

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2009

課題番号：18209012

研究課題名 重層的アプローチによる統合失調症の分子機構の解明

研究課題名 Multidimensional approaches to molecular basis of schizophrenia

研究代表者

服巻 保幸 (FUKUMAKI YASUYUKI)

九州大学生体防御医学研究所・教授

研究者番号：90128083

研究分野：分子人類遺伝学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：多因子病、精神疾患、関連解析、多型、グルタミン酸、遺伝子改変マウス

#### 1. 研究計画の概要

多数存在すると考えられる統合失調症感受性遺伝子を、ゲノムワイド探索とともに候補遺伝子探索の両面から統計遺伝学的な手法を用いてできるだけ同定し、可能なものについては細胞レベルや個体レベルでの解析を行うことにより、機能面での裏付けを得る。さらに再現性の高い遺伝子についてはそれら遺伝子の関わるネットワークを解析することにより、疾患の分子機構を遺伝子ネットワークの面から明らかにする。

#### 2. 研究の進捗状況

(1) ゲノムワイド関連解析：約 3 万個のマイクロサテライトマーカーにつき 1 次、2 次、3 次スクリーニング後アレルの再現性を検討し、マーカー 59 個を選出した。さらにその周辺約 200 kb の領域の 1,564 個の tag SNP について全スクリーニングサンプル約 450 ペアにより関連解析を行った。その結果、167 個の SNP に有意差を認めた。この中から 31 個の SNP を選択し、独立の 2,450 ペアのサンプルにつき解析を行ったところ、1 個の SNP で有意差が見られた。さらに周辺の 6 個の SNP のタイピングを全サンプル約 2,900 ペアで行ったところ、さらに 3 個の SNP について有意差を認めた。これらの SNP は 5' 端と 3' 端とが 1.9 kb 離れて存在している 2 つの遺伝子間と、遺伝子内に位置している。

(2) グルタミン酸伝達関連遺伝子群の関連解析：グルタミン酸受容体遺伝子 *GRM4* および *GRM7* について関連解析を行い、*GRM7* について関連を認めた。しかし、*GRIK3*、*GRIK4*、*GRIK5* については関連を認めなかった。グルタミン酸トランスポーター遺伝子 *SLC1A1*、*SLC1A3*、*SLC1A6* の関連解析では *SLC1A6* につ

いてハプロタイプで関連を認めた。グルタミン代謝遺伝子群の *GAD2* および *GLUL* について関連解析を行ったが、関連は見いだせなかった。

(3) PCP 応答遺伝子群の関連解析：PCP 投与ラット (5 mg/kg) の脳の 5 部位 (内側前頭皮質、側坐核、線条体、海馬、後帯状皮質) から RNA を調製後、マイクロアレイによる発現プロファイリング、および定量的 RT-PCR により、2 倍以上の発現変化を来す 10 個の遺伝子を同定した。これらの遺伝子につき関連解析を行っているが、6 個終了し、そのうちの 4 個に関連を見出した。さらに、大規模サンプル (約 2,450 ペア) による確認のための関連解析を行い、2 つの遺伝子について関連を見出した。

(4) 個体レベルでの機能解析：先に関連を見出した *GRIA4* のノックアウトマウスを作出し、系統的な行動解析を行った。統合失調症のエンドフェノタイプである Prepulse inhibition (PPI) の障害が見られた。また変異型マウスは野生型マウスより早いタイムコースで NMDA 型受容体の選択的人工アンタゴニスト MK-801 による影響があらわれ、MK-801 に対する感受性が増大していることがわかった。以上から *GRIA4* が統合失調症の病態の一端を担っている可能性が考えられた。

#### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。理由：関連解析で複数の遺伝子を同定し、かつ変異マウスに統合失調症のエンドフェノタイプを見出したため。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 関連解析：ゲノムワイド関連解析で関連

が見られた2つの遺伝子、グルタミン酸伝達関連遺伝子の関連解析で関連が見られた2つの遺伝子、およびPCP応答遺伝子の関連解析で認められた2つの遺伝子における機能SNPの探索や機能解析を試みる。またこれらの遺伝子間の相互作用を統計学およびパスウェイ面から検討する。

(2) すでに関連を認めている *GRM3* のノックアウトマウス作出に成功しており、戻し交配を実施中であり、系統的な行動解析を行う。  
(3) *GRIA4* ノックアウトマウスおよび *GRM3* ノックアウトマウスの中樞神経系での発現変化をマイクロアレイで解析し、病態に關与するパスウェイの同定を試みる。

#### 5. 代表的な研究成果 〔雑誌論文〕 (計 14 件)

1. Shibata, H., Tani, A., Chikuhara, T., Kikuta, R., Sakai, M., Ninomiya, H., Tashiro, N., Iwata, N., Ozaki, N., Fukumaki, Y. :Association study of polymorphisms in the group III metabotropic glutamate receptor genes, *GRM4* and *GRM7*, with schizophrenia. *Psychiatric Res.*167:88-96, 2009. 査読有
2. Arai, S., Shibata, H., Sakai, M., Ninomiya, H., Iwata, N., Ozaki, N., Fukumaki, Y. :Association analysis of the glutamic acid decarboxylase 2 and the glutamine synthetase genes (*GAD2*, *GLUL*) with schizophrenia. *Psychiatr. Genet.* 19: 6-13, 2009. 査読有
3. Iwaki A., Kawano Y., Miura S., Shibata H., Matsuse D., Li W., Furuya H., Ohyagi Y., Taniwaki T., Kira J. and Fukumaki Y. :Heterozygous deletion of *ITPR1*, but not *SUMF1* in spinocerebellar ataxia type 16. *J. Med. Genet.* 45, 32-35, 2008. 査読有
4. Hamamura, M., Hirata, N., Sawada, K., Shuto, T., Shimazoe, T., Terada, Y., Fukumaki, Y. :Reversal of the expression pattern of Aldolase C mRNA in Purkinje cells and Ube 1x mRNA in Golgi cells by a dopamine D1 receptor agonist injections in the methamphetamine sensitized-rat cerebellum. *J. Neural Transm.* 115, 959-971, 2008. 査読有
5. Deng, X., Shibata, H., Takeuchi, N., Rachi, N., Sakai, M., Hideaki Ninomiya, H., Iwata, N., Ozaki, O., and Fukumaki, Y. : Association study of polymorphisms in the glutamate transporter genes *SLC1A1*, *SLC1A3* and *SLC1A6* with schizophrenia. *Am. J. Med. Genet.*144B, 271-278, 2007. 査読有
6. Shibata, A., Iwaki, A. and Fukumaki, Y. :A novel expression system for artificial miRNA containing no endogenous miRNA precursor sequences. *J. RNAi Gene Silencing.* 3, 237-247, 2007. 査読有
7. Shibata, H., Aramaki, T., Sakai, M., Ninomiya, H., Tashiro, N., Iwata, N., Ozaki, O., and Fukumaki, Y. :Association study of polymorphisms in the

GluR7, KA1 and KA2 kainate receptor genes (*GRIK3*, *GRIK4*, *GRIK5*) with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 141, 39-51, 2006. 査読有

#### 〔学会発表〕 (計 48 件)

1. Fukumaki, Y. :Genomic and animal model approaches to schizophrenia susceptibility. Joint 7th Human Genome Organization (HUGO)-Pacific Meeting and The 8th Asia-Pacific Conference on Human Genetics, Cebu, Philippines. (2008, 4/2).
2. Deng X, Sagata N, Takeuchi N, Tanaka M, Shibata H, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. :Association study of polymorphisms in the neutral amino acid transporter genes *SLC1A4*, *SLC1A5* and the glycine transporter genes *SLC6A9*, *SLC6A5* with schizophrenia. The XVth World Congress of Psychiatric Genetics. New York, NY. (2007, 10/10)
3. Fukumaki, Y. Goto, H., Shibata, H., Takaji, M., Ninomiya, N., Tashiro N. and Jarusuraisin, N. :Locus-wide association study of genes in the 5q33.1 region with schizophrenia. The XIVth World Congress of Psychiatric Genetics, Cagliari, Italy. (2006, 10/30)

#### 〔図書〕 (計 7 件)

服巻 保幸: 遺伝性疾患の概念と分子機構: 分子病態学 (一瀬白帝、鈴木宏治編) pp. 97-106, 2008, 中外医学社

#### 〔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  
<http://www.gen.kyushu-u.ac.jp/~byouin/>
- アウトリーチ活動  
ゲノムひろば (京都)  
ポスター展示 (2006, 11/18, 19)  
ミニゲノムひろば (福岡)  
ポスター展示 (2006, 12/10)  
城南高等学校 (福岡)  
教育講演 (2007, 11/24)  
ミニゲノムひろば (福岡)  
ポスター展示 (2007, 12/23)  
ゲノムひろば (名古屋)  
ポスター展示 (2008, 10/25, 26)  
ミニゲノムひろば (福岡)  
講演、ポスター展示 (2008, 12/21)