

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19768

研究課題名(和文)One-carbon metabolismに着目した統合失調症病態解析研究

研究課題名(英文)Pathological research of schizophrenia focusing on One-carbon metabolism

研究代表者

木下 誠 (KINOSHITA, Makoto)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：40622478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：徳島大学で収集したサンプルを用いて血漿ピリドキサル濃度との関連解析を行い、統合失調症患者では有意に血漿ピリドキサル濃度が低下していることを示した。ヨーロッパの大規模GWASで健常者の血漿ピリドキサル濃度に影響を与えると報告されたrs4654748遺伝子型と性別にわたる層別解析では、全てのカテゴリーにおいて統合失調症患者では有意に血漿ピリドキサル濃度が低下していることも示した。血漿葉酸濃度においても統合失調症患者では健常者に対して有意に血漿葉酸濃度が低下していることを示した。既報論文を含めたメタ解析を行い、統合失調症では、健常者に比べて有意に血漿葉酸濃度が低下していることも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We conducted a case-control study between serum pyridoxal levels and schizophrenia in a large Japanese cohort. Subsequently, we conducted a meta-analysis of association studies. Then, we investigated whether rs4654748, which was identified in a genome-wide association study as a vitamin B6-related SNP, was genetically implicated in schizophrenia in the Japanese population. Finally, we assessed the effect of serum pyridoxal levels on schizophrenia risk by a Mendelian randomization approach. Serum pyridoxal levels were significantly lower in patients with schizophrenia than in controls, not only in our cohort, but also in the pooled data set of the meta-analysis of association.

Serum folate concentration was significantly lower in schizophrenia patients. In the meta-analysis, serum folate concentration was significantly decreased in the patients with schizophrenia.

研究分野：Psychiatry

キーワード：one-carbon metabolism 統合失調症 ビタミンB6 ピリドキサル 葉酸 ホモシステイン

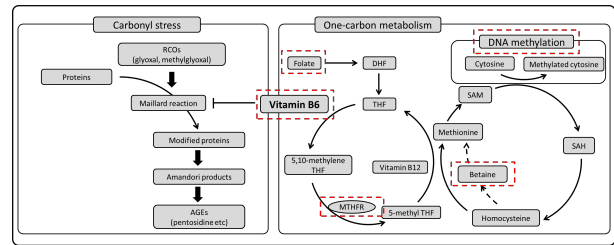
1. 研究開始当初の背景

統合失調症は罹患率 1%と比較的頻度が高い精神疾患で、WHO によれば長期的な障害をきたす疾患のうちでトップ 10 に入る主要疾患である。統合失調症は思春期から成人早期に発症し、慢性・再発性の経過をたどる。統合失調症は多因子疾患であり、遺伝因子と環境因子が相互に作用して発症すると考えられている。

我々は、これまでにホモシステインに注目した統合失調症の病態解明研究を行ってきた。まず、日本人の統合失調症患者 381 名と健常者 998 名の血漿ホモシステイン濃度を測定し、統合失調症群は健常者群と比較して血漿ホモシステイン濃度が高いことを明らかにし、つづいて既報論文のメタ解析を行い、同様の結果を得た。また、血漿ホモシステイン濃度に関連する MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase) 遺伝子 C677T 多型と統合失調症の遺伝子関連研究とメタ解析を行い (統合失調症患者 4316 名と健常者 6062 名)、この多型が日本人において統合失調症のリスク多型であることを明らかにした (Nishi et al., 2014)。

さらに海外のゲノムワイド関連研究で同定された複数のホモシステイン関連遺伝子多型の積和が統合失調症のリスクであることも明らかにした (Kinoshita et al., 2016)。一方、ホモシステインの代謝産物である S-adenosyl-methionine (SAM) が DNA シトシン塩基に対するメチル基ドナーとして働くことに注目して、エビジェネティクス機構の 1 つである DNA メチル化修飾解析を行い、特定の遺伝子における統合失調症の DNA メチル化異常を明らかにした (Kinoshita et al. 2013, 2014)。我々が明らかにしてきたこれらの統合失調症の異常は、one-carbon metabolism (図 1) に関わる代謝産物や遺伝子多型であり、これらの結果は、one-carbon metabolism の他の代謝物質や代謝物質に関わる遺伝子多型も統合失調症の病態に深く関わっている可能性を示唆していると思われる。これまでに、one-carbon metabolism の代謝物質と統合失調症との関連研究では、統合失調症患者における葉酸の低下 (Song et al. 2014)、ビタミン B6・B12 の低下 (Arai et al. 2010; Kemperman et al. 2005)、ベタインの低下 (Koike et al. 2014)、などが報告されているが、いずれも小サンプルによる検討で、結果は一致しておらず、これらの代謝物質を統合的に解析した研究報告もない。生体内でのたんぱく質の酸化やカルボニル化や糖化が終末糖化産物の蓄積を引き起こし、たんぱく質の修飾反応が亢進している状態をカルボニルストレスと言われているが、興味深いことに、ビタミン B6 はカルボニルストレスと呼ばれる経路にも関与しており、統合失調症の病態にカルボニルストレスが関与していることも報告されている (Arai et al., 2010, Katsuta et al., 2014)。

図 1. one-carbon metabolism



これらの背景から、one-carbon metabolism に関わる物質と統合失調症の関連を詳しく調べることによって、我々は統合失調症の病態に迫ることができると考えられる。

2. 研究の目的

日本人の大規模サンプルを用いて、ホモシステインに加えて、one-carbon metabolism に関わるビタミン B6、葉酸に注目して、これらの代謝物質ならびに代謝物質関連遺伝子多型を統合的に解析して、pathway 単位で新しい統合失調症の病態を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

・血漿ピリドキサル濃度と統合失調症関連研究

徳島大学では 365 名の統合失調症患者と 911 名の健常者から血液サンプルを採取した。rs4654748 と統合失調症の関連研究では 4 つの異なる日本人集団からなる、合計 10634 名のサンプルデータを用いた。血中ピリドキサル濃度は HPLC 法を用いて計測を行った。SNP genotyping は Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR を用いた。血漿ピリドキサル濃度と統合失調症発症リスクのメタ解析では、PubMed と ScienceDirect から検索を行い、PRISMA ガイドラインに沿って論文を選択した。

健常者の血液サンプルを用いたゲノム網羅的関連解析のメタ解析から同定された血中ピリドキサル濃度に影響を与える多型の統合失調症との関連研究で有意な関連を示した rs4654748 遺伝子多型を用いて、健常者における血漿ピリドキサル濃度と遺伝子多型の関連解析を行った。重回帰分析を用い、交絡因子には年齢と性別を含めた。血漿ピリドキサル濃度は自然対数値に変換し、解析に用いた。

層別解析では、遺伝子多型と性別により合計 6 カテゴリーに分け、それぞれについて年齢を交絡因子として回帰分析を行った。

rs4654748 遺伝子多型と血漿ピリドキサル濃度のメタ解析では、rs4654748 遺伝子多型と統合失調症のメタ解析では、rs4654748 遺伝子多型の C アレルを基準に、統合失調症リスクとの関連を評価した。研究間の異質性が認められなかったため、固定効果モデルを採用した。

メンデル無作為化解析を行い、血漿ピリドキサル濃度低下と統合失調症発症リスクの因果関係の推定も行った。日本人を用いたメンデル無作為化解析では、徳島大学で得た859名の健常者サンプルを用いて rs4654748 遺伝子多型と血漿ピリドキサル濃度の関連を評価し、rs4654748 遺伝子多型と統合失調症リスクの関連には、本研究のメタ解析結果を用いた。

・葉酸と統合失調症関連研究

健常者の血液サンプルを用いたゲノム網羅的関連解析のメタ解析から同定された血中葉酸濃度に影響を与える多型の統合失調症との関連研究で有意な関連を示した rs1999594 遺伝子多型を用いて、共分散分析を行った。共変量には年齢、血漿ホモシステイン濃度を含めた。統合失調症と血中葉酸濃度のメタ解析では、17の既報論文と徳島大学サンプルの結果を含めた。

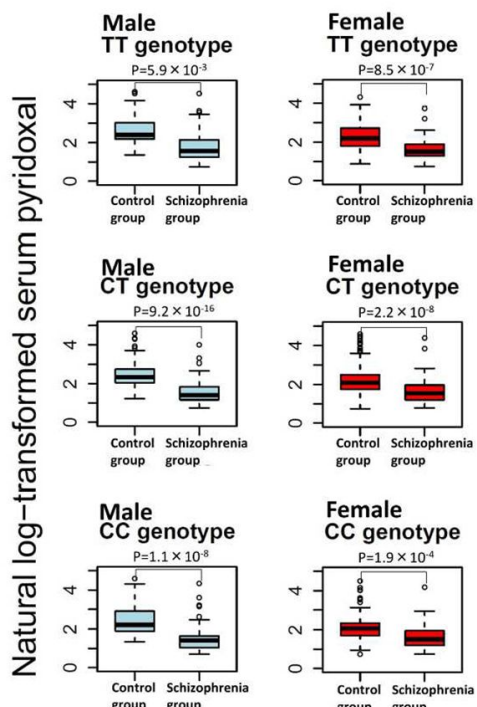
4. 研究成果

・血漿ピリドキサル濃度と統合失調症関連研究

rs4654748 遺伝子多型と血漿ピリドキサル濃度の関連解析では、C アレルを1本持つごとに、血漿ピリドキサル濃度が 0.13SD 低下するという有意な結果を得た ($p = 5.7 \times 10^{-3}$)。

層別解析では、全6カテゴリで統合失調症患者では健常者に比較して有意に血漿ピリドキサル濃度が低下していた(図2)。

図2. rs4654748 遺伝子型と性別にわけた、統合失調症患者と健常者の血漿ピリドキサル濃度の層別解析結果



840名の統合失調症患者と1285名の健常者を用いた血漿ピリドキサル濃度と統合失調症リスクのメタ解析では、有意な関連を認めた ($p = 9.8 \times 10^{-24}$, 図3)。

4624名の統合失調症患者と6010名の健常者を用いた rs4654748 遺伝子多型と統合失調症のメタ解析では有意な関連を認めなかった。メンデル無作為化解析を用いた血漿ピリドキサル濃度と統合失調症発症リスクの因果関係の推定では、日本人、海外データともに有意な因果関係を認めなかった(図4)。

図3. 血漿ピリドキサル濃度と統合失調症のメタ解析結果

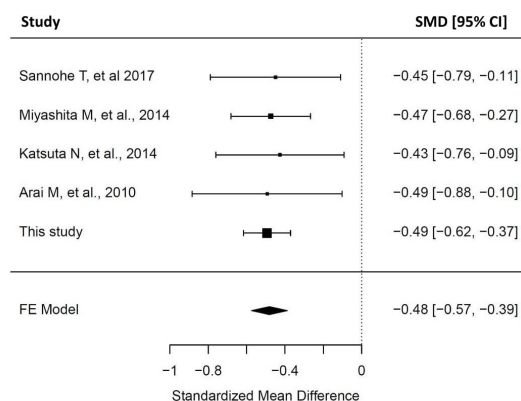
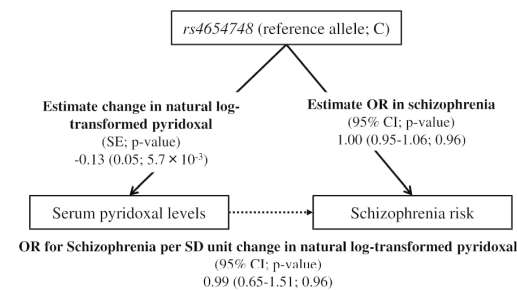


図4. メンデル無作為化解析を用いた日本人における血漿ピリドキサル濃度と統合失調症発症リスクの因果関係の推定結果



・葉酸と統合失調症関連研究

全ての rs1999594 遺伝子多型において、統合失調症患者では有意に血漿葉酸濃度が低下していた。統合失調症と血中葉酸濃度のメタ解析では、統合失調症では有意に血中葉酸濃度が低下していることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Tomioka Y, Numata S, Kinoshita M, Umehara H, Watanabe SY, Nakataki M, Iwayama Y, Toyota T, Ikeda M, Yamamori H, Shimodera S, Tajima A, Hashimoto R, Iwata N, Yoshikawa T, Ohmori T.

Decreased serum pyridoxal levels in schizophrenia: meta-analysis and

Mendelian randomization analysis.
J Psychiatry Neurosci. 2018 43(3):194-200.
(査読あり)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

木下誠 (KINOSHITA, Makoto)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：40622478

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()