



Association analysis of the Cadherin13 gene with schizophrenia in the Japanese population

Otsuka, Ikuo

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2017-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6777号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006777>

※ 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 the *Cadherin13* gene with schizophrenia in the Japanese population

日本人統合失調症におけるカドヘリン 13 遺伝子の関連解析

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)

大 塚 郁 夫

<内容要旨>

研究の背景・意義

統合失調症は世界的に生涯有病率およそ 1%の重篤な精神疾患である。統合失調症の生物学的基盤についてはまだ不明な点が多いが、近年のゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) により、多数の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) との関連が報告されており、遺伝要因が注目されている。一方で、統合失調症患者の中枢神経系における形態学的異常としては、前頭前皮質や海馬など様々な領域における体積減少という肉眼的変化に加え、ニューロンのサイズ、形状、シナプス間の connectivity にも顕著な変化が見られることが指摘されている。よって、統合失調症には中枢神経系の形成や成熟に重要な遺伝子の異常が関わっている可能性があると考えられる。

Cadherin13 (CDH13) は細胞接着因子カドヘリンの一種で、神経発達段階の軸索形成や、神経成熟後の興奮性/抑制性シナプスの均衡維持に重要な寄与を果たすと考えられている。CDH13 は、精神疾患の中では注意欠陥多動性障害や物質関連障害との遺伝的関連が特に知られているが、統合失調症との遺伝的関連を示した研究は、2014 年に Borglum らが報告したデンマーク人サンプルを用いた GWAS のみである (同論文では CDH13 遺伝子イントロン領域にある rs8057927 が hit)。今回、我々は CDH13 遺伝子プロモーター領域の SNP 及び rs8057927 について、日本人統合失調症患者サンプル及び健常対照者サンプルを用いた候補遺伝子解析を行うことで、日本人統合失調症における CDH13 遺伝子の関連を探索したいと考えた。

方法

我々は解析対象のサンプルセットとして、1st セット(神戸大学保有のサンプル:統合失調症患者 665 名・健常者 760 名)と、replication 解析のための 2nd セット(新潟大学保有のサンプル:統合失調症患者 677 名・健常者 667 名)を用いて、SNP 解析を行うこととした。すべての対象者について、末梢血由来の DNA 試料を用いた。解析する SNP の選定については、HapMap database (release#27) 及び Haploview Software program (version 4.2)を用いて、CDH13 遺伝子プロモーター領域の連鎖不平衡ブロックから 5 つのタグ SNP (rs12925602、rs7193788、rs736719、rs6565051、rs7204454)を選定し、Taqman[®] Genotyping assays (Applied Biosystems[®])によるジェノタイピングを行った。また上記 5 つの SNP については、ハプロタイプの頻度についても、カイ二乗検定とフィッシャー正確確率検定により比較検討した。さらに先行文献で唯一統合失調症との関連が報告されている上述の rs8057927 について、タグ SNP である rs8049308 のプローブを用いて、1st セットにおける SNP 解析を行った。

結果

解析を行った 6 つの SNP はいずれも Hardy-Weinberg 平衡を満たした。アレル頻度をカイ二乗検定で、多型頻度を Cochran-Armitage 検定でそれぞれ比較検討したが、1st セット、2nd セット、及び 1st + 2nd セットのいずれのコホートにおいても、統合失調症患者と健常者の保有頻度で有意差を認めなかった(rs8049308 の解析は 1st セットのみ)。

続いて、CDH13 遺伝子プロモーター領域の 5 つの SNP (rs12925602、rs7193788、rs736719、rs6565051、rs7204454) のデータを用いて、ハプロタイプの保有頻度をカイ二乗検定・フィッシャー正確確率検定により比較検討したところ、一つのハプロタイプ GACAC の保有頻度について、1st セットの統合失調症患者群と健常者群の比較で有意差を認めた ($p = 0.016$)。この有意差は、1st セットと 2nd セットを combine した解析において、より顕著となった ($p = 0.0026$, corrected $p = 0.021$)。

考察

我々は CDH13 遺伝子プロモーター領域に 1 つの連鎖不平衡ブロックを形成する rs12925602、rs7193788、rs736719、rs6565051、rs7204454 という 5 つのタグ SNP の GACAG ハプロタイプについて、統合失調症との有意な関連を見出した。同ハプロタイプは健常者よりも統合失調症患者の保有頻度が低いため、統合失調症の罹患に対して protective な機能をもつのではないかと考えられた。

統合失調症の SNP 関連解析としては、2014 年に Psychiatric Genomics Consortium が発表した大規模 GWAS (3 万名以上の統合失調症患者及び 10 万名以上の健常対照者を対象) があり、同 GWAS では CDH13 遺伝子関連の SNP は一つも hit しなかった。ただし対象とした日本人統合失調症患者群・健常対照者群のサンプル数という点では、同 GWAS よりも本研究のほうが上回っている。今回調べた CDH13 遺伝子関連の SNP 頻度自体に大きな人種差が存在すること、また統合失調症の発症機序への CDH13 遺伝子の寄与に人種ごとの差異が存在する可能性があること、などが、先行する大規模 GWAS と本研究の結果の違いに影響しているかもしれない。同様に、先行研究のデンマーク人サンプルを用いた GWAS で統合失調症との関連が報告されていた rs8057927 のタグ SNP について、日本人サンプルを用いた本研究で replication に成功しなかった点についても、人種差の影響は否定できないと考えられる。

いずれにせよ、本研究で有意差を認めた GACAG ハプロタイプのような低頻度ハプロタイプの統合失調症罹患への影響力を真に実証するためには、より大規模な日本人サンプルを用いた解析が必要である。また CDH13 遺伝子プロモーター領域に位置する同ハプロタイプが CDH13 遺伝子発現に影響を及ぼすかについても、ルシフェラーゼリポーターアッセイなどを用いて、機能的解析を進める必要がある。

本研究は神戸大学遺伝子解析研究倫理審査委員会、新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会の承認を受けて遂行した。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2638号	氏 名	大塚 郁夫
論文題目 Title of Dissertation	日本人統合失調症におけるカドヘリン13遺伝子の関連解析 Association analysis of the Cadherin13 gene with schizophrenia in the Japanese population		
審査委員 Examiner	主 査 上野 易子 Chief Examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner 副 査 平井 みどり Vice-examiner		

（要旨は1,000字～2,000字程度）

統合失調症は有病率約1%の重篤な精神疾患であり、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。近年、ゲノムワイド関連解析により、一塩基多型（SNP）との関連性の存在が報告され、統合失調症発症に関する遺伝要因に注目が集まっている。

一方、形態学的研究では、統合失調症患者の前頭前皮質や海馬等の領域の体積減少、ニューロンの大きさ・形状・シナプス間の結合性にも変化が見られると指摘されている事より、統合失調症には中枢神経系の形成・成熟を司る遺伝子の異常が関わっている可能性が考えられる。

本学位申請者はこの様な推論に基づき、軸索形成や興奮性／抑制性シナプスの均衡維持に働くと考えられている細胞接着因子カドヘリン13（CDH13）に着目し、CDH13遺伝子プロモーター領域の5つのタグSNP及びデンマーク人試料で統合失調症との関連性が指摘されたCDH13遺伝子イントロン領域のSNPについて、日本人の統合失調症との関連の有無について検討した。

【研究方法】

日本人を対象とし、神戸大学保有試料（統合失調症患者665名、健常者760名）及び新潟大学保有試料（統合失調症患者677名、健常者667名）について、CDH13遺伝子プロモーター領域にある連鎖不平衡ブロックの5つのタグSNP及びCDH13遺伝子イントロン領域のタグSNPを調べた。統合失調症患者群と健常者群について、各SNPのアレル頻度及び多型頻度、更にCDH13遺伝子プロモーター領域の5つのSNPについてはハプロタイプ頻度を算出し、統計学的検定を行って解析した。

【研究結果】

上記6つのSNPは何れもHardy-Weinberg平衡を満たしていた。神戸大学群及び新潟大学群、両群の統合群の解析に於いて、6つのSNPのアレル頻度及び多型頻度は、統合失調症患者群と健常者群との間に有意差は認められなかった。

CDH13遺伝子プロモーター領域の5つのSNPについてハプロタイプの保有頻度を検討すると、ハプロタイプGACAGの保有頻度について、神戸大学保有試料で統合失調症患者群と健常者群との間に有意差（ $p=0.016$ ）が認められ、神戸・新潟統合群において有意差はより顕著となった（ $p=0.0026$ ）。GACAGハプロタイプの頻度は日本人の統合失調症患者群では0.006、健常者群では0.014であり、健常者群で保有頻度が高い事より、本ハプロタイプは統合失調症の罹患に対して防禦的機能を持つと推測された。

本研究結果は、2014年に行われた統合失調症のSNPに関する大規模ゲノムワイド関連解析に於いてCDH13遺伝子関連のSNPが一つも見出されなかった研究結果と異なっている。この様な研究結果の差異は、CDH13遺伝子関連のSNP頻度の人種差や、統合失調症発症機序へのCDH13遺伝子の寄与に人種差が存在する可能性によるものである可能性が考えられた。

本研究は、CDH13遺伝子プロモーター領域に於ける5つのSNP並びにCDH13遺伝子イントロン領域のSNP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、CDH13遺伝子プロモーター領域の5つのSNPのハプロタイプの一つが統合失調症の罹患に関連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カドヘリン13遺伝子と統合失調症罹患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。