

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 湊 崇暢

本研究は、日本人を対象としたパニック障害患者に対し、一般健常成人をコントロールとしてゲノムワイド関連解析 (Genome wide association study : GWAS) を行った。Otowa らの 50 万 SNPs チップを用いた、患者 200 人、対照 200 人 (1 次サンプル) の GWAS での結果をもとに、疾患候補と考えられる SNPs を選択し、次に 1 次サンプルと重複しない患者 558 人、対照 566 人 (2 次サンプル) を対象に、DigiTag2 を用いたタイピングにより case-control の比較を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. Otowa らは、1 次サンプルの全 400 検体について、BRLMM アルゴリズム (閾値 0.5) を用いて遺伝子型を決定した。その結果、患者群、対照群ともに call rate は約 98% であった。

HWE で $p > 0.1\%$ 、call rate $> 95\%$ を満たす SNP 数を調べた結果、X 染色体上の SNPs を除く 490,032 SNPs のうち、mAF $> 1\%$ のものは 275,329 SNPs、mAF $> 5\%$ のものは、253,902 SNPs、mAF $> 10\%$ のものは 219,349 SNPs 存在した。

2. これらの SNPs について患者-対照の allele 頻度を比較して、p-value のレベルごとに観察数と期待数の割合 (Observed/Expected) を検討した。この結果から、 $p < 0.001$ レベルまでにおいて観察値/期待値が 1.5 を下回る mAF $> 10\%$ を条件として採用した。mAF $> 10\%$ で $p < 10^{-4}$ の SNPs は 28 個認められた。この 28 SNPs のうち 12 番染色体上に近在する 2 SNPs は同一ハプロタイプ上に存在する tag SNP であったため、最終的に 27 SNPs を候補とし 2 次サンプルで検討した。DigiTag2 システムでは一度に 32 SNPs が解析できることからこれら 27 SNPs の他に、mAF $> 5\%$ 、HWE で $p > 0.1\%$ 、call rate $> 95\%$ を満たす 48 SNPs のうち、①前記の 28 SNPs を除く、②allele p 値が高値である、③候補 SNP が遺伝子上に存在するものを 5 つ選択し 2 次サンプルで検討する SNPs に追加した。

3. 1 次サンプルで得た 27 候補 SNPs に上記 5 SNPs を追加した 32 SNPs について DigiTag2 を用いゲノムワイド関連解析を行った。その結果、SNP29、SNP30、SNP31 を除く 29 SNPs

で結果を得ており、タイピング成功率は 90.6%であった。average call rate は 99.57%と高値を示した。次に 29 SNPs における call rate と allele 頻度の患者対照間の比較および genotype 頻度の患者対照間の比較を行った。この結果、SNP2 で allele p 値 = 0.014、genotype p 値 = 0.043 が、SNP4、SNP32 において allele p 値 = 0.021 および 0.25 が得られた。ただしこれらの結果を 1 次サンプルでの結果と比較してみると、SNP2 は 1 次サンプルでは患者群で mAF が対照群より高く、2 次サンプルでは対照群の方が高くなっていた。なお同様に 2 次サンプルで allele p 値 < 0.1 の基準を満たす他の SNPs (SNPs 8, 12, 16, 25) についても 1 次サンプルの結果と比較したところ、SNP8 では SNP2 と同様逆方向の結果であった。

4. 2 次サンプルの解析は、32 SNPs について行ったため、検定の多重性を考慮すると $p = 0.001$ 程度が結果の有意性を判断する上で要求されるが、そのレベルに達する p 値は得られなかった。しかし nominal $p < 0.05$ (allele 頻度) で 1 次サンプルと同じ傾向を示した SNP が 2 つ認められた (SNP4 と SNP32)。また他に 3 つの SNPs が $p < 0.1$ のレベルで 1 次サンプルと同じ傾向を示した。なお SNP4 は遺伝子上に存在しなかったが、SNP32 は 22q12.3 上で、APOL3 遺伝子 (APOLIPOPROTEIN L-3: アポリポプロテイン L-3) の promotor 領域に位置していた。なお 2 次サンプルで allele p 値 < 0.1 の基準を満たす SNP12 は 8p21-p12 に位置し、APOJ 遺伝子 (APOLIPOPROTEIN J: アポリポプロテイン J) の promotor 領域に存在していた。

以上、本論文は Otowa らの日本人を対象としたパニック障害におけるゲノムワイド関連解析の結果から、候補と考えられる 32 SNPs を選択し、さらに 1 次サンプルと重複しない 2 次サンプルを対象に、DigiTag2 法を用いた解析を行った。その結果、2 SNPs についてパニック障害との関連の可能性を示唆する所見を得た。これらのうち一つは APOL3 遺伝子など機能的にも興味深いものが含まれていた。統計学的有意性には欠けるが、パニック障害が polygenic でかつ個々の遺伝子多型の示す odds ratio が比較的小さいと想定されることを考えれば、これらの SNP は今後の検討で注目すべき知見である。

本研究は Otowa らの 1 次サンプルも加えると、パニック障害に対して世界最大規模のサンプルを用い、精神疾患に対してはまだほとんど行われていないゲノムワイドな多型解析を 2 段階にわたり行い、候補遺伝子にアプローチする手法を示しており、パニック障害の疾患感受性遺伝子の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。