

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19754

研究課題名(和文) 神経毒性スフィンゴ脂質による精神疾患発症のメカニズム解明

研究課題名(英文) Biochemical dissection of sphingolipids in the pathophysiology of psychiatric illnesses

研究代表者

江崎 加代子 (ESAKI, Kayoko)

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・基礎科学特別研究員

研究者番号：20744874

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では統合失調症、自閉症および双極性障害の3群および交絡因子をマッチさせた対照群の死後脳を用いて精神疾患とスフィンゴ脂質代謝の関連を検討した。その結果、白質(脳梁)において統合失調症特異的な一部スフィンゴ脂質の含量変化を発見した。さらに、統合失調症患者死後脳(白質)におけるスフィンゴ脂質代謝酵素およびスフィンゴ脂質受容体の遺伝子発現変化も明らかにした。これらの知見はスフィンゴ脂質の受容体を介したシグナル経路の異常が統合失調症の病態の分子基盤に關与する可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：The disease mechanisms underlying psychiatric disorders remain largely undetermined. Schizophrenia is a mental illness featuring three major symptomatic domains: positive symptoms, negative symptoms and cognitive deficits. It presents with a prevalence of approximately 1% worldwide, making it a relatively common disease. Increasing clinical evidence indicates that sphingolipids are implicated in the pathogenesis of schizophrenia. To figure out the involvement of sphingolipids in schizophrenia, I analyzed sphingolipids of postmortem brains from schizophrenia patients. Our mass spectrometry-based lipidomic approach demonstrated a change of sphingolipids in the corpus callosum of schizophrenia patients. Furthermore, the gene expression level of sphingolipid-metabolic enzymes and sphingolipid receptors altered in schizophrenia. From these findings, it is thought that dysregulation of sphingolipid receptor functions causes in the brain of schizophrenia patients.

研究分野：脂質生化学

キーワード：精神疾患 スフィンゴ脂質 脂質生化学

### 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、一般人口の約1%という高頻度で発症するにも関わらず、十分な予防・治療法が確立されていない深刻な精神疾患である。統合失調症は、複数の遺伝的要因や環境要因により発症すると考えられており、その多因子性、病態の異質性、個々のリスク因子の効果の弱さなど、複雑性がきわまっている。先行研究より、統合失調症患者の一群において血中セリン含量の減少、および皮膚スフィンゴ脂質含量の低下が明らかになり、スフィンゴ脂質が疾患病理に関連する因子として報告されている。しかしながら病態とスフィンゴ脂質代謝異常の関連や、そのメカニズムに関する詳細な研究は行われていない。

スフィンゴ脂質は、細胞膜でホスファチジルコリンなどのグリセロリン脂質に次いで多い脂質で、中枢神経系には特に豊富に含まれ、細胞増殖やアポトーシスなど様々な細胞機能の制御に関与することが明らかになっている。スフィンゴ脂質は、セリンパルミトイル転移酵素によってL-セリンとパルミトイル CoA を前駆体として合成が開始された後、塩基型のスフィンガニンや脂肪酸付加型のセラミドなど様々なスフィンゴ脂質が合成される。また、2009年にはアラニンから合成される神経毒性を持つスフィンゴ脂質群 doxSL (1-deoxy-sphingolipids) の存在が報告された。従来 doxSL はスフィンゴ脂質合成酵素の変異によってのみ合成されると考えられていたが、研究代表者は、アラニン/セリン比の上昇によるアミノ酸不均衡によって正常酵素により doxSL が合成されることを見いだした (Esaki K. et al, JBC, 2015)。このことから、doxSL 合成はアラニン/セリン不均衡を示す代謝疾患等の病態に関与する可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

本研究では病態メカニズムが未だ明らかになっていない精神疾患について、神経毒性スフィンゴ脂質 doxSL の合成を含めたスフィンゴ脂質代謝異常による神経発達障害仮説を検討した。また、スフィンゴ脂質代謝制御をターゲットとした病態予防や症状緩和を目指した臨床応用展開への研究基盤の確立を目標とした。

### 3. 研究の方法

本研究計画に含まれるヒト由来試料・情報を用いた研究、動物実験に関しては、理研内および外部共同研究機関の倫理委員会にて研究プロトコルの承認を受けたものである。

#### (1) 死後脳

統合失調症、自閉症、双極性障害およびそれらの対照群の死後脳について、細胞膜に富む白質部位である脳梁、および灰白質部位である Brodmann area 8 (BA8) を研究に用いた。これら死後脳試料および患者の情報は

Victorian Brain Bank Network (VBBN) at the Florey Institute for Neuroscience and Mental Health (Australia) から提供を受けた。ヒト由来試料、情報の扱いに関しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (文部科学省、厚生労働省、経済産業省)」、「ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針 (文部科学省、厚生労働省)」、並びに理化学研究所所内規定である「人を対象とする研究に関する倫理規定」、「人を対象とする研究に関する倫理規定細則」を遵守して実施した。本研究で扱うヒト由来試料・情報は、提供者から適切なインフォームド・コンセントを得た上で採取、取得したものであり、個人情報等の保護に配慮した取扱いを行い、試料、情報の漏洩が無いよう専用の保管庫等を利用し管理を厳重に行った。

#### (2) マウス

日本チャールスリバーより野生型の C57/BL6 マウスを購入し、実験に用いた。11~13 週齢の野生型マウスに 4 週間向精神病薬クロザピン (5 mg/kg 体重) を腹腔内投与して屠殺した後、脳を取り出して脳梁と前頭前皮質を採取した。

#### (3) 生化学分析

試料から RNA を抽出して cDNA を合成した後、スフィンゴ脂質代謝関連酵素およびスフィンゴ脂質受容体について遺伝子発現解析を行った。また、Shaner らの方法を基に試料からスフィンゴ脂質を抽出した後、液体クロマトグラフ質量分析装置を用い、研究代表者が確立した微量脂質 doxSL を含む高感度スフィンゴ脂質測定系によってスフィンゴ脂質の含量を分析した。

### 4. 研究成果

(1) ヒト由来試料の測定に適する、質量分析法による高感度・短時間スフィンゴ脂質測定系の確立

微量脂質 doxSL を含むスフィンゴ脂質を測定する系として、研究代表者はこれまでに質量分析法を用いた高感度測定系を確立した。この測定系をヒト由来試料などの様々な試料に応用し、また、試料の前処理法等についても臓器 (特に脳) や血液などに最適な系を確立した。

(2) 精神疾患患者由来試料 (死後脳) におけるスフィンゴ脂質の分析

統合失調症、自閉症および双極性障害の 3 群および交絡因子をマッチさせた対照群の死後脳 (各群 15 例) についてスフィンゴ脂質の分析を行った。その結果、統合失調症患者の脳梁において対照群と比べて有意に一部のスフィンゴ脂質の含量が低下していることが明らかになった。精神疾患患者のほとんどは投薬治療を受けているため、次に向精神病薬クロザピンを野生型マウスに 4 週間投与して向精神病薬が脳内スフィンゴ脂質含量に与える影響を解析した。すると、向精神病薬投与野生型マウスの脳梁および前頭前

皮質において、統合失調症患者で変化がみられたスフィンゴ脂質の含量に変化は見られなかった。このことから、患者群の死後脳スフィンゴ脂質含量の変化は投薬の影響である可能性は極めて低いことが示唆された。

### (3) スフィンゴ脂質代謝関連遺伝子の解析

次に、死後脳サンプルサイズを各群約 95 例まで拡大し、統合失調症患者群と対照群の死後脳の脳梁部位を用いてスフィンゴ脂質代謝関連酵素の遺伝子発現変化を解析した。その結果、統合失調症患者群におけるスフィンゴ脂質代謝関連酵素の遺伝子発現変化が明らかになった。さらに、RNA-seq によってスフィンゴ脂質受容体の各サブタイプの脳梁における発現レベルを明らかにした後、リアルタイム PCR 法で統合失調症群と対照群の脳梁における遺伝子発現を解析した。すると、脳梁で高発現している一部のスフィンゴ脂質受容体について、統合失調症患者群で有意に遺伝子発現が上昇していることを見出した。

脳においてスフィンゴ脂質は神経細胞軸索のミエリン形成だけでなく、神経細胞の突起伸長やオリゴデンドロサイトの生存の制御に関与している。これらの知見はスフィンゴ脂質の受容体を介したシグナル経路の異常が統合失調症の病態の分子基盤に関与する可能性を示唆した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

[1] Sayano T, Kawano Y, Kusada W, Arimoto Y, Esaki K, Hamano M, 他 6 名 “Adaptive response to L-serine deficiency is mediated by p38 MAPK activation via 1-deoxysphinganine in normal fibroblasts” *FEBS Open Bio*, **6**: 303-316, 2016 (査読あり)

[2] 江崎加代子, 佐矢野智子, 赤木巧, 吉川武男, 平林義雄, 古屋茂樹 “L-セリン欠乏は異常スフィンゴ脂質を含む脂肪体の形成を誘導する” *アミノ酸研究*, **9**: 87-89, 2015 (査読なし)

[3] Esaki K, Sayano T, Akagi T, Ogawa T, Yoshikawa T, Hirabayashi Y, and Furuya S, 他 3 名 “L-Serine deficiency elicits intracellular accumulation of cytotoxic deoxy-sphingolipids and lipid body formation.” *J. Biol. Chem.*, **290**: 14595-14609, 2015 (査読あり)

〔学会発表〕(計 8 件)

[1] 江崎加代子, 島本知英, 岩山佳美, 平林義雄, Brian Dean, 吉川武男 “患者死後脳を用いた脂質代謝変化を伴う統合失調症病態メカニズムの分子基盤の解明” 第 13 回日本統合失調症学会, あわぎんホール (徳島県・徳島市), 3/23-24, 2018 (ポスター)

[2] 江崎加代子, Shabeesh Balan, 古屋茂樹, 平林義雄, 吉川武男 “アラニン由来神経毒性スフィンゴ脂質と精神疾患発症メカニズムとの関連の解明” 日本アミノ酸学会 10 周年

記念大会, 東京大学伊藤国際学術研究センター (東京都・文京区), 9/11-13, 2016 (ポスター)

[3] 江崎加代子, Shabeesh Balan, 古屋茂樹, 平林義雄, 吉川武男 “アミノ酸アラニン/セリン比の上昇で合成誘導される神経毒性スフィンゴ脂質 doxSL と精神疾患メカニズムとの関連の解明” 第 38 回日本生物学的精神医学会, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市), 9/8-10, 2016 (ポスター)

[4] Kayoko Esaki, Tomoko Sayano, Shigeki Furuya, Yoshio Hirabayashi, and Takeo Yoshikawa “Deoxysphingolipids (1): L-Serine depletion promotes the production of cytotoxic 1-deoxy-sphingolipids and lipid body formation” Gordon Research Conferences Glycolipid & Sphingolipid, Italy, March 6 – 11, 2016 (ポスター)

[5] 江崎加代子, 佐矢野智子, 赤木巧, 鈴木健史, 岡本正宏, 吉川武男, 平林義雄, 古屋茂樹 “セリン合成不全が導く細胞毒性スフィンゴ脂質 doxSL の産生と脂肪体の形成” BMB2015, 兵庫, 12/1-4, 2015 (ポスター)

[6] 江崎加代子, 佐矢野智子, 赤木巧, 吉川武男, 平林義雄, 古屋茂樹 “L-セリン欠乏は異常スフィンゴ脂質を含む脂肪体の形成を誘導する” 第 9 回日本アミノ酸学会学術集会, 滋賀, 10/23-24, 2015 (口頭)

[7] 江崎加代子 “アラニン/セリン比の上昇による異常スフィンゴ脂質の蓄積” ERATO 平成 27 年夏のセミナー, 滋賀, 8/26-27, 2015 (口頭, 招待講演)

[8] Kayoko Esaki, Tomoko Sayano, Takumi Akagi, Takeo Yoshikawa, Yoshio Hirabayashi, and Shigeki Furuya “Disruption of sphingolipid homeostasis by L-serine deficiency” 12th Asian Congress of Nutrition, Yokohama, May 14-18, 2015 (ポスター)

〔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〕

[1] 日刊工業新聞 “九大・理研、アミノ酸が  
生体内の毒性物質の合成阻止する機構解明”  
2015年5月1日掲載

[2] 九州大学プレスリリース “細胞障害性脂  
質の合成・蓄積を防ぐアミノ酸セリンの新た  
な代謝生理機能を解明”  
[https://www.kyushu-u.ac.jp/f/6081/2015\\_04\\_28.p  
df](https://www.kyushu-u.ac.jp/f/6081/2015_04_28.pdf)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

江崎 加代子 (ESAKI Kayoko)

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・基礎科学特別研究員  
研究者番号：20744874

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし

### (4)研究協力者

なし