統合失調症のゲノムワイド相関研究

高橋 栄 内山 真

日本大学医学部精神医学系精神医学分野

抄録 現在、統合失調症を含んだ common disease のゲノムワイド相関研究 (genome-wide association study: GWAS) が盛んに行われている。統合失調症に関しては、四つの大きな GWAS が施行されている。これらの GWAS により、統合失調症と以下の遺伝子の相関が示唆された：1) 6 番染色体の MHC (Major Histocompatibility Complex) 領域内の遺伝子、2) 2 番染色体の 2q32.1 領域にある ZNF804A 遺伝子。今後は、GWAS で得られた所見を基に、さらなる研究が進められていくと思われる。

はじめに

統合失調症は、幻覚・妄想を主症状とし、予後不良な患者も多い重篤な精神疾患である。その発病率は 1% と高く、common disease (一般的な疾患) の範疇に分類される¹⁾。しかし、いまだ病因や病態は解明しておらず、治療法も十分に確立されてはいない。今後、さらなる診断や治療法の発展のため、病因・病態の解明につながる研究が期待される。

統合失調症の発症には、遺伝的な要因の関与が示唆されている。その遺伝形式は、他の common disease と同じく多因子遺伝と考えられている。すなわち、統合失調症の発症には、多くの遺伝子と環境因の関与が示唆される^{2,3)}。このように、統合失調症を含んだ common disease は遺伝学的に複雑な疾患 (complex disease) である。

現在、complex disease の感受性遺伝子を同定する手段としては、ゲノムワイド相関研究 (genome-wide association study: GWAS) が最も注目されている⁴⁾。今回、1) まず GWAS について解説し、2) 次に、GWAS による統合失調症研究の最新の所見を示し、3) 最後に、今後の動向と我々の研究について言及する。

I. ゲノムワイド相関研究 (genome-wide association study: GWAS)

GWAS を理解するため、まず相関研究 (association study) について説明する。遺伝学的な相関研究とは、疾患と遺伝子の関連を検討する方法である。マーカーとして使われるのは一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism: SNP) が一般的である。SNP とは DNA 上の一塩基の違いである。例をあげれば、ある塩基配列が、あるヒトではアデニン (A) なのに対し、あるヒトではシトシン (C) といった違いである。ヒトによって違うのでマーカーとして用いることができる。A と C の割合を患者と健康者の間で比較する。その結果、患者で A が有意に多ければ、A が疾患と関係していると判断される。さらに、この A が存在する位置にある遺伝子が疾患と関連している可能性が示唆される。

最新の研究により (1000 人ゲノムプロジェクト: The 1000 Genomes Project), SNP は全染色体 (ゲノム) 上に約 1,500 万個存在することがわかった⁵⁾。全ゲノムは約 30 億の塩基配列からなるので、SNP は約 200 bp (base pair: 塩基対) に一つ存在することになる。GWAS では、数十万から数百万の SNPs を使い、1 から 22 番および性染色体 (X, Y 染色体) におよぶ全染色体を網羅的 (genome-wide) に解析する。SNP に関しては、全 SNP の中から解析に有用と判断されたものが選択され使用される。解析には 2 社のプラットフォームが使われ (Affymetrix 社, Illumina 社), これらは数十万から数百万の有用な SNPs が搭載されたアレイ・チップによって構成されている。対象は何千から何万人で行われる。complex disease の感受性遺伝子は、一つ一つの寄与率が低いことが予想される。よって、できるだけ対象数を増やし統計力をあげる必要がある。このように、大サンプルで全染色体を網羅的に検索し、どの SNP と疾患が関係しているかを検討するのが GWAS である。

GWAS の結果は、National Human Genome Research Institute (NHGRI) の Population Genomics/Catalog of Genome-Wide Association Studies (GWAS catalog: www.genome.gov/gwastudies) にまとめられている。2011 年 2 月 3 日の時点において、796 の論文が公開されており、3,943 の SNPs が有意と報告されている。また、2010 年 7 月の New England Journal of Medicine によれば、150 の疾患と形質に関する GWAS の報告があると述べられている⁴⁾。さらに、2010 年の Nature Genetics 誌では、10 月号までの論文の約半分が GWAS の報告であった。このように、GWAS によって多くの complex disease の感受性遺伝子が同定されようとしている。

II. 統合失調症のゲノムワイド相関研究 (GWAS)

統合失調症に関しては、四つの大きな GWAS が行われている。1) International Schizophrenia Consortium: ISC, 2) Molecular Genetics of Schizophrenia: MGC, 3) SGENE-plus, 4) Wellcome Trust Case Control Consortium: WTCCC のサンプルを中心とした GWAS である。これらは、最初に解析されるサンプル (initial sample) であり、このサンプルで全染色体を網羅する大量の SNPs を解析する。その結果、有意であった SNP に対し更に

Table 1 統合失調症の GWAS の概要

First Author/ Journal	Diag	Initial sample/ sample size	Meta-analysis sample size	SNP	P-value	Chr region	Gene
ISC, Nature 2009	SZ ^a	ISC	European	rs13194053	9.54×10^{-9}	6p22.1	MHC region; the nearest genes: histone cluster 1, H2ag (HIST1H2AG)
		European 3,322 cases	8,008 cases				
		3,587 controls	19,077 controls				and histone cluster 1, H2bj (HIST1H2BJ)
Shi, Nature 2009	SZ	MGC	European	rs13194053	9.54×10^{-9}	6p22.1	MHC region; the nearest genes: histone cluster 1, H2ag (HIST1H2AG)
		European 2,681 cases	8,008 cases				
		2,653 controls	19,077 controls				and histone cluster 1, H2bj (HIST1H2BJ)
Stefansson, Nature 2009	SZ	SGENE-plus	European	rs6932590	1.4×10^{-12}	6p21.1	MHC region; protease, serine, 16 (PRSS16)
		European 2,663 cases	12,945 cases				
		13,498 controls	34,591 controls				
O'Donovan, Nature Genetics 2008	SZ	WTCCC	Mixed sample	rs3131296	2.3×10^{-10}	6p21.32	MHC region; notch 4 (NOTCH4)
		European 479 cases	including Chinese and Japanese, etc.	rs1344706	4.1×10^{-13}	2q32.1	zinc finger protein 804A (ZNF804A)
		2,937 controls	21,274 cases (SZ and BP ^b) 38,675 controls (see reference 11)				

Abbreviations: Diag, diagnosis; SNP, single nucleotide polymorphism; Chr, chromosome; in initial sample, ISC, International Schizophrenia Consortium; MGC, Molecular Genetics of Schizophrenia; WTCCC, Wellcome Trust Case Control Consortium.

^aschizophrenia; ^bbipolar disorders

サンプル (replication sample) を追加し、確認のための追試を行う。最終的には、それぞれの研究を統合して解析 (meta-analysis) し、大サンプルでの最終決定を行う。

Table 1 に四つの GWAS 論文の概要を示す。ISC の論文では、European を対象に、3,322 人の統合失調症患者と 3,587 人の健常者に対し 739,995 個の SNPs を解析した⁶⁾。MGC の論文でも、European を対象に、2,681 人の患者と 2,653 人の健常者に対し 843,798 個の SNPs を解析した⁷⁾。その結果、いくつか有意な SNPs が得られた。最終的には、それらの SNPs を ISC, MGC, SGENE-plus の一部を合わせたサンプル (European, 8,008 人の患者と 19,077 人の健常者) で meta-analysis した。このメタ解析では、6 番染色体の 6p22.1 にある SNP: rs13194053 において最も強い相関 ($P = 9.54 \times 10^{-9}$) がみられた (rs13194053 とは、rs ナンバーといって、米国の NCBI: National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> が管理している SNP を識別するための世界共通の番号である)。この領域は MHC (Major Histocompatibility Complex) と呼ばれ、遺伝子が多く集まっており、他の内科的疾患の感受性遺伝子が幾つか同定されている。rs13194053 は、MHC 内の histone protein 遺伝子クラスターの近傍にあり、最も近い遺伝子は histone cluster 1, H2ag (HIST1H2AG) と histone cluster 1, H2bj (HIST1H2BJ) である。

SGENE-plus の論文では、European を対象に、2,663 人の統合失調症患者と 13,498 人の健常者に対し 314,868 個の SNPs を解析した⁸⁾。その結果、いくつか有意な SNPs が得られた。この研究では、独自のサンプルを可能な限り増やしていった。最終的には、initial sample で有意であった SNPs を、拡大させた自身のサンプルに ISC と MGC を合わせて meta-analysis した (European, 12,945 人の患者と 34,591 人の健常者)。その結果、この研究でも 6 番染色体の MHC 領域で有意な所見が得られ、SNPs: rs6932590 (6p21.1; $P = 1.4 \times 10^{-12}$) と rs3131296 (6p21.32; $P = 2.3 \times 10^{-10}$) で強い相関が認められた。rs6932590 は PRSS16 遺伝子 (protease, serine, 16) の近傍に、rs3131296 は NOTCH4 遺伝子 (notch4) 内に位置している。NOTCH4 は、以前から統合失調症の候補遺伝子として注目されている。我々も、統合失調症と NOTCH4 遺伝子の関連を報告している⁹⁾。

WTCCC の論文では、European を対象に、479 人の統合失調症患者と 2,937 人の健常者に対し 362,532 個の SNPs を解析した¹⁰⁾。その結果、いくつか有意な SNPs が得られた。この研究では、日本なども含めた世界的な共同研究を行った。最終的には、initial sample で有意で

あった SNPs を、いくつかの民族を含んだ大サンプルで meta-analysis した (7,308 人の患者と 12,834 人の健常者)。その結果、2 番染色体の 2q32.1 領域にある SNP: rs1344706 において最も強い相関が認められた ($P = 1.95 \times 10^{-7}$)。この研究は更に進展しており、より大きなサンプルを用いて上記の SNP が追試された¹¹⁾。追試研究では、対象数を最大限に増やすため、患者の対象を統合失調症と躁うつ病とした。対象数は、21,274 人の患者と 38,675 人の健常者となり、rs1344706 の P 値は 4.1×10^{-13} となった。この SNP は ZNF804A 遺伝子 (zinc finger protein 804A) 内にある。

おわりに

現在、統合失調症を含めた complex disease の GWAS が盛んに行われている。その結果、統合失調症の感受性遺伝子が明らかにされつつある。今後は、GWAS で得られた所見を基に、さらなる研究が進められていくと思われる。現在、我々も GWAS の meta-analysis を計画している。それにより、統合失調症・感受性遺伝子の同定に寄与できればと考えている。

文 献

- 1) Os JV, Kenis G, Rutten BP. The environment and schizophrenia. *Nature* 2010; **468**: 203–212.
- 2) Tsuang M. Schizophrenia: genes and environment. *Biol Psychiatry* 2000; **47**: 210–220.
- 3) Tsuang MT, Faraone SV. The case for heterogeneity in the etiology of schizophrenia. *Schizophr Res* 1995; **17**: 161–175.
- 4) Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med* 2010; **363**: 166–176.
- 5) Durbin RM, Abecasis GR, Altshuler DL, et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010; **467**: 1061–1073.
- 6) Purcell SM, Wray NR, Stone JL, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; **460**: 748–752.
- 7) Shi J, Levinson DF, Duan J, et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 2009; **460**: 753–757.
- 8) Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 2009; **460**: 744–747.
- 9) Takahashi S, Cui YH, Kojima T, et al. Family-based association study of the NOTCH4 gene in schizophrenia using Japanese and Chinese samples. *Biol Psychiatry* 2003; **54**: 129–135.
- 10) O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 2008; **40**: 1053–1055.
- 11) Williams HJ, Norton N, Dwyer S, et al. Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2010; [Epub ahead of print].