

令和 3 年 5 月 10 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07551

研究課題名（和文）Glyoxalase1遺伝子多型に基づく統合失調症の病態解明と新規治療薬の創出

研究課題名（英文）Understanding of pathophysiological mechanisms and development of the treatment of schizophrenia based on novel gene polymorphisms of glyoxalase 1.

研究代表者

原島 愛 (Harashima, Ai)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50705522

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：Glyoxalase 1 (GL01) はこれまで統合失調症との関連が示唆されていたが、詳細は不明であった。本研究では、研究代表者らが新たに見出したGL01プロモーター領域内に存在する遺伝子多型が統合失調症の病態形成に関与していることが、ヒト臨床検体だけでなく疾患iPS細胞を用いた検討でも示唆された。加えて、統合失調症の病態形成への関与が示唆される遺伝子変異をGL01プロモーター領域内で新たに見出すことに成功した。この遺伝子変異は統合失調症特異的であり、この遺伝子変異に着目することで、統合失調症の病態形成の全貌を明らかにできる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

100人に1人が発症する患者数の多い精神疾患である統合失調症の病態形成メカニズムを明らかにすることは、新たな治療法、治療薬の開発にとって極めて重要である。本研究では、これまで不明であったGlyoxalase 1 (GL01) と統合失調症との関連性を明らかにするとともに、統合失調症特異的なGL01遺伝子変異の発見にも成功した。本研究の成果の学術的意義は大きい。また、本研究の成果によりこれまでになかった統合失調症の治療法、治療薬が開発される可能性があり、社会的意義も大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）： Glyoxalase 1 (GL01) has been known to be associated with schizophrenia. However, the mechanism remains unknown. In this study, we revealed that novel gene polymorphisms in the human GL01 promoter were involved in the pathogenesis of schizophrenia using human samples as well as iPS cells derived from the patients. In addition, we identified a novel gene mutation in human GL01 promoter region in the patients with schizophrenia. The gene mutation was found to be specific to schizophrenia. These findings suggest that GL01 gene could be a target for the treatment and prophylaxis of schizophrenia.

研究分野：分子生物学

キーワード：転写調節

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Glyoxalase 1 (GL01) は、後期糖化反応生成物 (advanced glycation end-products, AGE) を形成する前駆体で反応性の高いメチルグリオキサール (MG) を解毒する酵素である。MG は、統合失調症など不安や精神行動に関与していることが示唆されているが、詳しいことは未だ不明である。統合失調症では、MG が蓄積することで AGE が増加することが明らかとなっており、GL01 は MG を減少させるため、統合失調症では GL01 の発現量が重要である。ヒト *GL01* の転写発現調節機構を解明することは、様々な精神疾患、特に統合失調症の病態解明とその治療のために重要である。*GL01* の転写発現調節機構としては、ストレスにより活性化される Nrf2 (nuclear factor -erythroid 2 p45 subunit-related factor 2) の関与の報告があるが (*Biochem J* 443, 2012)、未だその全貌は明らかではない。

研究代表者らは、ヒト *GL01* プロモーター領域内のホモポリマー配列に少なくとも 8 種類の遺伝子多型を見出した。*GL01* ホモポリマー遺伝子多型による転写の違いを解析した結果、他の *GL01* ホモポリマー遺伝子多型に比べ著しく高い転写活性を持つ 1 つの *GL01* ホモポリマー遺伝子多型が見出された。293T 細胞を高血糖条件下で培養した結果、*GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型を有する細胞の割合が増加した。細胞は、*GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型を生み出すことで *GL01* の転写発現を調節して、細胞外環境に適応していると考えられる。

本研究では、ヒト *GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型が、統合失調症の病態形成にどのように関わっているのかを明らかにすることで、新規統合失調症治療薬の開発に繋げる。

2. 研究の目的

ヒト *GL01* プロモーター領域内のホモポリマー遺伝子多型による *GL01* 転写発現調節機構に着目し、*GL01* ホモポリマー遺伝子多型と統合失調症の重症度との関連性、さらに当該遺伝子多型と疾患 iPS 細胞が神経細胞へと分化する過程での関係性を明らかにし、統合失調症における *GL01* の意義を明らかにする。本研究の成果により、統合失調症のこれまで不明であった病態形成の分子メカニズムを *GL01* 遺伝子多型に着目した新たな視点から解明できると考えられる。また、本研究ではヒト *GL01* 遺伝子多型による転写発現調節という新しい分子基盤に基づいた精神疾患治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 統合失調症患者 80 検体、健常者 50 検体の末梢血ゲノム DNA 臨床検体を用いてヒト *GL01* ホモポリマー遺伝子多型の割合の解析を行う。*GL01* プロモーター領域内ホモポリマー配列を含む領域を PCR 法によって増幅し、制限酵素 (KpnI と XhoI) 処理でベクター (pGL4.14) に組み込み、得られたクローンの塩基配列を DNA シークエンシング法で決定する。1 検体につき少なくとも 20 個のクローンの塩基配列決定を行うことで *GL01* ホモポリマー遺伝子多型の割合を解析する。*GL01* ホモポリマー遺伝子多型の割合を解析することで、統合失調症の重症度と *GL01* の関連性を明らかにする。また、健常者と比較することで統合失調症に特異的な *GL01* 遺伝子多型の割合も分かる。さらに、既知な *GL01* 遺伝子変異と *GL01* 遺伝子多型の関連性についても明らかにする。

(2) 統合失調症または健常者の末梢血より T 細胞を単離し、iPS 細胞を樹立する。樹立した iPS 細胞をニューロスフィア、神経細胞へ分化誘導させる過程や分化後の神経細胞からゲノム DNA を抽出し、(1) の方法を用いて *GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型の割合を解析する。

4. 研究成果

統合失調症患者 80 検体、健常者 50 検体を用いてヒト *GL01* ホモポリマー遺伝子多型の解析を行った結果、*GL01* ホモポリマー遺伝子多型の割合と統合失調症の重症度には相関関係があることが示唆された。さらに、統合失調症患者の検体から、*GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型内に存在する新たな遺伝子変異を見出した。この新規遺伝子変異は、*GL01* ホモポリマー当該遺伝子多型の転写活性を消失させた（図 1）。加えて、既知の *GL01* 遺伝子変異と *GL01* ホモポリマー遺伝子多型には、関連があることも明らかになった。

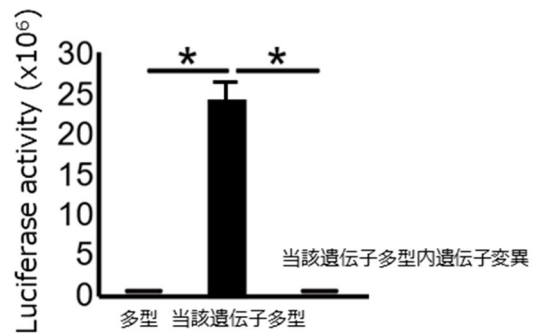


図1 プロモーターアッセイ

また、健常者の iPS 細胞が神経細胞へ分化する過程では、*GL01* ホモポリマー遺伝子多型の割合が変動していた。統合失調症患者から樹立した iPS 細胞を神経細胞へ分化誘導させると、対照である健常者の *GL01* ホモポリマー遺伝子多型の変化率とは異なっており、さらに統合失調症患者の末梢血ゲノム DNA で見出された新規遺伝子変異が出現することも明らかになった。

以上、研究代表者らにより見出された *GL01* ホモポリマー遺伝子多型内の新規遺伝子変異は統合失調症特異的なものであり、この新規遺伝子変異に着目し解析を行うことで、これまで不明であった統合失調症の病態形成の分子メカニズムが解明できると考えられる。また、これまでにない新しい分子基盤に基づいた精神疾患治療薬の開発にも繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hosokawa K, Mizumaki H, Elbadry M, Saito C, Espinoza JL, An DTT, Katagiri T, Harashima A, Kikuchi A, Kanai A, Matsui H, Inaba T, Taniwaki M, Yamamoto Y, Nakao S.	4. 巻 33
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis by SLIT1-mutated hematopoietic stem cells due to a breakdown of the autocrine loop involving Slit1 in acquired aplastic anemia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 2732-2766
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-019-0510-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Y, Harashima A, Munesue S, Oishi M, Hattori T, Hori O, Kitao Y, Yamamoto H, Leerach N, Nakada M, Yamamoto Y, Hayashi Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Neuroprotective effects of endogenous secretory receptor for advanced glycation end-products in brain ischemia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Aging Dis	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14336/AD.2019.0715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zaimoku R, Miyashita T, Tajima H, Takamura H, Harashima A, Munesue S, Yamamoto Y, Ninomiya I, Fushida S, Harada K.	4. 巻 39
2. 論文標題 Monitoring of heat shock response and phenotypic changes in hepatocellular carcinoma after heat treatment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 5393-5401
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.13733.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sagara A, Harashima A, Munesue S, Kimura K, Leerach N, Oshima Y, Kinoshita Y, Sakai N, Kaneko S, Wada T, Tsuneyama K, Yamamoto H, Yamamoto Y.	4. 巻 6
2. 論文標題 Protective role of endogenous secretory RAGE against contact hypersensitivity in mouse ear skin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycative Stress Res	6. 最初と最後の頁 270-277
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Higashida H, Hashii M, Tanaka Y, Matsukawa S, Higuchi Y, Gabata R, Tsubomoto M, Seishima N, Teramachi M, Kamijima T, Hattori T, Hori O, Tsuji C, Cherepanov S, Shabalova A, Gerasimenko M, Minami K, Yokoyama S, Munesue S, Harashima A, Yamamoto Y, Salmina A, Lopatina O.	4. 巻 9
2. 論文標題 CD38, CD157 and RAGE as molecular determinants for social behavior.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 E62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9010062.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 El-Far A, Munesue S, Harashima A, Sato A, Shindo M, Nakajima S, Inada M, Tanaka M, Takeuchi A, Tsuchiya H, Yamamoto H, Shaheen HME, El-Sayed YS, Kawano S, Tanuma S, Yamamoto Y.	4. 巻 15
2. 論文標題 In vitro anticancer effects of a RAGE inhibitor discovered using a structure-based drug design system.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 4627-4634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2018.7902	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nomura K, Miyashita T, Yamamoto Y, Munesue S, Harashima A, Takayama H, Fushida S, Ohta T.	4. 巻 234
2. 論文標題 Citryllinated histone H3: early biomarker of neutrophil extracellular traps in septic liver damage.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Surg Res	6. 最初と最後の頁 132-138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jss.2018.08.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Higuchi T, Takeuchi, A, Munesue S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Inatani H, Shimozaki S, Kato T, Aoki Y, Abe K, Taniguchi Y, Aiba H, Murakami H, Harashima A, Yamamoto Y, Tsuchiya H.	4. 巻 7
2. 論文標題 Anti-tumor effects of a non-steroidal anti-inflammatory drug zaltoprofen on chondrosarcoma via activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma and suppressing matrix metalloproteinase-2 expression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Med	6. 最初と最後の頁 1944-1954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.1438	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Y, Liang M, Munesue S, Deguchi K, Harashima A, Furuhashi K, Yuhi T, Zhong J, Akther S, Goto H, Eguchi Y, Kitao Y, Hori O, Shiraishi Y, Ozaki N, Shimizu Y, Kamide T, Yoshikawa A, Hayashi Y, Nakada M, Lopatina O, Gerasimenko M, Komleva Y, Malinovskaya N, Salmina AB, Asano M, Nishimori K, Shoelson SE, Yamamoto H, Higashida H.	4. 巻 2
2. 論文標題 Vascular RAGE transports oxytocin into the brain to elicit its maternal bonding behaviour in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0325-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Leerach N, Harashima A, Munesue S, Kimura K, Oshima Y, Goto H, Yamamoto H, Higashida H, Yamamoto Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Glycation reaction and the role of the receptor for advanced glycation end-products in immunity and social behavior.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Glycoconj J.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10719-020-09956-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oishi M, Munesue S, Harashima A, Nakada M, Yamamoto Y, Hayashi Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Aquaporin 1 elicits cell motility and coordinates vascular bed formation by downregulating thrombospondin type-1 domain-containing 7A in glioblastoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Med	6. 最初と最後の頁 3904-3917
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munesue S, Liang MingKun, Harashima A, Zhong J, Furuhashi K, Boitsova E, Cherepanov SM, Gerasimenko M, Yuhi T, Yamamoto Y, Higashida H.	4. 巻 33
2. 論文標題 Transport of oxytocin to the brain after peripheral administration by membrane-bound or soluble forms of receptors for advanced glycation end-products.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neuroendocrinol	6. 最初と最後の頁 e12963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jne.12963	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gerasimenko M, Lopatina O, Munesue S, Harashima A, Yokoyama S, Yamamoto Y, Higashida H.	4. 巻 235
2. 論文標題 Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) plays a critical role in retrieval behavior of mother mice at early postpartum.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiol Behav	6. 最初と最後の頁 113395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.physbeh.2021.113395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ugaji S, Kimura K, Yamamoto Y, Munesue S, Harashima A, Aikawa T, Yoshida Y, Hamada T, Hikichi T, Matsubara H, Tsuchiya H.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Pyridoxamine improves diabetes-evoked delayed bone repair in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Transl Sci	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Leerach N, Munesue S, Harashima A, Kimura K, Oshima Y, Kawano S, Tanaka M, Niimura A, Sakulsak N, Yamamoto H, Hori O, Yamamoto Y.	4. 巻 555
2. 論文標題 RAGE signaling antagonist suppresses mouse macrophage foam cell formation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 74-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.03.139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 引地 俊文, 木村 久美, 棟居 聖一, 原島 愛, Nontaphat Leerach, 大島 由, 木下 結衣, 松原 秀憲, 土屋 弘行, 山本 靖彦
2. 発表標題 細胞内メチルグリオキサールの可視化解析
3. 学会等名 第29回日本メイラード学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下結衣、棟居聖一、木村久美、原島愛、Nontaphat Leerach、大島由、古寺哲幸、山本靖彦
2. 発表標題 原子間力顕微鏡を用いたグリケーションの可視化への挑戦
3. 学会等名 第29回日本メイラード学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shuhei Kawano, Hanae Miyazawa, Seiichi Munesue, Ai Harashima, Mariko Tanaka, Duong Thi Minh Thoa, Nontaphat Leerach, Yu Ooshima, Yui Kinoshita, Hiroshi Yamamoto, Yasuhiko Yamamoto
2. 発表標題 Drug library screening to identify new compounds for inducing ectodomain shedding of RAGE and formation of soluble RAGE
3. 学会等名 13th International Symposium on the Maillard Reaction (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Seiichi Munesue, Ai Harashima, Akihiko Takeuchi, Mariko Tanaka, Shuhei Kawano, Nantaphat Leerach, Yu Ooshima, Yui Kinoshita, Akira Sato, Mika Shindo, Shingo Nakajima, Mana Inada, Sei-ichi Tanuma, Yasuhiko Yamamoto
2. 発表標題 In vitro anticancer effects of a novel RAGE inhibitor on suppression of tumor malignant phenotypes in human fibrosarcoma cells
3. 学会等名 13th International Symposium on the Maillard Reaction (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nontaphat LEERACH、棟居聖一、原島 愛、木村久美、大島 由、河野修平、田中麻莉子、木下結衣、山本靖彦
2. 発表標題 RAGE細胞内シグナル伝達阻害剤によるマクロファージ浸潤・泡沫化抑制効果
3. 学会等名 第28回日本メイラード学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本靖彦、棟居聖一、原島 愛、武内章彦、田中麻莉子、河野修平、佐藤 聡、新藤実香、中島禎吾、稲田 愛、田沼靖一
2. 発表標題 新規RAGE阻害薬による線維肉腫細胞の悪性化抑制効果の検討
3. 学会等名 第18回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 棟居聖一、原島愛、木村久美、Nontaphat Leerach、大島由、新村朱子、東田陽博、山本靖彦
2. 発表標題 可溶性RAGEは脳血管内皮細胞上の膜型RAGEによる血中オキシトシンの脳内輸送を阻害しない
3. 学会等名 第30回日本メイラード学会（オンライン）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	棟居 聖一 (Munesue Seiichi) (10399040)	金沢大学・医学系・助教 (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------