



# Association analysis of putative cis-acting polymorphisms of interleukin-19 gene with schizophrenia

Okazaki, Satoshi

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2015-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6366号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006366>

※ 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 analysis of putative cis-acting polymorphisms of interleukin-19 gene with schizophrenia

インターロイキン 19 遺伝子の推定シス作用性多型と統合失調症の関連解析

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：曾良一郎教授)

岡 崎 賢 志

## 〔概要〕

統合失調症は世界的に有病率約 1%のありふれた精神疾患であるが、その生物学的基盤は明らかでなく、診断や治療は症状と経過に依存しているというのが現状である。その原因は諸説提唱されておりまだ解明されていないが、様々な遺伝要因を背景に胎生期から思春期の環境要因が影響し、複数のメカニズムによって最終的な表現型に至る複雑遺伝疾患であると推定されている。

疫学研究により、妊娠中の母体ウイルス感染や産科合併症が、胎児が成長したときの統合失調症の発症リスクであることが従来から知られている。また近年の研究により、神経保護因子と神経変性因子の不均衡が統合失調症に関連し、特にサイトカインが重要な役割を果たしていることが示唆されている。サイトカインは感染や炎症で活性化され免疫反応を調節する液性因子であるが、脳内でも発現し神経発達に関与することが知られるようになった。これらのことから、遺伝的に特定のサイトカインの機能が変化している個体では、母胎ウイルス感染や産科合併症により統合失調症の発症リスクも変化する可能性が考えられる。

インターロイキン 19 (IL-19) は、2000 年に初めて報告されたサイトカインであり、IL-19 遺伝子は染色体 1q36 上に位置する 44.2kb の遺伝子である。IL-19 は抗炎症性サイトカインとして機能し、慢性炎症や自己免疫疾患との関連が報告されている。精神疾患との関連では、マウスにおいて精神的ストレスにより増加したとの報告があるが、統合失調症との関連は報告されていない。

最近のゲノムワイド関連研究 (GWAS) やマイクロアレイによる脳や細胞株における発現実験の結果から、統合失調症のような複雑遺伝疾患では、GWAS で検出される SNP よりも、発現量的形質遺伝子座 (eQTL) との関連がより強いことが示唆されている。そこで本研究では IL-19 遺伝子のプロモーター領域に位置する eQTL の SNPs に着目し、日本人の統合失調症における関連研究を行った。

## 〔対象および方法〕

### (対象)

対象は全て日本人とした。第一サンプル群として統合失調症患者 567 例 (男性 296 例; 平均年齢±標準偏差 53.4±14.5 歳、女性 271 例; 54.3±15.0 歳) と健常対照者 710 例 (男性 334 例; 52.5±18.8 歳、女性 376 例; 54.7±18.4 歳)、第二サンプル群として統合失調症患者 677 例 (男性 363 例; 39.5±13.3 歳、女性 314 例; 39.7±14.3 歳) と健常対照者 667 例 (男性 341 例; 36.7±9.5 歳、女性 326 例; 40.0±11.8 歳) を用いた。

### (SNP 解析)

mRNA by SNP Browser を用いて IL-19 の cis-acting SNPs がプロモーター領域に集積していることを確認し、Haploview Software により同領域における 8 つの tagSNPs

(rs3024496, rs1518111, rs1800872, rs1800896, rs4072226, rs885334, rs11119590, and rs4347211)を選定した。うち7つは cis-acting SNPs そのものである。患者と健常対象者の末梢血から DNA を抽出し、TaqMan 法を用いてジェノタイピングを行った。(統計)

患者群および健常対照群間で関連を、ジェノタイプ頻度についてはコ克蘭・アーミテージ検定、アレル頻度についてはカイ二乗検定、ハプロタイプ頻度についてはカイ二乗検定とフィッシャー正確確率検定により解析した。

#### [結果]

8つの tagSNPs は全ての群で Hardy-Weinberg 平衡に適合していた。ジェノタイプ頻度およびアレル頻度の解析については、第一群では個々の SNP に有意差を認めず、第二群では rs11119590 のジェノタイプ頻度 ( $p=0.020$ ) とアレル頻度 ( $p=0.020$ ) に名目上の有意差を認めたが検定の補正により有意差はなくなった。両群を併せた解析では、いずれの SNP でもジェノタイプおよびアレル頻度に統合失調症との有意な関連を認めなかった。

ハプロタイプ解析を行ったところ、8つの tagSNPs のうち、4つの SNPs(rs3024496, rs1518111, rs1800872, rs1800896)からなる第一 LD ブロックと、3つの SNPs(rs885334, rs11119590, rs4347211)からなる第二 LD ブロックを確認した。第一サンプル群では、第一 LD ブロックの TGAA ハプロタイプで有意差(nominally  $p=0.0036$ , corrected  $p=0.0264$ )を認めた。第二サンプル群では、第二 LD ブロックの GCA ハプロタイプで名目上の有意差 ( $p=0.021$ ) 認めた。両群をあわせて解析したところ、第一 LD ブロックの TGAA ハプロタイプでは名目上の有意差 ( $p=0.022$ ) を認めたが、第二 LD ブロックの GCA ハプロタイプでは有意差を認めなかった。

#### [考察]

遺伝要因と環境要因の相互作用は統合失調症の感受性において重要な役割を果たしている。また免疫系の不均衡は統合失調症の病態生理の一つと考えられているが、その詳細はよく解っていない。本研究で我々は IL-19 に着目し、IL-19 遺伝子のプロモーター領域の eQTL SNPs から tagSNPs を選定し関連解析を行った。そして TGAA ハプロタイプにおいて日本人の統合失調症患者群と健常対照群の間で名目上の有意差を認めた。その頻度は患者群(0.004)に対し健常対照群(0.010)でより高いことから、統合失調症の発症に防御的に機能していると考えられた。

本研究では、単一の SNP については IL-19 と統合失調症の有意な関連は見られなかった。サンプルサイズが小さすぎるため、統合失調症のようなありふれた疾患では SNP との関連が検出できなかったのかもしれない。TGAA ハプロタイプを構成する 4つの SNPs(rs3024496, rs1518111, rs1800872, rs1800896)について、本研究での頻度とサン

プル数に基づき検出力を計算したところ、0.156, 0.053, 0.050, 0.050 と小さかった。また本研究で対象とした SNPs のジェノタイプおよびアレル頻度の分布は人種間で大きく異なっていた。TGAA ハプロタイプの頻度も異なっており、白人と比較しアジア人およびアフリカ人では稀であった。よって本結果は特に白人において再検証することが望ましいと考えられる。

このような稀なハプロタイプが、どのように統合失調症のようなありふれた疾患と関連するのか、以下のように推測する。統合失調症の遺伝率は 60-80%と見積もられている。統合失調症のようなありふれた疾患には、効果は弱いが高頻度が高い変異が多数寄与するという common disease-common variant 仮説と、比較的強い効果を持つ稀な頻度の変異が少数関与するという common disease-rare variant 仮説が提唱されている。前者に基づく GWAS により複数の関連遺伝子や SNPs が同定されたが、統合失調症の高い遺伝率を説明するには及ばなかった。一方、後者に基づく研究では、コピー数変異 (CNV) が一部の統合失調症患者で決定的な役割を果たしていることが報告されている。実際のところ、頻度と効果のそれぞれにおいて広範囲にわたる多くの変異が統合失調症に関与していることが推定され、我々が特定した稀なハプロタイプもその一つであると考えられる。

IL-19 が最初に報告されて以来、引き続き研究により慢性炎症やいくつかの自己免疫疾患との関連が報告されてきた。それらの先行研究により IL-19 が免疫系の均衡に寄与することが示されたが、その機能の詳細は明らかになっていない。統合失調症と IL-19 の関連はこれまで報告されておらず、本研究はその嚆矢となり、免疫系の不均衡を一因とする統合失調症の病態生理に IL-19 が関与していることを示唆するものである。

本研究の限界として、サンプルサイズが十分でないこと、発現量に影響し得る喫煙歴を聴取していないこと、IL-19 の蛋白発現レベルを測定していないこと、特に脳内での発現を調べていないことが挙げられる。

結論として、IL-19 遺伝子のプロモーター領域におけるハプロタイプが統合失調症の発症に影響する可能性が示唆された。他の人種においても同様の研究がなされることが期待される。IL-19 遺伝子の統合失調症における役割をさらに解明することにより、治療や予防、創薬に寄与すると考えられる。

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲 第 2 4 8 0 号	氏 名	岡 崎 賢 志
論 文 題 目 Title of Dissertation	インターロイキン 19 遺伝子の推定シス作用性多型と統合失調症の関連解析 Association analysis of putative cis-acting polymorphisms of interleukin-19 gene with schizophrenia		
審 査 委 員 Examiner	主 査 上野 易弘 Chief Examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner 副 査 平井 みへり Vice-examiner		

（要旨は1，000字～2，000字程度）

統合失調症は有病率約1%のありふれた精神疾患であり、その原因に関しては種種の仮説が提唱されているが、未だに解明されていない。現時点では、様々な遺伝要因を背景に胎生期から思春期の環境要因が影響して、複数の機転を経て発症する遺伝性疾患であると推定されている。

統合失調症発症の危険因子の一つとして、妊娠中の母体のウイルス感染が知られている。又、近年の研究では、神経保護因子と神経変性因子の不均衡が統合失調症に関連し、その中でサイトカインが重要な役割を果たしている事が示唆されている。サイトカインは感染・炎症等で活性化され、免疫反応を調節する液性因子であるが、脳内でも発現し、神経発達に関与する為、遺伝的に特定のサイトカインの機能が変化した個体では、母体のウイルス感染等により、統合失調症の発症危険度が変化する可能性が考えられる。

本学位申請者はこのような推論に基づき、抗炎症性サイトカインであるインターロイキン 19（IL-19）に着目し、IL-19 遺伝子のプロモーター領域に位置する発現量の形質遺伝子座（eQTL）の SNPs と日本人の統合失調症との関連について検討した。

〔研究方法〕

日本人を対象とし、神戸と新潟で別々に統合失調症患者群（各各 567 人と 677 人）と健常対照者群（各各 710 人と 667 人）を構成した。IL-19 のプロモーター領域に存在する cis-acting SNPs から 8 つの tag SNPs を選定した。これらの患者と健常対照者の遺伝子型を判定し、患者群及び健常対照者群間での関連を、genotype 頻度及びアレル頻度について統計学的検定を行って解析した。

〔研究結果〕

8 つの tag SNPs は、単一の SNP としては神戸群及び新潟群、両群の統合群の解析に於いて、何れの tag SNPs についても genotype 頻度及びアレル頻度に統合失調症との有意な関連は認められなかった。

ハプロタイプ解析を行うと、8 つの tag SNPs のうち 4 つの SNPs からなる第一 LD ブロックの TGAA ハプロタイプについて、神戸・新潟統合群において名目上の有意差（ $p=0.022$ ）が認められた。即ち、TGAA ハプロタイプの頻度は日本人の統合失調症患者では 0.004、健常対照者群では 0.010 であり、健常対照者群で頻度が高い事より、統合失調症の発症に防禦的に機能していると考えられた。この研究結果並びに IL-19 は免疫系の均衡に寄与するサイトカインである事より、免疫系の不均衡を一因とする視点から統合失調症の病態生理を説明出来る可能性が示唆された。

本研究は、IL-19 遺伝子プロモーター領域に於ける eQTL の SNPs と日本人の統合失調症との関連について研究したものであるが、IL-19 遺伝子の tag SNPs のハプロタイプが統合失調症の発症に影響している可能性を示唆する結果を示し、従来行われなかった統合失調症と IL-19 との関連について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。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。