

特集 2 統合失調症研究アップデート—基礎研究から社会実装研究まで—

2. 統合失調症の発症リスクにかかわる
ゲノムコピー数バリエーション久島 周^{1, 2)}

抄録：本稿の前半では、統合失調症の発症に強く関与する大規模なゲノムコピー数バリエーション (CNV) について概説する。個々の CNV の頻度は患者群でも 1% 以下と低いが、22q11.2 欠失、3q29 欠失、15q11-q13 重複など、発症リスクを 10 倍以上に高めるものもある。これら CNV は統合失調症だけでなく、知的能力障害、自閉スペクトラム症、注意欠如・多動症などのリスクにも関与し、疾患横断的なリスクバリエーションといえる。後半では、筆者らが CNV 解析から統合失調症との関連を見いだした ARHGAP10 遺伝子に関して、モデル生物を用いた病態研究を紹介する。ARHGAP10 バリエーションに基づくモデルマウスと患者 iPS 細胞を用いた機能解析から、神経細胞レベルの発達異常や行動レベルの異常を見いだした。その背景には ARHGAP10 遺伝子の機能低下による RhoA や Rho キナーゼの異常な活性化が想定された。このシグナルを標的とした創薬の可能性についてもふれる。

日本生物学的精神医学会誌 33 (4) : 189-193, 2022

Key words : schizophrenia, ARHGAP10, copy number variation, drug discovery

はじめに

ゲノムコピー数バリエーション (copy number variation : CNV) は、染色体上の 50bp 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百個の CNV を有している。サイズは 50bp から大きなものは 1 メガベース (100 万塩基) を超えるものである。一般に、大きなサイズのものほど、多くの遺伝子のコピー数が変化するため、疾患リスクにかかわる可能性が高くなる。本稿の前半では、統合失調症の発症リスクとかわる大規模な CNV について述べる。後半では、筆者らが実施した CNV 解析から見いだした ARHGAP10 遺伝子に基づく研究について紹介する。

1. CNV に基づく統合失調症の層別化

統合失調症は、これまでの疫学研究から遺伝率は約 80% と報告され、遺伝要因が発症に強く関与することが知られている。過去 10 年余りのゲノム研究から、統合失調症の発症要因の 1 つとして、頻度のまれな (集団中の頻度が 1% 以下) CNV が関与していることが明らかになった²⁾。表 1 には、既報の大規模解析で、統合失調症のリスクとして同定された CNV をまとめている³⁾。ヒトゲノム上の位置 (座位) や遺伝子名 (例 : NRXN1) に基づいて、例えば、22 番染色体の q11.2 領域の欠失は、22q11.2 欠失とよばれている。表 1 の CNV の大部分は、1 メガベース以上とサイズが大きく、複数の遺伝子を含み、欠失では遺伝子のコピー数が 1 コピーに減り、重複では 3 コピーに増える。特に中枢神経系の発達に重要な遺伝子のコピー数が変化すると、遺伝子発現量の変化を通じて、中枢神経の発達に影響を及ぼすと考えられる。各 CNV の頻度は、患者群でも 1% に満たないほど低いが、表 1 の CNV をすべて合わ

Genomic copy number variations in the risk of schizophrenia

1) 名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学分野 (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地) Itaru Kushima : Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

2) 名古屋大学医学部附属病院 ゲノム医療センター (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地) Itaru Kushima : Medical Genomics Center, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

【久島 周 E-mail : kushima@med.nagoya-u.ac.jp】

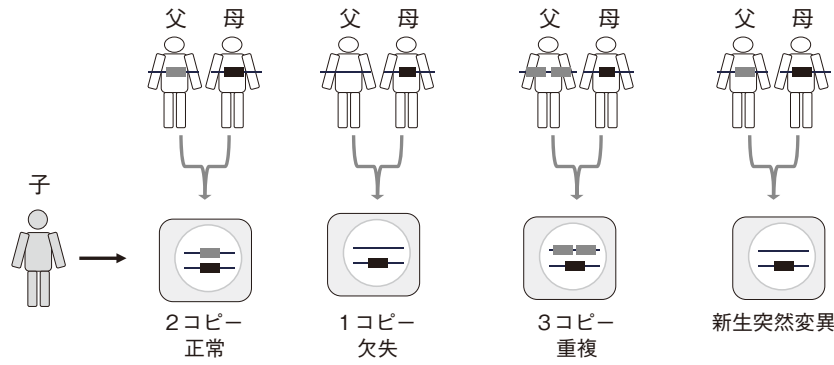


図1 ゲノムコピー数バリエーション (CNV)

表1 統合失調症の発症に関連する CNV

リスク CNV	患者での頻度 (%)	健常者での頻度 (%)	オッズ比	アレイ CGH の対象疾患	関連する他の疾患
1q21.1 欠失	0.17	0.021	8.4	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, 発達遅延, てんかん
1q21.1 重複	0.13	0.037	3.5	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, てんかん
NRXN1 欠失	0.18	0.02	9.0		ASD, ADHD, 知的能力障害, 発達遅延, てんかん
3q29 欠失	0.082	0.0014	57.7	○	ASD, 知的能力障害, 双極性障害, てんかん
7q11.23 重複	0.066	0.0058	11.4	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, てんかん, 発達遅延
15q11.2 欠失	0.59	0.28	2.2		ASD, 知的能力障害
15q11-q13 重複	0.083	0.0063	13.2	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, 発達遅延, てんかん
15q13.3 欠失	0.14	0.019	7.5	○	ASD, 知的能力障害, 双極性障害, てんかん
16p13.11 重複	0.31	0.13	2.3	○	ASD, 知的能力障害, てんかん
16p11.2 重複	0.35	0.03	11.5	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, 双極性障害, てんかん
22q11.2 欠失	0.29	0	28.2-∞	○	ASD, ADHD, 知的能力障害, てんかん, 双極性障害
	2.4%	0.55%			

(文献2より引用改変)

せると2~3%の患者で見られる。特に、22q11.2欠失、3q29欠失、16p11.2重複、15q11-q13重複、7q11.23重複は統合失調症のリスクを10倍以上に上げ、強い発症リスクといえる。またこれらCNVは統合失調症に加えて、知的能力障害、自閉スペクトラム症 (ASD)、注意欠如・多動症 (ADHD)、てんかんなどとの関連も知られている。したがって、このような神経発達症を含めると、各々のCNVの発症リスクはもっと高くなり、22q11.2欠失は100%に近い頻度で何らかの疾患を発症するとの報告もある (表1では健常者における頻度が0である)。

わが国では、医療現場において、これらCNVを検査する方法がなかったが、2021年10月からアレイCGHとよばれる解析法が保険適用になった。表1に示すように、上記CNVの多くは本検査の対象疾患となっている。また、強い発症リスクとなるCNVに基づいて、統合失調症患者の一部を層別化することができる。欧米では、genotype-first approach といって、精神疾患に強い影響をもつCNVの保有者を多数集めて、患者の臨床表現型を

多角的に調べて、精神疾患の病態を明らかにしようとする研究が行われている⁶⁾。genotype-first approachの立場からすると、22q11.2欠失症候群は、幼少期にASDやADHDがみられやすく、思春期から成人期にかけて、統合失調症が起りやすい疾患ともいえる⁴⁾。

2. CNV解析から同定した統合失調症リスク遺伝子 ARHGAP10

筆者らが日本人を対象に実施したCNV解析について紹介する。筆者らは、2,940例の統合失調症患者と2,400例の健常者を対象に、全ゲノムでCNV解析を実施した⁵⁾。その結果、図2に示すように、ARHGAP10遺伝子において患者のみ7例でまれなCNV (欠失6例、重複1名)を同定し、患者群で有意に頻度が高く、発症リスクに関連していると考えられた (オッズ比=12.3, P=0.015)。ARHGAP10遺伝子は、正式名をRho GTPase activating protein 10といい、RhoGAPとよばれるタンパク質の1つ

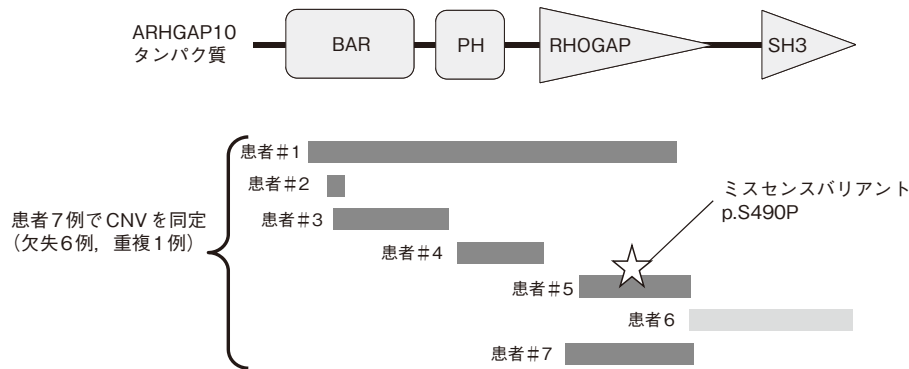


図2 ARHGAP10遺伝子でみつかったCNV
(文献5より著者翻訳のうえ引用)

をコードしている。このタンパク質は、低分子量 G タンパク質である RhoA を不活性化する機能を有する。脳や心筋などを含む生体内に広く発現し、エフェクターである Rho キナーゼの活性化を調節する。RhoA と Rho キナーゼは、細胞骨格の再配列、細胞の運動性、細胞極性、および軸索形成の調節を通じて、ニューロンの発達の複数の側面に広く関与することが報告されている。

ARHGAP10 の CNV を有する患者 7 例は、一般の統合失調症患者と同様、妄想、幻覚、まとまりのない言動を呈した。臨床データのある 6 例の患者では、抗精神病薬に対する反応性に乏しく、特に 4 例はクロルプロマジン換算で 1,000mg/ 日以上の高用量の抗精神病薬が投与されていた。患者で同定された CNV は ARHGAP10 遺伝子の機能を喪失させると想定されることから、RhoA は異常に活性化される可能性が考えられた。興味深いことに、ARHGAP10 遺伝子の欠失をもつ患者の 1 人 (患者 # 5) は、もう片方のアリル (RhoGAP ドメインにあたる部位) に頻度のまれなミスセンスバリエーション (p.S490P) を有していた。ARHGAP10 は活性型 RhoA に結合し、不活性型 RhoA にするが、このミスセンスバリエーションは、活性型 RhoA との結合を減弱させる。したがって、患者 # 5 は 2 つのバリエーションによって、2 コピーある ARHGAP10 遺伝子の両方とも機能低下あるいは喪失が起こっていると考えられた。

3. ARHGAP10 バリエーションに基づく モデルマウスおよび患者由来 iPS 細胞の解析

ARHGAP10 遺伝子のバリエーションの病態生理学的な意義を明らかにするため、患者 # 5 で認めた ARHGAP10 の欠失とミスセンスバリエーション (p.S490P) に基づいて、統合失調症のモデルマウスを作製した⁵⁾。

そのマウスの行動解析の結果、高架式十字迷路試験において不安様行動の亢進が観察された。次に覚醒剤の 1 つ、メタンフェタミン投与後の過活動を調べた。メタンフェタミンはドーパミン作動性神経に作用するが、長期使用により統合失調症の陽性症状に酷似した症状が生じる。また統合失調症患者では覚醒剤による症状が出やすいことから、統合失調症のモデルマウスでもメタンフェタミンの影響が強くと考えられる。実際、本モデルマウスはメタンフェタミン投与後の過活動が亢進していることが確認された。またメタンフェタミン投与後に視覚弁別試験を行い、認知機能を調べると、モデルマウスに認知機能障害を認めた¹⁾。これらの結果は、覚醒剤に対する感受性が亢進していることが示唆された。モデルマウスの内側前頭前野を採取し、神経細胞を顕微鏡で観察すると樹状突起のスパインの密度が低下していた。モデルマウス由来培養神経細胞を形態学的に調べると、神経突起の長さが短く、枝分かれも減少していた。これらのマウスの知見は ARHGAP10 遺伝子バリエーションが中枢神経系の発達に影響を及ぼすことを示唆する。

一方で、マウスの知見がヒトに当てはまるとは限らないため、ヒトの神経細胞でも確認する必要がある。そこで、ARHGAP10 バリエーションを有する患者 (患者 # 5) から iPS 細胞を樹立し、神経細胞に分化させて神経突起を形態学的に調べた。患者由来の神経細胞は、健常者由来の神経細胞よりも神経突起が短く、神経突起の枝分かれも減少していた。患者由来神経細胞の形態学的変化の原因として、ARHGAP10 遺伝子バリエーションによる、RhoA/Rho キナーゼの異常な活性化が考えられた。そのため、Rho キナーゼ阻害薬である Y-27632 を患者由来神経細胞に加えたところ、神経突起の長さは健常者由来神経細胞と同等のレベルまで回復した。以上の結果を踏

まえて、Rho キナーゼ阻害薬に基づいて、統合失調症の創薬ができないか検討を行っている。今後、Rho キナーゼ阻害薬がモデルマウスの認知機能障害を改善するかも検討が必要である。

なお、RhoA あるいは Rho キナーゼの異常な活性化は、精神疾患に関連した他のバリエーションでも報告されている。16p11.2 欠失は ASD との強い関連が知られるが、16p11.2 欠失をもつ患者由来 iPSC 細胞から分化誘導したドーパミン作動性細胞は、電気的活動性の亢進がみられた。RhoA の発現レベルの上昇も認めたため、RhoA の阻害薬を投与したところ、この異常な表現型が改善することも報告されている⁷⁾。この結果は、RhoA シグナルの異常活性化が、ARHGAP10 バリエーション以外のリスクバリエーションにも関与している可能性を示唆している。

おわりに

本稿の前半では、統合失調症の発症リスクとかわる CNV について述べた。これらの CNV は統合失調症の患者の 2～3% 程度に認められる。また他の神経発達症とも関連することから、疾患横断的なバリエーションといえる。統合失調症患者の一部は、発症前から社会適応や認知機能障害を抱えていることが報告されており、疾患横断的な CNV の関与が考えられる。わが国においてアレイ CGH が保険適用になり、リスク CNV を有する患者の臨床的特徴や長期経過について、今後明らかになっていくだろう。後半では、CNV 解析で同定した ARHGAP10 遺伝子と、そのバリエーションの病態解析から見いだした Rho シグナルについて、創薬ターゲットの可能性を述べた。今後も、モデル生物を用いた検討が必要であるが、最終的に新規機序に基づく治療薬の開発につながることを期待される。

文 献

- 1) Hada K, Wulaer B, Nagai T, et al (2021) Mice carrying a schizophrenia-associated mutation of the Arhgap10 gene are vulnerable to the effects of methamphetamine treatment on cognitive function : association with morphological abnormalities in striatal neurons. *Mol Brain*, 14 : 21.
- 2) Nakatochi M, Kushima I and Ozaki N (2021) Implications of germline copy-number variations in psychiatric disorders : review of large-scale genetic studies. *J Hum Genet*, 66 : 25-37.
- 3) Rees E, Walters JT, Georgieva L, et al (2014) Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *Br J Psychiatry*, 204 : 108-114.
- 4) Schneider M, Debbané M, Bassett AS, et al (2014) Psychiatric disorders from childhood to adulthood in 22q11.2 deletion syndrome : results from the International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome. *Am J Psychiatry*, 171 : 627-639.
- 5) Sekiguchi M, Sobue A, Kushima I, et al (2020) ARHGAP10, which encodes Rho GTPase-activating protein 10, is a novel gene for schizophrenia risk. *Transl Psychiatry*, 10 : 247.
- 6) Stessman HA, Bernier R and Eichler EE (2014) A genotype-first approach to defining the subtypes of a complex disease. *Cell*, 156 : 872-877.
- 7) Sundberg M, Pinson H, Smith RS, et al (2021) 16p11.2 deletion is associated with hyperactivation of human iPSC-derived dopaminergic neuron networks and is rescued by RHOA inhibition in vitro. *Nat Commun*, 12 : 2897.

■ ABSTRACT**Genomic copy number variations in the risk of schizophrenia**Itaru Kushima^{1, 2)}*1) Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine**2) Medical Genomics Center, Nagoya University Hospital*

In the first half of this article, we will outline the large genomic copy number variants (CNVs) that are strongly implicated in the risk of schizophrenia. Although individual CNVs account for less than 1% of the patient population, some, such as the 22q11.2 deletion, the 3q29 deletion, and the 15q11-q13 duplication, increase the risk of developing the disorder more than tenfold. These CNVs are involved not only in schizophrenia but also in the risk of neurodevelopmental disorders such as intellectual disability, autism spectrum disorder, and attention deficit hyperactivity disorder, making them cross-disease risk variants. In the latter half of the article, we will introduce the ARHGAP10 gene, which we found to be associated with schizophrenia based on our CNV study. We found developmental abnormalities in ARHGAP10 variant based model mice and patient-derived iPS cells. We hypothesize that the abnormal activation of RhoA and Rho kinase caused by the loss-of-function variant of ARHGAP10 gene underlines these abnormalities. We will describe our drug discovery research for schizophrenia targeting this signal.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 33 (4) : 189-193, 2022)