

平成 22 年 5 月 17 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790867

研究課題名（和文）

機能性精神疾患における FABP 遺伝子群の解析

研究課題名（英文）

Genetic analyses of *FABP* genes in functional psychoses

研究代表者

岩山 佳美 (Iwayama Yoshimi)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・リサーチアソシエイト

研究者番号：60399441

研究成果の概要（和文）：

以前我々は、統合失調症を含めた精神疾患のエンドフェノタイプと言われているプレパルス抑制の責任遺伝子の探索から、不飽和脂肪酸の細胞内シャペロンと言われている *FABP7* 遺伝子を同定した。*FABP7* 遺伝子はファミリーを形成しており、脳では *FABP7* の他に *FABP5*, *FABP3* が発現していることが知られている。そこでこれら3つの遺伝子について、統合失調症および双極性障害を対象に遺伝学的関連研究を行った。結果は、*FABP7* のみが両疾患に関連していた。

研究成果の概要（英文）：

Deficits in prepulse inhibition (PPI) are a biological marker for psychiatric illnesses such as schizophrenia and bipolar disorder. To unravel PPI-controlling mechanisms, we previously performed quantitative trait loci analysis in mice, and identified *Fabp7*, that encodes a brain-type fatty acid binding protein (Fabp), as a causative gene. *FABPs* constitute a gene family, of which members *FABP5* and *FABP3* are also expressed in the brain. In this project, I examined the genetic roles of these *FABP* genes in schizophrenia and bipolar disorder. *FABP7* showed nominal association with bipolar disorder (we previously reported an association of *FABP7* with schizophrenia). We could not obtain evidence for associations of *FABP5* and *FABP3* with either disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	1,300,000	300,000	1,600,000
総計	3,300,000	900,000	4,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：

統合失調症、双極性障害、*FABP* 遺伝子、不飽和脂肪酸、関連研究、死後脳発現解析

1. 研究開始当初の背景

これまでの精神疾患における遺伝子研究の戦略は、ヒト精神疾患において有意な関連見られた感受性遺伝子が検出された場合、当該遺伝子を操作した遺伝子改変動物を作成し、行動・細胞・病理・生化学等のレベルから精神疾患との機能的関連、新薬開発のためのモデルの提供を考えることが多かった。我々は最近、従来とは逆のアプローチを取り統合失調症の発症危険に関与する遺伝子および新規パラダイムを得るに至った。すなわち、ヒト統合失調症のエンドフェノタイプ（疾患に共在する生物学的パラメーター）の1つとして有望視されているプレパルス抑制（PPI）の減弱に着目し、1,010匹のマウスを用いてPPIの制御に関与している遺伝子をQTL (quantitative trait loci) 解析という手法で探索した。その結果、マウス染色体10番のQTLピークから、必須脂肪酸（特にドコサヘキサエン酸）の結合・細胞内輸送に関与している *Fabp7* (fatty acid binding protein 7) が責任遺伝子の1つであることを証明した (Watanabe et al. PLoS Biology 5(11)2469-2483, 2007)。*Fabp7*ノックアウトマウスの解析では、PPIの減弱NMDA受容体アンタゴニストであるMK-801の慢性投与による行動感作の増強という、統合失調症類似の表現型を確認した。そして、ヒトホモログのFABP7遺伝子を解析した結果、遺伝的関連および死後脳での発現変化を認めた。この研究で提示できた新規パラダイムとは、ヒト胎児期の必須脂肪酸の代謝不全が将来の統合失調症発症の体質的脆弱性を形成するのではないかという「胎児プログラミング」仮説である。妊娠中の母親が飢饉を経験した場合、子供の成長後の統合失調症発症率が2倍になる事は、第二次世界大戦中のオランダ冬季飢饉と、1959-1961年に中国で発生した飢饉の大規模疫学調査から報告されていたが、母親の飢饉の影響は、統合失調症ばかりでなく、将来の高血圧や糖尿病などの身体疾患の発生率を上げることも知られていた。この説明として、胎児期に飢饉により電解質や糖の摂取が不足すると、胎児は電解質や糖の利用を向上させるように体質を作り、将来電解質や糖が普通に摂取できる状態におかれると、それらの体内保持機能の亢進がかえって疾患を引き起こす事になるというものである。このような機能を胎児プログラミングと呼んでいる。

脳内では *FABP7* の他、*FABP5* と *FABP3* が発現していること、不飽和脂肪酸の代謝異常は気分障害でも報告されていることに基づき、

本研究では、3つの *FABP* 遺伝子を統合失調症および双極性障害を対象に解析することにした。

2. 研究の目的

我々は、統合失調症の中間表現型の1つであるといわれているPPIを制御している遺伝子をマウスを用いて解析し、*Fabp7* という遺伝子を同定した。これは、多価不飽和脂肪酸を結合するタンパク質をコードするもので、「脳型」といわれるように脳での発現が多い。そして、この遺伝子の機能不全が神経新生の低下を介して統合失調症の発脆弱性に寄与している可能性を示した。PPIの低下は気分障害でも報告されているため、これまでの知見に基づき以下の問題点に迫ることを目的とした。

- (1) *FABP7* はもう1つの機能性精神疾患である気分障害にも遺伝的に関与するか。
- (2) 気分障害の死後脳では *FABP7* の発現は変化しているか。
- (3) *FABP* 遺伝子はファミリーを形成しており、少なくとも19種類の遺伝子がアノテートされている。これらのうち、*FABP7* 遺伝子と特に機能的相補性を示すといわれている *FABP3*、*FABP5* について、統合失調症および気分障害との関連はどうか。

3. 研究の方法

(1) *FABP7* 遺伝子と双極性障害との関連研究

双極性障害サンプルは共同研究機関との共有サンプルも含めて約800例あり、健常対照サンプルも約800例揃えてある。それらのサンプルを用いて一塩基置換多型 (SNP) をTaqManシステムでタイピングする。SNPはHapMapデータベースより、日本人で5%以上のminor allele frequencyを持つものから、Carlsonの方法によりtagSNPを選択した。

(2) *FABP7* 遺伝子の双極性障害死後サンプルにおける発現解析

死後脳は、スタンレー財団より供与された双極性障害サンプル35例、対照群サンプル35例の前頭前野 (ブロードマン46野) を解析する。解析方法は、TaqManシステムによるリアルタイムRT-PCR法を採用する。コントロールプローブとして、*GAPDH*、*ACTB*、*PGK1* を調べる。

(3) *FABP* 遺伝子ファミリーと機能性精神疾患 (統合失調症および双極性障害) との関連研究

FABP3、*FABP5* について、関連解析を行う。関連解析は、日本人で5%以上のminor allele frequencyを持つものから、Carlsonの方法によりtagSNPを選択し、統合失調症および双極性障害サンプルについて、TaqMan法により、Genotyping

を行う。

(4) 有意 SNP の追認解析

(1)、(2)において、有意が検出された場合、再シーケンスにより新規 SNP や頻度の小さい SNP の探索も行う。

4. 研究成果

(1) *FABP7* 遺伝子と双極性障害との関連研究

FABP7 遺伝子について、合計16個のSNPで、双極性障害サンプル864例、健常対照サンプル895例を解析したところ、3個のSNP (rs9372716, rs2279382, rs9401595) で対立遺伝子および遺伝子型の関連を検出した。これらの関連の有意は、多重比較の補正で消失したが、ハプロタイプ解析では有意 ($P < 0.05$) は残った (図1)。このことから、*FABP7* は統合失調症ばかりでなく双極性障害にも関与していることが判明した。

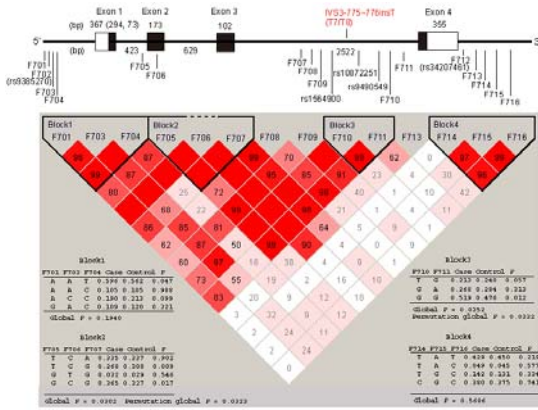


図1：双極性障害における*FABP7*遺伝子のハプロタイプ解析

(2) *FABP7* 遺伝子の双極性障害死後脳サンプルにおける発現解析

統合失調症と同じように、前頭前野で発現が上昇しており (図2)、かつ男性サンプルで有意であった。上記の結果と合わせて考えると、*FABP7* 遺伝子は機能性精神疾患のうち特に男性患者の発症に影響していると推察された。

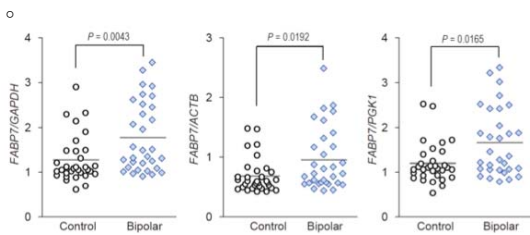


図2：*FABP7* 遺伝子の双極性障害死後脳サンプルにおける発現。3つの図はそれぞれ異なる内部標準プローブを使って測

定してある。

(3) *FABP* 遺伝子ファミリーと機能性精神疾患 (統合失調症および双極性障害) との関連研究

脳で発現が認められる *FABP* 遺伝子は、*FABP7* の他に *FABP5* と *3* がある。*FABP5* にはデータベースに登録されているSNPがなかったため再シーケンス解析したが、頻度の低いSNPしか見つからなかったため遺伝解析は不可能であった。*FABP3* と統合失調症に関しては、個々のSNPではなくハプロタイプで有意な関連を検出した。*FABP3* と双極性障害に関しては、1つのSNP (rs12562824) で男性のみに有意が認められた (表1)。

Our SNP ID and rs#	BP	Allele			P*	Genotype				MAF	P*
		HWE	N	T		C	T/T	T/C	C/C		
F301 rs12562824	BP	0.5503	860	572	1148	0.0819	115	374	387	33.3%	0.1922
F302 rs425744	BP	0.4738	861	865	817	0.2114	209	441	243	51.9%	0.3406
F303 rs10914367	BP	0.5951	861	961	761	0.4973	267	444	184	45.4%	0.7251
F304 rs11436	BP	0.3667	862	1432	292	0.7863	619	254	21	16.9%	0.9539
F305 rs3766293	BP	0.0268	863	231	1495	0.1916	22	223	648	14.9%	0.2176
F306 rs6663779	BP	0.5278	862	233	1471	0.9239	21	218	654	14.6%	1.0000
F307 rs3795432	BP	0.1356	863	485	1241	0.3517	77	331	455	28.1%	0.2734
F308 rs7532813	BP	0.6382	861	762	960	0.5189	183	444	266	45.4%	0.7491

表1：双極性障害における*FABP3*遺伝子の関連解析結果

(4) 有意 SNP の追認解析

FABP7, *5*, *3* の3つの遺伝子につき、疾患群285例について全エクソンおよびそれら近傍のイントロンをすべてシーケンスし、頻度の稀な遺伝子多型を探索した。検出された多型については、1,060例の統合失調症群と同数例の対照群を用いて確認を行った。これらの結果、疾患群に特異的な多型として、*FABP5* 遺伝子上にGly114Argの新規多型を発見した。そして、それをss160853732としてGenBankに登録した。また、すでに報告はあったものの *FABP3* 遺伝子上にAsp3Glyという稀なミスセンス変異を日本人サンプルでも同定した。この多型については、結晶構造データベースに基づいた解析をしたところ、機能変化をもたらす可能性が示唆された (図3)。

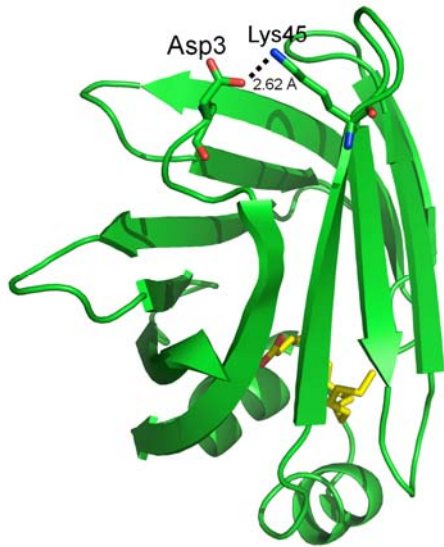


図3 : FABP5遺伝子産物の結晶構造および検出されたアミノ酸置換

以上まとめると、脳で発現されている*FABP* 遺伝子は、機能性精神疾患、それも特に男性に役割を持つことが示唆された。また、今回見つかった多型、特に*FABP3*遺伝子上の Asp3Glyミスセンス変異がどのような表現型に関連しているか、非常に興味を持たれるところであったが、頻度が稀であったため疾患に対する有意な関連は見いだせなかった。

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 Iwayama Y., Hattori E., Maekawa M., Yamada K., Toyota T., Ohnishi T., Iwata Y., Tsuchiya K., Sugihara G., Kikuchi M., Hashimoto K., Iyo M., Inada T., Kunugi H., Okazaki N., Iwata N., Nanko S., Iwamoto K., Okazaki Y., Kato T., Yoshikawa T. Association analyses between brain-expressed *FABP* (fatty-acid binding protein) genes and schizophrenia and bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet. Part B.* 153B, 484-493 (2010). 査読有り

② Maekawa M., Iwayama Y., Arai R., Nakamura K., Ohnishi T., Toyota T., Tsujii M., Okazaki Y., Osumi N.,

Owada Y., Mori N., Yoshikawa T. Polymorphism screening of brain-expressed *FABPs7, 5* and *3* genes and association studies in autism and schizophrenia in Japanese subjects. *J. Hum. Genet.* 55, 127-130 (2010). 査読有り

[学会発表] (計1件)

① Yoshimi Iwayama

Examination of etiological roles of *FABP7, 5* and *3* in functional psychoses
XVIth World Congress on Psychiatric Genetics Confirmation
October 11 2008
Osaka, Japan

[その他]

ホームページ等

<http://www.riken.jp/engn/r-world/research/lab/nokagaku/age/molecular/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩山 佳美 (Iwayama Yoshimi)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・リサーチアソシエイト

研究者番号 : 60399441