

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19739

研究課題名(和文) ジェネティックニューロパソロジーによる統合失調症脳内分子表現型解析

研究課題名(英文) The analysis of molecular expressions of postmortem brains with schizophrenia: genetic neuropathology

研究代表者

國井 泰人(Kunii, Yasuto)

福島県立医科大学・公私立大学の部局等・准教授

研究者番号：00511651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ジェネティックニューロパソロジーを様々に展開した。20例の統合失調症前頭前皮質及び側坐核を用いて、Aktシグナル伝達系分子群のタンパク発現量を測定し遺伝子多型との関連を解析した。

上記に双極性障害死後脳6例を加え、同領域におけるDARPP-32及びCaNのタンパク質定量を行い、ドパミン関連分子の遺伝子多型55 SNPsとの関連を解析した。DRD2における-141C ins/del 多型と統合失調症死後脳線条体におけるDARPP-32発現の関連研究を行った。統合失調症を含む60例の死後脳上側頭回を用いて、微小循環・慢性炎症関連分子群のタンパク発現量を測定し遺伝子多型との関連を解析した。

研究成果の概要(英文)：We performed genetic neuropathology as follows:1) the examination of protein expressions for members of the Akt signaling pathway using multiplex fluorescent bead based immunoassays in the prefrontal cortex and the nucleus accumbens of postmortem brains from 20 cases with schizophrenia, and association of these expressions with genetic variants; 2) adding 6 bipolar cases, same examination of DARPP-32 and calcineurin; 3) association study between the -141C insertion/deletion polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and DARPP-32 expression in the striatum of schizophrenia; 4) the examination of the expressions of molecules involved in immunity and chronic inflammation using the Luminex assay in the superior temporal gyrus of post mortem brains from 60 cases including schizophrenia, and association of these expressions with genetic variants.

研究分野：生物学的精神医学

キーワード：統合失調症 死後脳研究 プロテオーム 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

統合失調症やその他の精神疾患は多くの関連ゲノム領域が同定されているにもかかわらず、その分子メカニズムはほとんど分かっていない。転写レベルでの変化やエピジェネティック修飾などの病態生理に関連する分子表現型は、ヒト特異的、脳・脳領域特異的、発達・加齢特異的であるので、この分子メカニズムを明らかにするにはヒト死後脳を直接検討することが不可欠である。研究代表者らは日本初の系統的統合失調症死後脳バンクを運営し、集積されたサンプルを用いて統合失調症の病因の解明を目的として検討を行ってきた。一方、統合失調症原因遺伝子の探索について近年は遺伝子そのものと発症の関連を解析する研究から、疾患感受性遺伝子と脳画像研究や脳機能研究などで得られる中間表現型(エンドフェノタイプ)との関連を検討する研究が主流となっており、脳で発現する転写産物をエンドフェノタイプとする研究アプローチ「ジェネティックニューロパソロジー」が提唱されている。従来の研究では遺伝学的解析による疾患原因遺伝子の同定と、その転写・翻訳産物の脳における動態や機能の解析とが充分にはリンクしていなかったが、「ジェネティックニューロパソロジー」はこの点を打開し精神疾患の病態に直接迫る「ブレイクスルー」となるものである。

2. 研究の目的

統合失調症病態におけるドーパミン系・グルタミン酸・GABA系の異常を、動物実験や画像研究などの間接的アプローチではなく、死後脳組織を用いて病態の現場を直接的に検討することである。本研究では、統合失調症発症のメカニズムの解明を目的として患者死後脳内分子のジェネティックニューロパソロジー解析を行う。すなわち、これまで代表者らが統合失調症死後脳組織を用いて分析を進めてきたドーパミン系・グルタミン酸・GABA

系の分子について、遺伝子発現及びエピジェネティックパターンをエンドフェノタイプとして、各々の遺伝子多型と関連を解析するというアプローチを通して精神疾患病態の鍵となる分子や治療標的分子を同定する。

3. 研究の方法

当講座の精神疾患死後脳バンクにおいて凍結保存された死後脳及び新潟大学脳研究所保管の年齢、性別、死後時間等をマッチさせた非精神神経疾患対照例を測定対象として、ドーパミン関連分子、グルタミン酸関連分子、GABA関連分子などのタンパク質発現量の差異について脳内の複数の部位について解析を行った。更に各々の分子について遺伝子多型解析を行い、上記脳内分子表現型との関連を解析した。統合失調症群に関しては、当バンク特有の詳細な臨床情報(罹病期間、抗精神病薬服用量、生活歴・既往歴・手術歴・鎮痛薬を含む全服薬歴等)を駆使して関連を検討した。

4. 研究成果

ジェネティックニューロパソロジー(死後脳における分子表現型を中間表現型として遺伝子多型との関連を検討する研究手法)を様々な展開した。統合失調症及び健常対照死後脳各20例の凍結サンプルの前頭前皮質及び側坐核を用いて、Aktシグナル伝達系分子群のタンパク質発現量を多項目同時測定し、それぞれの遺伝子多型との関連を解析した(図1)(J Psychiatr Res.2016)。上記に双極性障害死後脳6例を加え、同領域のサンプルについてELISA法を用いてDARPP-32及びCaNのタンパク質定量を行い、これらの脳内タンパク質発現表現型と全ゲノム遺伝子多型解析により得られたドーパミン関連分子の遺伝子多型55 SNPs [ANKK1 (9), DRD2 (8), PPP1R1B 8 (1), PPP3CA (26), PPP3CB (1), PPP3CC (8), PPP3R1 (2)]との関連を解析した(in preparation)。DRD2における-141C

ins/del 多型と統合失調症死後脳線条体における DARPP-32 発現の関連研究を行った(図2)(Psychiatry Res.2018)。統合失調症24例を含む60例の死後脳上側頭回を用いて、微小循環・慢性炎症関連分子群のタンパク発現量を多項目同時測定し、各々の遺伝子多型との関連を解析した(in preparation)。また、上記統合失調症死後脳のデータについては、臨床情報(年齢、性別、病型、罹病期間、抗精神病薬服薬量、抗コリン薬服薬量、死後時間など)との関連も検討している(図3)。

図1

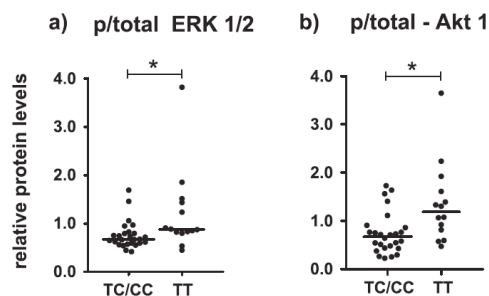


図2

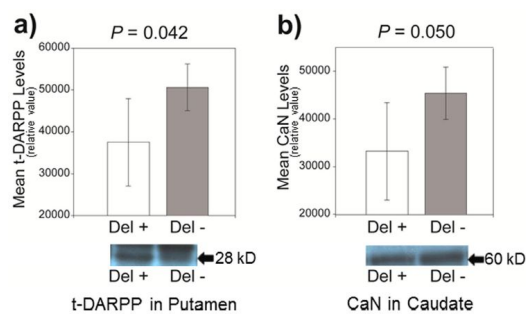
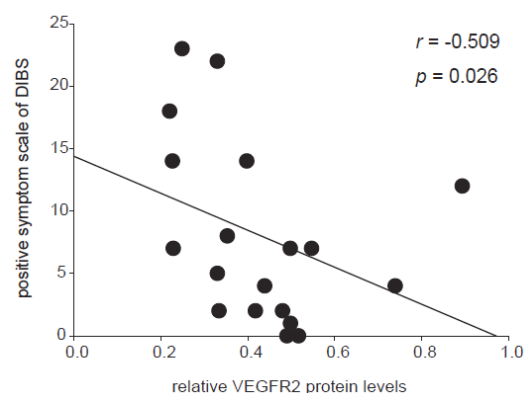


図3



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 2 件)

1. Hino M, Kunii Y, Matsumoto J, Wada A, Nagaoka A, Niwa S, Takahashi H, Kakita A, Akatsu H, Hashizume Y, Yamamoto S, Yabe H. Decreased VEGFR2 expression and increased phosphorylated Akt1 in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. J Psychiatr Res. 2016;82:100-8.
2. Matsumoto J, Nagaoka A, Kunii Y, Miura I, Hino M, Niwa SI, Nawa H, Takahashi H, Kakita A, Yabe H. Effects of the -141C insertion/deletion polymorphism in the dopamine D2 receptor gene on the dopamine system in the striatum in patients with schizophrenia. Psychiatry Res. 2018; 264:116-118.

[学会発表](計 9 件)

1. 國井泰人：若手研究者育成プログラム・プロGRESSレポート，精神疾患死後脳を用いたジェネティックニューロパソロジーの展開．第37回日本生物学的精神医学会，東京，2015/9/25
2. 日野瑞城 國井泰人 松本純弥 和田明 長岡敦子 丹羽真一 那波宏之 高橋均 柿田明美 赤津裕康 橋詰良夫 山本孝之 矢部博興：統合失調症患者死後脳前頭前皮質におけるAktシグナル伝達系蛋白質群の多項目同時測定．第11回日本統合失調症学会，群馬，2016/3/26
3. 長岡敦子 國井泰人 松本純弥 日野瑞城 宮川哲平 飯田聡 山崎繁 矢部博興：幻聴体験の分子メカニズムを考える - 抗EGFR抗体、抗VEGF抗体の投与後に一過性の対話性幻聴を呈した一例．第38回日本生物学的精神医学会，福岡，2016/9/9
4. 國井泰人：若手研究者育成プログラム・プロGRESSレポート，精神疾患死後脳を用いたジェネティックニューロパソロジーの展開．第38回日本生物学的精神医学会，福岡，2016/9/9

5. Yasuto Kunii, Mizuki Hino, Junya Matsumoto, Akira Wada, Atsuko Nagaoka, Shin-ichi Niwa, Yuichi Yokoyama, Hiroyuki Nawa, Hitoshi Takahashi, Akiyoshi Kakita, Hiroyasu Akatsu, Yoshio Hashizume, Sakon Yamamoto, Hirooki Yabe; Alternations of DARPP-32 and Calcineurin protein expressions in the prefrontal cortex and nucleus accumbens of schizophrenia and bipolar disorder and genetic associations with their expressions. 46th Society for Neuroscience Annual Meeting, San Diego, CA, USA, 2016/11/15
6. 國井泰人: シンポジウム 30 精神科臨床と脳病理-精神科ブレインバンクへの期待-生前登録制度に基づく精神疾患ブレインバンクの実践~当事者と研究者が協働する研究体制とは~. 第 113 回日本精神神経学会総会学術総会, 名古屋, 2017/6/23
7. 國井泰人: 若手研究者育成プログラム・プログレスレポート, 精神疾患死後脳研究: ジェネティックニューロパソロジー及びリソース利用の有用性. 第 39 回日本生物学的精神医学会, 福岡, 2017/9/29
8. 和田明 國井泰人 日野瑞城 松本純弥 長岡敦子 丹羽真一 竹島明 高橋均 那波宏之 柿田明美 笠井清登 矢部博興; 統合失調症脳における慢性炎症関連分子のジェネティックニューロパソロジー. 第 13 回日本統合失調症学会, 徳島, 2018/3/23
9. 國井泰人 日野瑞城 松本純弥 長岡敦子 丹羽真一 矢部博興; 若手中堅シンポジウム 1 ここまで分かった統合失調症~分子生物学的研究~精神疾患死後脳研究の最前線, 第 13 回日本統合失調症学会, 徳島, 2018/3/24

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:

番号:
 出願年月日:
 国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 取得年月日:
 国内外の別:

〔その他〕
 ホームページ等
<http://www.fmu-bb.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

國井泰人 (KUNII, Yasuto)
 福島県立医科大学・会津医療センター・准教授
 研究者番号: 00511651

(2) 研究協力者

矢部博興 (Yabe, Hirooki)
 福島県立医科大学・医学部・教授

松本純弥 (Matsumoto, Junya)
 福島県立医科大学・医学部・助教

日野瑞城 (Hino, Mizuki)
 福島県立医科大学・医学部・博士研究員

和田明 (Wada, Akira)
 福島県立医科大学・医学部・博士研究員

丹羽真一 (Niwa, Shin-ichi)
 福島県立医科大学・会津医療センター・特任教授