に排除できていないということである。これは、対象者の精神状態を診断する構造化面接を使用しなかったためである。

TPH1 の遺伝子変異は自殺行動と関連があると推察されており、TPH2 の SNP もまた自殺行動への関連が集中的に調べられていることから、統合失調症罹患者の自殺行動との相関を調べることは興味深いかもしれない。

結論として、TPH1、TPH2 においてよく見られる遺伝子多型は日本人の統合失調症とは関連しないようである。ほとんどの精神障害の病態生理は多遺伝子性であり、ほとんどの精神医学的状態の病因は多因子性であることには留意しなければならないが、統合失調症の発症機序には遺伝的要素が関与している。統合失調症の新たな候補遺伝子を探索する今後の研究は、統合失調症のリスクが高い個人を同定する手助けとなり治療の一助となるであろう。

本研究は、統合失調症発症と関連すると考えられている遺伝子のうち、特にセロトニン系の遺伝子について研究したものであるが、従来十分な症例数に基づいた研究が行われてこなかった TPH1、TPH2 遺伝子多型について重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。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。