

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293251

研究課題名(和文) アミノ酸転移酵素AGXT2に注目した精神障害の解析研究

研究課題名(英文) Association analyses between aminotransferase AGXT2 and mental disorders.

## 研究代表者

上野 修一 (Ueno, Shu-ichi)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80232768

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,000,000円

研究成果の概要(和文)：AGXT2(アラニン：グリオキシル酸アミノ基転移酵素2型)は、チミン分解の中間産物D-3-アミノイソ酪酸に関わる唯一の酵素であり、非対称性ジメチルアルギニンも分解することから、一酸化窒素系に関わることがわかっている。AGXT2は脳にも存在し、日本人の約3割が酵素活性を欠損していることから、日本人での精神神経疾患との関連が予想される。まず、ラットを用いてAGXT2酵素が脳に広範に分布すること、そして、AGXT2活性欠損の遺伝メカニズムを明らかにし統合失調症と関連しないことを示した。最後に健常者の頸動脈内中膜厚とAGXT2遺伝子機能性多型に有意な相関があり、血管障害と関わることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：AGXT2(alanine: glyoxylate aminotransferase 2) is an aminotransferase that degrades not only a D-3-aminoisobutyrate, a middle product of thymine degradation, but also an asymmetric dimethylarginine that inhibits nitric oxide production. One third of Japanese lack AGXT2 activity and the activity is distributed in brain as well as liver and kidney. In this study, we indicated 1) distribution of Agxt2 gene products in the rat brain, 2)genetic mechanism that four functional SNPs in the AGXT2 gene are related to its activity, 3)no association between the AGXT2 gene and schizophrenia, and 4)positive association between the AGXT2 gene and carotid Intima-Media Thickness, which is related to hypertension, in Japanese subjects. We suggest that the functional SNPs of the AGXT2 gene are not related to functional psychoses but related to vascular brain diseases, such as vascular dementia.

研究分野：精神医学

キーワード：精神神経疾患 アミノ基転移酵素 機能性多型 関連解析 統合失調症 頸動脈内中膜厚 高血圧 脳血管障害

## 1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素 (nitric oxide, NO) は、グアニル酸シクラーゼを活性化して cGMP を合成する気体であるが、血管拡張、免疫系での殺菌作用に加え、神経系では神経伝達物質として作用し、拡散によって短時間に多くの神経細胞に影響を与えることがわかっている。NO は、生体内では NOS により、アルギニンと酸素から合成されるが、非対称性ジメチルアルギニン (asymmetrical dimethyl arginine, ADMA) により競合阻害を受ける。ADMA が脳内に存在し、血管のみでなく、小脳皮質、海馬、視床下部などで高濃度であることから、脳内で NOS を阻害している可能性がある。ADMA の分解には、ジメチルアルギニン-ジメチルアミノ水酸化酵素 (dimethyl-arginine dimethyl-aminohydrolase, DDAH) および、アラニン:グリオキシル酸アミノ基転位酵素 2 (alanine: glyoxylate aminotransferase, AGXT2) が関与する。実は、AGXT2 は、核酸 thymine の分解中間産物 D-3-aminoisobutyric acid (D-AIB) の分解に関わる唯一の酵素で、腎、肝以外に脳に発現されているがその理由は分かっていなかった。また、日本人の約 3 割は本酵素活性を欠いているため、AGXT2 活性の個人差が、ADMA 量に影響し、NOS 活性に影響を与え、精神障害の発症や症状と関連すると予想した。

## 2. 研究の目的

- (1) AGXT2 の脳内分布を明らかにする。
  - (2) AGXT2 遺伝子の機能欠失の背景を明らかにする。
  - (3) 疾患-対照を用いた遺伝子関連解析 (case-control study) を行う。
- 以上から、AGXT2 の生体内での意義、欠失機構を解明し、精神障害との関連を確認する。これまで、薬理的機序から神経伝達物質、脳形態変化から神経栄養因子、遺伝子連鎖解析から細胞内伝達系などと、精神障害の病因や作用機序が理解されつつある。今回の解析

により、生体内で通常の神経伝達物質とまったく別のメカニズムを介した NO 系の精神障害に関係する役割が明らかになる可能性がある。AGXT2 は、日本人で活性に二峰性を示す遺伝的背景を持つアミノ基転移酵素であり、わが国でのみ行える研究である。AGXT2 が関与する NO は、気体であり、AGXT2 活性には人種差があり、人類遺伝学的にも興味もたれる。

## 3. 研究の方法

### (1) AGXT2 の脳内分布の検討

AGXT2 は、腎臓、肝臓、脳にのみ発現している。詳細な脳での分布について遺伝子中間産物 mRNA およびタンパク質で調べる。まずは、ラット脳を試料として定量 real-time PCR 法を用いて AGXT2 遺伝子 mRNA の発現の脳内分布を調べる。腎、肝、脳組織 (大脳皮質、大脳白質、線条体、視床、中脳、橋、小脳) より RNA 分画を精製し、Taqman probe を用いた定量的 real-time PCR 法により AGXT2 mRNA の分布を明らかにする。

### (2) AGXT2 遺伝子の欠失変異 (機能性多型) の決定

チミンの分解中間産物 3-アミノイソ酪酸 (3-aminoisobutyrate, AIB) は、通常のアミノ酸が L 体であることと異なり、D 体の光学異性体である。D-AIB は、体内では AGXT2 のみにより分解され、分解されないものは、尿に排泄される。尿中 BAIB 排泄量は、人種によって大きく異なり、白人は、そのほとんどが低排泄であるのに比較して、日本人では、約 3 割が高排泄であり、BAIB の高排泄は劣性遺伝性に遺伝する。AGXT2 遺伝子は、5 番染色体短腕 5p13.2 に存在し、14 個のエクソンからなり、最近、AGXT2 遺伝子の第四番エクソンにある一塩基多型 (rs37369) と尿中 BAIB 排泄量が関連していることが示されたが、申請者は、AGXT2 遺伝子の exon6 の一塩基多型 (rs180749) も酵素活性に影響を与えるセン

ス変異であることを確認している。これら 2 つの多型は連鎖平衡の位置にあるため、異なった創始者効果を持っているとされ、さらに例数を増やし、それぞれの多型が、どのように表現型に影響を与えているかについて、ボランティアの遺伝子解析からその遺伝的の基盤を探る。

### (3) 精神障害との関連解析

AGXT2 が精神障害と関連するかどうかを調べるために、疾患-対照関連解析を行う。AGXT2 遺伝子の酵素活性欠失の機能性多型との解析を行う。精神障害として、NOS1 遺伝子との関連が報告された統合失調症をまず解析する。現在、統合失調症については約 600 名、健常対照者 500 名を越える遺伝子 DNA 試料を有しており、愛媛大学の教室で、これらを第一セットとして解析を行う。また、NO は、血管変化に関係するため、健常ボランティアを用いた解析を行ったのちに、脳血管障害についても関連解析を行う予定である。

## 4. 研究成果

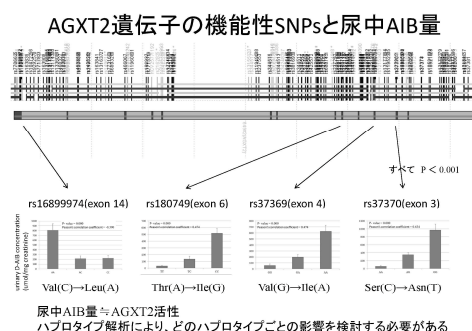
### (1) AGXT2 の脳内分布

ブタ脳での AGXT2 酵素活性を調べると、腎より活性はやや低い、すべての脳組織に普遍的に酵素が存在することを明らかにした。その詳細な分布を検討する必要があると考え、ラット脳組織(大脳皮質、大脳白質、線条体、視床、中脳、橋、小脳)を用い、Agxt2 遺伝子の Taqman probe を用いた定量的 real-time PCR 法により、mRNA の分布を明らかにした。そして、抗ヒト AGXT2 抗体を用いて、ラット脳での分布を免疫組織学的に解析した。

### (2) AGXT2 遺伝子の欠失変異(機能性多型)の決定

AGXT2 遺伝子には 4 つの機能性一塩基多型(SNPs)があり、それぞれの SNP が別々に酵素活性に影響し、AGXT2 活性が欠損すること

を報告した(下図、4 つのエクソンにある機能性多型によって、AGXT2 酵素活性が変化し、その結果、尿中に排泄する D-AIB 量が決まる)。



### (3) 精神障害(統合失調症)および血圧との関係の健常者を用いた解析

統合失調症群 1136 名、健常対照群 1908 名を用いて AGXT2 遺伝子機能性多型と統合失調症の相関解析研究を行い関連を否定した。しかし、Agxt2 ノックアウトマウスを用いた研究から血圧の上昇が報告されたことや、ヒト血液中の代謝産物との関連が報告されたことから、血圧と関連する頸部血管膜厚との関係を調べた。AGXT2 活性を欠損したものでは、有意に頸部血管壁が厚いことを報告した。以上から、AGXT2 活性を欠く機能性多型を持つものでは、高血圧を呈し、脳血管障害などを起こしやすいことが考えられた。

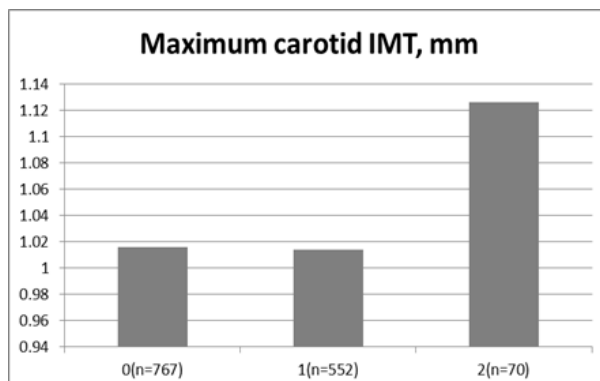


図: AGXT2 遺伝子機能性多型のハプロタイプ解析から酵素活性のあるものを 0、活性が半分であるヘテロ接合性のものを 1、酵

素活性の欠損するものは2と置いた時の頸部血管厚。AGXT2 活性を欠くものでは血管が厚いことがわかる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

M. Abe, S. Ochi, Y. Mori, K. Yamazaki, T. Ishimaru, Y. Yoshino, R. Fukuhara, S. Tanimukai, S. Matsuda, S. Ueno.

Distribution of D-3-aminoisobutyrate-pyruvate aminotransferase in the rat brain.

**BMC Neurosci** 15:53, 2014 査読有

Y. Yoshino, M. Abe, S. Numata, S. Ochi, Y. Mori, T. Ishimaru, M. Kinoshita, H. Umehara, K. Yamazaki, T. Mori, T.

Ohmori, S. Ueno. Missense variants of the alanine:glyoxylate

aminotransferase 2 gene are not associated with Japanese schizophrenia patients.

**Progress Neuro-Psychopharmacol**

**Biological Psychiatry** 53C:137-141, 2014 査読有

Y. Yoshino, K. Kohara, M. Abe, S. Ochi, Y. Mori, K. Yamashita, M. Igase, Y. Tabara, T. Mori, T. Miki, S. Ueno.

Missense variants of the alanine:glyoxylate aminotransferase 2 gene correlated with carotid atherosclerosis in Japanese population.

**J Biol Regul Homeost Agents**

28:605-614, 2014 査読有

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

上野 修一 (Ueno, Shuichi)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：80232768

### (2)研究分担者

安部 賢郎 (Abe, Masao)

愛媛大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80444735

越智 紳一郎 (Ochi, Shinichiro)  
愛媛大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：40568911  
追加：平成 27 年 4 月 1 日

### (4)研究協力者

吉野祐太 (YOSHINO, Yuta)  
愛媛大学医学部附属病院・医員  
研究者番号：10646243