

第 107 回日本精神神経学会学術総会
精神医学奨励賞受賞講演

統合失調症の遺伝学的研究 ——全ゲノム関連研究 (GWAS) を中心に——

池田 匡志 (藤田保健衛生大学医学部精神神経科学)

1. はじめに

統合失調症を対象とした双生児研究や家系研究などの遺伝疫学的な研究では、遺伝的要因が統合失調症感受性（脆弱性）に大きな役割を果たしていることを示している。推定される遺伝率は、約 80% と複数の研究で一致しており、これらの知見から、遺伝子から統合失調症感受性にアプローチすることの意義が裏付けられる。90 年代に入り、分子遺伝学的手法が進展するとともに、家系をターゲットとした連鎖解析や、生物学的な知見を基に選出した「候補遺伝子」と疾患との関連を検討する研究が盛んに行われてきた。しかし、こうしたアプローチから確定的と認識されている遺伝子は、スコットランドの家系から同定された *DISC1* (Disrupted in Schizophrenia 1) のみである¹⁾。したがって、少なくとも小規模の家系を用いた連鎖解析や、候補遺伝子アプローチを用いた関連解析は、サンプル数不足や「候補遺伝子」の選択自体にバイアスが入っている可能性が高いなどの理由から、確定的なリスク遺伝子の同定に失敗していると言える。別の視点で考えると、期待するほど大きな effect size のリスク遺伝子は存在しないこと、あるいは真のリスク遺伝子は、既知のメカニズムに関連するのではなく、未知の遺伝子である可能性が示唆される。

2000 年以降、分子遺伝学的方法論は加速度的に進化した。その恩恵により、疾患と遺伝子の関連を網羅的に検討する研究が一般化してきた。その 1 つが、50~100 万個の遺伝子多型（一塩基多型 single nucleotide polymorphism : SNP）を用

いた全ゲノム関連研究 (genome-wide association study : GWAS, DNA チップを用いる) である。最近では、かなり安価な価格設定で利用可能となっており、糖尿病、クローン病など、精神疾患以外の複雑疾患に対するリスク遺伝子同定に成功している。この方法論では、生物学的仮説に縛られてしまうという「候補遺伝子アプローチ」の弱点を克服可能である一方、膨大な多重比較を行うために、厳しい有意水準 (genome-wide significance という。一般的に 5×10^{-8} 以下の P 値が必要とされる) が必要である。すなわち、網羅的であるがゆえの弱点を抱える方法論であるとも言える。

2. 統合失調症の GWAS

2007 年以降、統合失調症に関する GWAS は、すでに 11 個報告され、少数であるが、確定的と言える有意水準のリスク遺伝子が同定され始めている。その代表的なものは、Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC) が報告した *ZNF804A* (zinc finger protein 804A)⁶⁾、International Schizophrenia Consortium (ISC)⁵⁾、Molecular Genetic Consortium (MGS)⁸⁾、S-GENE⁹⁾ が共通して報告した 6 番染色体の MHC 領域である。また、最近では、複数の GWAS をメタ解析するメガ解析も実施された。そのサンプル数は、過去にない大規模なものであり（最初のスクリーニングに用いたサンプル：統合失調症 = 9,394、健常対照者 = 12,462、確認用に用いたサンプル：統合失調症 = 8,442、健常対照者 =

表 Polygenic component 解析で比較したサンプル

| test | Discovery サンプル | case: control | Target サンプル | case: control |
|------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|
| 1* | JPN_1 st | 280: 274 | JPN_2 nd | 280: 274 |
| 2 | JPN | 560: 548 | UK SCZ | 479: 2,938 |
| 3 | JPN | 560: 548 | UK BP | 1,868: 2,938 |
| 4 | UK SCZ | 479: 2,938 | JPN | 560: 548 |
| 5 | UK BP | 1,868: 2,938 | JPN | 560: 548 |

*JPN データをランダムに2群 (JPN_1st, JPN_2nd) に分割することを1,000回繰り返した結果を示す

JPN: 日本人サンプル, UK SCZ: 英国人統合失調症サンプル, UK BP: 英国人双極性障害サンプル

21,397), 新規5領域を含む少なくとも7個の領域がリスクとして報告された⁷⁾.

しかし, これらの結果は, 他の複雑疾患のリスク SNP の数と比較して, かなり少ないと言える. このことは, 疾患の診断異質性などの理由により, effect size がより小さくなり, その結果, 偽陰性を起こしている可能性が推察される.

3. 統合失調症のリスクと polygenic component 解析

ISC は, 多くの SNP の集合が疾患に相加的に寄与することを想定する polygenic モデルに着目し, 疾患と関連する可能性のある SNP の総数から polygenic score という指標を計算した. そして, この score を, 症例と健常対照者とで比較する方法を提唱し, polygenic component 解析と命名した⁵⁾. 以下, この解析の概要を説明する. この解析では, 少なくとも2個の独立した GWAS データセットが必要となる. まず, 1つ目の GWAS サンプル (discovery セット) で一般的な関連解析を行い, 非常に緩い有意水準 (例えば $P < 0.5$) を設定, そこでの“リスクアレル” (アレル: 対立遺伝子のことで, 相同な遺伝子座を占める遺伝子のこと) を定義する. 一方で, 独立した GWAS データセット (target セット) で各 SNP の遺伝子型の分布を決定する. さらに, discovery セットで決定された“リスクアレル”の総数を target セットのすべてのサンプルでカウントし, 症例と健常対照者でその総数の平均に

差があるかを検討する (実際の polygenic score は, effect size で乗するなど複数のステップで計算されるが, ここでは省略する).

ISC の結果では, $P_T < 0.5$ ($P_{\text{threshold}}$: discovery セットの P 値で, それ以下の SNP すべて含むことになる. すなわちこの場合は, $0 < P < 0.5$ を示す, 全体の中の半分の SNP) のところで, ISC データを discovery セット, MGS-EA (European American) を target セットとした場合, P が 2×10^{-28} という差を検出した. これは, リスク SNP が確実に DNA チップ上に存在することを暗に意味する. しかし, 寄与率は3%程度であり, 分離能が低いため, この方法は現状で診断などに利用できないことに留意が必要である (なお, 最新のメガ解析を用いた結果では, 寄与率は6%と上昇している). また, 興味深いことに, target セットを双極性障害の GWAS を用いた場合でも, 有意な差を検出し, 統合失調症と双極性障害の共通するリスクの存在を証明した.

4. 日本人サンプルを用いた polygenic component 解析

—日本人内および日本人と英国人サンプルの比較

本研究では, 日本人統合失調症 548 名, 健常対照者 564 名を用い, GWAS を行った. DNA チップは, Affymetrix Genome-Wide Human SNP array 5.0 を用いた.

個々のリスク SNP に関して, 200 個を独立したサンプルを使用して追試を行った. しかし,

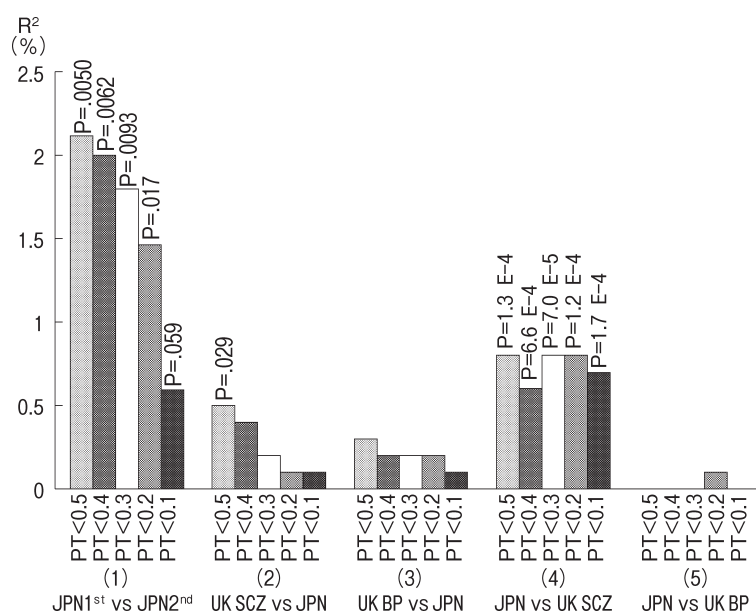


図 日本人内および日本人と英国人サンプルの比較

JPN_1st, JPN_2nd: JPN データをランダムに2群に分割, JPN: 日本人サンプル, UK SCZ: 英国人統合失調症サンプル, UK BP: 英国人双極性障害サンプル (文献2) より改変引用)

genome-wide significance を超える P 値を検出することはできなかった²⁾。

続いて, polygenic component 解析を ISC と同一の方法で施行した。比較としては表に示す組み合わせで行った^{2,6,10)}。なお, 日本人サンプルについては, 症例と健常対照者をランダムに分割することを1,000回繰り返し, そのメジアンから P 値と寄与率を算出した。

その結果, 日本人内を比較した場合, $P_T < 0.5$ で最も有意な差を検出した。このことは, 片方のサンプルから定義した“リスクアレル”が, 別のサンプルの統合失調症に有意に多く認められることを示唆する。同様に, 日本人と英国人の比較では, 英国人統合失調症を用いた場合に有意な差が同定されたが, 英国人双極性障害サンプルでは, 統計的有意差を認めなかった (図)。

5. 考 察

本結果は, ISC が提唱した polygenic compo-

nent 解析の初めての追試研究となった。特に, 日本人内での結果は, 寄与率が約2%を示し, ISC の3%という結果と大きな差は認められなかった。我々のサンプル数が非常に少ないことを考え合わせると, おそらく日本人サンプルが極めて均一な集団であることが1つの要因として考えられる。

また, 日本人と英国人統合失調症サンプルを比較することで, 両民族に共通するリスクが存在することを証明した。民族差による寄与率の低下は認められたものの, discovery サンプルを日本人統合失調症, target サンプルを英国人統合失調症の組み合わせでは P 値が 10^{-5} レベルであることは着目に値する。反対の方向性の比較, すなわち discovery サンプルを英国人統合失調症, target サンプルを日本人統合失調症の組み合わせでは, 同程度の寄与率であるにもかかわらず, P 値は0.029である。これは, target のサンプル数が少数であることが原因と推測され, サンプル数

を拡大すれば同程度の有意差が得られると考えられる。

一方、日本人統合失調症と英国人双極性障害の組み合わせでは、共通リスクは同定できなかった。既報の白人結果では、有意差を得ていることを考慮すると、両疾患の共通性は民族差より小さいものであることが推測される。

いずれにせよ、今後日本人サンプル数の拡大を図ることは必須であり、より正確な結果を得た上で共通性、民族差を検討していく必要がある。

謝 辞

本研究は、様々な方のご協力のもとに行われました。研究にご参加いただいた被験者の方に感謝申し上げます。また、いつも指導していただいている藤田保健衛生大学岩田伸生教授、名古屋大学尾崎紀夫教授、留学中の host professor である Cardiff 大学 M. O'Donovan 教授、その他多くの先生方のご指導、ご協力に対し、この場をお借りして感謝申し上げます。

なお、受賞対象となった論文は3報ありますが²⁻⁴⁾、本報告では、特に日本人統合失調症の GWAS についての結果を報告させていただきました。

文 献

1) Blackwood, D.H., Fordyce, A., Walker, M.T., et al.: Schizophrenia and affective disorders cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet*, 69 (2); 428-433, 2001

2) Ikeda, M., Aleksic, B., Kinoshita, Y., et al.: Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. *Biological Psychiatry*, 69 (5);

472-478, 2011

3) Ikeda, M., Aleksic, B., Kirov, G., et al.: Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. *Biological Psychiatry*, 67 (3); 283-286, 2010

4) Ikeda, M., Tomita, Y., Mouri, A., et al.: Identification of novel candidate genes for treatment response to risperidone and susceptibility for schizophrenia: integrated analysis among pharmacogenomics, mouse expression, and genetic case-control association approaches. *Biological Psychiatry*, 67 (3); 263-269, 2010

5) International Schizophrenia Consortium, Purcell, S.M., Wray, N.R., et al.: Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460 (7256); 748-752, 2009

6) O'Donovan, M.C., Craddock, N., Norton, N., et al.: Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nature genetics*, 40 (9); 1053-1055, 2008

7) Ripke, S., Sanders, A.R., Kendler, K.S., et al.: Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nature genetics*, 43 (10); 969-976, 2011

8) Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., et al.: Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature*, 460 (7256); 753-757, 2009

9) Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., et al.: Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, 460 (7256); 744-747, 2009

10) The Wellcome Trust Case Control Consortium: Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447 (7145); 661-678, 2007