

機関番号： 82401

研究種目： 基盤研究(B)

研究期間： 2008～2010

課題番号： 20390316

研究課題名(和文)

統合失調症に關与するCalcineurin情報伝達下流シグナルの検索

研究課題名(英文)

The genetic analysis of calcineurin signaling pathway in schizophrenia.

研究代表者

山田 和男 (YAMADA KAZUO)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・副チームリーダー

研究者番号： 10322695

## 研究成果の概要(和文)：

本研究では、カルシニューリン情報伝達下流因子の統合失調症への関与を検討すべく、全染色体スクリーニング及びカルシニューリン系下流遺伝子群の関連研究を行い、いくつかの新規統合失調症脆弱性遺伝子を同定するとともに、GABA情報伝達系に属する遺伝子群に疾患関連シグナルの集積を検出した。そこで、それらの遺伝子の統合失調症患者死後脳での発現変化及び遺伝子改変マウスでの統合失調症類似の遺伝子発現/行動変化についてさらに詳細に検討した。

## 研究成果の概要(英文)：

The calcineurin cascade is central to neuronal signal transduction, and genes in this network are intriguing candidate schizophrenia susceptibility genes. In this study, we performed association studies of calcineurin-related candidate genes by using Japanese schizophrenic pedigrees and case-control samples. In addition, we conducted a genome-wide association study (GWAS), which is a potentially powerful tool for identifying the risk variants that underlie the disease. We found several novel candidate genes for the disease, and unveiled the accumulation of association signals from genes of GABAergic pathways in schizophrenia. Furthermore, we extended our study by using postmortem brains of schizophrenic patients and transgenic mice of candidate genes. These findings support the genetic association of altered calcineurin/GABA signaling with schizophrenia pathogenesis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,400,000	2,520,000	10,920,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2010年度	2,800,000	840,000	3,640,000
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：

(1) 脳・神経疾患 (2) 遺伝子 (3) シグナル伝達 (4) ゲノム (5) マイクロアレイ

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、幻覚や妄想、思考の障害、自発性の低下、感情の平板化などを主要な症状とする精神疾患であり、一般の発症リスクは地域・民族に関わらずに約 1%と推定されている。日本での罹患者は少なくとも 70 万人以上であると言われ、患者・家族の苦痛、社会的損失は大きい。また、統合失調症の親や同胞を持つ人のリスクは約 10%と高く、さらに一卵性双生児では約 50%に同胞発症がみられることから、遺伝要因の関与が大きい複雑遺伝疾患であると考えられている。

これまではドーパミン神経伝達系またはグルタミン酸神経伝達系に影響を及ぼす薬剤がヒトやマウス・ラットで統合失調症類似の行動異常を惹起もしくは改善することなどから、この 2つの情報伝達系に注目した研究が多くなされてきた。しかし、ドーパミン系神経伝達に作用する薬剤の治療効果は限られており、グルタミン酸神経伝達をターゲットにした治療薬はない。また、分子遺伝学的にはこれらの神経伝達系関連遺伝子の疾患への直接的な関与を示唆するものはなく、統合失調症での神経伝達系の異常を包括的に説明する知見は未だ得られていない。

カルシニューリンは、カルシウム/カルモジュリン (Ca<sup>2+</sup>/ calmodulin) 依存性のセリン/スレオニン脱リン酸化酵素で、中枢神経系では神経可塑性や神経成長因子 (BDNF) の作用、さらに脳梗塞などの虚血性脳疾患やアルツハイマー病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患における興奮性神経細胞死に関与しており、ドーパミン系神経伝達系とグルタミン酸系神経伝達系の下流に位置することから、統合失調症の病態において双方の情報伝達を収束して他の情報伝達系に橋渡しする重要な役割を果たしている可能性がある。

2007 年、我々の研究グループはこの点に着目し、カルシニューリン触媒サブユニットの一つである  $\gamma$  サブユニットをコードする *PPP3CC* 遺伝子およびその下流に位置する *EGR* (*early growth response*) ファミリー遺伝子群についての検討を行い、それぞれに統合失調症発症に関与する遺伝的脆弱性があることを報告した。

## 2. 研究の目的

統合失調症遺伝子研究において、複数遺伝子のリスクが情報伝達系として示された研究はこれまでになく、カルシニューリン系情報伝達の上流から下流へという流れの中で複数の遺伝子に疾患への脆弱性が認められたことは注目に値する。従って、カルシニューリン系候補遺伝子群は初めて情報伝達系としての有機的な繋がりを持った統合失調症脆弱性候補遺伝子群であると言える。そこで本研究では、カルシニューリン系情報伝達の下流因子の統合失調症への遺伝的関与を網羅的に検索し、治療ターゲットとなりうる物質を同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

カルシニューリンおよびその下流の情報伝達系に関連する遺伝子群をリストアップし、tagSNPs による高密度 SNPs ジェノタイプピングを行った。さらに有望なものに対しては re-sequencing を含めたより詳細な遺伝子解析によって、統合失調症脆弱性候補遺伝子を同定した。また、遺伝効果の比較的弱い多くの脆弱性遺伝子の相互作用によって発症に至ると考えられる複雑遺伝疾患の候補遺伝子を網羅的に同定する有効なアプローチであるゲノムワイドな関連研究 (GWA: genome-wide association study) を行い、そこで得られた統合失調症脆弱性候補遺伝子の中でカルシニューリン系と機能的関連のあるものを詳細な遺伝子解析の対象に加えた。さらに、個々の統合失調症脆弱性候補遺伝子について、TaqMan 法による統合失調症死後脳での発現解析、in vitro での機能解析、遺伝子改変マウスでの発現解析および行動解析 (脳内 mRNA 発現量の測定、行動評価バッテリーによる統合失調症類似の異常行動や中間表現型の有無の検討) を行った。

## 4. 研究成果

カルシニューリン情報伝達下流遺伝子群の網羅的検索および GWAS によって、今までに報告されていない複数の新規疾患脆弱性遺伝子を同定し、さらに興味深いことに GABA 情報伝達系シグナルパスウェイに集中した遺伝的疾患脆弱性を検出した。これまでも、統合失調症での GABA 系情報伝達障害については死後脳研究、遺伝子研究、そして画像研究などで繰り返し報告されており、さらに GABA 系情報伝達は我々の注目するカルシニューリン系のみならず、やはり有望な統合失調症関連情報伝達系であるニューレギュリン (Neuregulin)

系の下流にも位置することから、統合失調症の病態に關与する情報伝達系の最終的な収束点である可能性が考えられた。そこで、さらにカルシニューリン系情報伝達による制御を受けている GABA 受容体関連遺伝子群を中心に計 27 遺伝子について約 400 の tagSNPs を抽出し、ABI 社の TaqMan 及び illumina 社 BeadXpress を用いた gene-centric な高密度 SNPs ジェノタイピングを日本人統合失調症患者 1,500 人および健常対照者 1,500 人の計 3,000 人を対象に行い、最終的に 12 遺伝子について疾患への關与の可能性を得た。この中でいくつかの遺伝子については、(1)統合失調症患者死後脳(前頭前野皮質)の解析から統合失調症では脳内 mRNA 発現量の変化が見られること、さらに(2)改変マウスの遺伝子発現解析/行動解析からこのマウスに統合失調症類似の変化が見られること、を確認した。また、遺伝子改変マウスにおいて神経発達に伴う GABA および関連物質の経時的変化が神経形成にどのような影響を与えているかを検討した。以上の結果から、カルシニューリンから GABA 受容体へと続くシグナルカスケードが統合失調症の発症・病態に關与している可能性が示唆された。

#### 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 23 件)

1. Association study of Nogo-related genes with schizophrenia in a Japanese case-control sample. Jitoku D, Hattori E, Iwayama Y, Yamada K, Toyota T, Kikuchi M, Maekawa M, Nishikawa T, Yoshikawa T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2011 (in press) 査読有り

2. Nominal association between a polymorphism in DGKH and bipolar disorder detected in a meta-analysis of East Asian case-control samples. Takata A, Kawasaki H, Iwayama Y, Yamada K, Gotoh L, Mitsuyasu H, Miura T, Kato T, Yoshikawa T, Kanba S. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2011 (in press) 査読有り

3. Genome-wide Association Study of Schizophrenia in Japanese Population. Yamada K, Iwayama Y, Hattori E, Iwamoto K, Toyota T, Ohnishi T, Ohba H, Maekawa M, Kato T, and Yoshikawa T. *PLoS ONE.* 2011 (in press) 査読有り

4. Replication study of Japanese cohorts supports the role of STX1A in autism

susceptibility. Nakamura K, Iwata Y, Anitha A, Miyachi T, Toyota T, Yamada S, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Iwayama Y, Yamada K, Hattori E, Matsuzaki H, Matsumoto K, Suzuki K, Suda S, Takebayashi K, Takei N, Ichikawa H, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011; 35(2):454-458. 査読有り

5. Analysis of strain-dependent prepulse inhibition points to a role for Shmt1 (SHMT1) in mice and in schizophrenia. Maekawa M, Ohnishi T, Hashimoto K, Watanabe A, Iwayama Y, Ohba H, Hattori E, Yamada K, Yoshikawa T. *J Neurochem.* 2010; 115(6):1374-1385. 査読有り

6. Further evidence for the role of MET in autism susceptibility. Thanseem I, Nakamura K, Miyachi T, Toyota T, Yamada S, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Anitha A, Iwayama Y, Yamada K, Hattori E, Matsuzaki H, Matsumoto K, Iwata Y, Suzuki K, Suda S, Kawai M, Sugihara G, Takebayashi K, Takei N, Ichikawa H, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. *Neurosci Res.* 2010; 68(2):137-141. 査読有り

7. Failure to confirm genetic association of the FXYD6 gene with schizophrenia: the Japanese population and meta-analysis. Iwata Y, Yamada K, Iwayama Y, Anitha A, Thanseem I, Toyota T, Hattori E, Ohnishi T, Maekawa M, Nakamura K, Suzuki K, Matsuzaki H, Tsuchiya KJ, Suda S, Sugihara G, Takebayashi K, Yamamoto S, Iwata K, Mori N, Yoshikawa T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010; 153B(6):1221-1227. 査読有り

8. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. Munesue T, Yokoyama S, Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Hayashi K, Asaka T, Liu HX, Jin D, Koizumi K, Islam MS, Huang JJ, Ma WJ, Kim UH, Kim SJ, Park K, Kim D, Kikuchi M, Ono Y, Nakatani H, Suda S, Miyachi T, Hirai H, Salmina A, Pichugina YA, Soumarokov AA, Takei N, Mori N, Tsujii M, Sugiyama T, Yagi K, Yamagishi M, Sasaki T, Yamasue H, Kato N, Hashimoto R, Taniike M, Hayashi Y, Hamada J, Suzuki S, Ooi A, Noda M, Kamiyama Y, Kido MA, Lopatina O, Hashii M, Amina S, Malavasi F, Huang EJ, Zhang J, Shimizu N, Yoshikawa T, Matsushima A, Minabe Y, Higashida H. *Neurosci Res.* 2010; 67(2):181-191. 査読有り

9. Association analyses between brain-expressed fatty-acid binding protein (FABP) genes and schizophrenia and bipolar disorder. Iwayama Y, Hattori E, Maekawa M,

Yamada K, Toyota T, Ohnishi T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kikuchi M, Hashimoto K, Iyo M, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Iwata N, Nanko S, Iwamoto K, Okazaki Y, Kato T, Yoshikawa T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010; 153B (2):484-493. 査読有り

10. Mutation screening and assessment of the effect of genetic variations on expression and RNA editing of serotonin receptor 2C in the human brain. Bundo M, Iwamoto K, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2010; 64(1):57-61. 査読有り

11. The chitinase 3-like 1 gene and schizophrenia: evidence from a multi-center case-control study and meta-analysis. Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Yoshida T, Takahashi H, Iike N, Iwase M, Kamino K, Ishii R, Kazui H, Fukumoto M, Takamura H, Yamamori H, Azechi M, Ikezawa K, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Yamada K, Numata S, Ikeda M, Tanaka T, Kudo T, Ueno S, Yoshikawa T, Ohmori T, Iwata N, Ozaki N, Takeda M. *Schizophr Res.* 2010; 116(2-3):126-132. 査読有り

12. Increased stathmin1 expression in the dentate gyrus of mice causes abnormal axonal arborizations. Yamada K, Matsuzaki S, Hattori T, Kuwahara R, Taniguchi M, Hashimoto H, Shintani N, Baba A, Kumamoto N, Yamada K, Yoshikawa T, Katayama T, Tohyama M. *PLoS One.* 2010 Jan 6; 5(1):e8596. 査読有り

13. Preliminary genome-wide association study of bipolar disorder in the Japanese population. Hattori E, Toyota T, Ishitsuka Y, Iwayama Y, Yamada K, Ujike H, Morita Y, Kodama M, Nakata K, Minabe Y, Nakamura K, Iwata Y, Takei N, Mori N, Naitoh H, Yamanouchi Y, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Nishikawa T, Kashiwa A, Suzuki M, Shioe K, Shinohara M, Hirano M, Nanko S, Akahane A, Ueno M, Kaneko N, Watanabe Y, Someya T, Hashimoto K, Iyo M, Itokawa M, Arai M, Nankai M, Inada T, Yoshida S, Kunugi H, Nakamura M, Iijima Y, Okazaki Y, Higuchi T, Yoshikawa T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009; 150B (8):1110-1117. 査読有り

14. A novel missense mutation (Leu46Val) of PAX6 found in an autistic patient.

Maekawa M, Iwayama Y, Nakamura K, Sato M, Toyota T, Ohnishi T, Yamada K, Miyachi T, Tsujii M, Hattori E, Maekawa N, Osumi N, Mori N, Yoshikawa T. *Neurosci Lett.* 2009; 462(3):267-2671. 査読有り

15. Association studies and gene expression analyses of the DISC1-interacting molecules, pericentrin 2 (PCNT2) and DISC1-binding zinc finger protein (DBZ), with schizophrenia and with bipolar disorder. Anitha A, Nakamura K, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Takei N, Iwata Y, Suzuki K, Sekine Y, Matsuzaki H, Kawai M, Thanseem I, Miyoshi K, Katayama T, Matsuzaki S, Baba K, Honda A, Hattori T, Shimizu S, Kumamoto N, Kikuchi M, Tohyama M, Yoshikawa T, Mori N. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009; 150B(7):967-976. 査読有り

16. Failure to confirm genetic association of the CHI3L1 gene with schizophrenia in Japanese and Chinese populations. Yamada K, Hattori E, Iwayama Y, Toyota T, Ohnishi T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kikuchi M, Okazaki Y, Yoshikawa T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009; 150B (4):508-514. 査読有り

17. Variable number of tandem repeat polymorphisms of DRD4: re-evaluation of selection hypothesis and analysis of association with schizophrenia. Hattori E, Nakajima M, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Saitou N, Yoshikawa T. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17(6):793-801. 査読有り

18. Mitochondrial DNA haplogroup analysis in patients with bipolar disorder. Kazuno AA, Munakata K, Mori K, Nanko S, Kunugi H, Nakamura K, Mori N, Yamada K, Yoshikawa T, Kato N, Kato T. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009; 150B (2):243-247. 査読有り

19. Genetic and expression analyses reveal elevated expression of syntaxin 1A (STX1A) in high functioning autism. Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Tsujii M, Iwayama Y, Hattori E, Toyota T, Suda S, Takei N, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Kawai M, Sekine Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Ouchi Y, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008; 11(8):1073-1084. 査読有り

20. Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm. Shi J, Wittke-Thompson JK, Badner JA, Hattori E, Potash JB, Willour VL, McMahon FJ, Gershon ES, Liu C. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008; 147B

(7):1047-1055. 査読有り

21. Neurotransmission and bipolar disorder: a systematic family-based association study. Shi J, Badner JA, Hattori E, Potash JB, Willour VL, McMahon FJ, Gershon ES, Liu C. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008; 147B (7):1270-1277. 査読有り

22. Genetic analyses of roundabout (ROBO) axon guidance receptors in autism. Anitha A, Nakamura K, Yamada K, Suda S, Thanseem I, Tsujii M, Iwayama Y, Hattori E, Toyota T, Miyachi T, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Kawai M, Sekine Y, Tsuchiya K, Sugihara G, Ouchi Y, Sugiyama T, Koizumi K, Higashida H, Takei N, Yoshikawa T, Mori N. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008; 147B (7):1019-1027. 査読有り

23. Gene and expression analyses reveal enhanced expression of pericentrin 2 (PCNT2) in bipolar disorder. Anitha A, Nakamura K, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Takei N, Iwata Y, Suzuki K, Sekine Y, Matsuzaki H, Kawai M, Miyoshi K, Katayama T, Matsuzaki S, Baba K, Honda A, Hattori T, Shimizu S, Kumamoto N, Tohyama M, Yoshikawa T, Mori N. *Biol Psychiatry.* 2008; 63(7):678-685. 査読有り

[学会発表] (計 13 件)

1. Yamada K, et al., Genome wide association study identifies a potassium channel gene as a susceptibility gene for schizophrenia. 18th World Congress on Psychiatric Genetics, 2010年10月4日, Athens, Greece

2. 山田和男 他、統合失調症におけるゲノムワイド関連解析、第18回日本精神行動遺伝学会、2010年9月18日、仙台、日本

3. Gotoh L, et al., Association Analysis of Adenosine A1 receptor (ADORA1) and Dopamine D1 receptor (DRD1) genes with schizophrenia in the Japanese population. 59th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, 2009年10月22日 Honolulu, Hawaii, USA

4. Kawasaki H, et al., Association Analysis of Adenosine A1 receptor (ADORA1) and Dopamine D1 receptor (DRD1) genes with bipolar disorder in the Japanese

population. 59th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, 2009年10月22日, Honolulu, Hawaii, USA

5. Yoshikawa T, Molecular targets for potentially disturbed lipid metabolism in functional psychoses. The 1st Asian Workshop on Schizophrenia Research, 2009年2月1日, Osaka, Japan

6. Haga S, et al., A gene distributed by a chromosomal translocation in 4p15.2 was associated with schizophrenia. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008年10月14日, Osaka, Japan

7. Doi N, et al., Testing genetic models and candidate genes for schizophrenia from an evolutionary viewpoint. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008年10月14日, Osaka, Japan

8. Doi N, et al., Mitochondrial DNA hypothesis of schizophrenia: an integration of epidemiological and pathophysiological aspects. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008年10月14日, Osaka, Japan

9. Iwayama Y, et al., Genetic roles of FABP7, 5 and 3 in functional psychoses., XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008年10月12日, Osaka, Japan

10. Anitha A, et al., Gene and expression analyses reveal elevated expression of syntaxin 1A in high functioning autism. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008年10月12日, Osaka, Japan

11. Hattori E, Genetics of Bipolar disorder. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress and 30th Annual Meeting of JSBP, 2008年9月11日, Toyama, Japan

12. Yoshikawa T, Genetic architecture that defines endphenotypes in mice and its molecular relevance to mental disorders. XXVI CINP Congress, 2008年7月14日, Munich, Germany

13. Yoshikawa T, Toward Genetics Dissection of Psychiatric Illnesses. NIMH Lecture Series, 2008年5月5日, Bethesda, MD, USA

[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

<http://molpsych.brain.riken.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 和男 (YAMADA KAZUO)  
独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・副チームリーダー  
10322695

(2)研究分担者

吉川 武男 (YOSHIKAWA TAKEO)  
独立行政法人理化学研究所分子精神科学研究チーム・チームリーダー  
30249958

大西 哲生 (OHNISHI TETSUO)  
独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・研究員  
80373281

服部 栄治 (HATTORI EIJI)  
独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・客員研究員  
80399443

(3)連携研究者