

主論文の要旨

Mutation screening of *GRIN2B* in schizophrenia and autism spectrum disorder in a Japanese population

本邦における統合失調症と自閉スペクトラム症に関連する
*GRIN2B*の遺伝子変異の探索

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)

高崎 悠登

【緒言】

N-methyl-D-aspartate-receptors (NMDA型グルタミン酸受容体: 以下NMDARs)は中枢神経系において、記憶の生成や学習に必要なシナプスの可塑性において重要な役割を担っている。NMDARsは、4つのサブユニットタンパク質から構成され、そのうち2つはNR1より、残りの2つのサブユニットはNR2A/B/C/D、NR3A/Bのいずれかの組み合わせにより機能特性が変化する。

これまでにNMDARsのアンタゴニストとして作用するフェンサイクリジン(Phencyclidine: PCP)等の投与によって統合失調症と区別が困難な幻覚や妄想といった症状が見られることが知られており、これらのことから統合失調症の病態の一因としてグルタミン酸仮説が提唱されてきた。NMDARsの機能異常が統合失調症の病態に関わっていることはその後の分子生物学的研究でも支持されている。また統合失調症と同様に神経発達障害を病態の基盤として持つと考えられる自閉スペクトラム症でもNMDARsの機能調節異常が病態に関与していることが報告されている。

統合失調症および自閉スペクトラム症の遺伝率は過去の双生児研究等から、いずれも80%に及ぶと推定されている。そのため遺伝学的アプローチを用いた研究が数多く行われてきたが、これまでの両疾患の遺伝子研究から、より頻度の低い稀な遺伝子変異が発症脆弱性に対してより大きい影響を与えることが分かってきた。また、これらの稀な変異は人種特異的であり、対象となる母集団で疾患脆弱性に関与する変異が異なる可能性が指摘されている。さらに近年、統合失調症や自閉スペクトラム症を対象とした、次世代シーケンサーを用いたケースコントロール研究や大規模な全ゲノム関連解析の結果からは、NMDARsのサブユニットをコードする遺伝子である*GRIN2A*や*GRIN2B*の両疾患の発症脆弱性への関連が報告されている。

これらのことから、本研究では、特に胎生期から成人期において中枢神経系にて広く発現する*GRIN2B*に着目し、日本人により特異な発症脆弱性に関与する稀な変異を同定し、統合失調症および自閉スペクトラム症との関連性の評価を行うこととした。

【対象及び方法】

変異のスクリーニングとして、統合失調症患者574名(52.4±14.7歳)と自閉スペクトラム症患者152名(16±7.9歳)を対象に、*GRIN2B*のタンパク質をコードするエクソン領域をサンガー法を用いてリシーケンスを行った。さらに同定された変異のうち機能的意義をもち、かつ、アレル頻度が1%以下の稀な変異を対象に、統合失調症4145名(47.9±14.6歳)、自閉スペクトラム症381名(19.7±10.8歳)、健常人4432名(43.6±14歳)を含むケースコントロールサンプルセットを用いて、ジェノタイピングによる関連解析を行い疾患発症脆弱性への関与を検討した。なお、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、参加した対象者全員に対して、本人、未成年の場合は本人と保護者に書面にて研究参加に関するインフォームドコンセントを行い、同意を取得した。

【結果】

変異のスクリーニングにより、タンパク質のアミノ酸置換を起こす稀な一塩基変異を5つ同定した(表1). これらの変異のうち、p.V18Iは細胞外のN末端ドメインに、p.A590Tはイオンチャネルドメインに、p.G1040S/p.R1099H/p.K1292Rは細胞内のC末端ドメインにそれぞれ位置していた(図1および図2). これらの変異を既存のゲノムデータベース(dbSNP、1000 genome Project、Exome Variant Server、およびExAC Browser)にて検索したところ、p.V18I、p.A590T、p.G1040Sはすでに報告されていたが、p.R1099Hおよびp.K1292Rはいずれのデータベースにも登録されていなかった.

また関連解析では、いずれの変異も統合失調症/自閉スペクトラム症との有意な関連を示さなかったが、p.K1292Rはスクリーニングおよび関連解析を通じて統合失調症群のみから保因者が同定された(表1および表2).

【考察】

*GRIN2B*のタンパク質をコードするエクソン領域をリシーケンスすることで5つの稀なミスセンス変異を同定することができた. これらの変異のうち、関連解析の結果を受けてp.K1292Rに着目し*GRIN2B*のタンパク質であるNR2Bへの影響を検討した. NR2Bは活性化状態にあるカルシウムカルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ(Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II: 以下CaMKII)と結合することが知られており、この結合によりCaMKIIの持続的な標的タンパク質のリン酸化を可能にし、その結果シナプス結合の長期増強反応を起こすと考えられている. p.K1292RはNR2BとCaMKIIとの結合領域に位置しており、この結合反応に影響を及ぼす可能性が考えられた. 今後は分子生物学的手法を用いて、p.K1292Rを含む本研究により同定された変異についての影響を検討する必要があると考えられた.

また関連解析では、いずれの変異も疾患との有意な関連を示さなかったが、このことの原因として、検出された変異のアリル頻度が非常に低かったためにサンプルサイズが不足していたことが考えられた. p.K1292Rの事後検出力解析では、統合失調症との関連性を明らかにするために必要なサンプルサイズは統合失調症群と健常対象群がそれぞれ8000人程度であることがわかった.

【結論】

本研究では、統合失調症と自閉スペクトラム症患者の*GRIN2B*をリシーケンスし、5つの稀なミスセンス変異を同定した. それぞれの変異は関連解析において疾患との有意な関連性を示さなかったが、p.K1292Rはその変異の部位からNR2Bの機能に変化を及ぼす可能性が考えられた. 今後は、サンプルサイズの拡大を計るとともに、その他のNMDARsのサブユニットも同様に評価を行うことで、統合失調症および自閉スペクトラム症のさらなる発症脆弱性の解明につながると考えられた.