

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月30日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591491

研究課題名（和文） 統合失調症患者におけるニューレグリン1機能の多角的解析

研究課題名（英文）

Multilateral analysis of Neuregulin-1 function in schizophrenia patients.

研究代表者

岸本 年史（KISHIMOTO TOSHIFUMI）

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60201456

研究成果の概要（和文）：ニューレグリン1は神経細胞や神経細胞を覆うオリゴデンドロサイトの増殖や分化等に影響を与える因子であるが、同遺伝子の HapICE という多型の一つが統合失調症と相関することが知られている。この機能を解析するため、まず我々は統合失調症患者 201名、健常者 203名から遺伝子解析のための検体を得て解析している。遺伝子解析の結果から、HapICE 多型が末梢神経の伝導速度や脳内の神経路等にどのような影響を与えるかを解析していく。

研究成果の概要（英文）：Neuregulin-1 is a kind of growth factors which promotes neuronal and oligodendroglial growth and differentiation, and known as a candidate gene (HapICE) for schizophrenia. To investigate how this gene affects the disease, we started genetic analysis of 201 patients and 203 control subjects, followed by Diffusion Tensor Imaging and measurement of peripheral nerve conduction velocity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：ニューレグリン、統合失調症、末梢神経伝導速度、拡散テンソル画像、iPS細胞

1. 研究開始当初の背景

ニューレグリン1（以下、NRG1）遺伝子は染色体 8q12 に存在し、その受容体が ErbB である。NRG1-ErbB シグナルの作用については多くの動物実験や培養細胞実験により解析され、神経細胞の増殖、遊走、オリゴデンドロサイトの増殖、分化、さらには NMDA 受容

体機能、GABA 神経細胞機能にも影響を与えることが明らかとなっている。2002年にアイスランドでの関連解析にて、統合失調症とニューレグリン1のハプロタイプ（Icelandic Haplotype：HapICE）の関連性が初めて報告され、その後いくつかの集団でその関連性が報告されている（Am J Hum Genet, 71, 877-92,

2002; Am J Hum Genet, 72, 83-7, 2003; Mol Psy, 9, 698-704, 2004; Neurosci Lett 396, 2006)。しかしながら、統合失調症患者におけるニューレグリン1の機能について解析された例は少なく、不明な点が多い。

統合失調症の病態生理として、死後脳研究や頭部MRI拡散テンソル画像を用いた研究から、オリゴデンドロサイトの異常が報告されている。申請者らはこれまで統合失調症の動物モデルを用いたオリゴデンドロサイトの解析を行ってきた。統合失調症モデル動物を用いてオリゴデンドロサイトを解析した報告は気分けて少ないが、ハーバードメディカルスクールのCorfasらはNRG1-ErbBシグナルと統合失調症との関係について研究を進め、オリゴデンドロサイト特異的に同シグナルを減弱させたマウスの脳では低ミエリン化が生じ、さらに統合失調症様の行動を示すことを報告した(PNAS, 104, 8131-6, 2007)。また彼らのグループは、マウスのシュワン細胞での同シグナルの機能低下により末梢神経の低ミエリン化が生じその伝導速度が低下することも報告している(JNeurosci, 26, 3079-86, 2006)。

これらの知見から申請者は、統合失調症患者において、NRG1-ErbBシグナルが末梢神経・中枢神経にどのような影響を及ぼすのかを下記に述べる方法で解析しようと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ニューレグリン1遺伝子のハプロタイプ(HapICE)の有無と健常者群・統合失調症患者群の諸検査データとの関連を多角的に解析することにより、NRG1-ErbBシグナルが統合失調症患者の末梢神経系と中枢神経系にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることが目的である。末梢神経は末梢神経伝導速度の測定により、中枢神経は

頭部MRI拡散テンソル画像によりそれぞれ解析する。また、NRG1-ErbBシグナルは嗅上皮被覆グリアの動態に関与すると考えられているので、精神症状と合わせて嗅覚とNRG1-ErbBシグナルとの関連を検討する。更に、ヒトiPS細胞の開発により皮膚から神経系組織の作製が可能となったため、患者皮膚からiPS細胞を作製し、それらを神経系組織に分化させて、NRG1-ErbBシグナルが神経細胞やオリゴデンドロサイトにどのような影響を与えるのかを解析する。

3. 研究の方法

(1) ニューレグリン1遺伝子多型の解析

DSM-IVにより統合失調症と診断された300名及びボランティア健常者60名の、性別、年齢、発症年齢、病期、抗精神病薬内服の有無とその薬剤名、及びPANSS、WAIS-R、MMPIの結果を記録し、各々の唾液2mlをOragene・DNA(DNAGENOTEK社)により採取する。採取した唾液を、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：山田和男(国内研究協力者)に送付し、DNAを抽出する。抽出したDNAをベルゲン大学のB. Havik(海外研究協力者)に送付し、多型解析を行う。その結果、ニューレグリン1のハプロタイプ(HapICE)をもつ統合失調症患者群(30~40名)と年齢、性別が類似したHapICEを持たない患者群(30~40名)、HapICEを持たない健常者群(30~40名)を抽出する。抽出された上記3群の対象者に、以下の検査、施術を行う。

(2) 末梢神経伝導速度測定と頭部MRI拡散テンソル画像解析

奈良県立医科大学精神医学博士研究員の法山良信が同助教の牧之段学と、ニューロテスターNRS-1100(アスター電機)により腓腹

神経伝導速度の測定 (NRS-1100 プロトコールに準拠) を行う。

多くの拡散テンソル画像を解析・報告している奈良県立医科大学放射線医学准教授の田岡俊昭が、同精神医学助教の木内邦明とともに、1.5 テスラ臨床用MR装置 (Magnetom Sonata, Siemens) による拡散テンソル画像の撮影及び解析を行う (鉤状束、前帯状回、脳弓、脳梁)。解析には、東京大学医学部付属病院放射線科画像情報処理・解析研究室において開発されたフリーウェア「dTV」及び VOLUME-ONE を用いる。パラメーターとしては、FA (fractional anisotropy)、ADC (apparent diffusion coefficient) を測定する。

(3) 嗅覚の測定

University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT) による嗅覚測定を、奈良県立医科大学脳神経システム医科学教授の坪井昭夫が牧之段学とともに行う。

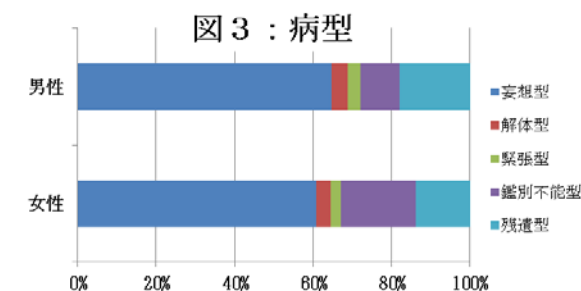
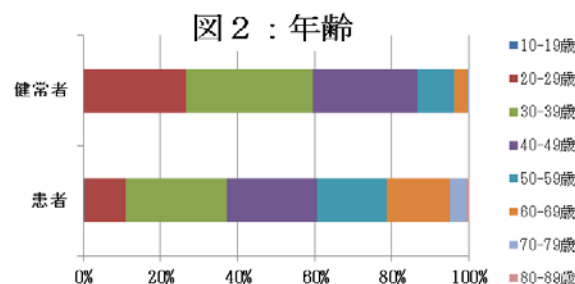
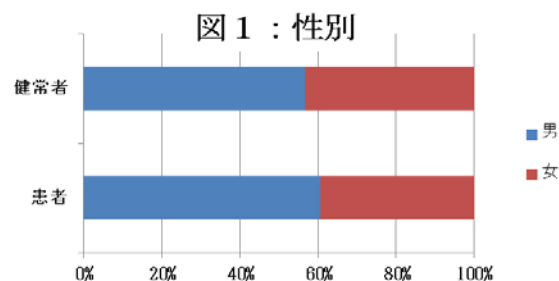
(4) iPS 細胞由来の神経細胞、オリゴデンドロサイトの解析

対象者の上腕内側部からパンチバイオプシーにより直径 3mm の皮膚を採取する。採取した皮膚から線維芽細胞を培養し、山中らの方法 (Cell, 131, 861-872, 2007) を用いて iPS 細胞を作製する。iPS 細胞から神経細胞、オリゴデンドロサイトを分化誘導し、細胞生物学的な解析に加え、NRG1-ErbB シグナル活性の指標である ErbB のリン酸化や Akt のリン酸化の程度を測定、比較する。

4. 研究成果

統合失調症患者 201 名及び健常対象者 203 名から同意を得て、唾液を採取した。採取した唾液の一部を用いて DNA を抽出する作業は既に完了している。抽出した DNA を Bergen

大学の B. Havik に送付し、現在解析中である。対象者の背景を図 1～図 3 に示す。患者病型としては、妄想型が最も多く、60%以上を占めた。



サンプル採取に要した期間が長く、またその後の抽出作業にも当初予想していたよりも時間を要したため、解析結果をうけての上記 3-(2)、(3) の測定は開始できていない。3-(4) iPS 細胞を用いた研究に関しては、一部の対象者から皮膚線維芽細胞を得て、山中らのレンチ・レトロウイルスベクターを用いる方法 (Cell, 131, 861-872, 2007) で樹立を開始した。その後、山中研究室から提供のあるコントロール株 (201B7) と共に、樹立した株の神経細胞への分化誘導を試みた。コントロール株での神経幹細胞・神経細胞への分化誘導は成功したが (図 4)、本学で樹立した iPS 細胞株は一部しか神経細胞に

まで分化できず、分化した株も誘導効率が悪かった。ウイルスベクターを用いることによるゲノムへの外来遺伝子挿入が一因である可能性が高く、プラスミドベクターに変更して実験を継続している。

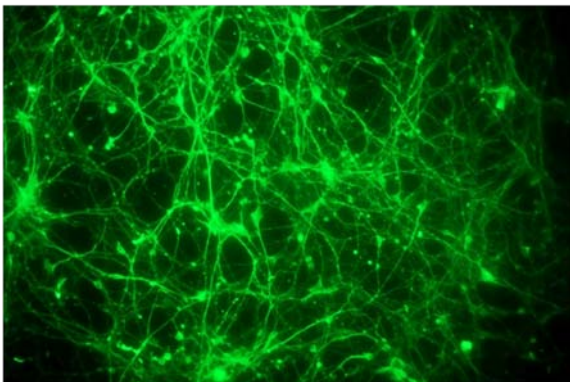


図4: anti-Neuronal Class III β -Tubulin(Tuj1)による免疫染色

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)
無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸本 年史 (KISHIMOTO TOSHIFUMI)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60201456

(2) 研究分担者

法山 良信 (NORIYAMA YOSHINOBU)

奈良県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：20305725

木内 邦明 (KIUCHI KUNIAKI)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：20398449

田岡 俊昭 (TAOKA TOSHIKI)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30305734

坪井 昭夫 (TSUBOI AKIO)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：20163868

牧之段 学 (MAKINODAN MANABU)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00510182