

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10267

研究課題名(和文) 早期発症統合失調症における感受性遺伝子の多型依存的発現による分子基盤変化の解明

研究課題名(英文) Changes in molecular structure due to polymorphism-dependent gene expression in early-onset schizophrenia

研究代表者

上里 彰仁 (Uezato, Akihito)

国際医療福祉大学・医療福祉学部・教授

研究者番号：90547449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では統合失調症のグルタミン酸仮説に基づいた感受性遺伝子の疾患との関りを遺伝子関連解析、死後脳解析等の手法により解析した。

NMDA型グルタミン酸受容体足場タンパクをコードするDLG1遺伝子の新規機能バリエーションについては、約4000人の患者・対象者コホートをを用いた遺伝子関連解析により遺伝的関連を示し、更にこれが発症年齢特異的であることが明らかになった。

NMDA型グルタミン酸受容体のコ・アゴニストであるD-セリンの輸送に関わるSLC35B2については、統合失調症および双極性障害との遺伝的関連が示され、更に双極性障害の死後脳においてリチウム治療依存性の発現低下が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症や双極性障害は患者のQOLに大きな影響を与える精神疾患であるが、その病態は十分に解明されていない。また現在までに様々な薬剤が開発されているが、十分に良好な予後を保証しているとは言い難い。本研究はこれらの精神疾患の更なる病態解明や、新規治療薬の開発の道を開く可能性がある。すなわち既存の抗精神病薬はドパミン仮説に基づいたドパミン受容体遮断作用を基礎とするが、グルタミン酸仮説に基づく本研究成果は、グルタミン酸受容体遮断薬の開発に道筋をつけることができる。また双極性障害の治療薬であるリチウムはその作用機序が未解明であるが、本研究で得られた成果は疾患の病態・治療の両方の機序解明に示唆を与える。

研究成果の概要(英文)： In this study based on the glutamate hypothesis, we investigated involvement of schizophrenia sensitive genes in the disease by genetic association studies and postmortem studies.

The genetic association study using about 4,000 case-control cohort revealed that the novel variant of DLG1 gene, which codes the scaffolding protein of NMDA-type glutamate receptor, was genetically associated with schizophrenia. Furthermore, the association was dependent on the age of onset.

SLC35B2, which is involved in the transport of D-serine, a co-agonist of NMDA receptor, was genetically associated with both schizophrenia and bipolar disorder. Furthermore, SLC35B2 mRNA was reduced in the postmortem brains of patients with bipolar disorder in a lithium treatment-dependent manner.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症 双極性障害 遺伝に関連解析 死後脳 グルタミン酸 リチウム

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、統合失調症や NMDA 型グルタミン酸受容体（NMDA 受容体）遮断薬誘発性精神病の発症様式が発達依存的、すなわちこれらが発達臨界期以降に発症するものであることに着目し、モデル動物を用いて疾患発症に関わる遺伝子を同定して、精神疾患におけるその意義を示してきた。この方法で同定した NMDA 受容体の足場タンパクである DLG1 (discs, large homolog 1) 遺伝子は、二つの別々の遺伝子関連解析により、統合失調症と遺伝的関連を持つことを我々は示した<sup>1,2</sup>。これらの研究結果に加え、DLG1 は de novo mutation 解析によりヒットする遺伝子の一つであること<sup>3</sup>、更に DLG1 遺伝子がコードされる 3q29 の deletion は統合失調症リスクを 40 倍に増加させることが最近報告され<sup>4</sup>、疾患発症の発達依存性を利用した我々の探索的方法が、リスク遺伝子の同定や分子遺伝学的な病態解明に有用であることが証明された。

また我々はその後、DLG1 遺伝子の新規機能バリエーション DLG1-3b(+) を発見し、これが霊長類特異的なものであることを確認した。統合失調症死後脳を用いた発現解析により、DLG1-3b(+) mRNA が早期発症患者（発症年齢 18 歳未満）の前頭前皮質において有意に減少していることを明らかにした。更に興味深いことに、DLG1-3b(+) の発現は、エクソンに存在する SNP の遺伝子型が exonic splicing enhancer (ESE) の配列を満たすか否かに大きく左右されることがわかり、遺伝子型の違いが発現に影響する機序を示した<sup>5</sup>。このように、我々が着目するグルタミン酸神経伝達系に関わる遺伝子は、統合失調症の病態に関連することが示唆されている。

## 2. 研究の目的

本研究は、統合失調症の早期発症の危険因子として、グルタミン酸神経伝達系における多様な後シナプス分子基盤の均衡的統括の障害を仮定し、早期発症統合失調症死後脳の生化学的解析、ゲノム解析、細胞生物学的モデル解析の 3 方面の研究方法を用いることにより、その分子病態を詳細に検討することを目的としている。また本研究では、グルタミン酸神経伝達系に関わる他の遺伝子にも着目し、統合失調症と同様にグルタミン酸神経伝達系の異常が示唆されている双極性障害も研究対象とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 早期発症統合失調症の遺伝子関連解析

統合失調症 - 対照約 4000 例のゲノムサンプルを用い、DLG1-3b(+) mRNA 発現に影響する SNP について遺伝子関連解析を行う。関連解析には、我々の小規模サンプルを用いた上記先行研究で利用した一塩基多型 (SNP) に加え、DLG1-3b(+) mRNA 発現に影響する遺伝子型を決定することがわかった SNP を用いる。タイピングには TaqMan SNP Genotyping Assay method を用い、アリル特異的蛍光は我々の研究室の ABI 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems) により計測する。

### (2) D-serine の放出に関わる遺伝子 SLC35B2 の遺伝子関連解析および死後脳解析

SLC35B2 は、NMDA 型グルタミン酸受容体コ・アゴニストである D-serine の放出に関わる分子

として我々の研究室が同定したものであるが<sup>6</sup>、本分子の機能変化はグルタミン酸神経伝達の異常をもたらし、統合失調症や双極性障害の病態に関わる可能性がある。SLC35B2 は他に細胞内の sulfation 過程に関連する 3' -phosphoadenosine 5' -phosphosulfate (PAPS) の輸送体であり、これらの疾患の病態における sulfation の役割に着目する。遺伝子関連解析には、上記のゲノムサンプルの他、複数のコホートを用いる。死後脳解析には死後脳バンクより提供されたサンプルを用い、qRT-PCR および *in situ* hybridization により、SLC35B2 mRNA の発現を調べる。

#### 4. 研究成果

##### (1) 統合失調症における DLG1 遺伝子関連解析

1808 名の統合失調症患者と 2170 名の健常対照者よりなる日本人コホートを用いて DLG1 の遺伝子関連解析を行った。新規バリエーションのエクソン(exon 3b)内に存在する SNP rs3915512 は ESE 配列の一部であり、この SNP が統合失調症と遺伝的関連があることを見出した。発症年齢を考慮した解析では非早期発症統合失調症において関連が見出された<sup>7</sup>。この発症年齢特異性は、死後脳における DLG1 バリエーションの発現が早期発症統合失調症において低下しているとした報告と一貫している<sup>5</sup>。

##### (2) SLC35B2 の遺伝子関連解析および死後脳解析

NMDA 型グルタミン酸受容体のコ・アゴニストである D-serine の放出に関連すると考えられる SLC35B2 の遺伝子関連解析と死後脳を用いた発現解析を行った。

統合失調症に関しては、遺伝子関連解析により SLC35B2 と統合失調症に有意な関連を認められたが、死後脳における変化は認められなかった。ただし、Mount Sinai School of Medicine dataset として公的に公表されているマイクロアレイ法を用いて得られたデータでは、SLC35B2 は統合失調症の死後脳において有意な低下が見られた。

双極性障害に関しては、遺伝子関連解析により SLC35B2 は双極性障害と有意な関連があることが示された。また死後脳では健常対象者に比べて双極性障害患者において発現が低下していることが見出された。更に SLC35B2 の発現低下は、双極性障害の治療薬であるリチウムを服用していない患者において低下が大きく、リチウムを服用している患者では健常者と有意な差がなかった。これまでの研究では、双極性障害の治療薬であるリチウムは 3' (2') -phosphoadenosine 5' -phosphate (PAP) phosphatase を抑制することが知られている。また 3' -phosphoadenosine 5' -phosphosulfate (PAPS) は SLC35B2 によりサイトゾルからゴルジ装置に輸送され、sulfa donor として働く。Sulfation は細胞内の様々なプロセスに関連しているが、本研究で明らかになった双極性障害における SLC35B2 の発現低下、またリチウム服用患者における発現低下の改善は、SLC35B2 が双極性障害の病態および治療に関連している可能性を示唆しており、疾患における SLC35B2 の詳細な役割の解明が必要である(査読中)。

< 引用文献 >

1. Sato J, Shimazu D, Yamamoto N, Nishikawa T. An association analysis of synapse-associated protein 97 (SAP97) gene in schizophrenia. *J Neural Transm.* 2008;115(9):1355-1365.
2. Uezato A, Kimura-Sato J, Yamamoto N, Iijima Y, Kunugi H, Nishikawa T. Further evidence for a male-selective genetic association of synapse-associated protein 97 (SAP97) gene with schizophrenia. *Behav Brain Funct.* 2012;8:2.
3. Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, et al. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature.* 2014;506(7487):179-184.
4. Mulle JG. The 3q29 deletion confers >40-fold increase in risk for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2015;20(9):1028-1029.
5. Uezato A, Yamamoto N, Iwayama Y, et al. Reduced cortical expression of a newly identified splicing variant of the DLG1 gene in patients with early-onset schizophrenia. *Transl Psychiatry.* 2015;5:e654.
6. Shimazu D, Yamamoto N, Umino A, Ishii S, Sakurai S, Nishikawa T. Inhibition of D-serine accumulation in the *Xenopus* oocyte by expression of the rat ortholog of human 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter gene isolated from the neocortex as D-serine modulator-1. *J Neurochem.* 2006;96(1):30-42.
7. Uezato A, Yamamoto N, Jitoku D, et al. Genetic and molecular risk factors within the newly identified primate-specific exon of the SAP97/DLG1 gene in the 3q29 schizophrenia-associated locus. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Uezato A, Yamamoto N, Jitoku D, Haramo E, Hiraaki E, Iwayama Y, Toyota T, Umino M, Umino A, Iwata Y, Suzuki K, Kikuchi M, Hashimoto T, Kanahara N, Kurumaji A, Yoshikawa T, Nishikawa T	4. 巻 174
2. 論文標題 Genetic and molecular risk factors within the newly identified primate-specific exon of the SAP97/DLG1 gene in the 3q29 schizophrenia-associated locus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics	6. 最初と最後の頁 798 ~ 807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajmg.b.32595	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 上里彰仁	4. 巻 59
2. 論文標題 〔特集〕「統合失調症」再考 ( ) : 死後脳研究は統合失調症の理解に何をもたらしたか?	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 精神医学	6. 最初と最後の頁 1107 ~ 1114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 上里彰仁、西川徹	4. 巻 32
2. 論文標題 統合失調症とグルタミン酸	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 精神科	6. 最初と最後の頁 222 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Uezato A	
2. 発表標題 Molecular Pathology and Therapeutic Potentials in Schizophrenia - Glutamatergic system in schizophrenia and future perspective for the treatment.	
3. 学会等名 6th Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP) Congress (招待講演) (国際学会)	
4. 発表年 2019年	

1. 発表者名 Uezato A, Yamamoto N, Jitoku D, Haramo E, Hiraaki E, Iwayama Y, Umino M, Umino A, Kurumaji A, Yoshikawa T, Nishikawa T
2. 発表標題 Molecular and genetic study of the discs, large homolog 1 of Drosophila (DLG1) in schizophrenia
3. 学会等名 CINP 31st World Congress 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上里彰仁
2. 発表標題 統合失調症におけるDLG1(SAP97)の分子遺伝学的研究
3. 学会等名 日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	海野 真一  (Umino Masakazu)  (00735855)	昭和大学・医学部・ポスドクター   (32622)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------