

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25253074

研究課題名(和文)プロトタイプ症例を出発点とする統合失調症の病態研究

研究課題名(英文)Study on pathophysiology of schizophrenia approached from a prototype case

研究代表者

糸川 昌成 (ITOKAWA, Masanari)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・病院等連携研究センター長

研究者番号：40332324

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、比較的大きい効果の稀な変異を同定し、それをプロトタイプとして一般的な多型へ敷衍し、統合失調症の病態を明らかにすることである。CDCV仮説を前提とせず異種性を念頭においた研究を進めるので、大きな遺伝子効果を共有する小規模で均一な統合失調症サブグループの解明を目標とした。GL01のframeshift家系を一般症例の4割にまで敷衍して、カルボニルストレスという比較的均一な病態を単離し、このモデル動物も作成した。多施設でカルボニルストレスを再現し、動物モデルで神経伝達物質の代謝回転の変化を求めた。

研究成果の概要(英文)：Aim of our study is to clarify the pathology of schizophrenia by detecting a rare mutation with relatively large effect in a prototype case so as to extend it to general polymorphisms. We aimed to elucidate the homogeneous relative small subgroup of schizophrenia sharing a large gene effect since we investigated not based upon the CDCV hypothesis. We extended the prototype with frameshift mutation of GL01 to 40% of the general cases isolated from common cases as a relatively homogeneous pathophysiology called as carbonyl stress. We created model mice that showed deviation of turnover of neurotransmitter. Carbonyl stress was replicated in multiple hospitals.

研究分野：精神医学

キーワード：異種性

1. 研究開始当初の背景

双生児研究から算出された統合失調症の遺伝率(heritability)はおよそ 80%で (Sullivan et al. Arch Gen Psychiatry 2003)、発症に遺伝的要因が強く関与する。しかし、1990 年代初頭から精力的に行われた遺伝子研究は、めざましい成果をあげてきたとは考えられていない。ひとつには、候補遺伝子の関連解析結果が研究者間で一貫しない点があげられる。それでも、近年は研究成果が集積してきたため 1000 単位のサンプルサイズによるメタ解析が可能となり、DRD2、MTHFR 遺伝子などの関連が確定された (Glatt et al. Am J Med Genet 2006, Gilbody et al. Am J Epidemiol 2007)。しかし、いずれもオッズ比が 1.1-1.3 と小さく、病態へ果たす効果と意義を疑問視する意見もある。また、数多くの連鎖研究により neuregulin1(8p21), dysbindin(6p22), d-amino acid oxidase activator:G72/G30(13q32)などが関連遺伝子として同定されてきた。ここでも、関連するハプロタイプが報告者によって異なったりリスクアレルが不一致だったりなど、十分な信頼にたる成果が得られていない。実は、これらの試みは CVCD(common variant-common disease)仮説(Chakravarti et al. Nat Genet 1999)を前提としている。CVCD 仮説に基づいた研究は、弱いオッズ比の信頼性をあげるため、大規模なサンプルサイズに向かっている。しかし、統合失調症には異種性(heterogeneity)があり、サンプル規模を拡大するほど異種間の遺伝的効果は希釈しあう可能性が考えられる。このように統合失調症の分子遺伝学的研究が混迷する中で、DISC1 研究は着実に独自の成果を積み上げている。DISC1 は、スコットランドの染色体転座/精神障害を多発した特殊な 1 家系で見つかった遺伝子である。このように、CVCD の視点ではなく、稀なメンデル型遺伝の発掘、MRVCD (multiple rare variants-common disease) 仮説 (McClellan et al. Br J Psychiatry 2007) に基づく探索は、統合失調症の異種性の問題を乗り越えられる現実的な方策と考えられる。

そこで、代表者は DISC1 研究で成果をあげたアプローチに注目し、(1) 多発家系や malformation を含む身体合併症を多発した統合失調症の染色体検査、(2) 多発家系ばかりの発端者 50 例を用いて、DISC1 も含め neuregulin1(8p21)、dysbindin(6p22)、glyoxalase1(6p21)など連鎖からポジショナルに有望とされた遺伝子の resequence を行った。(1) の研究の結果、inv(18)(q21;q23)を持った父子例、t(3;9)(q21;q22)を持った女性、de novo t(4;13)(p15.3;q21.1)を持った孤発例を同定した (Itokawa et al. Psychiat. Clin. Neurosci.2004)。それぞれ、FISH 法を用いた解析によって inv(18)(q21;q23)からは最後の 2 遺伝子まで染色体断裂点を絞り込むことに成功し、t(4;13)(p15.3;q21.1)では

4p15.3 において転座のため断裂している遺伝子(DISC-M; disrupted in schizophrenia Matsuzawa)を同定した。DISC-M は、8 つのエクソンから構成され、第 1 エクソンが転座切断点に一致した。13q21.1 も断裂点を決定したが、切断点周辺 614kb に遺伝子はコードされていなかった。DISC-M は、cofactors of LIM homeodomain protein 1(CLIM1)、または LIM binding domain 2、LIM binding factor 2、LIM domain binding protein 2 (LDB2)などの名前で報告があるが、機能は良く分かっていない。Yeast two hybrid 法により結合分子として SSBP2-4、LMO2-4、LHX2 などが同定された。これらはいずれも神経発達や脳の形態形成に重要な役割をはたしていることから (Ostendorff et al. Dev Dyn 2006)、DISC-M も同様の機能を持つことが考えられる。症例・対照研究を行ったところ、転写開始点の上流から第 5 エクソンまでの連鎖不平衡ブロック(LD ブロック)において、ハプロタイプで有意な関連が認められ、他の一般の統合失調症でも遺伝的リスクであることが示唆された。

(2) の研究の結果、glyoxalase1 (GLO1) の exon1 に adenine が挿入されたため frameshift を生じた統合失調症の多発家系の発端者を同定した。症例では、premature termination codon のため mRNA およびタンパクの発現ともに健常者の 50%まで低下していた。末梢血赤血球を用いて GLO1 活性を測定したところ、健常者の 50%であることも判明した。GLO1 は糖化の抑制酵素である (Thornalley et al. Biochem Soc Trans 2003)。症例では、GLO1 活性の低下によって糖化が亢進した結果、終末糖化産物 (Advanced Glycation End products; AGEs) のひとつであるペントシジンが健常者の 3 倍に増加し (カルボニルストレス)、AGEs の生成阻害に動員されるピリドキサル (vitB6) が健常者の 18%まで低下していた。したがって、この多発家系において酵素活性の半減という比較的大きい効果の遺伝子変異から生じたカルボニル/酸化ストレスが、統合失調症と関連している可能性を示唆していた。この症例をきっかけに統合失調症 45 例と対照 61 例を検討したところ、統合失調症で有意にペントシジンが蓄積し (P<0.0001, odds 比=25.8) ピリドキサルが低下していた (P<0.0001, odds 比=10.5) (Arai et al. Arch Gen Psychiatry 2010, 読売新聞 6 月 8 日、特願 2007-214047)。さらに、これら患者の GLO1 遺伝子から新たな exon4 の frameshift 2 名 (GLO1 活性は 50%低下) と GLO1 活性中心ドメインに位置するミスセンス変異 (Glu111Ala) の Ala のホモ接合体 7 例 (GLO1 活性は 16%低下) を同定した。発端症例でみられた特殊な変異が、より一般的な 111Ala のホモ接合体 (frame shift より機能的にマイルドな変異) においても再現された。すなわち、GLO1 の機能低下とカ

ルボニルストレスという比較的均一な病態を、異種性のある統合失調症から4割の症例に単離できたと考える。さらにGLO1のノックアウトマウスを作製し、予備的検討でPPIの低下を認めた(未発表)。活性型vitB6(ピリドキサミン;未承認薬)の第1相試験を終了し、カルボニルストレス性症例を対象に第2相試験を医師主導型治験として10月24日に開始した(臨床試験登録UMIN000006398)。

(1)と(2)の研究を進めることで、特殊例の発掘、同じ遺伝子におけるより一般的な多型の検出、統合失調症との関連(allelic heterogeneityの例である)共通病理の可能性示唆、という研究手法を企図している。国内・国外の研究において、一部の内科疾患でrare variantの発見による成果がいくつか報告されているが、精神疾患を特殊例から一般例へと敷衍する研究成果はDISC1とNPAS3のみである(Pickard et al. Ann Med. 2006)。また、今回の発見を発展させると、GLO1活性や血中ペントシジン濃度が統合失調症のバイオマーカーとなる可能性も考えられる(特願2007-209412)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、比較的大きい効果の稀な変異を同定し、それをプロトタイプとして一般的な多型へ敷衍し、統合失調症の病態を明らかにすることである。CDCV仮説を前提とせず異種性を念頭においた研究を進めるので、大きな遺伝子効果を共有する小規模で均一な統合失調症サブグループの解明を目標とする。(1)多発家系やmalformationを含む身体合併症を多発した統合失調症の染色体検査、(2)多発家系ばかりの発端者例を用いて、DISC1も含めた候補遺伝子や連鎖から有望とされた遺伝子のresequencingを行って大きい機能変化を伴う稀な変異を同定する。GLO1のframeshift家系を一般症例の4割にまで敷衍して、カルボニルストレスという比較的均一な病態を単離した(Arch Gen Psychiatry 2010)。このモデル動物も作成し、臨床試験も開始するといった予備的成果も得ている(未承認薬で国内初の医師主導治験:臨床試験登録UMIN000006398)。研究期間内に複数のサブグループを明らかにし、共通病理の解明もめざす。

3. 研究の方法

研究は、染色体異常の収集と解析、多発家系の収集と有望な遺伝子の解析、同定された遺伝子の機能解析と病態についての検討、遺伝子変異による生体への影響の解析、モデル動物による研究、統合失調症全般での検討、死後脳研究、の順番で進めてゆく。なお、研究の進め方として、で同定された遺伝子によってからの優先順位は異なり、実際には混在して進行する。研究の進め方として、全てのmutation screening、ゲノム解析の終了を待つことなく、発見され次第、変異はassociation study、

培養細胞への発現実験など次の解析段階へは、いり、も平衡して続ける戦略をとる。少しでも早く、確定した統合失調症の病因遺伝子を世に問うためである。また、からの研究結果を相互の研究にフィードバックし合いつつ、互いの研究を当初計画から発展させるような統合的研究スタイルをとるよう工夫している。

4. 研究成果

統合失調症を対象としてWCST(慶応FS version)により、認知機能を調べた。ペントシジンとピリドキサールの濃度によって被験者を4群に分けて解析した。末梢血のペントシジン値55.2ng/mLをカットオフ値とした。ピリドキサールは男性6ng/mL、女性は4ng/mLをカットオフ値とした。その結果、カルボニルストレスをもつ第4群の被験者において作動記憶、視覚的長期記憶、即時記憶の低下、概念を見失う傾向が、他の三つの群より認められた(小堀ら、第9回日本統合失調症学会、一般演題優秀賞受賞、2013年、Kobori et al. CBSM2014 BK21plus Joint symposium 2014)。

esRAGEの遺伝子解析を行ったところ、血中濃度と相関する機能性多型を同定した。血中esRAGEは統合失調症で有意に対照より低下していた(Miyashita et al. Biochem Biophys Res Commun. 2016)。

Pentosidineが架橋する相手たんぱく質を同定した(Koike et al. Biochem Biophys Res Commun. 2015)。2010年に報告した被験者と独立した300を超える検体で、カルボニルストレスを再現した(Miyashita et al. Psychiatry Clin Neurosci 2014)。

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17件)

1. Miyashita M, Watanabe T, Ichikawa T, Toriumi K, Horiuchi Y, Kobori A, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Ujike H, Arinami T, Tatebayashi Y, Kasai K, Takeda M, Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Washizuka S, Yamamoto H, Miyata T, Itokawa M, Yamamoto Y, Arai M. The regulation of soluble receptor for AGEs contributes to carbonyl stress in schizophrenia. **Biochem Biophys Res Commun.** 2016 Oct 21;479(3):447-452.

- DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.09.074 査読あり
2. I Kushima, B Aleksic, M Nakatochi, T Shimamura, T Shiino, A Yoshimi, H Kimura, Y Takasaki, C Wang, J Xing, K Ishizuka, T Oya-Ito, Y Nakamura, Y Arioka, T Maeda, M Yamamoto, M Yoshida, H Noma, S Hamada, M Morikawa, Y Uno, T Okada, T Iidaka, S Iritani, T Yamamoto, M Miyashita, A Kobori, M Arai, **M Itokawa**, M-C Cheng, Y-A Chuang, C-H Chen, M Suzuki, T Yoshikawa, S Numata, T Ohmori, S Kunimoto, D Mori, N Iwata and N Ozaki. High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. **Molecular Psychiatry** (2016), 1-11. DOI: 10.1038/mp.2016.88 査読あり
 3. Mizutani R, Saiga R, Takekoshi S, Inomoto C, Nakamura N, **Itokawa M**, Arai M, Oshima K, Takeuchi A, Uesugi K, Terada Y, Suzuki Y. A method for estimating spatial resolution of real image in the Fourier domain. **J Microsc.** 2016 Jan; 261(1):57-66. DOI: 10.1111/jmi.12315 査読あり
 4. Uno K, Nishizawa D, Seo S, Takayama K, Matsumura S, Sakai N, Ohi K, Nabeshima T, Hashimoto R, Ozaki N, Hasegawa J, Sato N, Tanioka F, Sugimura H, Fukuda KI, Higuchi S, Ujike H, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Kondo N, Won MJ, Naruse N, Uehara-Aoyama K, **Itokawa M**, Yamada M, Ikeda K, Miyamoto Y, Nitta A. The Piccolo Intronic Single Nucleotide Polymorphism rs13438494 Regulates Dopamine and Serotonin Uptake and Shows Associations with Dependence-Like Behavior in Genomic Association Study. **Curr Mol Med.** 15(3):265-274. 2015 DOI: 10.2174/1566524015666150330145722 査読あり
 5. Koike S, Kayama T, Arai M, Horiuchi Y, Kobori A, Miyashita M, **Itokawa M**, Ogasawara Y. Characterization of modified proteins in plasma from a subtype of schizophrenia based on carbonyl stress: Protein carbonyl is a possible biomarker of psychiatric disorders. **Biochem Biophys Res Commun.** pii: S0006-291X(15)30668-9. 2015 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.09.152 査読あり
 6. Maekawa M, Yamada K, Toyoshima M, Ohnishi T, Iwayama Y, Shimamoto C, Toyota T, Nozaki Y, Balan S, Matsuzaki H, Iwata Y, Suzuki K, Miyashita M, Kikuchi M, Kato M, Okada Y, Akamatsu W, Mori N, Owada Y, **Itokawa M**, Okano H, Yoshikawa T. Utility of Scalp Hair Follicles as a Novel Source of Biomarker Genes for Psychiatric Illnesses. **Biol Psychiatry.**;78(2):116-2. 2015 DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.07.025 査読あり
 7. Nishizawa D, Kasai S, Hasegawa J, Sato N, Yamada H, Tanioka F, Nagashima M, Ryoji Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Ujike H, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Yamada M, Kondo N, Won M, Naruse N, Uehara-Aoyama K, **Itokawa M**, Ohi K,

- Hashimoto R, Tanisawa K, Arai T, Mori S, Sawabe M, Naka-Mieno M, Yamada Y, Yamada M, Sato N, Muramatsu M, Tanaka M, Irukayama-Tomobe Y, Saito Y, Sakurai T, Hayashida M, Sugimura H and Ikeda K. Associations between the orexin (hypocretin)receptor 2 gene polymorphism Val308Ile and nicotine dependence in genome-wide and subsequent association studies. **Molecular Brain**.2015 DOI: 10.1186/s13041-015-0142-x 査読あり
8. Saiga R, Takekoshi S, Inomoto C, Nakamura N, Tsuboi A, Osawa M, Arai M, Oshima K, **Itokawa M**, Uesugi K, Takeuchi A, Terada Y, Suzuki Y and Mizutani R. Three-Dimensional Neuronal Structure of Human Cerebral Cortex Determined by Synchrotron-Radiation Microtomography. **Microsc. Microanal.** **21**(Suppl 3), 2015. DOI: 10.1017/S1431927615005395 査読あり
 9. Fabian N Bangel, Yamada M, Arai M, Iwayama Y, Balan S, Toyota T, Iwata Y, Suzuki K, Kikuchi M, Hashimoto T, Kanahara N, Mori N, **Itokawa M**, Stock O, Yoshikawa T. Genetic analysis of the glyoxalase system in schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. pii: S0278-5846(15)00015-9. 2015 DOI: 10.1016/j.pnpbp.2015.01.014 査読あり
 10. Miyashita M, Arai M, Kobori A, Ichikawa T, Toriumi K, Niizato K, Oshima, K, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Miyata T, **Itokawa M**. Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress. **Schizophr Bull.**;40(5):1040-6. 2014 DOI: 10.1093/schbul/sbt129 査読あり
 11. 宮下光弘, 新井誠, 市川智恵, 鳥海和也, 小堀晶子, 天野直二, **糸川昌成**. カルボニルストレスという代謝異常と統合失調症 - 体に負担の少ないビタミン B6 による治療法の研究 - . **総合病院精神医学** 25(3):254-261, 2014 https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjghp/25/3/25_254/_pdf 査読あり
 12. Nishizawa D, Fukuda K, Kasai S, Hasegawa J, Aoki Y, Nishi A, Saita N, Koukita Y, Nagashima M, Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Higuchi S, Ujike H, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Kondo N, Won MJ, Naruse N, Uehara-Aoyama K, **Itokawa M**, Koga M, Arinami T, Kaneko Y, Hayashida M, Ikeda K. Genome-wide association study identifies a potent locus associated with human opioid sensitivity. **Mol Psychiatry** 19(1):55-62, 2014 DOI: 10.1038/mp.2012.164 査読あり
 13. Miyashita M, Arai M, Yuzawa H, Niizato K, Oshima K, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Toyota T, Ujike H, Arinami T, Kasai K, Takeda M, Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Miyata T, **Itokawa M**. Replication of enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. **Psychiatry Clin Neurosci** 68(1):83-84, 2014 DOI: 10.1111/pcn.12081 査読あり
 14. Suto Y, Hirai M, Akiyama M, Kobashi G, **Itokawa M**, Akashi M, Sugiura N. Biodosimetry of Restoration Workers for The Tokyo Electric Power Company (TEPCO) Fukushima Daiichi Nuclear Power Station Accident. **Health Phys.** 105(4):366-373, 2013 DOI: 10.1097/HP.0b013e3182995e42 査読あり
 15. Furukawa M, Tochigi M, Otowa T, Arinami T, Inada T, Ujike H, Watanabe Y, Iwata N, **Itokawa M**, Kunugi H, Hashimoto R, Ozaki N, Kakiuchi C, Kasai K, Sasaki T. An

association analysis of the cardiomyopathy-associated 5 (CMYA5) gene with schizophrenia in a Japanese population. **Psychiatr Genet**. 23(4):179-180, 2013 DOI: 10.1097/YPG.0b013e328360c8be 査読あり

16. Aoki Y, Orikabe L, Takayanagi Y, Yahata N, Mozue Y, Sudo Y, Ishii T, **Itokawa M**, Suzuki M, Kurachi M, Okazaki Y, Kasai K, Yamasue H. Volume reductions in frontopolar and left perisylvian cortices in methamphetamine induced psychosis. **Schizophr Res** 147(2-3):355-361, 2013 DOI: 10.1016/j.schres.2013.04.029 査読あり
 17. Shibata H, Yamamoto K, Sun Z, Oka A, Inoko H, Arinami T, Inada T, Ujike H, **Itokawa M**, Tochigi M, Watanabe Y, Someya T, Kunugi H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Genome-wide association study of schizophrenia using microsatellite markers in the Japanese population. **Psychiatr Genet** 23(3):117-123, 2013 DOI: 10.1097/YPG.0b013e32835fe4f1 査読あり
- [学会発表] (計 74 件)
1. K.Toriumi, M.Miyashita, A.Kobori, Y. Horiuchi, I.Nohara, N.Obata, **M.Itokawa**, G.Konopka, M.Arai. Effect of deficiency of vitamin B6 on mouse behavior and monoaminergic system. Neuroscience 2016. the San Diego Convention Center, San Diego USA [2016/11/13] (ポスター発表)
 2. **Itokawa M**, Miyashita M, Toriumi K, Kobori A, Arai M. A novel concept of mental illness: Carbonyl stress induced schizophrenia – a Glyoxalase I deficit pedigree with psychosis. 2014 YONSEI BK21 [2014/06/19] PLUS-IGAKUKEN JOINT SYMPOSIUM, Seoul, Korea

3. **Itokawa M**. [座長]. Poster session II with lunch. Glyoxalase Centennial:100 Years of Glyoxalase Research and Emergence of Dicarbonyl Stress, Coventry, UK [2013/11/28]

[図書] (計 6 件)

1. 石原孝二, 信原幸弘, **糸川昌成** 精神医学の科学と哲学. P136-p151. 東京: 東京大学出版会, 2016
2. **糸川昌成** 科学者が脳と心をつなぐとき～父と母と私が織りなす 50 年の物語～. 135 頁. 千葉: COHMO, 2016
3. **糸川昌成**. 統合失調症が秘密の扉を開けるまで -. 132 頁. 東京: 星和書店, 2014
4. **糸川昌成**(監修). メンタル医療 - 原因解明と診断, 治療の最前線 -. 221 頁. 東京: シーエムシー出版, 2013
5. **糸川昌成**. 臨床家がなぜ研究をするのか - 精神科医が 20 年の研究の足跡を振り返るとき -. 248 頁. 東京: 星和書店, 2013
6. **糸川昌成**(監修). 「統合失調症」からの回復を早める本. 290 頁. 東京: 株式会社法研, 2013

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/schizo-dep/>
<http://www.cbms.k.u-tokyo.ac.jp/lab/rinsho.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

糸川昌成 (ITOKAWA, Masanari)
公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・病院等連携研究センター長
研究者番号: 40332324

(2) 研究分担者

吉川武男 (YOSHIKAWA, Takeo)
国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー
研究者番号: 30249958