

## 特集 1 稀な遺伝子変異やフェノタイプから精神疾患を考える

## 1. 特徴的な表現型を有する家系例から見いだした稀な遺伝子変異を伴う精神疾患

中村 雅之\*

**抄録:** 多くの精神疾患は、家系研究や双生児研究などから高い遺伝率が推測されている。しかし、臨床診断は問診によらざるを得ず、遺伝学的にも症候学的にも不均一な集団となる。筆者らは、疾患の均質化をめざし、ベッドサイドで遭遇した特徴的な身体表現型を有する器質性精神疾患などに着目して遺伝子解析を行ってきた。今回、「炭酸リチウムに良好な反応性を持つ双極性障害家系例」や「身体小奇形症候群を伴う統合失調症家系例」について遺伝子解析を行った。それぞれわずか1家系であったが、ポジショナルクローニング法によって、病因候補遺伝子を同定した。それぞれの遺伝子変異は非常に稀なものであったが、双極性障害や統合失調症の発症に大きな効果量を有する可能性を考えている。今後はこのような特徴を有する家系をさらに集積し、同定した候補遺伝子について各疾患の分子病態への機能的関与を明らかかなものにした。

日本生物学的精神医学会誌 34 (4) : 133-139, 2023

**Key words :** Homogenization of psychiatric disorder,  
A family with bipolar disorder that responded well to lithium carbonate,  
A family with schizophrenia and minor malformations and intellectual disability,  
Distinctive phenotypes, linkage study, positional cloning

## はじめに

双生児研究や家系解析から、多くの精神疾患には比較的高い遺伝率が示され、遺伝的要因が発症に寄与していると推定されている<sup>12)</sup>。これら精神疾患は、高い罹患率を示すありふれた疾患 (common disease) であり、単一の遺伝子だけが原因となって発症するのではなく、ある同一の環境要因にさらされた場合に発症の引き金となる遺伝子 (疾患感受性遺伝子) が存在し、遺伝的要因と環境要因が複雑に絡み合う多因子性の複雑な疾患 (multifactorial complex disease) と考えられている。

1993年にアルツハイマー病の老人斑にアポリポタンパク質Eが共存するという生物学的な知見をもとに相関研究が行われ、アルツハイマー病のリスクアレルとしてAPOE4遺伝子多型が疾患感受性遺伝子であることが報告された<sup>16)</sup>。この結果は世界中で検証され、民族を超えた再現性が確認された。この知見から、他の多因子性の精神神経疾患にも遺伝

子効果の高い遺伝子型が存在する可能性が考えられ、数多くの相関研究が行われてきたが、ほとんどの研究が再現性に乏しく、アルツハイマー型認知症のAPOE4遺伝子型ほどの成果は挙げられていない。内因性精神疾患は、アルツハイマー型認知症ほどの特徴的な脳画像所見がなく、バイオマーカーもないため、疾患の生物学的な定義自体が困難であり、不均一な集団となり、疾患の異種性が生じてしまうことが一つの要因と考えられる。

2003年に完了したヒトゲノムプロジェクト以降、ゲノム研究は大きく進展した。DNAアレイにより、ヒトゲノムに幅広く分布する数十万以上の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) を一度に解析することが可能になり、2007年以降、DNAアレイを用いた大規模なゲノムワイド関連解析 (genome wide association study : GWAS) が行われるようになり、数万人以上の膨大なサンプルサイズとの組み合わせにより、うつ病、自閉スペクトラム症、双極性障害、統合失調症などとの有意な関連が

Identification of rare genetic mutations in families with distinctive phenotypes

\* 鹿児島大学院医歯学総合研究科 精神機能病学分野 (〒890-8520 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘8丁目35-1) Masayuki Nakamura : Department of Psychiatry, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520, Japan

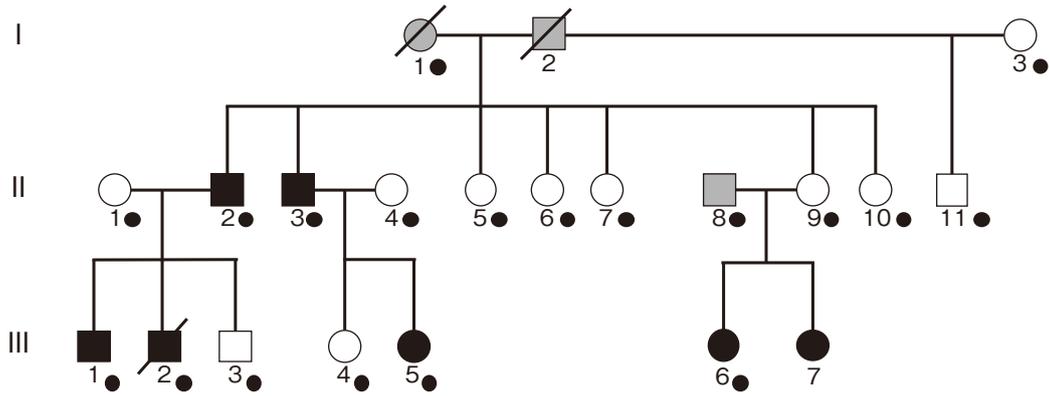


図1 炭酸リチウムに良好な反応性を持つ家系

ドット (●) を記した家系構成員から採血して遺伝子 DNA を抽出し、解析に用いた。  
黒く塗りつぶした記号は罹患者、白抜き記号は非罹患者、灰色は病状不詳を示している (文献 21 より引用)。

相次いで報告されるようになった<sup>15)</sup>。しかし、アルツハイマー病の *APOE4* アリルほどの高いオッズを有するリスク多型は存在せず、各リスク多型の効果量は小さく、ゲノム全体に広く分布していることが明らかになっている。精神疾患について GWAS で同定された疾患感受性遺伝子多型は発症に寄与する遺伝的要因の全体は説明できておらずミッシングヘリタビリティの問題が指摘されている<sup>9)</sup>。ミッシングヘリタビリティの課題を解決するためには、診断を問診に依存せざるを得ないことに起因する疾患の不均一性の問題や環境因子の影響に加え、遺伝子間の相互作用やタンパク質をコードしない非翻訳 RNA (non-coding RNA) など未知の領域に対する継続的な研究とより包括的な理解を要するとされている<sup>17)</sup>。GWAS の結果をもとに、複数の遺伝子多型の情報を用いて、個人がある疾患にかかるリスクを予測するための指標として、個人が有するリスクアレルの数とそれぞれの多型の効果量を掛け合わせたポリジェニックリスクスコア (polygenic risk score : PRS) の概念が提唱された<sup>23)</sup>。ヨーロッパ系白人では、統合失調症の上位 10% の PRS を持つ人は、残り 90% と比較して、統合失調症に限らず双極性障害、うつ病といった他の精神疾患の罹患リスクが高くなることが報告された<sup>1)</sup>。PRS は個人のリスクを予測するための有用なツールである一方で、精神疾患のミッシングヘリタビリティを完全に解決するものではない<sup>8)</sup>。

多数の遺伝子を含む広範な DNA 領域において、稀なコピー数変異である (copy number variant : CNV) が、統合失調症、自閉スペクトラム症、双極性障害、知的障害などに比較的高い効果量を伴ってリスクを有することが報告されている<sup>6)</sup>。さらに、

全エクソームシーケンスや全ゲノムシーケンスなどの配列解析技術が大幅に向上し、これらの解析によって、数千人規模の大規模サンプルにおいて、稀なリスク変異が同定されている<sup>14)</sup>。今後も大規模サンプルを用いた解析が進むことで、リスクの同定だけでなく、各遺伝子が関与する病態メカニズムやパスウェイの明確化と疾患修飾へ向けた創薬の開発などにつながることを期待される。

以上のように精神疾患の遺伝子解析は、大規模な国際コンソーシアムやデータマイニングのようなビッグデータ解析に注力される傾向にある。しかしながら、日々の臨床診療のなかで家系例に出会うことがあり、詳細な臨床観察に基づいた少数例の遺伝子解析によって新たな遺伝子の発見が可能であるとも考えている。実際にベッドサイドで、「炭酸リチウムに良好な反応性を持つ家系症例」<sup>21)</sup> や「身体小奇形症候群を伴う統合失調症家系症例」<sup>25)</sup> と遭遇し、疾患の均質化を目論み、これら家系症例を用いて遺伝子連鎖解析による候補領域の絞り込みと遺伝子変異解析を行った自験例について概説する。

### 1. 炭酸リチウムに良好な反応性を持つ家系症例の解析<sup>21)</sup>

炭酸リチウムに良好な治療反応性を有する気分障害の家系図を図 1 に、罹患者の診断と治療薬、転帰について表 1 に示す。第 2 世代の II-2、II-3、第 3 世代の III-5 は躁病相とうつ病相を繰り返す典型的な I 型双極性障害であり、第 3 世代の III-1、III-2、III-6 は反復性うつ病性障害の診断であったがいずれも炭酸リチウムが奏効し、寛解に至っていた。家系図のドットが付された家系構成員から採血し

表 1 罹患者の診断と治療薬, 転帰

症例	診断	主な治療薬	転帰
II-2	I 型双極性障害	炭酸リチウム	寛解
II-3	I 型双極性障害	炭酸リチウム	寛解
III-5	I 型双極性障害	炭酸リチウム	寛解
III-1	反復性うつ病性障害	炭酸リチウム	寛解
III-2	反復性うつ病性障害	炭酸リチウム	服薬自己中断後自殺
III-6	反復性うつ病性障害	炭酸リチウム クロミプラミン	寛解
III-7	統合失調感情障害	不明	不明
II-8	アルコール依存症	不明	不明

(文献 21 より改変引用)

DNA を抽出して解析に用いた。

連鎖解析とは、遺伝的に多型マーカーと病的変異の距離が近いと減数分裂の際の組換えを乗り越えて多型マーカーと変異が連鎖してついてくることを統計学的に計算するものであり、連鎖がないとしたときの確率に対する、連鎖があるとしたときの確率の比を常用対数で示す logarithm of the odds (LOD) 値法が用いられる。これによって遺伝子変異の存在する確率が高い染色体上の座位が求められる。家系内罹患者と非罹患者の全ゲノム領域を SNP アレイ (Gene Chip Human Mapping 100K) を用いて網羅的に解析し、連鎖解析により統計学的に罹患者にのみ共通して連鎖する SNP 領域を求めた。さらに詳細に連鎖する領域を絞り込むために、連鎖する SNP 領域近傍のマイクロサテライトマーカーを併用した。LOD 値が高いマーカーを中心にハプロタイプ解析を行い、組換えによって連鎖から外れる領域を除外し、連鎖領域を 8 番染色体短腕 22 から短腕 11.1 間の 30 Mb に絞り込むことができた。その領域について全ゲノム配列解析の結果を用いて罹患者にのみ共通する遺伝子変異を求めた共分離解析の結果、*DOCK5* 遺伝子上に c.3170A > G (p.E1057G) 変異を同定した (図 2)。

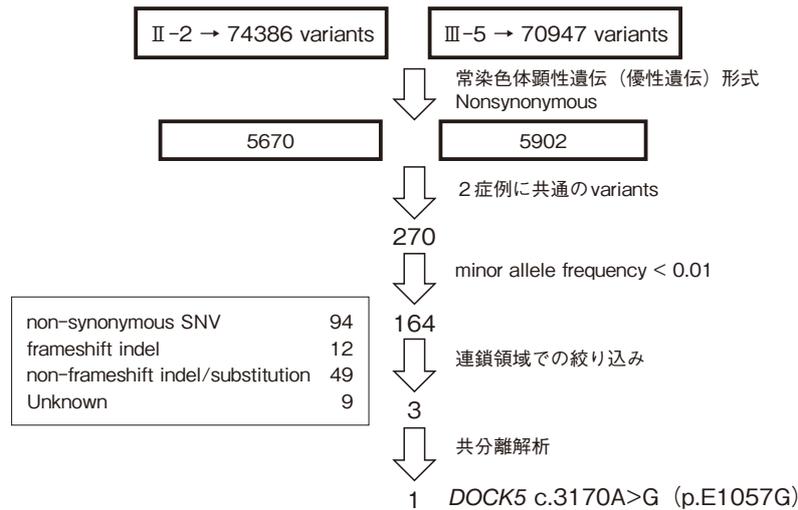
双極性障害を含むさまざまな精神疾患を持つ 2 家族 32 人の患者と 33 人の健常者を対象としたエクソーム配列解析により、*DOCK5* の変異がさまざまな精神疾患と有意に関連していることが報告されている<sup>2)</sup>。また、Le-Niculescu らは *DOCK5* の発現レベルの変動が気分障害、精神病、自殺傾向と関連していることを報告しており、*DOCK5* はこれらの疾患を反映する重要な遺伝子バイオマーカーである可能性を示唆している<sup>7)</sup>。さらに *DOCK5* は、肥満細胞の脱顆粒に参与し、Nck2 と Akt と結合して GSK3 $\beta$  をリン酸化し不活性化することで、微小管

の動態を調節することが示唆されている<sup>11)</sup>。炭酸リチウムの作用機序はまだ解明されていないが、GSK3 $\beta$  の阻害作用が有力な薬理作用とされている<sup>5)</sup>。中枢神経系では、GSK3 $\beta$  関連タンパク質と DOCK5 が共に発現している。今後の研究によって、肥満細胞と同様の DOCK5 のメカニズムが中枢神経系にも存在している場合、DOCK5 が炭酸リチウム反応性双極性障害および関連疾患の病態分子の一つである可能性を示唆する。

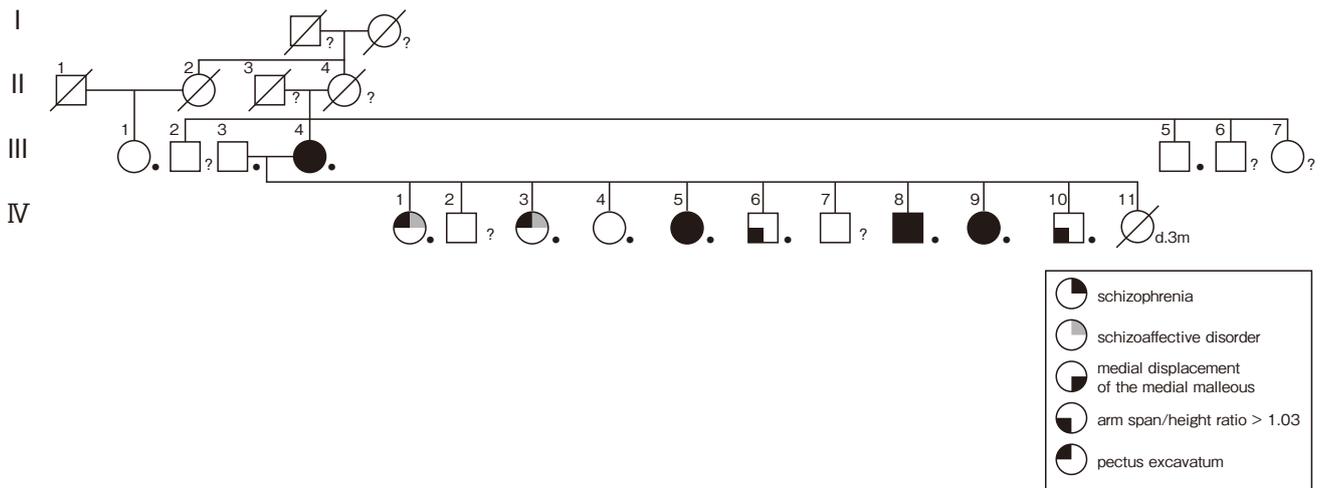
## 2. 身体小奇形症候群を伴う 統合失調症家系症例の解析<sup>25)</sup>

発端者は、同胞 11 名中第 9 子五女として出生し、生来自閉的であった。成績は下位であった。中学卒業後、他県の飲食店に住み込みで勤めたが、10 代後半に情動不安定となり退職し、帰省した。帰省後は、統合失調症と診断され、A 病院への入退院を繰り返した。精神症状は持続し、30 代で自宅生活が困難となり、精査目的に大学病院に入院となった。破瓜型統合失調症と知的障害を有しており、身体的特徴として、長い手足、顎後退、漏斗胸、高口蓋、扁平足、内顆内側偏位、手首徴候など Marfan 症候群様の身体小奇形症候群を呈していた。母親、四姉、四兄も同様の身体小奇形症候群を伴う破瓜型統合失調症であり、長姉と次姉は統合失調感情障害であった (図 3)。

図 3 に示した家系図内のドットが記された構成員から採血し、DNA を抽出した。SNP アレイ (Genome Wide Human SNP Array 6.0) を用いて全ゲノム領域を網羅的に解析し、連鎖解析によって統計学的に罹患者にのみ共通して連鎖する SNP 領域を求めた。さらに詳細に連鎖する領域を絞り込むために連鎖する SNP 領域近傍のマイクロサテライトマーカーを



**図 2** 全ゲノム配列解析と連鎖解析を用いた絞り込み  
 常染色体顕性遺伝 (優性遺伝) 形式の非同義的バリエーションは 5,902 個あった。その中で II-2 と III-5 に共通のバリエーションは 270 個であり minor allele frequency < 0.01 のものは 164 個であった。連鎖解析の結果、連鎖領域内にあるものは 3 つであり、家系内罹患者に共分離していた変異は *DOCK5* 遺伝子上の c.3170A > G (p.E1057G) のみであった。(文献 21 より引用改変)



**図 3** 身体小奇形症候群を伴う統合失調症家系  
 ドット (●) を記した家系構成員から採血して遺伝子 DNA を抽出し、解析に用いた。III-4, IV-5, IV-8, IV-9 は破瓜型統合失調症, 知的障害, Marfan 様身体小奇形症候群を呈していた。(文献 25 より引用)

併用した。遺伝子連鎖解析で LOD 値が上昇した多型マーカー周囲についてハプロタイプ解析を行い、12 番染色体長腕 24.23-長腕 24.31 の領域に絞り込んだ。発端者に対してエクソーム解析を行い、家系内の身体小奇形症候群を伴う破瓜型統合失調症に共分離する *KDM2B* 遺伝子上の c.2173G > A (p.A725T) 変異を同定した。

*KDM2B* はヒストン H3 の N 末端の 4 番目のリジン残基のトリメチル (H3K4me3) と 36 番目のリジン残基のジメチル (H3K36me2) を脱メチル化修

飾する酵素であり、それぞれをジメチルとモノメチルに脱メチル化することでヒストン修飾の変化を引き起こす<sup>24)</sup>。この変異は H3K4me3 を特異的に認識し DNA に結合する重要な機能を有するドメイン上に存在する。ヒストン H3K4 や H3K36 のメチル化酵素の変異と関連する疾患は、Kleefstra 症候群 (*KMT2C*)、Kabuki 症候群 (*KMT2D*)<sup>13)</sup>、統合失調症や神経発達症 (*SETD1A*)<sup>18, 19)</sup> などが知られており、脱メチル化酵素の変異に関する疾患では Wolf-Hirschhorn 症候群 (*Nkx2-5*)<sup>10)</sup>、X-linked Claes-

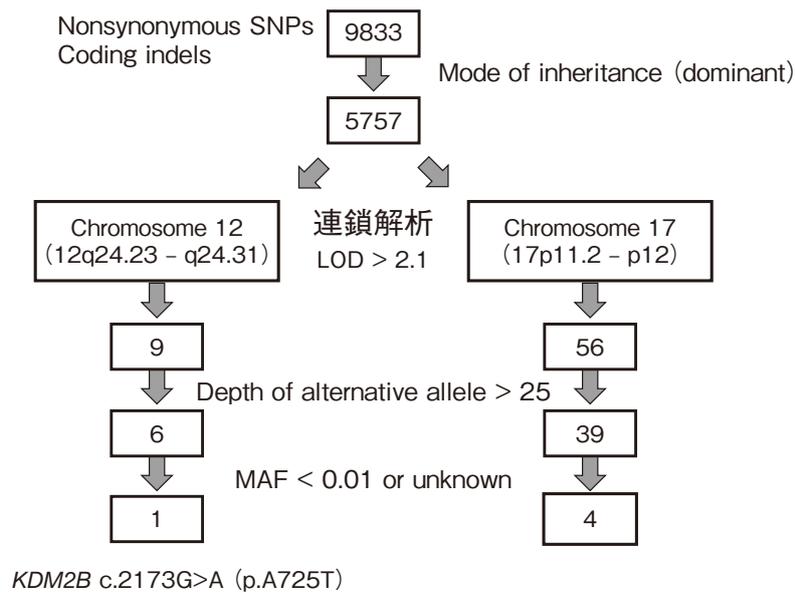


図4 全エクソーム配列解析と連鎖解析を用いた絞り込み

常染色体顕性遺伝（優性遺伝）形式の非同義的バリエーションは5,757個あった。その中で第12番染色体長腕24.23から長腕24.31の連鎖領域に存在するバリエーションは9個であった。minor allele frequency < 0.01のものは*KDM2B*遺伝子上のc.2173G > A (p.A725T)のみであり、破瓜型統合失調症、知的障害、Marfan様身体小奇形症候群を呈するIII-4、IV-5、IV-8、IV-9（図3）に共分離していた。17番染色体上で絞られた4つの遺伝子上には、サンガー法を用いた配列解析で変異を証明できなかった。（文献25より引用）

Jensen症候群（*KDM5C*）<sup>4)</sup>、口蓋裂、知的障害、および顔貌奇形（*KDM1A*）<sup>20)</sup>、自閉スペクトラム症と知的障害（*KDM5B*）<sup>3)</sup>などが知られている。同様にヒストンH3K4の脱メチル化修飾に関与すると考えられる*KDM2B*のc.2173G > A (p.A725T)変異は精神神経疾患や発達に影響を及ぼす可能性が示唆される。また、*KDM2B*タンパク質はヒストンテールに限らず他の遺伝子のメチル化修飾にも影響しているため、*KDM2B*変異を有する疾患群に特異的エピグネチャーの存在が考えられており<sup>22)</sup>、統合失調症の病態と関連する可能性があり、今後のさらなる解析が待たれる。

## まとめ

今回、特徴的な臨床表現型を有する2つの家系の分子遺伝学的研究について例示した。

近年、分子遺伝学分野の研究手法が飛躍的に進歩し、それらを用いた国際的な共同研究による大規模研究が展開されることにより、次々と新たな知見が生まれており、精神疾患の分子病態メカニズムの解明や創薬開発へとつながっていくことが期待されている。一方で、疾患の不均一性がミッシングヘリタ

ビリティの課題になっていることも指摘されている。日々の臨床における丹念な診療の中に、精神疾患の遺伝的複雑性を解きほぐすための重要な視点が含まれていると考えている。今後も大規模解析が展開されることが予想されるが、精神疾患を紐解くための一つの方法として、ベッドサイドからのアプローチによっても、病態の解明に寄与できる可能性があると考えている。

## COI

開示すべき利益相反は存在しない。

## 倫理規定

本論文に記載した著者のすべての研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。

## 文 献

- Bigdeli TB, Voloudakis G, Barr PB, et al (2022) Penetrance and pleiotropy of polygenic risk scores for schizophrenia, bipolar disorder, and depression among adults in the US veterans affairs health care system. *JAMA Psychiatry*, 79 : 1092-1101.
- Ganesh S, Ahmed PH, Nadella RK, et al (2019) Exome sequencing in families with severe mental illness identifies novel and rare variants in genes impli-

- cated in Mendelian neuropsychiatric syndromes. *Psychiatry Clin Neurosci*, 73 : 11–19.
- 3) Harrington J, Wheway G, Willaime–Morawek S, et al (2022) Pathogenic KDM5B variants in the context of developmental disorders. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 1865 : 194848.
  - 4) Hatch HAM and Secombe J (2022) Molecular and cellular events linking variants in the histone demethylase KDM5C to the intellectual disability disorder Claes–Jensen syndrome. *FEBS J*, 289 : 7776–7787.
  - 5) Jope RS (2003) Lithium and GSK-3 : one inhibitor, two inhibitory actions, multiple outcomes. *Trends Pharmacol Sci*, 24 : 441–443.
  - 6) Kirov G (2015) CNVs in neuropsychiatric disorders. *Hum Mol Genet*, 24 : R45–49.
  - 7) Le–Niculescu H, Kurian SM, Yehyawi N, et al (2009) Identifying blood biomarkers for mood disorders using convergent functional genomics. *Mol Psychiatry*, 14 : 156–174.
  - 8) Lewis CM and Vassos E (2020) Polygenic risk scores : from research tools to clinical instruments. *Genome Med*, 12 : 44.
  - 9) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 461 : 747–753.
  - 10) Nimura K, Ura K, Shiratori H, et al (2009) A histone H3 lysine 36 trimethyltransferase links Nkx2–5 to Wolf–Hirschhorn syndrome. *Nature*, 460 : 287–291.
  - 11) Ogawa K, Tanaka Y, Uruno T, et al (2014) DOCK5 functions as a key signaling adaptor that links FcepsilonRI signals to microtubule dynamics during mast cell degranulation. *J Exp Med*, 211 : 1407–1419.
  - 12) Polderman TJ, Benyamin B, de Leeuw CA, et al (2015) Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. *Nat Genet*, 47 : 702–709.
  - 13) Poreba E, Lesniewicz K and Durzynska J (2022) Histone–lysine N–methyltransferase 2 (KMT2) complexes – a new perspective. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 790 : 108443.
  - 14) Singh T, Kurki MI, Curtis D, et al (2016) Rare loss-of-function variants in SETD1A are associated with schizophrenia and developmental disorders. *Nat Neurosci*, 19 : 571–577.
  - 15) Smoller JW, Andreassen OA, Edenberg HJ, et al (2019) Psychiatric genetics and the structure of psychopathology. *Mol Psychiatry*, 24 : 409–420.
  - 16) Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al (1993) Apolipoprotein E : high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90 : 1977–1981.
  - 17) Sullivan PF and Geschwind DH (2019) Defining the genetic, genomic, cellular, and diagnostic architectures of psychiatric disorders. *Cell*, 177 : 162–183.
  - 18) Takata A, Ionita–Laza I, Gogos JA, et al (2016) De novo synonymous mutations in regulatory elements contribute to the genetic etiology of autism and schizophrenia. *Neuron*, 89 : 940–947.
  - 19) Takata A, Xu B, Ionita–Laza I, et al (2014) Loss-of-function variants in schizophrenia risk and SETD1A as a candidate susceptibility gene. *Neuron*, 82 : 773–780.
  - 20) Tunovic S, Barkovich J, Sherr EH, et al (2014) De novo ANKRD11 and KDM1A gene mutations in a male with features of KBG syndrome and Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*, 164A : 1744–1749.
  - 21) Umehara H, Nakamura M, Nagai M, et al (2021) Positional cloning and comprehensive mutation analysis of a Japanese family with lithium-responsive bipolar disorder identifies a novel DOCK5 mutation. *J Hum Genet*, 66 : 243–249.
  - 22) van Jaarsveld RH, Reilly J, Cornips MC, et al (2023) Delineation of a KDM2B-related neurodevelopmental disorder and its associated DNA methylation signature. *Genet Med*, 25 : 49–62.
  - 23) Wray NR, Goddard ME and Visscher PM (2007) Prediction of individual genetic risk to disease from genome-wide association studies. *Genome Res*, 17 : 1520–1528.
  - 24) Yan M, Yang X, Wang H, et al (2018) The critical role of histone lysine demethylase KDM2B in cancer. *Am J Transl Res*, 10 : 2222–2233.
  - 25) Yokotsuka–Ishida S, Nakamura M, Tomiyasu Y, et al (2021) Positional cloning and comprehensive mutation analysis identified a novel KDM2B mutation in a Japanese family with minor malformations, intellectual disability, and schizophrenia. *J Hum Genet*, 66 : 597–606.

**■ ABSTRACT****Identification of rare genetic mutations in families with distinctive phenotypes**

Masayuki Nakamura

*Department of Psychiatry, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

Many psychiatric disorders are considered highly heritable, based on family or twin studies. Since their clinical diagnosis relies on interviews, each psychiatric disorder consists of a genetically and symptomatically heterogeneous population. To homogenize the disorder, we genetically analyzed patients with distinctive phenotypes encountered at the bedside. In this report, I present genetic analyses that were performed on a family with bipolar disorder that responded well to lithium carbonate and a family with schizophrenia and minor malformations and intellectual disability. Although each group consisted of only one family, we were able to successfully identify candidate disease mutations using the positional cloning method. The mutations were very rare and were predicted to strongly influence the onset of bipolar disorder and schizophrenia, respectively, from the onset. However, further functional analysis is required to confirm the implication of these gene products in the molecular pathology of these diseases.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (4) : 133-139, 2023)