

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390098

研究課題名（和文） 治療的介入法を用いた統合失調症の関連遺伝子群のパスウェイ解析

研究課題名（英文） Treatment intervention pathway analysis of genes associated with schizophrenia

研究代表者 有波 忠雄（ARINAMI TADAO）

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号：10212648

研究成果の概要（和文）：

統合失調症の発症には多くの遺伝子が関与しており、それらの遺伝子を同定するのに有用なゲノムワイド関連解析を実施し、検出された関連遺伝子の中からとくに治療面において重要な遺伝子を同定することを目的として、ヒトの脳、遺伝子改変マウス、細胞実験、パスウェイ解析を行った。その結果、SMARCA2 遺伝子が統合失調症に関与し、かつ、多くの遺伝子に影響を与え、統合失調症の発症に関わっていることが証明された。そのなかでも HOMER1 遺伝子は部分的な SMARCA2 遺伝子の発現低下でも選択的スプライシングが変化してグルタミン酸神経伝達体の機能不全に関わることが示され、SMARCA2 遺伝子型が個別化医療に有用な情報であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study is to identify candidate genes of treatment target for schizophrenia. We searched for genes associated with schizophrenia by genome-wide association methods in Japanese populations. Among the potentially associated genes identified, we focused on the SMARCA2 gene because psychotogenic drugs lowered Smarca2 expression while antipsychotic drugs increased it in the mouse brain. Furthermore, we found constant expression of Homer1a isoform in Smarca2 knockout mice. The findings of this study indicate that decreased function of SMRACA2 is involved in schizophrenia through glutamatergic synaptic transmission dysfunction and the SMARCA2 gene genotypes might be potential information of personalized medicine in choice of treatment of schizophrenia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：人類遺伝学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：ゲノム医科学

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は多くの遺伝子が関与する多因子遺伝であることが知られており、多因子遺伝の疾患の関連遺伝子を同定するためにはゲノムワイド関連解析が極めて有効であることから、統合失調症においてもゲノムワイド関連解析が各国で進められている。とくに欧米では大規模な国際共同研究が進められており、その結果が発表されようとしている。研究代表者のグループでも日本人を対象にゲノムワイド関連解析を行ってきているが、多くの候補関連遺伝子が検出される。そのため、関連遺伝子を同定するだけでは情報の有用性は大きくない。そのため、より重要な遺伝子であることを判断する根拠とデータが必要である。重要性の根拠の一つが治療的アプローチの可能性があるので、もうひとつは、ひとつの治療的操作で多くの因子に影響を与えて多因子性疾患に合致する統合失調症の病態治療に生かすことができる可能性があることである。その検索法の一つとしてパスウェイ解析があるが、通常パスウェイ解析では多くの遺伝子のハブ遺伝子が特定されがちになり、そのようなハブ遺伝子に対して治療的操作をすることは精神機能以外の重要な機能も影響をうけるため、通常長期間の治療が必要な統合失調症の治療に有用な遺伝子となりにくい。このようなことから、向精神薬により発現の影響を受け、その操作により他の多くの遺伝子に影響を与える遺伝子で、かつ、精神以外の機能に影響を与えにくい遺伝子の探索を行うことにした。

2. 研究の目的

ゲノムワイド関連解析で同定された統合失調症の関連遺伝子の中から多くの遺伝子の発現調節に影響を与えて、かつ、向精神薬により発現の調節が可能な遺伝子を抽出し、患者にとって役に立つ関連遺伝子を同定する。

日本人において同定されたゲノムワイド関連解析による関連遺伝子を標的にマウスモデルにおいて向精神薬を投与して、系統的に遺伝子発現の変化を受ける遺伝子を抽出し、その遺伝子のパスウェイ解析から多くの遺伝子に影響することを推定し、それを実験的に確認して、治療、病態解明に有用な遺伝子を同定し、治療標的を発見する。

これにより、遺伝子発現、タンパク質機能変化などの操作的介入を通じて、有用な関連遺伝子を同定でき、その結果、治療法の開発に結びつくパスウェイを発見することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ゲノムワイド関連解析で同定した関連遺伝子を中心にマウスに向精神薬を投与して、遺伝子発現の変化を与えるものを抽出し、関連変異との整合性をみて、有用な遺伝子の候補を絞る。さらにパスウェイ解析を行い、多くの遺伝子に影響を与える可能性を確認する。

① 統合失調症群と対照群の死後脳の前頭前野での発現量を比較する。

② マウスにメタンフェタミン、MK801、ハロペリドールを慢性に投与して、ゲノムワイド関連解析で同定された関連遺伝子候補の中から、これらの向精神薬により遺伝子発現が変化する遺伝子をピックアップする。

③ ①、②により選択された遺伝子の変異と遺伝子発現との関係を見て、整合性のある遺伝子をピックアップする。

④ ①、②、③により検出された遺伝子のノックアウトマウスを使って非薬物投与下とメタンフェタミンやMK-801、抗精神病薬投与下について、統合失調症モデル状態としての行動評価を行い、かつ、網羅的遺伝子発現解析を行って他の遺伝子の発現パターンを把握する。

⑤ 遺伝子の中には受容体やチャンネル分子の機能を制御する遺伝子があり、それらのコードするタンパク質の機能を抑制する薬剤やペプチドが知られているので、その投与によるメタンフェタミンやMK-801などによる統合失調症モデル状態の変化や抗精神病薬の作用の変化を評価し、仮説の整合性を検証する。

⑥ ノックアウトマウス、siRNA 処理、タンパク質機能抑制薬剤やペプチド投与による脳の各部位での遺伝子発現の変化を網羅的遺伝子発現チップで調べ、プロファイリングにより変化する遺伝子群を把握しパスウェイを確認する。

4. 研究成果

日本人を対象とした統合失調症のゲノムワイド関連解析により検出された統合失調症の関連遺伝子のうち、とくに有望と思われた SMARCA2 遺伝子、DYM 遺伝子、CNR2 遺伝子、および、抗精神病薬の副作用に特に重要な役割を果たしている遺伝子として HSPG2 遺伝子などをはじめとして、関連遺伝子の候補を同定した。

このなかで、SMARCA2 遺伝子は NMDA 型グルタミン酸受容体の選択的拮抗薬 MK801 の慢性投与により発現が低下し、抗精神病薬ハロペリドールの慢性投与により発現が上昇した。SMARCA2 遺伝子は統合失調症関連多型の機能解析により、遺伝子の機能減弱型が統合失調症のリスク変異であるこ

とが推測され、マウスの実験結果と一致した傾向が見られた。さらに、培養細胞に対して siRNA により SMARCA2 の発現を落としたところ、多くの遺伝子の発現が変化し、その遺伝子発現の変化は統合失調症患者の死後脳解析で変化する遺伝子と有意に相関していた。さらに、Smarca2 遺伝子の脳を解析したところ、野生型に比べてノックアウトマウスで発現変化していた遺伝子は統合失調症患者の死後脳での遺伝子変化と有意に相関していた。また、Smarca2 遺伝子のノックアウトマウスは統合失調症モデル動物の妥当性を調べる際に広く使用され、感覚運動関門を測定するプレパルス抑制が障害され、社会性が乏しく、統合失調症のモデルとして妥当性があることが分かった。SMARCA2 は BRM コードし、BRM はパスイ解析により、クロマチンリモデリングを通じて多くの遺伝子発現の調節に関わっていることが知られていた。しかし、それでは SMARCA2 遺伝子の統合失調症の病態に関与するメカニズムは拡散して臨床的有用性や統合失調症の病態をより特異的に解明することが困難になる。そこで、BRM が直接結合する遺伝子を ChiP アッセイで探索した。その結果、HOMBRI 遺伝子と KMO 遺伝子のプロモーター領域と直接結合していることが判明した。HOMER1 遺伝子は Shank-GKAP-PSD95-NMDA 受容体複合体を形成し、グルタミン酸受容体系シナプス伝達機能に影響を与えること、そのノックアウトマウスは統合失調症のモデルとして適合することが知られていた。また KMO 遺伝子は統合失調症に関係するキヌレン酸パスイに関わっていることが知られている。本研究ではとくに Homer1 遺伝子についてより詳細に調べた。その結果、Smarca2 遺伝子のノックアウトマウスはヘテロであっても Homer1 の Homer1a アイソフォームが恒常的に発現していることが示された。このことからマウスにおいて Smarca2 遺伝子発現量の変化が Homer1 の選択的スプライスに影響を与えて Homer1a のサブタイプを多く発現させ、これがグルタミン酸受容体シグナル伝達異常の分子メカニズムであると推測された。一方、Smarca2 遺伝子改変マウスの行動解析を行い、ノックアウトマウスはホモであってもヘテロであっても NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗薬に対する反応に異常が見られた。これらにより遺伝的に Smarca2 遺伝子発現が低下しているマウスのグルタミン酸神経伝達の異常は Homer1 が関わっていることが示唆された。さらにこのことは、ヒトにおいて、遺伝子多型による部分的な SMARCA2 遺伝子の発現低下であっても、精神機能や向精神薬に対する反応性の違いが起こる遺伝的基盤となりうることを支持するものであった。Smarca2

遺伝子の発現変化を与える薬剤は知られているので、これにより統合失調症の治療の分子機構の理解にも役立つ知見と考えられた。

SMARCA2 遺伝子の他に、DYM (dymeclin) 遺伝子と統合失調症との関連を明らかにした。この遺伝子の機能から小胞体-ゴルジ体の小胞輸送の機能異常が統合失調症の病態として関与していることが示唆された。また、統合失調症関連遺伝子として CNR2 遺伝子を同定した。

また、ゲノムワイド関連解析は副作用の脆弱性の同定に極めて有用である。本研究においては統合失調症の抗精神病薬治療の重篤な副作用の1つである遅発性ジスキネジアのゲノムワイド関連解析を行い、HSPG2 遺伝子が薬原性遅発性ジスキネジアに関連していることを初めて示した。ヒト死後脳の解析から遅発性ジスキネジアのリスク変異は HSPG2 遺伝子の発現亢進と関連しており、マウスへの抗精神病薬の長期投与により Hspg2 遺伝子は発現低下することが示された。HSPG2 は perlecan をコードしており、パスイ解析より perlecan はアセチルコリン神経伝達に関わっており、アセチルコリンエステラーゼのアンカータンパク質として機能していること、HSPG2 遺伝子の発現低下はコリン機能の亢進を意味することが推測された。このことから、HSPG2 遺伝子の遺伝子型は遅発性ジスキネジアに対する脆弱性を示すだけでなく、アセチルコリンエステラーゼなどのコリン作動性の薬剤による遅発性ジスキネジアの治療に対する個別化医療の役に立つことが示唆された。

以上のことから、本研究により統合失調症及びその治療による副作用に関連遺伝子を同定して、それらの遺伝子を中心となって関わるパスイを解明し、臨床に役立つ情報を含んでいる遺伝子群について明らかにする研究成果を得た。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 40 件)

- ① Ishiguro H, Onaivi ES, Horiuchi Y, Imai K, Komaki G, Ishikawa T, Suzuki M, Watanabe Y, Ando T, Higuchi S, Arinami T. Functional polymorphism in the GPR55 gene is associated with anorexia nervosa. *Synapse*,65(2):103-108, 2011. 査読有
- ② Yazaki S, Koga M, Ishiguro H, Inada T, Ujike H, Itokawa M, Otowa T, Watanabe Y, Someya T, Iwata N, Kunugi H, Ozaki N, Arinami T. An association study between the dymeclin gene and schizophrenia in the Japanese population. *J Hum Genet*. 55(9):631-634, 2010. 査読有

- ③ Ishiguro H, Onaivi ES, Horiuchi Y, Imai K, Komaki G, Ishikawa T, Suzuki M, Watanabe Y, Ando T, Higuchi S, Arinami T. Functional polymorphism in the GPR55 gene is associated with anorexia nervosa. *Synapse*. 2010 May 26 (e-pub). 査読有
- ④ Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Inada T, Ujike H, Itokawa M, Otowa T, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. Replication study of association between ADCYAP1 gene polymorphisms and schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 20(3):123-125, 2010. 査読有
- ⑤ Syu A, Ishiguro H, Inada T, Horiuchi Y, Tanaka S, Ishikawa M, Arai M, Itokawa M, Niizato K, Iritani S, Ozaki N, Takahashi M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Keino-Masu K, Arikawa-Hirasawa E, Arinami T. Association of the HSPG2 gene with neuroleptic-induced tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology*. 35(5):1155-1164, 2010. 査読有
- ⑥ Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T, Watanabe Y, Takahashi M, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Onaivi ES, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Naka I, Ohashi J, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 67(10):974-982, 2010. 査読有
- ⑦ Ishiguro H, Carpio O, Horiuchi Y, Shu A, Higuchi S, Schanz N, Benno R, Arinami T, Onaivi ES: A nonsynonymous polymorphism in cannabinoid CB2 receptor gene is associated with eating disorders in humans and food intake is modified in mice by its ligands. *Synapse*, 64(1): 92-96, 2010 査読有
- ⑧ Koga M, Ishiguro H, Yazaki S, Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Muchardt C, Yaniv M, Arinami T: Involvement of SMARCA2/BRM in the SWI/SNF chromatin-remodeling complex in schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 18(13):2483-2494, 2009 査読有

[学会発表] (計 6 件)

- ① 海東伸子、ヒト、マウスモデルを用いた PDLIM5 遺伝子の精神疾患の関連、日本人類遺伝学会第 55 回大会、2010 年 10 月 30 日、大宮
- ② 有波忠雄、薬原性遅発性ジスキネジアを表現型とした全ゲノム解析、2010 日本臨床精神神経薬理学会、2010 年 9 月 15 日、

仙台

- ③ 矢崎沙織、Demeclin 遺伝子と統合失調症との関連解析、日本人類遺伝学会第 54 回大会、2009 年 9 月 26 日、東京
- ④ 有波忠雄、薬原性遅発性ジスキネジアと HSPG2 遺伝子との関連、日本人類遺伝学会第 54 回大会、2009 年 9 月 24 日、東京

[その他]

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/m-genetics/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有波 忠雄 (ARINAMI TADAO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・

教授

研究者番号：10212648