

第 115 回日本精神神経学会学術総会  
精神医学奨励賞受賞講演

## ゲノムコピー数バリエーションに基づいた統合失調症と 自閉スペクトラム症の病態研究

久島 周

(名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野/名古屋大学医学部附属病院ゲノム医療センター)

自閉スペクトラム症 (ASD) と統合失調症は、臨床症状に基づいた診断基準により、異なる疾患として臨床的に区別されている。しかし、これまでの疫学研究や分子遺伝学研究から両疾患の病因や病態には共通性があることが示唆されている。この点を検討するため、著者は、ASD と統合失調症の日本人患者を対象として、低頻度の稀なゲノムコピー数バリエーション (CNV) に着目したゲノム解析を行った。CNV は、染色体上の 1 キロ塩基対 (kb) 以上にわたるゲノム DNA が、通常 2 コピーのところ、1 コピー以下 (欠失) または 3 コピー以上 (重複) になる変化を指す。解析の結果、両疾患の患者の約 8% で病的意義をもつ CNV を同定し、両疾患に共通するものも多数見いだした。病的 CNV をもつ患者は、知的能力障害の併存率が有意に高いといった特徴も見いだした。CNV データのバイオインフォマティクス解析から、各疾患に関連した病態パスウェイを同定したが、ここでも両疾患に共通するものを見いだした。そのなかにはシナプス、遺伝子発現制御、酸化ストレス応答、ゲノム安定性などが含まれていた。これらのパスウェイの病態上の意義は、病的 CNV に基づいたモデル生物 (患者 iPS 細胞や遺伝子改変マウス) を用いた詳細な解析で明らかになるだろう。今回得られた知見をもとに、精神疾患の症状にかかわる神経回路の同定と治療法の開発が進むことが期待される。

<索引用語: 統合失調症, 自閉スペクトラム症, ゲノムコピー数バリエーション, iPS 細胞, モデル動物>

### はじめに

脳科学研究が精力的に進められている現在でも、精神疾患の発症メカニズムは不明な点が多いことから、精神疾患の診断は発症因ではなく、患者が示す臨床症状 (精神症状など) に基づいてなされ、治療方針にも大きな影響を与える。診断が臨床症状に基づくため、同じ診断名 (例: 統合失調症) でも、患者ごとに発症因や病態メカニズムが異なることが想定される。実際、薬物治療を行ったときの効果や予後には、同じ診断の患者でも大きなばらつきが存在する。

統合失調症と自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder: ASD) は、臨床症状に基づい

た精神医学的な診断基準により、異なる精神疾患として臨床的に区別される。しかし、最近の疫学研究から、この 2 疾患の病因・病態は部分的に共通する可能性が示唆されている。例えば、大規模な家族研究の結果によれば、統合失調症に罹患した患者を親や同胞にもつ場合、ASD の発症リスクが高いことが報告されている<sup>10)</sup>。また早期発症の統合失調症の患者は、発症前の時期において ASD の診断基準を満たす頻度が高いことが報告されている<sup>9)</sup>。疫学研究の知見と一致して、欧米人を対象にした最近の分子遺伝学研究からは、ASD と統合失調症の両方の発症に関与するバリエーション (ゲノム変異) の報告<sup>2)</sup> が増えている。し

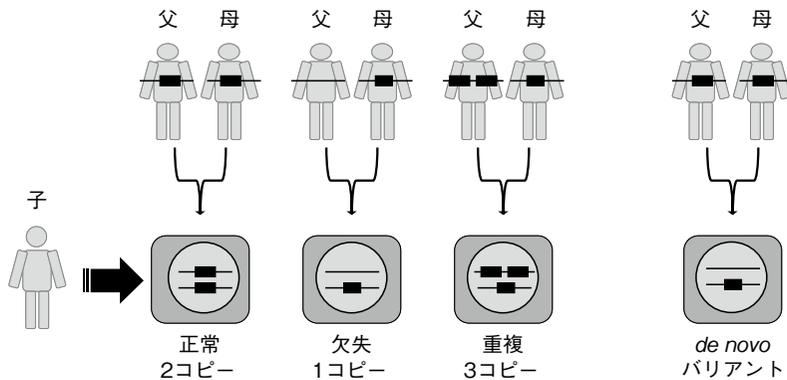


図1 ゲノムコピー数バリエーション (CNV)

染色体上の1 kb以上にわたるゲノムDNAが、通常2コピーのところ、1コピー以下(欠失)または3コピー以上(重複)となる変化。

かし、欧米人以外の民族を対象とした研究報告は少なく、さらに両疾患を直接比較した大規模なゲノム研究もほとんどない。そこで、著者は、ASDと統合失調症の日本人患者を対象に、ゲノムコピー数バリエーション (copy number variant: CNV) に着目して比較解析を行い、病因・病態や2疾患の関係性を検討した。以下では、まずヒトゲノムに存在するバリエーションについて概説した後、著者のゲノム研究の成果とそれをふまえた病態研究への展開について紹介する。

### I. バリエーション (ゲノム変異) について

ヒトゲノムに存在するバリエーションは、一塩基バリエーション (single nucleotide variant: SNV), indel (insertion/deletion), CNVなどいくつかのタイプに分かれる。著者が着目したCNVは、染色体上の1キログラム塩基対 (kb)以上にわたるゲノムDNAが、通常2コピーのところ、1コピー以下(欠失)、あるいは3コピー以上(重複)となる変化を指す(図1)。CNVは、ヒトの1番染色体からY染色体まで広く分布し、健常者でも少なくとも数十個のCNVを有しており、それ自体は珍しいものではない。CNVの大部分は、両親のいずれかから受け継いだものである。一方で、CNVはSNVよりも変異率が102~104倍高く、*de novo*バリエーション(両親には存在せず、患者のみでみられ

る新生突然変異)が相対的に多いことが知られる。遺伝子上に存在する欠失(遺伝子の全体あるいはエクソンの欠失)は、蛋白質の一部が失われるため、ミスセンスバリエーションと比べると、遺伝子機能に与える影響は大きいと考えられる。

一方、バリエーションは、集団中における頻度によっても分類できる。2つに大別すると、ある集団中において高頻度(1%以上)でみられるバリエーションと、低頻度(1%以下)でみられる稀なバリエーションがある。高頻度のバリエーションは古代から現在まで受け継がれてきたものである。重篤な疾患の発症にかかわるバリエーションは選択圧を受けて淘汰された結果、高頻度のバリエーションは発症への影響度が小さい、あるいはないものが残る。一方、稀なバリエーションは、比較的最近起こった新しいバリエーションであり、選択圧によって淘汰を十分受けていないため、発症への影響度が大きい可能性がある。稀なバリエーションの最たるものが*de novo*バリエーションである。実際に、ASDや統合失調症の患者では、ヒトゲノム全体でみると*de novo*バリエーションの数が有意に増えており、このなかには発症に強く関与するものが多く含まれる。

### II. ASDと統合失調症を対象とした大規模CNV解析

ここで、著者が実施したASDと統合失調症を

対象とした国内最大規模の CNV 解析について紹介したい<sup>8)</sup>。本研究ではアレイ comparative genomic hybridization (CGH) という方法を用いて解析を行ったが、他の方法 (SNP アレイやエクソーム解析) と比べて、データの解像度や精度の点で優れている。ASD 患者 1,108 例、統合失調症患者 2,458 例、健常者 2,095 例を対象に、全ゲノムで CNV の解析を実施し、日本人集団中において低頻度 (1%以下) で存在する稀な CNV を抽出した。この CNV には、病的意義をもつ CNV (病的 CNV) とそうでないものがある。病的 CNV とは、精神疾患や神経発達症との関連が示唆されるもので、本研究では、国際的にスタンダードになっている米国遺伝医学とゲノム会議 (American College of Medical Genetics : ACMG) のガイドラインの基準<sup>6)</sup>を参考に、同定した CNV の病的意義について評価した。具体的には、①既報の関連解析で精神疾患と有意に関連した CNV、②既知の疾患関連遺伝子における CNV、③健常者にはみられない非常に大規模な CNV [2 メガ塩基対 (Mb) 以上]、④*de novo* として同定した CNV などが含まれる。解析の結果、ASD 患者の 7.8%、統合失調症患者の 8.2%、健常者の 3.3% で病的 CNV を同定し、両疾患群とも健常者よりも有意に頻度が高く、発症リスクとの関連が示された。個々の CNV では、22q11.2 重複と ASD の関連に加えて、22q11.2 欠失、1q21.1 欠失、47,XXY/47,XXX (性染色体異数性異常) と統合失調症の強い関連を日本人の CNV データから見いだした。

患者で同定した CNV には、22q11.2 欠失、3q29 欠失 (統合失調症のリスクが 50 倍以上)、15q11-13 重複、16p11.2 重複、1q21.1 欠失 (統合失調症のリスクが約 10 倍) など、発症に強い影響を及ぼすものが含まれる。これらの染色体領域は、相同性の高い配列 (segmental duplication) によってゲノム構造が不安定になっており、CNV が起こりやすい。本邦では指定難病としても知られる 22q11.2 欠失症候群は、4,000~5,000 出生に 1 例の頻度でみられ、22 番染色体の長腕 q11.2 領域に位置する 1.5~3 Mb の欠失 (40 個程度の遺伝子を含

- ・両疾患に共通の病的 CNV  
*ASTN2*, *CNTN6*, *MBD5*, *NRXN1*  
7q11.23, 16p11.2, 17q12 など
- ・両疾患に共通の生物学的パスウェイ  
シナプス・神経突起, 低分子量 G 蛋白質シグナル,  
遺伝子発現制御, 酸化ストレス応答, ゲノム安定性,  
脂質代謝など

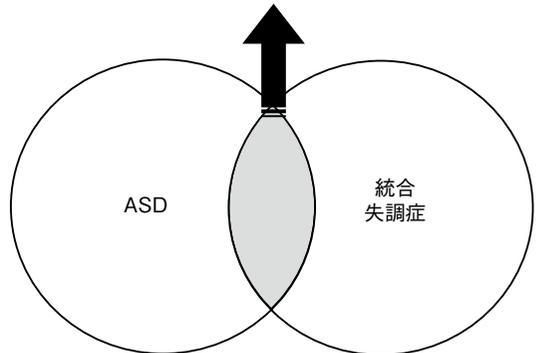


図2 ASD と統合失調症：病因・病態の重複

む) で引き起こされる。関連する脳神経疾患としては (統合失調症以外に) ASD, 注意欠如・多動症 (attention deficit/hyperactivity disorder : ADHD), 不安症, 若年性パーキンソン病, 身体疾患では口唇口蓋裂, 先天性心疾患, 先天性腎尿路異常, 胸腺・副甲状腺の形成異常などとの強い関連が報告されている。本研究で同定した 12 例の 22q11.2 欠失患者でも, 上記の先天性疾患や発達上の問題を高率に認めている。

著者が実施した CNV 解析では、既知の疾患関連遺伝子に機能喪失を引き起こす比較的小規模な CNV (多くは欠失) も同定した。このなかには、*ASTN2* (astrotactin 2), *DLG2* (discs large homolog 2), *NRXN1* (neurexin 1), *RELN* (reelin) といった神経細胞遊走, シナプス形成など神経発達に関与する遺伝子の欠失が多い。これらの病的 CNV は、神経発達関連遺伝子の機能喪失を通じて、神経発達に障害をもたらす精神疾患の発症に寄与すると考えられる。

疫学研究の知見から ASD と統合失調症の病因・病態上の共通性が示唆されていることについて述べたが、これに一致して、両疾患に共通する

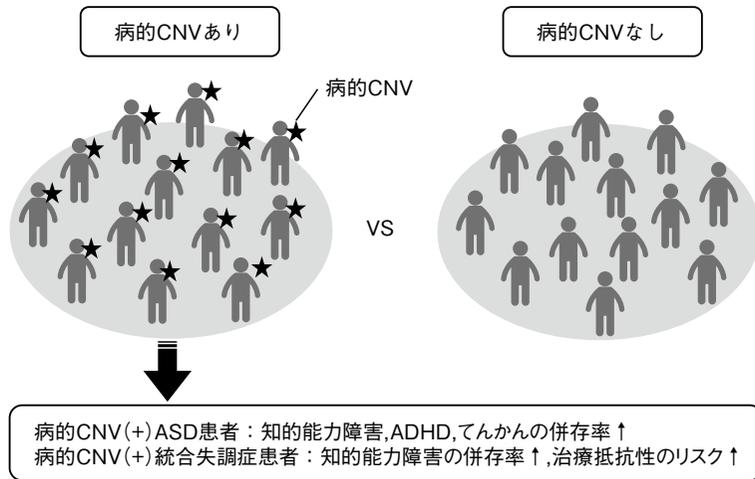


図3 病的CNVをもつ患者の臨床的特徴

病的CNVが数多くのゲノム領域 (*ASTN2*, *CNTN6*, *MBD5*, 7q11.23, 16p11.2 など 29 領域) で見付き、リスクバリエーションの共通性を確認した (図2)。

次に、病的CNVをもつ患者の臨床症状を詳しく調べた。その結果、病的CNVをもつASD患者では知的能力障害、ADHD、てんかんの併存率が高く、病的CNVをもつ統合失調症患者でも知的能力障害の併存率が高かった (図3)。特に、知的能力障害と病的CNVの関連は、両疾患において統計学的に有意な関連を認めた。統合失調症では、治療反応性と病的CNVの関連についても検討し、病的CNVをもつ患者は抗精神病薬の効果が乏しく、治療抵抗性と関連した<sup>7)</sup>。

さらにわれわれは、ASDあるいは統合失調症の病態にどのような生物学的機能の障害が関与するかを、遺伝子セット解析を実施して検討した。具体的には、患者で見つかったCNV (患者CNV) が健常者CNVと比べて優位に集積する遺伝子セット (gene ontologyの遺伝子セット：特定の生物学的な機能に関連した遺伝子群のセット) をバイオインフォマティクスの手法を用いて探索した。その結果、ASDと統合失調症に共通するパスウェイを多数見いだした (図2)。そのなかにはすでに指摘されているシナプス、低分子量G蛋白質

シグナル、遺伝子発現制御に加えて、酸化ストレス応答、ゲノム安定性、脂質代謝などの新規パスウェイも含まれていた。シナプス機能や遺伝子発現制御については、ASDや統合失調症のエクソーム解析の研究でも報告されている。また酸化ストレスの亢進は患者の末梢血や死後脳組織において報告されている。脂質代謝は神経発達に重要であることが報告され、ASDや統合失調症患者では脂質代謝異常が報告されている。今回見いだしたパスウェイは、後述するiPS細胞やモデル動物を用いた解析で、病態との関連性が詳しく明らかになることが期待される。

### おわりに

最後に、病的CNVに基づいた病態研究の展開について述べたい。上述のように、精神疾患の発症リスクを10倍以上に上げる病的CNV (22q11.2欠失, 3q29欠失, 15q11-13重複, 16p11.2重複, 1q21.1欠失など) が同定されている。このバリエーションに基づいた病態研究の展開について、3つの観点から述べる。

1つ目は、同一の病的CNVをもつ患者を詳しく調べて、バリエーションと表現型の関係をより詳細に明らかにすることである。精神疾患の病態研究を困難にしている要因として、多数の異なるバリ

アントが発症に関与していることがある(遺伝的異質性)。同一のバリエントに着目することで、バリエントと表現型の関係性がより明確になることが期待できる。例えば、著者が参画した国際共同研究によって、15q11-q13重複(ゲノムインプリンティング領域の重複)は母親由来で患者に伝わった場合、統合失調症のリスクが大きいこと、本重複を有する統合失調症患者は学習障害や発達上の問題が多いことが明らかになった<sup>5)</sup>。今後は脳構造、脳波、認知機能といった指標を含めた前向き研究によって、CNVに関連した臨床あるいは中間表現型が詳しく明らかになるだろう。

2つ目は、病的CNVをもつ患者からiPS細胞を樹立し、神経細胞に分化誘導して疾患モデル細胞として解析することである。発症に強く影響するCNVは、細胞レベルでも病態に関連した生物学的変化を観察しやすいため、病態研究や創薬開発に活用することが期待されている。実際、著者らは神経細胞遊走に重要な役割を担い、精神疾患のリスク遺伝子としても知られる*RELN*遺伝子の欠失をもつ統合失調症患者からiPS細胞を樹立し、ドパミン作動性神経細胞の遊走異常を見いだしている<sup>1)</sup>。さらに*RELN*欠失あるいは*PCDH15*欠失(双極性障害との関連が報告)をもつ患者由来のグルタミン酸作動性あるいはGABA作動性神経細胞を調べ、いずれも樹状突起の長さの短縮、シナプスの数の減少といった共通の変化を認め、統合失調症と双極性障害に共通する病態を反映している可能性が示唆されている<sup>4)</sup>。一方で、iPS細胞から作製される神経細胞は、細胞の種類や分化の程度に関してまだ十分ではない。実際の神経発達では神経細胞とグリア細胞が複雑に相互作用しながら長い年月をかけて進むため、これをどのように再現するかは今後の課題である。

3つ目は、病的CNVに基づいたモデル動物の解析である。統合失調症との強い関連が知られるCNVに基づく遺伝子改変マウスの解析はすでに複数報告されている<sup>3)</sup>。しかし、モデル動物として頻用されるマウスは、ヒトと脳の構造や機能に大きな相違があり、精神疾患モデルとしての限界

が指摘されている。そのため、ヒトと類似性が高い霊長類動物にも関心が高まっている。マーマセツトは遺伝子を人為的に改変できるため、発症に強く影響するバリエントをもつ個体の作製が期待されている。一方で、生まれながらASDの特徴を有する「自然発症」ニホンザルの研究も報告されているので紹介する<sup>11)</sup>。このニホンザルは、他者の行動を観察せず、独自の行動選択ルールに固執するなどのASDと類似した特性を認め、ゲノム解析から精神疾患に関連した遺伝子(*HTR2C*と*ABCA13*)に病的バリエントが見つかった。さらに社会性機能に関与する前頭葉内側部において単一神経細胞活動記録を行ったところ、他者の行動を観察して行動選択をする際に、他者の行動に応答する神経細胞がほとんど存在しないことが明らかになり、ASDにみられる社会性障害の神経基盤として重要な示唆を与えた。

これまで述べてきたように、①発症に強い影響を及ぼすバリエントをもつ患者の臨床研究と、②モデル生物を用いた基礎研究が融合することで、精神疾患の病態解明と治療薬の開発が進むことが期待される。

なお、本論文に関連して開示すべき利益相反はない。

**謝 辞** 本研究の実施にあたって、名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野の尾崎紀夫先生、アレクシッチ・ブランコ先生、同研究科健康発達看護学講座の中杉昌弘先生をはじめ、名古屋大学および関連病院の先生方には大変お世話になりました。また、共同研究機関である、藤田医科大学、大阪大学、国立精神・神経医療研究センター、東京都医学総合研究所、新潟大学、徳島大学、富山大学、北海道大学、東京大学、福井大学、金沢大学、浜松医科大学、理化学研究所、国立国際医療研究センター国府台病院、帝京大学、京都大学、名城大学、愛知県医療療育総合センター、静岡てんかん・神経医療センター、大正大学の先生方から多大なご協力とご指導をいただきました。この場を借りて深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Arioka, Y., Shishido, E., Kubo, H., et al.: Single-cell trajectory analysis of human homogenous neurons carrying a rare *RELN* variant. *Transl Psychiatry*, 8 (1);

129, 2018

2) Doherty, J. L., Owen, M. J. : Genomic insights into the overlap between psychiatric disorders : implications for research and clinical practice. *Genome Med*, 6 (4) ; 29, 2014

3) Forsingdal, A., Jørgensen, T. N., Olsen, L., et al. : Can animal models of copy number variants that predispose to schizophrenia elucidate underlying biology? *Biol Psychiatry*, 85 (1) ; 13-24, 2019

4) Ishii, T., Ishikawa, M., Fujimori, K., et al. : *In vitro* modeling of the bipolar disorder and schizophrenia using patient-derived induced pluripotent stem cells with copy number variations of *PCDH15* and *RELN*. *eNeuro*, 6(5) ; 0403-0418, 2019

5) Isles, A. R., Ingason, A., Lowther, C., et al. : Parental origin of interstitial duplications at 15q11.2-q13.3 in schizophrenia and neurodevelopmental disorders. *Plos Genet*, 12 (5) ; e1005993, 2016

6) Kearney, H. M., Thorland, E. C., Brown, K. K., et al. : American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*, 13 (7) ;

680-685, 2011

7) Kushima, I., Aleksic, B., Nakatochi, M., et al. : High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry*, 22 (3) ; 430-440, 2017

8) Kushima, I., Aleksic, B., Nakatochi, M., et al. : Comparative analyses of copy-number variation in autism spectrum disorder and schizophrenia reveal etiological overlap and biological insights. *Cell Rep*, 24 (11) ; 2838-2856, 2018

9) Rapoport, J., Chavez, A., Greenstein, D., et al. : Autism spectrum disorders and childhood-onset schizophrenia : clinical and biological contributions to a relation revisited. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 48 (1) ; 10-18, 2009

10) Sullivan, P. F., Magnusson, C., Reichenberg, A., et al. : Family history of schizophrenia and bipolar disorder as risk factors for autism. *Arch Gen Psychiatry*, 69 (11) ; 1099-1103, 2012

11) Yoshida, K., Go, Y., Kushima, I., et al. : Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque. *Sci Adv*, 2 (9) ; e1600558, 2016

---

## Pathophysiological Study of Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia based on Copy-Number Variation

Itaru KUSHIMA

*Medical Genomics Center, Nagoya University Hospital*

*Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine*

Autism spectrum disorder (ASD) and schizophrenia are clinically distinguished as different disorders by diagnostic criteria based on clinical symptoms. However, recent epidemiological studies suggest that they have a common etiology and pathophysiology. To investigate this, we performed genome-wide genetic analysis focusing on rare copy number variants (CNVs) in ASD and schizophrenia. As a result, approximately 8% of patients were found to have pathogenic CNVs, many of which were common to both disorders. We also found that patients with pathogenic CNV have a high rate of intellectual disability. Biological pathways identified from bioinformatics analyses of CNV data also have commonality between the two disorders, including synapses, gene expression regulation, oxidative stress response, and genome integrity. The significance of these pathways will be revealed by further analysis using CNV-based model organisms such as patient-derived iPS cells and genetically-engineered mice. The identification of neural circuits related to the symptoms of mental illness is expected to aid in the development of therapeutic methods.

< Author's abstract >

< **Keywords** : schizophrenia, autism spectrum disorder, copy number variant, iPS cell, animal model >

---