

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17082

研究課題名（和文）神経系における熱ショックタンパク質の発現低下が統合失調症に及ぼす影響の解明

研究課題名（英文）Elucidating the Impact of Reduced Expression of Heat Shock Proteins in the Nervous System on Schizophrenia

研究代表者

趙 治磊（ZHAO, ZHILEI）

東京大学・医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：50761277

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症は、遺伝要因の割合は高いが、正確な病因はまだ不明である。本研究では、統合失調症のリスク関連因子として同定されたHSP70の情報伝達経路について着目し、統合失調症への理解を目指した。その研究結果として、HSP70ノックダウン細胞株について網羅的な遺伝子発現解析を行い、HSP70の発現低下がもたらす遺伝子発現変化の特徴を捉えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、神経細胞におけるHSP70の情報伝達経路の解明に取り込んだ。次世代シーケンサーによる遺伝子発現解析を行うことで、神経細胞内におけるHSP70のシグナル応答についてより深い知見を得ることができた。今後、得られたデータを活用して、疾患の病態解明につながることを期待したい。

研究成果の概要（英文）：Schizophrenia has a high heritability rate, but the precise etiology remains unclear. This study focused on the signaling pathways of HSP70, identified as a risk-associated factor for schizophrenia, aiming to gain insights into the disease. As a result of the research, comprehensive gene expression analysis was conducted on HSP70 knockdown cell lines, revealing the characteristics of gene expression changes induced by HSP70 downregulation.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 熱ショックタンパク質 脳・神経 遺伝子発現

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、人口の約 1%が発症する精神疾患であり、幻覚妄想などの陽性症状、感情鈍麻・無為自閉などの陰性症状、認知機能障害を特徴とする。これまでの研究から遺伝要因の関与が明らかとなり、連鎖解析、候補遺伝子関連研究、全ゲノム関連研究などが行われたが、オッズ比が低く病態を説明し得る状態ではなかった。これまで、一卵性双生児統合失調症不一致例を対象とした研究から、研究代表者はアドレノメデュリン (ADM) が統合失調症の有力な候補遺伝子であることを示唆した。研究代表者は神経芽細胞腫を用いて、ADM の細胞内情報伝達経路を網羅的に解析することにより、HSPA1A と HSPA1B 遺伝子の mRNA 発現低下を示した。

大変興味深いことに、見出された HSPA1A と HSPA1B は統合失調症との関連においてすでに報告されている遺伝子であった。最近の遺伝子多型研究から、HSPA1B と統合失調症との関連の一端が明らかになった。また、統合失調症患者の死後脳研究から、HSPA1A と HSPA1B が翻訳されたタンパク質である HSP70 が減少しているという報告もあり、本研究結果とあわせ、病態に何らかの関与をしている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

HSP70 は従来、細胞が熱、化学物質、虚血などのストレスにさらされた際に発現が上昇して細胞を保護するタンパク質として知られる。このキャラクターをもとに統合失調症における分子としての動態を詳細に解析する必要があり、本研究では神経系細胞レベルにおける HSP70 の特異的な分子情報伝達経路を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) HSP70 のノックダウン細胞株の樹立

神経細胞特異的な伝達経路を解明するために、ヒト神経芽細胞腫に由来の細胞株である SK-N-SH 細胞を用いた。HSP70 のノックダウンヘアピン型 RNA (shRNA) 発現プラスミドベクターを導入し、ピューロマイシンによるセレクションを行い、安定的ノックダウン細胞株を樹立した。

(2) RNA-seq による遺伝子発現量の変化の解析

HSP70 のノックダウン効率高いクローンを選択し、レチノイン酸による成熟ニューロンへの分化を行った。そして、分化した安定的 HSP70 ノックダウンした SK-N-SH 細胞とその対照細胞の total RNA を抽出し、RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析を行った。

4 . 研究成果

(1) HSP70 のノックダウン細胞株の樹立

SK-N-SH 細胞を用いて、HSP70 をノックダウンした細胞株を作製した。複数のノックダウンヘアピン型 RNA 発現プラスミドベクターから、real-time PCR 法により、HSPA1A 及び HSPA1B を同時に効率的なノックダウンできる候補を選別し、ピューロマイシンによるセレクションを行い、HSP70 のノックダウン細胞株を樹立した。

(2) RNA-seq による遺伝子発現量の変化の解析

次世代シーケンサーによる遺伝子解析した結果、568 個遺伝子の発現上昇と 965 個遺伝子の発現減少が群間で示した (fold-change>4, FDR<0.01)。次に、エンリッチメント解析として、DAVID(The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery)の解析ツールを用いて、有意な変動遺伝子のパスウェイを解析した。その結果、12 個遺伝子が協調して発現上昇するパスウェイが同定され、神経と関連するパスウェイとして Nervous system development を始め、Neurogenesis や

Neuron differentiation の有意な亢進

を認められた。さらに、現存の統合失調

症死後脳の遺伝子発現データベースに

照合したところ、24 個遺伝子が有意に

変動していることが絞り込めた。そこ

で、real-time PCR によるバリデーショ

ンを行い、HSP70 のノックダウンによ

る、統合失調症に関連する因子である

TCF4(Transcription Factor 4)などの

発現変動が確認された。

Up-Regulated

Term	PValue
GO:0007165~signal transduction	0.012106
GO:0007268~chemical synaptic transmission	9.75E-16
GO:0007186~G-protein coupled receptor signaling pathway	0.066942
GO:0007399~nervous system development	5.98E-08
GO:0007155~cell adhesion	1.80E-04
GO:0030154~cell differentiation	0.022159
GO:0042493~response to drug	7.44E-04
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	0.089888
GO:0007411~axon guidance	1.98E-05
GO:0007166~cell surface receptor signaling pathway	0.011535
GO:0007626~locomotory behavior	3.56E-06
GO:0007218~neuropeptide signaling pathway	1.14E-04
GO:0050796~regulation of insulin secretion	2.24E-05
GO:0007409~axonogenesis	4.40E-04
GO:0034765~regulation of ion transmembrane transport	0.001087
GO:0071805~potassium ion transmembrane transport	0.001988
GO:0001666~response to hypoxia	0.01869
GO:0034220~ion transmembrane transport	0.055945
GO:0007269~neurotransmitter secretion	2.02E-05
GO:0007612~learning	4.64E-05
GO:0000187~activation of MAPK activity	0.003375
GO:0007204~positive regulation of cytosolic calcium ion concentration	0.012665
GO:0007420~brain development	0.074239
GO:0007601~visual perception	0.095097
GO:0071377~cellular response to glucagon stimulus	3.22E-05

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------