

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390293

研究課題名(和文)統合失調症におけるGABA系神経伝達の機能的異常メカニズムの解明

研究課題名(英文)The function and mechanism of GABAergic signaling 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・脳科学総合研究センター・副チームリーダー

研究者番号：10322695

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、GABA系神経伝達およびその上流因子であるカンナビノイド系神経伝達の障害が統合失調症の疾患病態にどのように関与しているかについて検討した。

まず、関連遺伝子群のヒトゲノム解析および死後脳遺伝子発現解析から、これらの神経伝達系障害が疾患に関与している知見を得た。さらに、遺伝子改変マウスを用いた網羅的遺伝子発現解析によって神経伝達障害が影響を及ぼす遺伝子群を同定し、表現型行動解析では活動性の低下や社会性障害などの統合失調症類似表現型が認められることを確認した。

これらの結果から、GABA系神経伝達機能の分子機構の障害が統合失調症の病態に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Studies have provided evidence for abnormalities of the GABAergic system in schizophrenia. Cannabinoid receptors may play a role in modulating GABAergic neurons. In this study, we have performed the genetic analysis of the GABAergic neural transmission and the cannabinoid pathway in the pathophysiology of schizophrenia.

We examined the association of genetic variation with the disease and the alteration of gene expression in post-mortem schizophrenic brain. We found the evidence that a number of the genes in these signaling pathways are related to the disease. In addition, we conducted a series of behavioral tests in knockout mice. In behavioral experiments, knockout mice of the genes have multiple schizophrenia-like defects such as hypoactivity and reduced social interaction.

The results implicate GABAergic and cannabinoid-related dysfunctions as a key component of the molecular mechanism of schizophrenia.

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：脳・神経疾患 遺伝子 シグナル伝達 ゲノム マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

統合失調症の慢性期に顕在化してくる認知障害には GABA 受容体のダウンレギュレーションによる抑制性サーキットの障害が関与していると考えられている。また、統合失調症死後脳(特に前頭前野背外側部および海馬)では GABA 神経伝達に關与する presynaptic regulator (GAD67/GAD65, GABA transporter 1)、神経ペプチド(SST, NPY, CCK)および GABA 受容体サブユニット(1, 4, 3, 2,)など複数の遺伝子の発現低下がみられることから、GABA 神経伝達系の複数の遺伝子には疾患に關与する遺伝的脆弱性があると考えられている。しかし、未だ疾患脆弱性に繋がる包括的な説明はなされておらず、その病態解明が待たれている。

2. 研究の目的

統合失調症罹患者のゲノム解析および死後脳解析による臨床遺伝学的解析、さらに GABA 関連遺伝子を改変した疾患モデルマウス解析によって、統合失調症でみられる GABA 系神経伝達障害について網羅的な検討を行い、「GABA 系神経伝達の障害がどのように包括的なパスウェイとして統合失調症の発症脆弱性をもたらし、症状発現に至るのか?」を解明する。

3. 研究の方法

本研究では、GABA 合成酵素である GAD67/GAD65 遺伝子を操作した GAD67/GAD65 ダブルヘテロノックアウトマウスを用いて、GABA 合成の低下が GABA 関連遺伝子群およびその下流因子に与える影響について検討した。また、マリファナに代表される外来性カンナビノイドは統合失調症類似の認知機能障害を惹起することが知られており、脳内に存在する内在性カンナビノイドは1型カンナビノイド(CB1)受容体を介して大脳皮質の GABA 系神経伝達を強力に抑制することから、統合失調症における GABA 系神経伝達障害に内在性カンナビノイド-CB1 受容体系が上流因子とし

て関与している可能性を考え、CB1 受容体欠損マウスを用いたカンナビノイド神経伝達障害に関する実験についても行った。具体的には、それぞれの遺伝子改変マウスに対して、下記の実験を行った。

(1)統合失調症での異常が示唆されている前頭前野背外側部および海馬での発達段階における遺伝子変化について、DNAChip を用いて網羅的遺伝子発現解析および miRNA 解析を行った。

(2)遺伝子改変マウスの脳内 GABA 濃度測定を HPLC 法によって行い、GABA 濃度と遺伝子発現との関連を各発達段階において検討した。

(3)遺伝子改変マウスを用いて、統合失調症に關連すると考えられている一連の行動バッテリー解析(作業記憶、社会行動、運動能力、刺激反応性など)を行い、GABA 濃度の低下がマウス行動表現型に与える影響について検討した。

(4)上記実験を通して得られた情報をもとに、in silico パスウェイ解析を行い、GABA - 内因性カンナビノイド系の機能的連関に基づいた統合失調症疾患脆弱性関連シグナルパスウェイの検索を行った。

4. 研究成果

GAD67/GAD65 ダブルヘテロノックアウトマウスを用いた遺伝子発現解析および miRNA 解析ではこれまでに統合失調症と機能的連関が示唆されているグルタミン酸受容体および関連遺伝子など複数の遺伝子群に変化がみられた。CB1 受容体欠損マウスの網羅的遺伝子発現解析からも、統合失調症と機能的連関が示唆される複数の遺伝子群が同定された。遺伝子改変マウスの脳内 GABA 濃度測定では、GAD67/GAD65 ダブルヘテロノックアウトマウスでは GABA 濃度の減少がみられたが、CB1 受容体欠損マウスでは変化がみられなかった。行動表現型解析では、GAD67/GAD65 ダブルヘテロノックアウトマウスの行動表現型は統合失調症の臨床研究において報告さ

れているものとは異なったものであったが、CB1 受容体欠損マウスでは、活動量の低下や統合失調症の病態生理に関連すると考えられている社会的行動テスト (social interaction test) の障害などが確認された。ヒトサンプル・マウス実験で得られた研究データを基に行った *in silico* での包括的な分子パスウェイの評価では、GABA 神経伝達系障害がグルタミン酸神経伝達系遺伝子群などに影響を及ぼす可能性を見出し、「ゲノム多型」から「miRNA による遺伝子制御機構」を経て「脳内遺伝子発現」へとつながる GABA 神経伝達機能の分子機構が統合失調症の病態に関与していることを示唆する所見を得た。

これらの研究結果は、GABA - 内因性カンナビノイド系神経伝達およびその下流シグナルの障害が包括的なパスウェイとして統合失調症の発症脆弱性をもたらしている可能性を示すとともに、疾患に関与する未知の遺伝子・パスウェイの存在を示唆するものであり、今後の研究に意義ある方向性を示すものであると考えられた。

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 26 件)

(1) Defective craniofacial development and brain function in a mouse model for depletion of intracellular inositol synthesis. Ohnishi T, Murata T, Watanabe A, Hida A, Ohba H, Iwayama Y, Mishima K, Gondo Y, Yoshikawa T.
J Biol Chem. 2014; 289(15):10785-10796. doi: 10.1074/jbc.M113.536706. 査読有

(2) 22q11.2 deletion carriers and schizophrenia-associated novel variants. Balan S, Iwayama Y, Toyota T, Toyoshima M, Maekawa M, Yoshikawa T.

Br J Psychiatry. 2014; 204: 398-399. doi: 10.1192/bjp.bp.113.138420. 査読有

(3) Soft-diet feeding after weaning affects behavior in mice: Potential increase in vulnerability to mental disorders. Nose-Ishibashi K, Watahiki J, Yamada K, Maekawa M, Watanabe A, Yamamoto G, Enomoto A, Matsuba Y, Nampo T, Taguchi T, Ichikawa Y, Saido TC, Mishima K, Yamaguchi Y, Yoshikawa T, Maki K.

Neuroscience. 2014; 263: 257-268. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.12.065. 査読有

(4) Genetic variants on 3q21 and in the Sp8 transcription factor gene (SP8) as susceptibility loci for psychotic disorders: a genetic association study. Kondo K, Ikeda M, Kajio Y, Saito T, Iwayama Y, Aleksic B, Yamada K, Toyota T, Hattori E, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ozaki N, Iwata N.

PLoS One. 2013; 8(8): e70964. doi: 10.1371/journal.pone.0070964. 査読有

(5) Association of decreased prefrontal hemodynamic response during a verbal fluency task with EGR3 gene polymorphism in patients with schizophrenia and in healthy individuals. Nishimura Y, Takizawa R, Koike S, Kinoshita A, Satomura Y, Kawasaki S, Yamasue H, Tochigi M, Kakiuchi C, Sasaki T, Iwayama Y, Yamada K, Yoshikawa T, Kasai K.

Neuroimage. 2014; 85 Pt 1:527-534. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.08.021. 査読有

(6) Population-specific haplotype association of the postsynaptic density gene DLG4 with schizophrenia. in family-based association studies. Balan S, Yamada K, Hattori E, Iwayama Y, Toyota T,

Ohnishi T, Maekawa M, Toyoshima M, Iwata Y, Suzuki K, Kikuchi M, Yoshikawa T. PLoS One. 2013; 8(7): e70302. doi: 10.1371/journal.pone.0070302. 査読有

(7) Lack of association of EGR2 variants with bipolar disorder in Japanese population. Balan S, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Ohnishi T, Maekawa M, Toyoshima M, Iwata Y, Suzuki K, Kikuchi M, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Iwata N, Nanko S, Kato T, Yoshikawa T. Gene. 2013; 526(2): 246-250. doi: 10.1016/j.gene.2013.05.055. 査読有

(8) A population-specific uncommon variant in GRIN3A associated with schizophrenia. Takata A, Iwayama Y, Fukuo Y, Ikeda M, Okochi T, Maekawa M, Toyota T, Yamada K, Hattori E, Ohnishi T, Toyoshima M, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Nanko S, Nakamura K, Mori N, Kanba S, Iwata N, Kato T, Yoshikawa T. Biol Psychiatry. 2013; 73(6): 532-539. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.10.024. 査読有

(9) Genetic evidence for association between NOTCH4 and schizophrenia supported by a GWAS follow-up study in a Japanese population. Ikeda M, Aleksic B, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Matsuo K, Numata S, Watanabe Y, Ohnuma T, Kaneko T, Fukuo Y, Okochi T, Toyota T, Hattori E, Shimodera S, Itakura M, Nunokawa A, Shibata N, Tanaka H, Yoneda H, Arai H, Someya T, Ohmori T, Yoshikawa T, Ozaki N, Iwata N. Mol Psychiatry. 2013; 18(6): 636-638. doi: 10.1038/mp.2012.74. 査読有

(10) Ablation of Mrds1/Ofcc1 induces hyper- -glutamyl transpeptidasemia without abnormal head development and

schizophrenia-relevant behaviors in mice. Ohnishi T, Yamada K, Watanabe A, Ohba H, Sakaguchi T, Honma Y, Iwayama Y, Toyota T, Maekawa M, Watanabe K, Detera-Wadleigh SD, Wakana S, Yoshikawa T. PLoS One. 2011; 6(12): e29499. doi: 10.1371/journal.pone.0029499. 査読有

(11) Association study of the KCNJ3 gene as a susceptibility candidate for schizophrenia in the Chinese population. Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Ohnishi T, Ohba H, Maekawa M, Yoshikawa T. Hum Genet. 2012; 131(3): 443-451. doi: 10.1007/s00439-011-1089-3. 査読有

(12) 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, Yoshikawa T. PLoS One. 2011; 6(6): e20468. doi: 10.1371/journal.pone.0020468. 査読有

(13) 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; 156B(5): 581-92. doi: 10.1002/ajmg.b.31199. 査読有

〔学会発表〕(計59件)

(1) Kondo K, Ikeda M, Saito T, Kajio Y, Fukuo Y, Inada T, Ujike H, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ozaki N, Iwata N.: Confirmation of shared genetic risk between schizophrenia and bipolar disorder; a replication study of schizophrenia SNP with bipolar sample. 11th World Congress of Biological

Psychiatry

2013年6月25日、京都市、京都府

(2) 治徳大介、山本直樹、岩山佳美、吉川武男、上里彰仁、車地暁生、西川徹: PAPT1 遺伝子と統合失調症との関連研究 (Genetic association study of PAPT1 with schizophrenia)

日本神経科学学会、日本神経化学会、日本神経回路学会

2013年6月21日、京都市、京都府

(3) 吉川武男: ヒト精神疾患のモデルと思われる遺伝子改変マウスからヒト遺伝学的解析に発展させる場合に考えること

日本神経科学学会、日本神経化学会、日本神経回路学会

2013年6月21日、京都市、京都府

(4) Ohnishi T, Watanabe A, Yamada K, Arima F, Kurokawa R, Iwayama Y, Arai M, Ohba H, Toyoshima M, Ichikawa T, Miyashita M, Manabe T, Hosoya T, Itokawa M, Yoshikawa T: Disturbed Gene Expression and Behavioral Defects Reminiscent of Schizophrenia in Mice Deficient in Disc-M, A Gene Encoding a Transcriptional Regulator.

Society of Biological Psychiatry 2013 Annual Meeting

2013年5月16 - 18日、San Francisco, USA

(5) Kondo K, Ikeda M, Yamada K, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ozaki N, Iwata N.: Genetic Variants on 3q21 and in Sp8 Transcription Factor Gene (SP8) as Susceptibility Loci for Psychotic Disorders: a Genetic Association Study.

21st World Congress of Psychiatric Genetics

2013年10月17 - 21日、Boston, USA

(6) 高田 篤、加藤 忠史、吉川武男: ポストGWAS時代の精神疾患遺伝研究

第34回日本生物学的精神医学会

2012年9月28日、神戸市、兵庫県

(7) Ohnishi T, Watanabe A, Yamada K, Ohba H, Arai M, Ichikawa C, Toyoshima M, Iwayama Y, Miyashita M, Itokawa M, Yoshikawa T: Multiple behavioral deficits reminiscent of schizophrenia in mice deficient in DISC-M (disrupted in schizophrenia matsuzawa), a gene encoding a transcriptional regulator.

28th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology

2012年6月5日、Stockholm, Sweden

(8) 吉川武男: 統合失調症 GABA 仮説の遺伝学的検証およびマウスにおける評価

Conference for Laboratory Animal Sciences and Technologies, KYUSHU 2012

2012年5月25日、別府市、大分県

(9) 大西哲生、渡邊 明子、大羽 尚子、豊島学、山田 一之、新井 誠、市川 智恵、岩山 佳美、宮下 光弘、糸川 昌成、吉川武男: 統合失調症関連遺伝子 DISM-M が制御する遺伝子ネットワークの同定

第7回日本統合失調症学会

2012年3月17日、名古屋市、愛知県

(10) 前川素子、渡邊 明子、大西哲生、豊島学、吉川武男: 統合失調症脆弱性形成におけるエピジェネティック修飾の関連性

第44回精神神経系薬物治療研究報告会

2011年12月2日、豊中市、大阪府

(11) Yoshikawa T: Genetic analysis of Schizophrenia Endophenotype.

Framework for Understanding Psychosis Based on Biological Treatment

2011年11月5日、Soul, Korea

(12) 治徳 大介、服部 栄治、豊田 倫子、山田和男、吉川武男: 統合失調症と Nogo 関連遺伝子の遺伝子関連研究

第107回日本精神神経学会学術総会

2011年10月26 - 27日、港区、東京都

(13) Yamada K: Genetic Association Study

of Multiple GABA-related Genes with Schizophrenia.

2nd Asian College of Neuropsychopharmacology,

2011年9月23 - 24日、Seoul, Korea

(14) 西村 幸香、滝沢 龍、小池 進介、栃木 衛、佐々木 司、吉川武男、笠井 清登: Association between EGR3 gene polymorphism and perfrontal hemodynamic response during cognitive task in patients with schizophrenia.

34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2011, 日本神経科学大会)

2011年9月17日、横浜市、神奈川県

(15) 山田和男、岩山 佳美、服部 栄治、岩本 和也、豊田 倫子、大西哲生、大羽 尚子、前川素子、加藤 忠史、吉川武男: ゲノムワイド関連解析(GWAS)による統合失調症シグナルパスウェイの同定

日本生物学的精神医学会 (第33回)

2011年5月22日、港区、東京都

(16) Ohnishi T, Yamada K, Arai M, Watanabe A, Ohba H, Arima F, Ichikawa T, Ornthanalai G, Iwayama Yo, Maekawa M, Yamada K, Miyashita M, Murphy N P, Manabe T, Itokawa M, Yoshikawa T: Mice Deficient in a Gene Encoding a Transcriptional Regulator Exhibit Multiple Behavioral Deficits Reminiscent of Schizophrenia.

66th Annual Meeting of society of Biological Psychiatry

2011年5月24日、San Francisco, USA

〔その他〕

ホームページ等

独立行政法人 理化学研究所

脳科学総合研究センター

分子精神科学研究チーム

<http://www.brain.riken.jp/jp/faculty/etails/54>

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・脳科学総合研究センター・副チームリーダー

研究者番号: 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・脳科学総合研究センター・チームリーダー

研究者番号: 30249958

大西 哲生 (OHNISHI, Tetsuo)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号: 80373281

前川 素子 (MAEKAWA, Motoko)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号: 50435731

豊島 学 (TOYOSHIMA, Manabu)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号: 90582750