

主論文の要旨

**Investigation of Rare Single-Nucleotide *PCDH15* Variants
in Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders**

（統合失調症と自閉スペクトラム症における
PCDH15 遺伝子内の稀な一塩基変異の探索）

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

（指導：尾崎 紀夫 教授）

石塚 佳奈子

【緒言】

統合失調症 (SCZ) と自閉スペクトラム症 (ASD) は、双生児研究や同一家系内発症などの疫学的知見から、ともに遺伝学的要因が発症に比較的強く関与し、共通の遺伝学的基盤を有する神経発達障害と考えられている。これらを踏まえて、SCZ と ASD の遺伝学的要因を同定するべくゲノム解析がなされてきた。頻度の高い疾患の発症には多くの個人が共有する頻度の高い変異が関係するという **common disease-common variants** 仮説に基づいて報告された関連遺伝子変異候補は、しかし、SCZ と ASD の遺伝学的要因の全体像を必ずしも明らかにするものではなかった。近年、一般人口の 1%未満が保有する頻度の低いゲノム変異の中に発症に強い影響を及ぼすものが含まれるという **common disease-rare variants** 仮説が提唱されている。本研究は **common disease-rare variants** 仮説を踏まえたものである。

今回着目した *PCDH15* 遺伝子は、患者の 2 割が精神症状を呈するアッシャー症候群の原因遺伝子であり、ASD や双極性障害の患者に *PCDH15* を含む染色体微細欠失が同定されている。*PCDH15* は神経分化やシナプス形成に関わるカドヘリンスーパーファミリーのひとつであること、マウスの知見において、神経形成期に脳や中枢神経で発現すること、成体脳のセロトニントランスポーターの発現に関与することなどが報告されていることなどから、神経発達障害に関わる候補遺伝子として有望と考えた。

本研究の目的は、SCZ と ASD の発症に関与する頻度の低い一塩基変異 (SNV) を *PCDH15* 遺伝子内に見出すことである。

【対象および方法】

2 つの独立した日本人集団を対象とした。診断は DSM-5 の診断基準に基づいて行った。コントロール群は精神疾患の既往がない者とした。本研究は名古屋大学医学部生命倫理委員会の承認に則り、本人、未成年の場合は本人と保護者に書面で説明し、同意を得た。

1. SCZ と ASD 患者それぞれ 370 名 (49.7 ± 14.8 歳) と 192 名 (16.3 ± 8.4 歳) の末梢血もしくは唾液より抽出した DNA を用いて、*PCDH15* コーディング領域の変異探索を行った。機器は Ion Torrent PGM™ を使用し、標準プロトコールで行った。パイプラインソフトウェアは Torrent Suite™ を用いた。検出された頻度 1% 未満の SNV につき、サンガー法で変異の存在を再確認した。2 つの *in silico* 解析 (SIFT, Polyphen-2)、健常者に検出された変異が登録されている 4 つのデータベース (dbSNP, 1000Genomes, HGVD, ExAC) と種間の保存性に基づいて、タンパク機能に大きく影響を及ぼしうる SNV を絞り込んだ。
2. SCZ 患者 1,714 名 (46.3 ± 15.1 歳)、ASD 患者 382 名 (19.6 ± 10.7 歳) とコントロール群 1,917 名 (44.7 ± 14.7 歳) の末梢血もしくは唾液から抽出した DNA を用いて関連解析を行った。機器は ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System を使用し、TaqMan assay 法の標準プロトコールを施行した。検出力解析は Purcell

らが開発した Genetic Power Calculator を使用した。統計学的評価は Fisher の直接確率検定と Bonferroni の補正を用いた。

【結果】

1. *PCDH15* のコーディング領域において、15 の missense 変異と 1 つの splice site 変異を同定した (Table 1)。いずれもヘテロ変異であった。すべてのミスセンス変異は細胞外ドメインに位置していた (Fig 1)。*De novo* 変異は認めなかった。
2. 同定した 16 の SNV から、*in silico* 解析、既存のデータベース上の頻度と種間の高い保存性 (Table 2) に基づき、タンパク機能への影響が予想される 6 つの SNV (p.M60I, p.R219K, p.T281A, p.V469A, p.D642N, c.3010-1G>C) を選択して関連解析を行った。事前の検出力解析では、アレル頻度 0.0021、1 型エラー 0.0083 (0.05/6)、2 型エラー 20% 以下において十分な検出力が想定された。関連解析の結果、疾患に対して統計学的に有意な関連を示す SNV は認めなかった。そのうち 4 つの SNV (p.R219K, p.T281A, p.D642N, c.3010-1G>C) は、アレル頻度が 0.0005 未満と極めて低い変異であることが明らかになった (Table 3)。事後検出力解析から、疾患との関連を明らかにするには 20,000 人ほどのサンプルが必要と算出された。

【考察】

PCDH15 コーディング領域で同定された 15 の missense 変異はいずれも細胞外ドメインに位置し、うち 12 の SNV は *in silico* 解析でタンパク機能への影響が想定された。さらに、splice site 変異 (c.3010-1G>C) はスプライシング異常を引き起こして *PCDH15* タンパクの構造異常を引き起こす可能性が示唆された。しかし、本研究では *PCDH15* の低頻度 SNV と SCZ および ASD の間に統計学的に有意な関連は認めなかった。今回、有意な関連を見出すに至らなかった要因として、1) 本研究で検出した SNV の頻度が極めて低く、SCZ と ASD との関連を評価するにはサンプルサイズが不足していたこと、2) プロモーター領域、非翻訳領域、イントロンなどの変異も疾患感受性に関与することが知られており、コーディング領域に限定して変異探索を行ったこと、3) *in silico* 解析ではタンパク機能に影響する可能性が予測されたものの、SNV がタンパク機能にもたらす正確なメカニズムが不明であることから個々の SNV の評価に限界があること、などが考えられた。

一方、本研究参加者計 4,575 人から一人、もしくは 1 家系でのみ検出された 4 つの SNV は、極めて頻度が低い、もしくは特定の家系内で継承される変異と言える。このような SNV は *de novo* 変異と同様に疾患感受性への影響が既報で報告されていることから、本研究で同定した SNV が疾患感受性に関与する可能性は否定できない。

【結語】

日本人の SCZ, ASD 患者を対象に *PCDH15* 遺伝子内の稀な SNV を探索した。統計

学的に疾患と有意な関連を持つ SNV は同定されなかったが、極めて頻度が低い 4 つの SNV (p.R219K, p.T281A, p.D642N, c.3010-1G>C) は、サンプルサイズの拡大、あるいは家族内集積性の高いサンプルにより、神経発達障害との関連を遺伝学的に検証することが期待できる。