

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32684

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791367

研究課題名(和文)統合失調症におけるミトコンドリア機能異常ならびに病態関連遺伝子の探索

研究課題名(英文) Identification of mitochondrial dysfunction and genetic analysis of mtDNA in schizophrenia patients

研究代表者

市川 智恵 (Ichikawa, Tomoe)

明治薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：60383288

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症患者および健常者のmtDNAにおける変異を探索し、患者のみで同定されるリスクvariantをピックアップした。患者特有と考えられるvariantについて異なる母集団でも解析した結果、複数のvariantが再現性よく検出された。mtDNAのコピー数を測定し、コピー数の多い患者8人中5人で稀な変異を有することが示された。

研究成果の概要(英文)：We searched for distinctive non-synonymous, and rare tRNA variants in mtDNA. Several rare variants were detected in Japanese schizophrenia samples but not in controls. Furthermore, rare variants were identified in five of eight cases showing increased mtDNA copy number.

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 ミトコンドリアDNA

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、妄想や幻聴などを主症状とする代表的な精神疾患であり、人口のおよそ100人に1人が発症するありふれた疾患 (common disease) として注目されている。その原因については不明な点が多く、病原因子の解明と、発症機構に基づいた創薬・治療法開発が求められている。原因に遺伝要因が関与することが強く指摘されており、ゲノム解析が進められているが、報告によって結果の不一致が多く、いまだ確定的な結果は得られていない。近年では、統合失調症の病態にミトコンドリアの異常が関与する可能性が指摘されており、ミトコンドリア病患者で統合失調症様症状を呈した症例が報告されていることや、一部の家系で母性遺伝の報告があることもこれを支持している。また近年では、数学モデルを用いた統合失調症のゲノム解析により、核遺伝子は modifier gene が多く、mtDNA 上に major gene が存在する可能性が示唆されており、mtDNA の先行研究も行われているものの、これまでに有意な結果は得られていない。

## 2. 研究の目的

統合失調症にはミトコンドリアの機能異常が関与し、その中には、mtDNA にコードされる遺伝子の多型・変異による異常、核ゲノムにコードされる遺伝子の発現・機能異常、さらには両者が複合的に関与するミトコンドリア機能低下を有する症例が含まれていると考えた。本研究では、ミトコンドリアの遺伝子変異と活性を合わせて解析することで、これまでの核ゲノムのみでの検討では明らかにできなかった統合失調症の原因について、ミトコンドリアが関与する病態を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

統合失調症患者および対照である健常者

の抹消血から mtDNA を抽出した。mtDNA は2段階 PCR により増幅し、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。コホート1では患者および対照の mtDNA の全遺伝子および tRNA 領域について解析を行った。アミノ酸置換を伴う non-synonymous な variant および tRNA の変異のうち、統合失調症患者でのみ検出され、さらに mtSNP データベースに登録されている精神疾患以外の疾患等で収集された日本人 672 人では報告されていない variant を選択し、これらを統合失調症に関与する可能性のある variant としてリストアップした。これまでに統合失調症および関連疾患で報告のある variant を選び、異なる母集団を用いて、これらの variant が本症患者でさらに検出されるか、コホート2として再現性を検討した (表1)。また、1コピー遺伝子を基準として mtDNA の D-loop 領域の増幅量から mtDNA のコピー数を定量的 PCR 法を用いて解析した。コピー数の多い患者について、さらに mtDNA 上の全遺伝子および tRNA 領域について塩基配列を決定し、稀な変異を有しているか解析した。本研究は倫理委員会の承認を得て、被験者にインフォームドコンセントののち書面にて同意を得て行われた。

## 4. 研究成果

コホート1の結果、mtSNP データベースおよび Pereira ら (Am J Hum Genet, 2009) により報告された variant のうち日本人では報告されていない variant で、今回統合失調症患者からのみ検出された non-synonymous の variant を7ヶ所、tRNA の variant を1ヶ所、合計8ヶ所を同定した。これらは日本人の統合失調症の病態に関与した可能性が示唆された。このうち、PolyPhen ツールでアミノ酸置換が与えるダメージを推定した結果、4ヶ所の variant でダメージが予測された。

この8ヶ所の variant と、我々がこれまでに報告した variant 3ヶ所を含めた11ヶ所

の variant について、コホート 2 として再解析を行った結果、6366A、8027A、9137C、15114T の 4 ヶ所の variant が得られた。再現性が確認されたこれらの variant は特に本症の病態に関与する可能性が示唆された。

表 1 解析対象と結果

Cohort 1	Control	Schizophrenia (SZ)
Number (n)	10	84

↓ All gene and tRNA  
SZ specific rare variants : 8

Previously identified variants : 3

←

Cohort 2	Control	Schizophrenia (SZ)
Number (n)	76	314

↓ 11 variations  
Reproducibility : 4 variants

mtDNA コピー数の解析の結果、本症患者、特に入院患者でコピー数が多い結果が得られた。コホート 1 および 2 で同定された rare variant 6366G>A あるいは 11778G>A を有する症例で高い結果が得られており、全体としてコピー数の多い症例 8 例中 5 例で rare variant が見出された。

以上の結果から、統合失調症ではミトコンドリア機能の低下した患者群の存在が示唆され、ミトコンドリアの機能低下を補うために mtDNA コピー数が増えている可能性が考えられた。

#### 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)

Ichikawa T, Arai M, Miyashita M, Arai M, Obata N, Nohara I, Oshima K, Niizato K, Okazaki Y, Doi N, Itokawa M. 査読あり

Schizophrenia: maternal inheritance and heteroplasmy of mtDNA mutations.

Molecular Genetics and Metabolism 105, 2012, 103-109.

Doi N, Hoshi Y, Itokawa M, Yoshikawa T, Ichikawa T, Arai M, Usui C, Tachikawa H. 査読あり

Paradox of schizophrenia genetics: is a paradigm shift occurring?

Behav Brain Funct., 8(1), 2012, 28

[学会発表](計 8 件)

市川智恵、新井 誠、宮下光弘、鳥海和也、新井麻友美、小幡奈々子、野原 泉、小堀晶子、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、土井永史、糸川昌成、

統合失調症患者に特徴的なミトコンドリア DNA の rare variant の探索、

第8回 日本統合失調症学会、2013年4月 19-20日、浦河町総合文化会館 (北海道)

市川智恵、新井誠、宮下光弘、新井麻友美、小幡菜々子、野原泉、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、土井永史、糸川昌成、統合失調症患者のミトコンドリアDNAにおける rare variant の探索、

第35回 日本分子生物学学会、2012年12月 11-14日、福岡国際会議場 (福岡)

市川智恵、新井誠、宮下光弘、新井麻友美、小幡菜々子、野原泉、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、土井永史、糸川昌成、

統合失調症患者に特徴的なミトコンドリア DNA の多型・変異の探索、

第34回 日本生物学的精神医学会、2012年9月 28日-30日、神戸国際会議場 (兵庫)

Nagafumi Doi, Yoko Hoshi, Masanari Itokawa, Takeo Yoshikawa, Tomoe Ichikawa,

Makoto Arai, Chie Usui, Hirokazu Tachikawa, Impact of Epidemiology on Molecular Genetics of Schizophrenia. I. Persistence Criterion for Nuclear Susceptibility Genes, Paulo International Medical Symposium 2012 entitled Schizophrenia - Epidemiology and Biology. 2012年9月28日-30日、フィンランド

Nagafumi Doi, Yoko Hoshi, Masanari Itokawa, Takeo Yoshikawa, Tomoe Ichikawa, Makoto Arai, Chie Usui, Hirokazu Tachikawa, Impact of Epidemiology on Molecular Genetics of Schizophrenia.

II. Mitochondrial DNA Hypothesis for Schizophrenia, Paulo International Medical Symposium 2012 entitled Schizophrenia - Epidemiology and Biology. 2012年9月28日-30日、フィンランド

市川智恵, 新井誠, 宮下光弘, 新井麻友美, 野原泉, 小幡菜々子, 大島健一, 新里和弘, 岡崎祐士, 土井永史, 糸川昌成、統合失調症患者末梢血におけるミトコンドリア DNAの遺伝子解析、第7回 日本統合失調症学会、2012年3月16日 愛知県産業労働センター (愛知)

市川智恵、新井誠、宮下光弘、野原泉、小幡菜々子、新井麻友美、田中陽子、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、土井永史、糸川昌成、統合失調症患者由来ミトコンドリア DNAの遺伝子解析、第6回 日本統合失調症学会、2011年7月18日、札幌コンベンションセンター (北海道)

市川智恵、新井誠、宮下光弘、野原泉、小幡菜々子、新井麻友美、田中陽子、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、土井永史、糸川昌成、統合失調症患者におけるミトコンドリア DNAの遺伝子解析、第33回 日本生物学的精

神医学会、2011年5月22日、グランパシフィック LE DAIBA(東京)

〔図書〕(計 1 件)

Nagafumi Doi, Yoko Hoshi, Masanari Itokawa, Takeo Yoshikawa and Tomoe Ichikawa  
Impact of Epidemiology on Molecular Genetics of Schizophrenia  
EPIDEMIOLOGY INSIGHTS, Chapter 7, pp113-138. 2012  
Edited by Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha (ISBN 978-953-51-0565-7)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

市川 智恵 ( ICHIKAWA TOMOE )  
明治薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号 : 60383288