

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861003

研究課題名(和文)統合失調症リスク遺伝子miR-137の機能解析

研究課題名(英文)Functional analysis of miR-137, a risk gene for schizophrenia

研究代表者

梅田 知美 (Umeda-Yano, Satomi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・特任研究員

研究者番号：00625329

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：最近の全ゲノム関連解析により、脳に高発現しているmicroRNA-137(miR-137)が統合失調症と関連することが示唆されている。さらに、統合失調症と関連が示唆されているCSMD1、C10orf26、CACNA1C、TCF4はmiR-137の標的遺伝子として報告されている。本研究では、神経細胞の分化におけるmiR-137とその標的遺伝子の役割について解析を行った。その結果、神経細胞の分化に伴い、miR-137の発現量は増大したが、分化との関連については認められなかった。またmiR-137は神経細胞のCSMD1、C10orf26、CACNA1C、TCF4の発現を制御しないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：A recently completed genome-wide association study (GWAS) showed that single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the MIR137 gene, which encodes one of the brain-enriched miRNAs (miR-137), is highly associated with schizophrenia. In addition, the GWAS showed that not only miR-137 but also putative target genes of miR-137 (CSMD1, C10orf26, CACNA1C and TCF4) have significant associations with schizophrenia. Further, genes which have been reported to be associated with schizophrenia are enriched in predicted miR-137 target genes. In this study, we investigated the role of miR-137 and its target genes during neuronal differentiation. Our results showed that miR-137 expression increased during neuronal differentiation, but miR-137 does not seem to be involved in it. Further, miR-137 does not regulate the expression of CSMD1, C10orf26, CACNA1C and TCF4 in neuroblastoma cells and primary neurons.

研究分野：医歯薬学

キーワード：miR-137 統合失調症 神経細胞 分化 突起進展

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、主に思春期から青年期に発症する脳の病気であり、人口の約 1%が罹患する頻度の高い精神障害である。さらに、特有の症状によって規定される多因子性の症候群であり、家族集積性が高く、遺伝要因と環境要因の両方によって発症すると考えられているが、その発症機序はいまだ不明のままである。統合失調症の病態に基づいた新たな治療薬の開発が望まれており、統合失調症患者における病態を出発点に、細胞・動物レベルにおける解析を行い、そこから新たな創薬を行うためには、分子ターゲットを見出すことが必須である。最近、GWASにより miR-137 (microRNA-137) が統合失調症と強く関連することが報告された (Ripke *et al.*, Nat Genet, 2011)。近年、miRNA 発現と疾患との関係が注目されており、脳疾患と関連する報告も増えている。さらに miR-137 は神経発生の調節因子であると考えられており、神経細胞に多く発現し、様々な標的遺伝子の 3' UTR に作用してそれらの発現を抑制することが考えられる。統合失調症関連遺伝子 CSMD1 (CUB and Sushi multiple domains 1)、C10orf26、CACNA1C (calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit)、TCF4 (transcription factor 4) が miR-137 の標的遺伝子であることが報告されている (Kwon *et al.*, Mol Psychiatry, 2011) ことから、miR-137 やその標的遺伝子である CSMD1、C10orf26、CACNA1C、TCF4 の発現解析、および神経系における機能の解析を行うことは非常に意義深いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、統合失調症の全ゲノム関連解析によって見出された microRNA として miR-137 の細胞および動物レベルでの発現変動およびその機能について網羅的に検討する。さらに、統合失調症と関連が示唆されている CSMD1、C10orf26、CACNA1C、TCF4 が miR-137 の標的遺伝子として報告されていることから、統合失調症におけるこれら遺伝子の作用機序の解明を目的とする。

3. 研究の方法

ヒト神経系細胞株やマウス初代神経細胞において、miR-137 の神経細胞の分化、主に突起進展に及ぼす影響を検討する実験系の確立を行った。さらに、miR-137 が実際

に神経細胞において、その標的遺伝子とされる CSMD1、C10orf26、CACNA1C、TCF4 の発現を抑制するかどうか、これら遺伝子の発現抑制が、神経細胞の突起進展に關与しているかの検討についても行った。

また、microRNA は疾病マーカーとしての可能性を示唆する論文が多数報告されていることから、ヒト血漿中の miR-137 の測定を試みた。

4. 研究成果

複数のヒト培養細胞株を用いて miR-137 の発現レベルを調べたところ、ヒト神経芽細胞株 SH-SY5Y に高発現していることが確認された。SH-SY5Y 細胞はビタミン A 誘導体であるレチノイン酸によるプライミング後、BDNF で刺激すると突起進展を観察することができるので、この実験系を用いて miR-137 の発現変動を調べたところ、突起進展が進むに伴い miR-137 の発現量は増大することが明らかとなった。さらに、miR-137 の標的遺伝子でかつ発現が認められた C10orf26、CACNA1C、TCF4 の発現変動についても同時に調べたところ、miR-137 発現が増大する前に C10orf26、CACNA1C、TCF4 発現が低下していた。本実験系では C10orf26、CACNA1C、TCF4 は miR-137 の標的遺伝子ではないことが示唆された。さらに、miR-137 発現をノックダウンして突起進展との関連を調べたが、その影響は認められなかった。以上の結果から SH-SY5Y 細胞の RA/BDNF で誘導される突起進展に miR-137 は關与しないことが示唆された。

C57BL/6J マウス胎児大脳皮質由来神経細胞を 14 日間培養し、miR-137 の発現変動を定量 PCR により調べたところ、培養日数が増えるとともに miR-137 発現も増大し、分化の指標となる突起進展も起きることが認められた。さらに、miR-137 の標的遺伝子とされる Csm1、Cacna1c、Tcf4、D19Wsu162e (ヒトでは C10orf26) の発現変動についても検討した結果、Csm1 および Cacna1c は培養日数が増えると発現量が増大し、Tcf4 および D19Wsu162e については発現量に変化は認められなかった。これらの結果より、マウス初代神経細胞において miR-137 と突起進展との関連については不明なままであるが、miR-137 と標的遺伝子の関連は認められないことが示唆された。

複数のヒト血漿サンプルの miR-137 の測定を試みた結果、内部標準として用いられる miR-16 は感度良く測定できたが

miR-137 は測定できなかった。以上のことから、miR-137 は統合失調症の疾病マーカーとして活用することは難しいことが示唆された。

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 7件)

- (1) Umeda-Yano S, Hashimoto R, Yamamori H, Weickert CS, Yasuda Y, Ohi K, Fujimoto M, Ito A, Takeda M. Expression analysis of the genes identified in GWAS of the postmortem brain tissues from patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*, 568, 12-6, 2014 査読あり
- (2) Umeda-Yano S, Hashimoto R, Yamamori H, Okada T, Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Ito A, Takeda M. The regulation of gene expression involved in TGF- β signaling by ZNF804A, a risk gene for schizophrenia. *Schizophr Res*, 146, 273-8, 2013 査読あり
- (3) Miura K, Hashimoto R, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Iwase M, Takeda M. An integrated eye movement score as a neurophysiological marker of schizophrenia. *Schizophr Res*, 160, 228-9, 2014 査読あり
- (4) Yamamori H, Hashimoto R, Fujita Y, Numata S, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Umeda-Yano S, Ito A, Ohmori T, Hashimoto K, Takeda M. Changes in plasma D-serine, L-serine, and glycine levels in treatment-resistant schizophrenia before and after clozapine treatment. *Neurosci Lett*, 582, 93-8, 2014 査読あり
- (5) Yasuda Y, Hashimoto R, Ohi K, Yamamori H, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fujino H, Takeda M. Cognitive inflexibility in Japanese adolescents and adults with autism spectrum disorders. *World J Psychiatr*, 22, 42-8, 2014 査読あり
- (6) Ohi K, Hashimoto R, Ikeda M, Yamashita F, Fukunaga M, Nemoto K, Ohnishi T, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Watanabe Y, Iwata N, Weinberger DR, Takeda M. Genetic risk variants of schizophrenia associated with left superior temporal gyrus volume. *Cortex*, 58C, 23-6, 2014 査読あり

- (7) Yasuda Y, Hashimoto R, Ohi K, Yamamori H, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fujino H, Horiguchi M, Takeda M, Ichinose H. A functional polymorphism of the GTP cyclohydrolase I gene predicts attention performance. *Neurosci Lett*, 566, 46-9, 2014 査読あり

〔学会発表〕(計 4件)

- (1) 梅田 知美、橋本 亮太、山森 英長、安田 由華、大井 一高、藤本 美智子、伊藤 彰、武田 雅俊、神経細胞の分化における統合失調症リスク因子 miR-137 の役割、Neuro2013、京都、6.20-23(21)、2013、ポスター
- (2) 橋本亮太、山森英長、大井一高、安田由華、梅田知美、伊藤彰、武田雅俊、統合失調症関連遺伝子 Neurogranin 遺伝子 (NRGN) の機能解析、第 10 回 NDDC-JSG 会議、大阪、1.21、2014、口頭
- (3) 三浦健一郎、橋本亮太、藤本美智子、山森英長、安田由華、大井一高、梅田知美、武田雅俊、眼球運動特徴を用いた統合失調症と健常群の鑑別、第 9 回日本統合失調症学会、京都、3.14-15(14)、2014、ポスター
- (4) 大井一高、橋本亮太、山森英長、安田由華、藤本美智子、梅田知美、福永雅喜、岩瀬真生、数井裕光、武田雅俊、統合失調症における全ゲノム関連メカニズムによる遺伝子多型の脳構造への影響：包括的 VBM 解析、第 23 回日本臨床精神神経薬理学会・第 43 回日本神経精神薬理学会合同年会、沖縄、10.24-26(25)、2013、ポスター

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

分子精神医学研究グループ

<http://www.sp-web.sakura.ne.jp/lab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅田 知美 (UMEDA-YANO Satomi)

大阪大学大学院・医学系研究科・特任研究員
研究者番号：00625329

(2)研究協力者

橋本 亮太 (HASHIMOTO Ryota)
大阪大学大学院・連合小児発達学
研究科・准教授
研究者番号：10370983