

主論文の要旨

**COMMON VARIANTS IN *BCL9* GENE AND
SCHIZOPHRENIA IN A JAPANESE POPULATION:
ASSOCIATION STUDY, META-ANALYSIS AND
COGNITIVE FUNCTION ANALYSIS**

〔 日本人における *BCL9* 遺伝子のコモンバリエントと
統合失調症：関連研究、メタ解析と認知機能解析 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻
脳神経病態制御学講座 精神医学分野

(指導：尾崎 紀夫 教授)

椎野 智子

【はじめに】

統合失調症は、生涯有病率が約 1%と、比較的頻度の高い疾患である。統合失調症において家族歴は重要な危険因子とされ、遺伝率は 64%と推定されるが、遺伝的基盤は未だ明らかになっていない。

近年、いくつかの B 細胞 CLL /リンパ腫 9 遺伝子 (*BCL9*) バリエントは中国人における統合失調症と関連するが、コーケシアンにおける双極性障害には関連していないことが報告された。また、別の研究では、*BCL9*内のコモンバリエントと統合失調症患者の陰性症状との間の遺伝的関連についてエビデンスが示された。*BCL9* は統合失調症と関連する領域とされる染色体 1q21.1 に位置する。また、この遺伝子変異に関連した知的障害や学習の問題は通常軽度であるが、1q21.1 微小欠失を持つ子供の約 75 % に発達の遅れがみられる。さらに、自閉症は 1q21.1 重複症候群で有意に高頻度であるが、統合失調症は、1q21.1 欠失症候群との組み合わせで有意に高頻度である。

生物学的観点から、*BCL9* は Wnt シグナル伝達経路において必要とされるが、これは神経可塑性、細胞生存、および成体神経新生に影響を与えるものであり、精神障害はこれらの機能障害を伴うことが示唆されている。*BCL9* は統合失調症において注目すべき候補遺伝子であるが、未だ日本人では調査されていない。そこで我々は、*BCL9* で一般的な遺伝子多型 (SNP) の関連や、大規模な日本人サンプルを用いてリスクの検討を行い、さらに近年の研究で用いた日本人のサンプルセットと中国人のサンプルセットでのメタ解析を行った。また *BCL9* における SNP とヒトの認知機能的側面との潜在的关系を探った。

【対象および方法】

被験者

本研究は名古屋大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得て実施した。すべての被験者に対し文書によるインフォームドコンセントを行った。統合失調症の診断基準は DSM-IV を用いた。JGWAS サンプルは統合失調症患者 575 名 (43.5 ± 14.8 歳、男性 50 %) と、精神疾患の既往歴および家族歴のない健常者 564 名 (44.0 ± 14.4 歳、男性 49.8%) で構成された。SNP 関連解析のために、独立した日本のサンプルセット (レプリケーションサンプル) として統合失調症患者 1464 名 (45.9 ± 14.2 歳、男性 54.5%) と健常者 1171 名 (48.06 ± 14.48 歳、男性の 47.3%) を用いた。また認知機能の解析のために、統合失調症患者 115 名 (45.3 ± 14.2 歳、男性 64.3%) と健常者 87 名 (26.3 ± 7.7 歳、男性 63.2%) の検査データを用いた。

SNP の選択

中国人における *BCL9* の先行研究から、最も p 値の低い SNP (rs672607、A>G、P = 1.23 × 10⁻¹¹) を選択した。JGWAS データセットから、*BCL9*+10 パーセント領域にある p<0.05 の SNP は 3SNP (rs1716025、rs17160264、rs10494252) であった。我々はこの 3SNP のうち、日本人での r² が高い (>0.95) 1SNP (rs10494252、A>G、P = 0.0369) を選択した。

遺伝子型決定とデータ解析

DNA は標準プロトコルに従い、末梢血から抽出した。遺伝子型決定には、fluorescence-based allelic discrimination assay (Taqman)を用いて行った。データセットは、SNP のコールレート (90%以上) または健常者群における HWE からの逸脱に基づいてフィルタリングを行った。すべての allele-wise 関連解析は、各候補 SNP の p 値を計算することにより行った。Fisher's exact test を用い、有意水準 0.05 で解析した。すべての p 値は両側検定にて行った。この joint analysis では PLINK v1.07 を使用し、p 値は Cochran-Mantel-Haenszel stratified analysis を用いて、異質性の評価は Breslow-Day test を用いて実施した。統計的有意性は、関連研究において一般的なレベル ($p < 0.05$) とした。rs672607 における日本人と中国人のサンプルセットのメタ解析は Comprehensive Meta-Analysis Version 2 Professional version を用いて実施した。

認知機能評価

本研究では、認知機能評価のために Continuous Performance Test- Identical Pairs Version Release 4.0 (CPT-IP) を用い、アウトカム指標は mean d' とした。また Wisconsin Card Sorting Test (WCST) を用い、アウトカム指標は達成カテゴリー数 (CA)、全エラー数 (TE)、Milner 型の保続 (PEM) および Nelson 型の保続 (PEN) とした。認知機能の解析のために 18 歳以上の被験者から無作為に抽出したサブセットを作成した。CPT-IP と WCST によって測定された認知機能 (統合失調症患者 115 名、健常者 87 名) に対する 2 つの SNP (rs672607 及び rs10494252) の影響を検討した。すべての解析は IBM SPSS statistical software version 20 を用いて実施した。統合失調症患者と健常者において、性別、年齢、教育歴、クロルプロマジン換算の投与量、発症年齢、罹患期間、陽性および陰性症状評価尺度 (PANSS) による評価、一般的な精神病理尺度について Fisher's exact test、両側検定および Welch's t-test を用いて d' を比較した (Table III)。

【結果】

JGWAS とレプリケーションサンプルセットにおいて、2 個の SNP (rs672607 および rs10494252) と統合失調症のあいだに有意な関連はみられなかった (Table I)。PLINK を用いた Joint analysis においても、双方の SNP で有意に低い p 値は示されなかった (Table II)。rs672607 における日本人サンプルと中国人サンプルのメタ解析では有意な関連を示した (p 値 0.012、オッズ比 0.855) (Figure 1)。

さらに、rs672607 および rs10494252 の CPT-IP と WCST に対する遺伝的影響を調査した。臨床情報の違いにおける有意差はみられなかった ($0.0055 < P$)。CPT の mean d' において、rs672607 の A/A と G キャリアグループ間に有意差 ($p < 0.01$) がみられた ($P=0.0092$) (Table III)。

【考察】

本研究では、日本人における *BCL9* の 2 つの SNP と統合失調症との関連性を検討した。我々は、日本人と中国人のサンプルセットでのメタ解析において *BCL9* と統合失調症との間に有意な関連性をみつけることができた ($p = 0.012$)。しかし中国人の GWAS データセットはメタ解析を含んでおり、関連性については過大評価されている可能性がある。rs672607 のマイナーアレルは、アジアの集団では統合失調症に関連するコモンバリエントでありうる。よって今後さらに異なる人種での研究が必要であると考えられる。

また、統合失調症の遺伝的変異の同定における主な障害の一つは、臨床的には適しているが病因や遺伝子研究においては適していない、その診断概念である。したがって、罹病性の新しい指標またはエンドフェノタイプに焦点を当てることは我々にとって興味深かった。そこで、統合失調症患者において損なわれていることが示されている、高度な遺伝形質（ワーキングメモリと視覚的な持続的注意）を評価するために作成された CPT-IP を選択した。加えて、実行機能を評価するために WCST を選択した。そしてメタ解析による候補 SNP と、CPT-IP および WCST によって評価される認知機能の間の関連について検討した。

CPT-IP では、rs672607 のマイナーアレル群（プロテクティブアレル、日本人と中国人のサンプルセットを用いたメタ解析でのオッズ比=0.855）は統合失調症患者においてワーキングメモリーが有意に損なわれていることを示した。

本研究の注意すべき点は、第一に、*BCL9* 上に存在しうる新たな機能的バリエントを探するための 5 フランキング領域またはエクソン領域について、コモンバリエントのデータベースに登録されていなかったため体系的なゲノムワイドな変異を網羅していない点である。第二に、我々の表現型の診断は、構造化面接に基づいておらず、健常者サンプルは、ケースサンプルよりも有意に若年であった点である。そして第三に、認知機能検査のサンプルサイズが比較的小さく、また検査結果にバイアスがかかっている可能性が否定できない点である。

【結論】

我々は日本人と中国人のメタ解析において、*BCL9* の rs672607 と統合失調症との間に関連を検出することができた。さらに、このコモンバリエントは統合失調症患者において CPT-IP で評価される認知機能にも影響を及ぼす可能性が示唆された。今後は非アジア系の人種をサンプルとして、さらなる研究が必要である。