

「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術」  
平成15年度採択研究代表者

有波 忠雄

(筑波大学大学院人間総合科学研究科 教授)

## 「大規模共同研究による統合失調症遺伝子の探索」

### 1. 研究実施の概要

統合失調症の発症は遺伝因子の影響を強く受けており、関連遺伝子の同定により病態の解明、有効な治療法・予防法の開発、テーラーメイド医療の実現が期待されている。しかし、統合失調症に対する個々の遺伝子の影響力は小さく、遺伝解析には大規模なサンプルが必要である。日本では1997年より統合失調症の連鎖解析のためのサンプル収集を目的にオールジャパン体制のJSSLGが活動してきた。本研究は、JSSLGサンプルを対象とした連鎖解析を中心に据え、さらに全ゲノム関連解析、脳の発現解析、プロテオーム解析のデータを補足して日本人における統合失調症の関連遺伝子の同定をめざすこと、および、治療反応性、副作用予測に利用可能な関連SNPsの同定とSNPsセットを作成することを目的としている。

この研究はサンプルの収集がもっとも困難な面だが、これまでで研究対象のサンプリングはほぼ終了し、また解析手段の検討も終了し、SNPタイピングなど解析の段階に入った。次の2年間で成果が得られ、目的の達成のめどが立つと予想される。

### 2. 研究実施内容

#### 【研究目的と方法】

##### 連鎖解析

本年度の目的は連鎖解析を開始する段階までサンプルを収集するJSSLGの活動をサポートし、サンプルの整理やサンプルの品質管理もあわせて行うこととJSSLGではカバーしきれないTDTや症例・対照解析サンプルの手当であった。これらの目的は達成された。

連鎖解析は平成16年度末まで収集された連鎖用家系サンプルを対象にIllumina Linkage set ver 4を用いてタイピングを行った。一部、サンプル量の不足のため、全ゲノム増幅したサンプルも加えた。収集された家系は300家系近くになったが、連鎖に適さない家系、DNAのdegradationのため解析できなかった家系が含まれていたため、最終的に解析された家系は236家系となった。これらの連鎖用家系はすべてタイピングは成功した。これにより、連鎖解析の家系情報量は約400のマイクロサテライトマーカーを用いたときの0.4～0.6に比べて、0.6～0.8と上昇した。さらに、日本全国にわたって収集したサンプルであ

るため地域別のstratificationも可能性があるので、STRUCTUREプログラムを使って家系の発端者の集団構造を102 SNPsで検討した。その結果、stratificationは検出されず、サンプルすべてを一緒に解析することの問題点は検出されなかった。

#### マイクロサテライトマーカー

全 24,691 マイクロサテライトマーカーを症例100、対照100のプールDNAで解析した。6,667 マーカーが終了し、6,188 マーカーからデータ取得できた。その結果、819 マーカーにおいて有意差 ( $P < 0.05$ ) を認めた。

#### トランスクリプトーム解析

トランスクリプトーム解析により非患者脳と比較して患者脳で遺伝子発現の変化のあった遺伝子118遺伝子について各々遺伝子ごとに1~8 SNPsを192症例・192対照解析でスクリーニングし、1遺伝子において関連が示唆された。関連が示唆されたSNPはプロモーター領域で遺伝子型と死後脳でのmRNA量とも関連していた。

#### 抗精神病薬反応性及び副作用脆弱性

抗精神病薬による遅発性ジスキネジアを中心とした錐体外路症状脆弱性のサンプルの解析を可能な状態にし、10万SNPsチップによるスクリーニングを開始した。さらに、抗精神病薬反応性のサンプルを解析可能な状態にした。

#### **【結論】**

平成16年度はサンプル、SNPタイピング法、解析法を含めて解析直前の段階まで持って行き、平成17年度において解析し、成果を上げるようにすることが主な目的であった。その点では目的は達成され、一部前倒して解析をすすめることができた。一方、トランスクリプトーム解析に基づく関連遺伝子の同定は118候補遺伝子を解析してわずか1遺伝子において関連が示唆されたのみであり、このアプローチは比較的高率の悪い方法と結論できるかも知れない。なお、この遺伝子と統合失調症との関連は機能的にさらに追求の必要がある。統合失調症の死後脳解析では非患者に比べて発現量の差は比較的小さいことなど種々の制約が統合失調症のこのアプローチの有効性を減弱しているものと推測された。

### 3. 研究実施体制

#### 連鎖・SNP解析グループ

- ①研究分担グループ長：有波忠雄（筑波大学基礎医学系、教授）
- ②研究項目：研究全体の統括、全ゲノムSNPsタイピング法決定及び実践、遺伝子発現に基づく候補遺伝子の関連解析

#### 家系収集統括グループ

- ①研究分担グループ長：岡崎祐士（三重大学医学部、教授）
- ②研究項目：日本人統合失調症遺伝子研究の大規模共同研究グループJSSLGのサンプル収集の統括

#### 家系収集集積・管理グループ

- ①研究分担グループ長：今村明（長崎大学医学部講師）

②研究項目：連鎖および連鎖不平衡・関連の確認のためのサンプル収集および臨床データの解析、多施設よりの収集されたサンプルの集配と二次匿名化

#### マイクロサテライト解析グループ

①研究分担グループ長：服巻保幸 遺伝情報実験センター（九州大学生体防御医学研究所、教授）

②研究項目：マイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症の全ゲノム連鎖不平衡解析

#### 関連解析グループ

①研究分担グループ長：吉川武男（理化学研究所 脳科学総合研究センター、チームリーダー）

②研究項目：罹患同胞対家系及びTDT用の家系収集およびSNPsによる全ゲノム関連解析

#### 薬剤反応性解析グループ

①研究分担グループ長：尾崎紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科、教授）

②研究項目：統合失調症患者の抗精神病薬による効果・反応性および副作用に関するサンプルの収集と薬物代謝候補遺伝子の解析

#### 遺伝子発現解析グループ

①研究分担グループ長：加藤忠史（理化学研究所 脳科学総合研究センター、チームリーダー）

②研究項目：統合失調症の死後脳の遺伝子発現プロファイルによる候補遺伝子の検出

#### 脳サンプル収集・調整グループ

①研究分担グループ長：糸川昌成（東京都精神医学総合研究所、部長）

②研究項目：統合失調症患者の死後脳のmRNAおよびタンパク質解析用サンプルの調整

#### プロテオーム解析グループ

①研究分担グループ長：朝田隆（筑波大学臨床医学系、教授）

②研究項目：統合失調症患者の髄液サンプルの収集、プロテオーム解析

## 4. 主な研究成果の発表

### (1) 論文発表

○ Ohtsuki T, Inada T, Arinami T: Failure to confirm association between AKT1 haplotype and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Mol Psychiatry* 9(11):981-983, 2004

○ Iijima Y, Inada T, Ohtsuki T, Senoo H, Nakatani M, Arinami T: Association between chromogranin B gene polymorphisms and schizophrenia in the Japanese population. *Biol Psychiatry* 56: 10-16, 2004

○ Yu SY, Takahashi S, Arinami T, Ohkubo T, Nemoto Y, Tanabe E, Fukura Y, Matsuura M, Han YH, Zhou RL, Shen YC, Matsushima E, Kojima T: Mutation screening and association study of the beta-adrenergic receptor kinase 2

- gene in schizophrenia families. *Psychiatry Res* 125(2):95-104, 2004
- Horiuchi Y, Nakayama J, Ishiguro H, Ohtsuki T, Detera-Wadleigh SD, Toyota T, Yamada K, Nankai M, Shibuya H, Yoshikawa T, Arinami T: Possible association between a haplotype of the GABA-A receptor alpha 1 subunit gene (GABRA1) and mood disorders. *Biol Psychiatry* 55(1):40-45, 2004
  - Ohtsuki T, Tanaka S, Ishiguro H, Tanabe E, Yara K, Okubo T, Takahashi S, Matsuura M, Sakai T, Muto M, Matsushima E, Noguchi E, Toru M, Inada T, Takuya Kojima T, Arinami T: Failure to find association between PRODH deletion and schizophrenia: population screening using simple PCR method. *Schizophr Res* 67(1):111-113, 2004
  - Aoki-Suzuki M, Yamada K, Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Ohba H, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Suto Y, Nakatani N, Dean B, Nishimura S, Seki K, Kato T, Itohara S, Nishikawa T, Yoshikawa T: A family-based association study and gene expression analyses of netrin-G1 and -G2 genes in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 57(4):382-93, 2005.
  - Ide M, Muratake T, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Kaneko N, Minabe Y, Nakamura K, Kato T, Mori N, Asada T, Someya T, Yoshikawa T: Genetic and expression analyses of FZD3 in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 56(6):462-5, 2004.
  - Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Inada T, Ozaki N: Association of AKT1 with schizophrenia confirmed in a Japanese population. *Biol Psychiatry*. 56(9):698-700, 2004.
  - Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N: No association of GSK3beta gene (GSK3B) with Japanese schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 134(1):90-2, 2005.
  - Iwamoto K, Bundo M, Kato T: Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet*. 14(2):241-53, 2005.
  - Iwamoto K, Bundo M, Washizuka S, Kakiuchi C, Kato T: Expression of HSPF1 and LIM in the lymphoblastoid cells derived from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *J Hum Genet*. 49(5):227-31, 2004.
  - Iwamoto K, Kakiuchi C, Bundo M, Ikeda K, Kato T: Molecular characterization of bipolar disorder by comparing gene expression profiles of postmortem brains of major mental disorders. *Mol Psychiatry*. 9(4):406-16, 2004.
  - Iwata N, Suzuki T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Inada T, Ozaki N: No association with the neuregulin 1 haplotype to Japanese schizophrenia. *Mol*

*Psychiatry*. 9(2):126-7, 2004

- Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Itokawa M, Toyota T, Meerabux JM, Minabe Y, Mori N, Inada T, Yoshikawa T: Extended analyses support the association of a functional (GT)<sub>n</sub> polymorphism in the GRIN2A promoter with Japanese schizophrenia. *Neurosci Lett*. 378(2):102-105, 2005.
- Kakiuchi C, Ishiwata M, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Kato T: Association of the XBP1-116C/G polymorphism with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatry Clin Neurosci*. 58(4):438-40, 2004.
- Kockelkorn TT, Arai M, Matsumoto H, Fukuda N, Yamada K, Minabe Y, Toyota T, Ujike H, Sora I, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M: Association study of polymorphisms in the 5' upstream region of human DISC1 gene with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 368(1):41-45, 2004.
- Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S: A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2005 Mar 16;376(3):182-7, 2005
- Munakata K, Iwamoto K, Bundo M, Kato T: Mitochondrial DNA 3243A>G mutation and increased expression of LARS2 gene in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 57(5):525-32, 2005.
- Saito S, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Takahashi N, Inada T, Ozaki N: No association was found between a functional SNP in ZDHHC8 and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Neurosci Lett*. 374(1):21-4, 2005
- Takaki H, Kikuta R, Shibata H, Ninomiya H, Tashiro N, Fukumaki Y: Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 8 gene (GRM8) with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 128(1):6-14, 2004.
- Toyota, T., Yoshitsugu, K., Ebihara, M., Yamada, K., Ohba, H., Fukasawa, M., Minabe, Y., Nakamura, K., Sekine, Y., Takei, N., Suzuki, K., Itokawa, M., Meerabux, J.M.A., Iwayama-Shigeno, Y., Tomaru, Y., Shimizu, H., Hattori, E., Mori, N., Yoshikawa, T: Association between schizophrenia with ocular misalignment and polyalanine length variation in PMX2B. *Hum. Mol. Genet*. 13: 551-561, 2004.
- Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Yoshida Y, Toyota T, Itokawa M, Hattori E, Shimizu H, Yoshikawa T: Family-based association study of schizophrenia

with 444 markers and analysis of a new susceptibility locus mapped to 11q13.3. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 127(1):11-19, 2004.

- Yamada K, Nakamura K, Minabe Y, Iwayama-Shigeno Y, Takao H, Toyota T, Hattori E, Takei N, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y, Miyoshi K, Honda A, Baba K, Katayama T, Tohyama M, Mori N, Yoshikawa T: Association analysis of FEZ1 variants with schizophrenia in Japanese cohorts. *Biol Psychiatry*. 56(9):683-690, 2004.