

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15715

研究課題名（和文）統合失調症死後脳におけるプロリン代謝経路のメタボローム解析

研究課題名（英文）Metabolomic analysis of proline metabolic pathway in postmortem brain of schizophrenia

研究代表者

長岡 敦子（Nagaoka, Atsuko）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：20844632

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）：プロリン代謝経路の統合失調症病態への関与に注目し、プロリン代謝経路内の酵素である、PEPD、PRODH、ALDH18A1、OAT、PYCR1のタンパク質発現量と、プロリン代謝経路で代謝されるアミノ酸であるプロリン、オルニチン、グルタミン酸について、統合失調症、非精神疾患対照の死後脳を用いてそれぞれ測定し統合失調症死後脳における変化について検討し、PRODH、ALDH18A1が統合失調症死後脳において有意に低いこと、PEPD、OAT、PYCR1に有意な変化はないことを見出した。また、今回行った検討ではプロリン、グルタミン酸、オルニチンは統合失調症死後脳での有意な変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症は再発・慢性化しやすい精神疾患で社会経済的負担が大きいが、未だ発症の分子メカニズムは解明されておらず、根本的治療の実現には至っていない。本研究はこれまでの統合失調症病態研究ではあまり注目されなかったプロリン代謝経路に着目したものであり、代謝経路を構成する分子について、関連酵素のタンパク質発現解析とメタボローム解析によって多元的なアプローチを用いて包括的に検討することで、新規の観点からの病態解明、創薬につながることを期待される。統合失調症患者におけるアミノ酸のメタボローム解析研究は血清では行われているが、死後脳研究では現在のところ少数しかなくこの点でも新規性が高いといえる。

研究成果の概要（英文）：We focused on the involvement of the proline metabolic pathway in the pathophysiology of schizophrenia. We measured the protein expression levels of the enzymes within the proline metabolic pathway; PEPD, PRODH, ALDH18A1, OAT, and PYCR1, as well as the levels of the amino acids in the same pathway; proline, ornithine, and glutamate, in postmortem brains of patients with schizophrenia and controls. We found that PRODH and ALDH18A1 were significantly lower in the postmortem brains of patients with schizophrenia, while PEPD, OAT, and PYCR1 were not significantly altered. Additionally, in our study, the levels of proline, glutamate, and ornithine were also not significantly altered in the schizophrenic postmortem brain.

研究分野：精神疾患死後脳研究

キーワード：統合失調症 死後脳 プロリン グルタミン酸 オルニチン アミノ酸

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症患者における血漿プロリン濃度は健常群よりも有意に高いという報告や、高プロリン血症のある統合失調症患者では精神科入院期間がより長期になるといった報告など、高プロリン血症と統合失調症病態の関連は以前より指摘されているが、その分子機序の詳細は不明である。これまで我々は、ミトコンドリア内に存在するプロリンをグルタミン酸へ代謝するプロリン代謝経路の統合失調症病態への関与に着目し、死後脳での解析を行ってきた。プロリン代謝経路の最終段階で働く Aldehyde dehydrogenase 4 family member A1 (ALDH4A1) のタンパク質発現量が統合失調症の前頭前皮質(PFC)、上側頭回(STG)において有意に増加していること、PFCのALDH4A1発現量は、プロリン代謝関連酵素の Prolidase(PEPD)遺伝子の SNP(rs33823、rs153508)と Pyrroline-5-carboxylate synthetase(ALDH18A1)遺伝子の SNP(rs10882639)の各遺伝子型間でそれぞれ有意に異なることを見出し、さらにアストロサイトにおいてALDH4A1がミトコンドリアと共同存在していることを免疫染色によって確認した(Nagaokaら, J Psychiatr Res, 2020)。脳内におけるグルタミン酸の生合成は複数の経路が存在し、中でもシナプス伝達にはアストロサイトでのグルタミン酸産生と放出が重要と考えられる。統合失調症死後脳におけるALDH4A1発現上昇の所見に加え、既報にある統合失調症患者におけるプロリダーゼ活性の亢進、血漿中でのプロリン上昇から、プロリンの合成・分解が亢進し、グルタミン酸産生過剰を招き、二次的にNMDA受容体機能低下を引き起こすことで、陽性症状・陰性症状を生じるというグルタミン酸仮説に基づいた統合失調症の新たな病態仮説を提案した。

## 2. 研究の目的

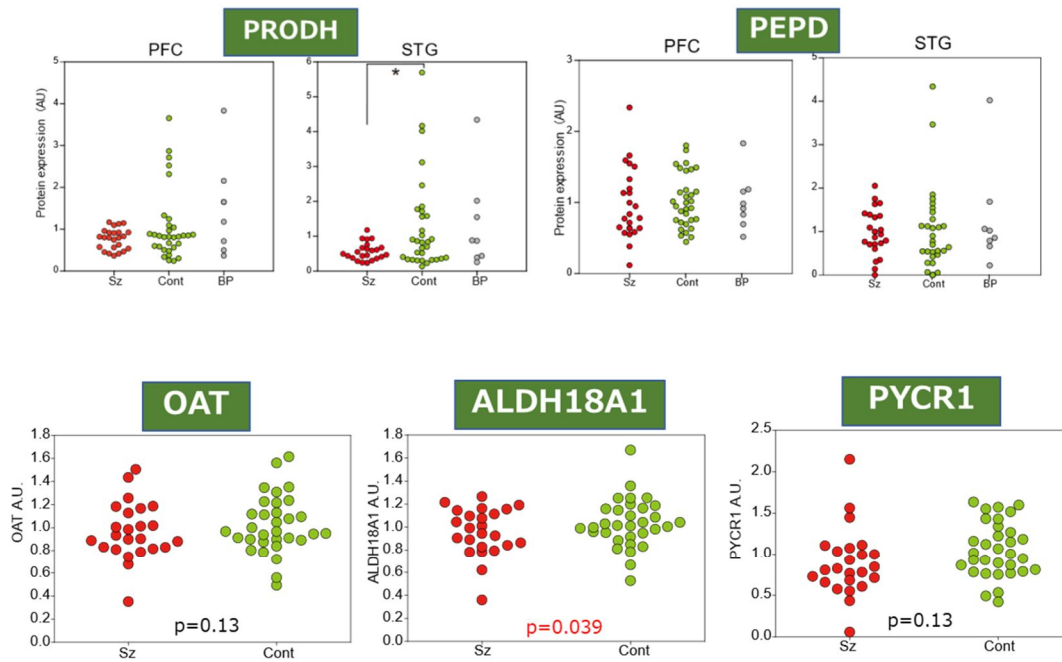
本研究の目的は、この「プロリン代謝経路の異常な亢進がNMDA受容体機能低下を引き起こす」という新たな統合失調症病態仮説が妥当かどうか検証するため、プロリン代謝経路関連酵素の Proline Dipeptidase(PEPD)、Proline oxidase(PRODH)、Pyrroline-5-carboxylate synthetase(ALDH18A1)、Ornithine Aminotransferase(OAT)、Pyrroline-5-carboxylate reductase 1(PYCR1)のタンパク質発現解析と、プロリン代謝経路で代謝されるアミノ酸であるプロリン、オルニチン、グルタミン酸の定量解析を行い、統合失調症死後脳における変化を明らかにし、加えてそれらアミノ酸とプロリン代謝経路関連酵素のタンパク質発現量との関連解析を行うことでプロリン代謝経路の全容を明らかにし、新たな治療標的分子を見出すことである。

## 3. 研究の方法

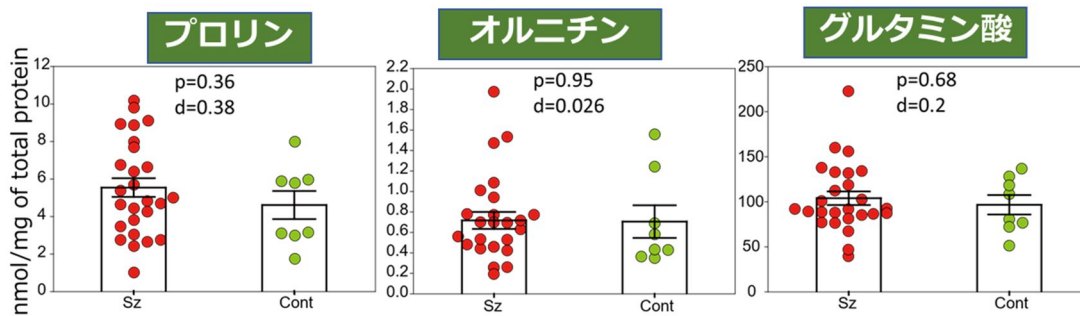
プロリン代謝経路内の酵素である、PEPD、PRODH、ALDH18A1、OAT、PYCR1について、統合失調症24例、非精神疾患対照群32例の凍結死後脳を用い、前頭前皮質(PFC)より試料を採取し脳抽出液を調製し、ELISA法にて各タンパク質発現量を測定した。プロリン、オルニチン、グルタミン酸について統合失調症26例、非精神疾患対照8例の凍結死後脳を用い、PFCより試料を採取し脳抽出液を調製し、LC/MS/MS法にて測定した。統合失調症群と非精神疾患対照群における、各代謝酵素のタンパク質発現量と各アミノ酸について、比較検討を行った。さらに、それぞれのプロリン代謝関連酵素のタンパク質発現量と人口統計学的データ(性別、死亡時年齢、pH、Postmortem interval(PMI)、死亡前3か月時の内服抗精神病薬1日量CP換算値(CPeq)、症状スコア[DIBS; Diagnostic Instrument for Brain Studies])との関連、及びプロリン代謝経路に関与するアミノ酸とプロリン代謝関連酵素同士の関連を解析した。

## 4. 研究成果

PRODH、ALDH18A1が統合失調症死後脳において有意に低いこと、PEPD、OAT、PYCR1に有意な変化はないことを見出した。



今回行った検討ではプロリン、グルタミン酸、オルニチンは統合失調症死後脳での有意な変化は認められなかった。



プロリンからグルタミン酸へ代謝する経路において、グルタミン酸産生とは逆の方向に働く ALDH18A1, OAT, PYCR1 は互いに強い正の相関を認めた。

		PEPD	PRODH	OAT	ALDH18A1	PYCR 1	プロリン	オルニチン	グルタミン酸
ALDH4A1	r	-0.21	-0.14	0.28	0.16	-0.06	-0.04	0.17	-0.07
	p	0.32	0.52	0.18	0.46	0.77	0.85	0.44	0.74
PEPD	r		0.04	0.24	0.19	0.32	0.17	0.07	0.26
	p		0.85	0.26	0.37	0.13	0.42	0.75	0.22
PRODH	r			0.30	0.29	0.22	-0.36	-0.48	-0.32
	p			0.15	0.17	0.31	0.08	0.02	0.13
OAT	r				<b>0.81</b>	<b>0.79</b>	-0.25	0.04	<b>-0.41</b>
	p				<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>	0.23	0.85	<b>0.05</b>
ALDH18A1	r					<b>0.64</b>	-0.10	0.12	<b>-0.49</b>
	p					<b>&lt;0.01</b>	0.63	0.56	<b>0.01</b>
PYCR 1	r						-0.25	-0.06	-0.30
	p						0.24	0.79	0.15
プロリン	r							<b>0.69</b>	<b>0.58</b>
	p							<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
オルニチン	r								0.28
	p								0.16

また、OAT は複数の症状スコアとの相関を示し、生前の臨床症状に影響を与える可能性が示唆された。

DIBS		死亡前3カ月				以前に出現した既往			
		合計点	陽性症状尺度	陰性症状尺度	総合精神病理尺度	合計点	陽性症状尺度	陰性症状尺度	総合精神病理尺度
ALDH4A1	r	0.14	0.13	0.03	0.16	-0.10	0.13	0.03	0.03
	p	0.52	0.54	0.88	0.47	0.65	0.54	0.88	0.88
PEPD	r	-0.03	0.00	-0.08	-0.05	-0.27	0.00	-0.08	<b>-0.48</b>
	p	0.89	1.00	0.72	0.82	0.22	1.00	0.72	<b>0.02</b>
PRODH	r	-0.36	-0.36	-0.22	-0.14	-0.04	-0.36	-0.22	-0.09
	p	0.09	0.09	0.32	0.53	0.87	0.09	0.32	0.67
OAT	r	<b>-0.47</b>	<b>-0.42</b>	-0.34	-0.31	<b>-0.41</b>	<b>-0.42</b>	-0.34	<b>-0.52</b>
	p	<b>0.02</b>	<b>0.05</b>	0.11	0.15	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>	0.11	<b>0.01</b>
ALDH18A1	r	-0.10	-0.12	0.02	-0.07	-0.08	-0.12	0.02	-0.12
	p	0.66	0.61	0.94	0.77	0.71	0.61	0.94	0.60
PYCR 1	r	-0.19	-0.10	-0.25	-0.22	0.32	-0.10	-0.25	0.17
	p	0.41	0.67	0.27	0.34	0.16	0.67	0.27	0.46
プロリン	r	0.07	-0.04	0.11	0.35	-0.05	-0.04	0.11	0.12
	p	0.77	0.87	0.61	0.10	0.83	0.87	0.61	0.59
オルニチン	r	0.11	-0.04	0.37	0.25	0.00	-0.04	0.37	0.19
	p	0.62	0.85	0.08	0.25	0.98	0.85	0.08	0.38
グルタミン酸	r	0.30	0.22	0.22	0.39	0.39	0.22	0.22	0.39
	p	0.16	0.32	0.32	0.07	0.07	0.32	0.32	0.07

今後、これら研究結果について論文投稿を予定している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Iwakura Yuriko, Kawahara-Miki Ryoka, Kida Satoshi, Sotoyama Hidekazu, Gabdulkhayev Ramil, Takahashi Hitoshi, Kunii Yasuto, Hino Mizuki, Nagaoka Atsuko, Izumi Ryuta, Shishido Risa, Someya Toshiyuki, Yabe Hirooki, Kakita Akiyoshi, Nawa Hiroyuki	4. 巻 47
2. 論文標題 Elevation of EGR1/zif268, a Neural Activity Marker, in the Auditory Cortex of Patients with Schizophrenia and its Animal Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurochemical Research	6. 最初と最後の頁 2715 ~ 2727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11064-022-03599-9	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 Izumi Ryuta, Hino Mizuki, Wada Akira, Nagaoka Atsuko, Kawamura Takashi, Mori Tsutomu, Sainouchi Makoto, Kakita Akiyoshi, Kasai Kiyoto, Kunii Yasuto, Yabe Hirooki	4. 巻 12
2. 論文標題 Detailed Postmortem Profiling of Inflammatory Mediators Expression Revealed Post-inflammatory Alternation in the Superior Temporal Gyrus of Schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Psychiatry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpsyt.2021.653821	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kunii Yasuto, Matsumoto Junya, Izumi Ryuta, Nagaoka Atsuko, Hino Mizuki, Shishido Risa, Sainouchi Makoto, Akatsu Hiroyasu, Hashizume Yoshio, Kakita Akiyoshi, Yabe Hirooki	4. 巻 22
2. 論文標題 Evidence for Altered Phosphoinositide Signaling-Associated Molecules in the Postmortem Prefrontal Cortex of Patients with Schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8280 ~ 8280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22158280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Izumi Ryuta, Hino Mizuki, Nagaoka Atsuko, Shishido Risa, Kakita Akiyoshi, Hoshino Mikio, Kunii Yasuto, Yabe Hirooki	4. 巻 175
2. 論文標題 Dysregulation of DPYSL2 expression by mTOR signaling in schizophrenia: Multi-level study of postmortem brain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 73 ~ 81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.09.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 長岡敦子、國井泰人、日野瑞城、泉竜太、穴戸理紗、矢部博興	4. 巻 32(4)
2. 論文標題 統合失調症死後脳におけるタンパク定量解析-ALDH4A1とその発現に影響する遺伝子多型	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生物学的精神医学誌	6. 最初と最後の頁 186-190
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 國井泰人、長岡敦子、日野瑞城、泉竜太、穴戸理紗、矢部博興	4. 巻 32(4)
2. 論文標題 精神疾患ブレインバンクと死後脳研究の現在	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 179-185
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 Miyahara Kazusa, Hino Mizuki, Shishido Risa, Nagaoka Atsuko, Izumi Ryuta, Hayashi Hideki, Kakita Akiyoshi, Yabe Hirooki, Tomita Hiroaki, Kunii Yasuto	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of schizophrenia symptom-related gene modules by postmortem brain transcriptome analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-023-02449-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirai Shinobu, Sakuma Atsuhiko, Kunii Yasuto, Shimbo Hiroko, Hino Mizuki, Izumi Ryuta, Nagaoka Atsuko, Yabe Hirooki, Kojima Rika, Seki Erika, Arai Nobutaka, Komori Takashi, Okado Haruo	4. 巻 163
2. 論文標題 Disease specific brain capillary angiopathy in schizophrenia, bipolar disorder, and Alzheimer's disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Psychiatric Research	6. 最初と最後の頁 74 ~ 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpsychires.2023.04.011	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 Miyahara Kazusa, Hino Mizuki, Yu Zhiqian, Ono Chiaki, Nagaoka Atsuko, Hatano Masataka, Shishido Risa, Yabe Hirooki, Tomita Hiroaki, Kunii Yasuto	4. 巻 14
2. 論文標題 The influence of tissue pH and RNA integrity number on gene expression of human postmortem brain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1156524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpsyt.2023.1156524	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyahara Kazusa, Hino Mizuki, Shishido Risa, Izumi Ryuta, Nagaoka Atsuko, Hayashi Hideki, Kakita Akiyoshi, Yabe Hirooki, Tomita Hiroaki, Kunii Yasuto	4. 巻 166
2. 論文標題 Ethnicity-dependent effect of rs1799971 polymorphism on OPRM1 expression in the postmortem brain and responsiveness to antipsychotics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Psychiatric Research	6. 最初と最後の頁 10 ~ 16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpsychires.2023.08.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shishido Risa, Kunii Yasuto, Hino Mizuki, Izumi Ryuta, Nagaoka Atsuko, Hayashi Hideki, Kakita Akiyoshi, Tomita Hiroaki, Yabe Hirooki	4. 巻 14
2. 論文標題 Evidence for increased DNA damage repair in the postmortem brain of the high stress-response group of schizophrenia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1183696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpsyt.2023.1183696	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hino Mizuki, Kunii Yasuto, Shishido Risa, Nagaoka Atsuko, Matsumoto Junya, Akatsu Hiroyasu, Hashizume Yoshio, Hayashi Hideki, Kakita Akiyoshi, Tomita Hiroaki, Yabe Hirooki	4. 巻 44
2. 論文標題 Marked alteration of phosphoinositide signaling associated molecules in postmortem prefrontal cortex with bipolar disorder	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 121 ~ 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長岡敦子, 國井泰人, 大沼裕美, 日野瑞城, 泉竜太, 穴戸理紗, 矢部博興
2. 発表標題 福島精神疾患ブレインバンクの取り組みについて
3. 学会等名 第7回クリニカルバイオバンク委員会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長岡敦子, 國井泰人, 日野瑞城, 泉竜太, 穴戸理紗, 齊ノ内信, 柿田明美, 矢部博興
2. 発表標題 統合失調症病態におけるプロリン代謝経路分子の解析-死後脳研究
3. 学会等名 第43回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長岡敦子, 旗野将貴, 細貝優人, 穴戸理紗, 日野瑞城, 三浦至, 國井泰人, 富田博秋
2. 発表標題 精神疾患ブレインバンクにおける生前登録時の自殺予防と自殺脳研究の取り組み
3. 学会等名 第36回日本総合病院精神医学会総会
4. 発表年 2023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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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