

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 2日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591492

研究課題名（和文） セリン生成関連遺伝子 PSAT1 の機能解析による統合失調症の病態解明と治療法の開発

研究課題名（英文） Elucidation of schizophrenia etiology and development of a cure by the analysis of PSAT1 which is a gene relevant to serine synthesis.

研究代表者

尾関 祐二 (OZEKI YUJI)

獨協医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90303768

研究成果の概要（和文）：統合失調症患者ではL-セリンの合成に必要な酵素の一つホスホセリンホスファターゼの酵素活性が健康人より上昇していた。また、血漿中L-セリン濃度と統合失調症の重症度が関連していた。さらには統合失調症患者でホスホセリンホスファターゼのmRNA量が低下し、同じくセリンの合成に必要な酵素の一つであるホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼのmRNA量が増加していた。以上のように統合失調症患者でL-セリンの合成異常を見出した。

研究成果の概要（英文）：In the schizophrenic patient, the enzyme activity of phosphoserine phosphatase (PSP), which is one of L-serine synthetase, was increased as compared with the healthy comparisons. Plasma concentration of L-serine and the severity of illness were significantly related. Furthermore, the amount of mRNA of phosphoglycerate dehydrogenase (one of L-serine synthetase) was decreased and the amount of PSP was increased in schizophrenic patients compared with healthy comparisons. Therefore, abnormality of L-serine synthesis was found in schizophrenic patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
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：統合失調症、L-セリン合成、ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ、ホスホセリンホスファターゼ、ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は有病率が約1%とありふれた疾患で、青年期早期に発症し社会機能の喪失

をきたす慢性疾患である。WHOによる『疾患がもたらす人類へ被害推計(2002年)』では、「生命と人生の喪失」で全疾患中9位に位置

づけられており、患者及び家族の苦痛は非常に大きい。また、WHO の報告による経済面での損失は全疾患中 2 位、アメリカでは 2002 年の一年間で 627 億ドルが統合失調症対策に投じられている¹⁾。こうした観点より、統合失調症の治療、予防法などの疾患克服が強く求められている。

統合失調症克服に向けて、申請者はこれまで遺伝学的、分子生物学的観点から研究を行ってきた。疫学的研究より統合失調症には家族集積性が示されているが、多因子遺伝で各因子の浸透率が低いことや、疾患の生物学的均一性が保証されていないことなどが障害となつてか、連鎖解析や関連解析など従来の手法で一致した結果が得られていない。このため現在浸透率が高い稀な遺伝子変異を見出す手法が注目されている²⁾。実際、パーキンソン病やアルツハイマー病では、常染色体優性遺伝などの疾患多発家系を対象とした研究から遺伝子異常が見出され、独立するいくつかの家系で見つかった異常がおおむねひとつの生物学的現象にかかわることが明らかにされるに至り、稀な変異の解析が疾患と密接に関連する生体内分子カスケード全般を捉えうることの先例となっている。浸透率が高い稀な遺伝子異常を見出すことは、連鎖解析や関連解析と異なり、疾患と関連する異常な生体内現象を分子レベルで再現、解析できる点も注目される。実際、統合失調症研究でもこうした観点からの解析が成果を挙げつつあり、その代表は *disc1* (Disrupted-In-Schizophrenia-1) 遺伝子である。1990 年、スコットランドで染色体の転座：t(1;11)(q42.1;q14.3) が世代間で受け継がれている単一家系が報告され、転座を持つもののみが 25% 程度の高率で統合失調症を発症することが報告された³⁾。その転座により切断された遺伝子として、*disc1* が報告された。申請者等は当初未知であった *disc1* の機能を解析し、神経発達に関与していることを示した⁴⁾。この知見はその後発展を続け、疾患のメカニズム解明に寄与しており、これまで疫学・神経病理学・形態画像研究などで指摘されていた統合失調症の神経発達障害仮説を分子レベルで実体化できる可能性が高まっていると考えられている。その後申請者は新たに 3 番染色体と 9 番染色体の転座 t(3;9)(q13.12;q21.2) を持つ統合失調症患者を見出している。患者の生存している

唯一の血族は長男のみであるが、重症の失調型パーソナリティ障害であり、母親と同一の転座を有していた。転座部分の解析の結果、3 番染色体上の non-coding RNA (BC036229) が切断されていた。9 番染色体上では直接切断されている遺伝子は存在しなかったが、切断点の約 50kb 近傍にフォスホセリンアミノトランスフェラーゼ 1 (phosphoserine aminotransferase 1: PSAT1) 遺伝子が存在していた。PSAT1 は L-セリンの生合成に必要な酵素のひとつである。L-セリンは生体内での生合成で必要量を補っており、特に血液脳関門を通過しにくいことから、中枢神経系で必要とされる L-セリンの大半はアストロサイトで合成されている。L-セリンは中枢神経発達に重要な役割を果たしていることが知られており、PSAT1 の著しい機能低下はヒトでの中枢神経の発達を強く障害することが知られている⁵⁾。上記の染色体転座を持つ両者のリンパ芽球での PSAT1 mRNA 発現量は対照とした 26 人のどの健常被験者よりも低かった。また、この染色体異常を有している両者の血中 L-セリン濃度は 16 人のどの健常被験者よりも低かった。この結果から、染色体の構造異常が L-セリンの血中濃度を低下させていると判断し、さらには本家系での統合失調症症状発現との関連を予測させた。実際、統合失調症患者を対象としたリンパ芽球による PSAT1 mRNA の発現量の解析では、一部で発現量が極端に低い群と高い群がみられ、統合失調症患者のうち一部は、PSAT1 がかわる L-セリン合成経路に何らかの異常を持っている可能性を想像させる。また、染色体転座を持つ両者は、ともにグルタミン酸の血中濃度は健常被験者 16 名の誰よりも低値であることが判明しており、統合失調症の病態生理として注目されるグルタミン酸機能低下仮説⁶⁾との関連も非常に興味深い。さらには、L-セリンより合成される D-セリンは、NMDA 受容体のコアゴニストとして、NMDA 受容体の活性に関与し、統合失調症のグルタミン酸機能低下仮説を構成する要素として注目されている⁶⁾。これら結果から、PSAT1 を含めたセリン合成系酵素の活性や mRNA 発現量などを、統合失調症患者で検討することは、診断、治療法の開発や分子生物学的病態解明につながると考え本研究を立案した。

- 1) Wu EQ et al J Clin Psychiatry. 2005
- 2) McClellan JM et al, Br J Psychiatry 2007
- 3) St Clair DM et al, Lancet 1990
- 4) Ozeki Y et al, PNAS 2003
- 5) Hart EC et al. Am J Hum Genet 2007
- 6) Sawa A. Science 2002

2. 研究の目的

統合失調症患者における L-セリン合成酵素である PSAT1 などセリン合成経路に異常がないかどうかを検索し、病態解明・治療法開発への情報を得る。

3. 研究の方法

(1) 臨床症状評価：陽性・陰性症状評価尺度(PANSS)及び統合失調症認知機能簡易評価尺度(BACS)を用いて臨床症状を評価する。

(2) 末梢血を用いたL-セリン合成酵素の活性測定：

①PSAT1活性測定：20mlの採血を行い、フィコール処理にて末梢単核球を取り出した後凍結解凍で細胞を破壊し、反応溶液中で

$[^{14}\text{C}]$ 3-phosphoserine →

$[^{14}\text{C}]$ 3-phosphohydroxypyruvateの反応を行わせ、イオンカラム(AG 1-X8)にて

$[^{14}\text{C}]$ 3-phosphoserineを分離し、シンチレーションカウンターでカウントすることで、

$[^{14}\text{C}]$ 3-phosphoserine の変化量からPSAT1活性を測定する。

②PSP活性測定：PSAT1活性測定と同様に対象者リンパ球を凍結融解で破碎した後、反応溶液中で $[^{14}\text{C}]$ 3-phosphoserine →

$[^{14}\text{C}]$ 3-serine の反応を行わせ、同様の処理をして、活性を測定する。

(3) L-セリン、D-セリン、グルタミン酸等アミノ酸の血中濃度測定：同時に採血より血漿を分離し、L-セリン、D-セリン、グルタミン酸等L-セリン合成に関連するアミノ酸を、HPLCを用いて測定を行い、臨床症状やL-セリン合成酵素活性と比較して、血清中L-セリンの臨床的な意味合いや、酵素活性の変化の意味合いを検討する材料とする。

4. 研究成果

成果：統合失調症患者43名(男性:25名 女性:18名 平均年齢:51.7[13.6])と健常被験者33名(男性:18名 女性:15名 平均年齢

:46.8[13.7])を対象にセリン合成酵素の1つホスホセリンホスファターゼ(phosphoserine phosphatase: PSP)の酵素活性を測定し、重回帰分析で年齢と性別を補正して比較したところ有意な差を認めた($p=0.010$ 、統合失調症患者の活性:平均43.7 [20.6] μU ,健常被験者:29.0 [23.8] μU)。また、血漿中L-セリン濃度と統合失調症の重症度(陽性・陰性症状評価尺度で測定)を比較したところ、両者の間に負の相関が見出された($p<0.05$)。さらにはPSPのmRNA発現量が統合失調症患者で低下し、セリン合成酵素の1つホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ(phosphoglycerate dehydrogenase: PHGDH)のmRNA量が統合失調症患者で増加していることを見出した(共に $p<0.05$)。現時点ではPSAT1の酵素活性は疾患に特徴的な変化は認められていない。

これら成果は、世界で初めて統合失調症患者において L-セリン合成系経路全体として何らかの問題があることを具体的に示した研究であり、こうした経路の異常に対する薬理的な働き掛けが成功すれば、統合失調症の新たな治療薬の開発につながってゆくと考えられた。

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9件)

- ① Hiroaki Okayasu, Yuji Ozeki, Masayuki Chida, Shinichiro Miyoshi, Kazutaka Shimoda Lung transplantation in a Japanese patient with schizophrenia from brain-dead donor. General Hospital Psychiatry 査読有 in press <http://dx.doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2012.03.013>
- ② Hiroaki Okayasu, Yuji Ozeki, Kumiko Fujii, Yumiko Takano, Yoshinori Saeki, Hiroaki Hori, Minoru Horie, Teruhiko Higuchi, Hiroshi Kunugi, Kazutaka Shimoda Pharmacotherapeutic determinants for QTc interval prolongation in Japanese patients with mood disorder. Pharmacopsychiatry 査読有in press

- DOI:10.1055/s-0032-1308969
- ③ Hiroaki Hori, Toshiya Teraishi, Daimei Sasayama, Yuji Ozeki, Jyunko Matsuo, Yumiko Kawamoto, Yukiko Kinoshita, Kotaro Hattori, Teruhiko Higuchi, Hiroshi Kunugi Poor sleep is associated with exaggerated cortisol response to the combined dexamethasone/CRH test in a non-clinical population. *Journal of Psychiatric Research* 査読有 45:1253-63 2011
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.04.001>
- ④ Hiroaki Hori, Toshiya Teraishi, Yuji Ozeki, Kotaro Hattori, Daimei Sasayama, Jyunko Matsuo, Yumiko Kawamoto, Yukiko Kinoshita, Teruhiko Higuchi, Hiroshi Kunugi Schizotypal personality in healthy adults is related to blunted cortisol responses to the combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test. *Neuropsychobiology* 査読有 63: 232-41 2011 DOI: 10.1159/000322146
- ⑤ Yuji Ozeki, Benjamin S. Pickard, Shin-ichi Kano, Mary P. Malloy, Mariela Zeledon, Daniel Q. Sun, Kumiko Fujii, Keiko Wakui, Yukihiko Shirayama, Yoshimitsu Fukushima, Hiroshi Kunugi, Kenji Hashimoto, Walter J. Muir, Douglas H. Blackwood and Akira Sawa. A novel balanced chromosomal translocation found in subjects with schizophrenia and schizotypal personality disorder: altered l-serine level associated with disruption of PSAT1 gene expression. *Neurosci Research*. 査読有 69:154-60 2011
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2010.10.003>
- ⑥ 尾關祐二 統合失調症とneuregulin1-発見とその後. *精神科治療学* 査読なし 26; 1407-1411, 2011
- ⑦ Hiroaki Hori, Yuji Ozeki, Toshiya Teraishi, Junko Matsuo, Yumiko Kawamoto, Yukiko Kinoshita, Shiho Suto, Sumio Terada, Teruhiko Higuchi, Hiroshi Kunugi. Relationships between psychological distress, coping styles, and HPA axis reactivity in healthy adults. *Journal of Psychiatric Research*. 査読有 44:865-73 2010 DOI:10.1016/j.jpsychires.2010.02.007
- ⑧ Yuji Ozeki, Kumiko Fujii, Naoki Kurimoto, Naoto Yamada, Masako Okawa, Takesuke Aoki, Jun Takahashi, Nobuya Ishida, Minoru Horie, Hiroshi Kunugi. QTc prolongation and antipsychotic medications in a sample of 1,017 patients with schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 査読有 34; 401-405, 2010
<http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.01.008>
- ⑨ 尾關祐二 藤井久彌子 統合失調症の分子病態研究 脳と精神の医学. 査読なし 20 347-353 2009
- [学会発表] (計 10 件)
- ① Hiroaki Okayasu, Yuji Ozeki, Kumiko Fujii, Yumiko Okuri, Yoshinori Saeki, Hiroshi Kunugi, Kazutaka Shimod. Risk factors for QT prolongation by antidepressant treatment to mood disorder, anxiety disorder or adjustment disorder. 51th annual meeting of International College of Neuro-Psychopharmacology. Jun. 6-10 2010 Hong Kong
- ② Yuji Ozeki, Benjamin S. Pickard, Kumiko Fujii, Mary P. Malloy, Keiko Wakuie, Yukihiko Shirayama, Yoshimitsu Fukushima, Hiroshi Kunugi, Kenji Hashimoto, Walter J. Muir, Douglas H. Blackwood and Akira Sawa. Low serum L-serine and glutamate in a schizophrenic patient and son with a chromosomal translocation affecting phosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1) mRNA expression. 39th annual meeting of the Society for Neuroscience. Oct. 17-21 2009 Chicago USA

- ③ 尾關祐二 災害時の精神科医療における
エッセンシャル・ドラッグを考える 第
21 回日本臨床精神神経薬理学会 第 41
回日本神経精神薬理学会 合同年会
2011 年 10 月 27-29 日 東京
- ④ 尾關祐二、藤井久彌子、岡安寛明、大栗
有美子、堀弘明、大類方巳、堀江稔、功
刀浩、下田和孝 抗精神病薬を服用して
いない統合失調症患者のQT間隔の特徴
第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年
会 2011 年 10 月 27-29 日 東京
- ⑤ 岡安寛明、篠崎隆央、尾關祐二、下田和
孝 バルプロ酸ナトリウム投与により急
性肺炎を発症した血液透析施行中の双極
性障害の一例 2011 年 10 月 27-29 日
東京
- ⑥ 藤井久彌子、尾關祐二、岡安寛明、大栗
有美子、堀弘明、大類方巳、堀江稔、功
刀浩、下田和孝 抗精神病薬未服薬統合
失調症患者におけるQT間隔の検討 第 5
回統合失調症学会 2011 年 7 月 18-19
日 札幌
- ⑦ 岡安寛明、尾關祐二、藤井久彌子、大栗
有美子、佐伯吉規則、功刀 浩、下田和
孝 抗うつ薬のQT間隔延長への影響の
検討 第 20 回日本臨床精神神経薬理学
学会年会 2010 年 9 月 15-16 日 仙台
- ⑧ 大栗有美子、藤井久彌子、渡部由佳、岡
安寛明、尾關祐二、平田幸一、下田和孝
若年性のシャルル・ボネ症候群の一例第
22 回総合病院精神医学会、2009 年 11 月
27-28 日、大阪
- ⑨ 岡安寛明、尾關祐二、藤井久彌子、大栗
有美子、佐伯吉規則、功刀 浩、下田和
孝 気分障害、不安障害、適応障害患者
に対する抗うつ薬治療におけるQT延長
リスクの検討 第 19 回日本臨床精神神
経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学
会合同年会 2009 年 11 月 13-15 日、京
都
- ⑩ 尾關祐二、Benjamin S. Pickard、藤井久
彌子、Mary P. Malloy、本多真、白山幸
彦、涌井敬子、福嶋義光、功刀浩、Walter
J. Muir、伊豫雅臣、橋本謙二、Douglas
H. Blackwood、澤明 染色体転座を持
つ統合失調症患者の検討 -PSAT1
mRNA発現低下と血清L-セリン及びグル
タミン酸低下- 第 31 回日本生物学的
精神医学会 2009 年 4 月 23 -25 日

京都

〔図書〕(計 5 件)

- ① 尾關祐二、下田和孝 精神科研修ノート
向精神薬のリスク 診断と治療社 東京
204-206 2011
- ② 尾關祐二、下田和孝 抗うつ薬「臨床薬
理学」第三版、医学書院 (印刷中)
- ③ 尾關祐二、下田和孝 抗精神病薬「臨床
薬理学」第三版 医学書院 (印刷中)
- ④ 藤井久彌子 尾關祐二 脳と心のプライ
マリーケア 第一巻 不安とうつ VI.
うつ・不安の治療 2. 薬物療法 a. う
つ (薬物療法アルゴリズムを含む) シナ
ジー 東京 384-394 2010
- ⑤ 尾關祐二 専門医のための精神科臨床リ
ュミエールII. 分子生物学 A. ゲノム
4. 統合失調症の神経発達障害仮説 中
山書店 東京 146-148 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾關 祐二 (OZEKI YUJI)
獨協医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90303768

(2) 研究分担者

藤井 久彌子 (FUJII KUMIKO)
獨協医科大学・医学部・講師
研究者番号：70314151

下田 和孝 (SHIMODA KAZUTAKA)
獨協医科大学・医学部・教授
研究者番号：30196555