

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860991

研究課題名(和文) 発達依存的に発現応答を示す遺伝子に関する精神疾患発症年齢に着目した死後脳解析

研究課題名(英文) Postmortem brain study of development-dependently expressed genes in mental disorders focusing on onset age

研究代表者

上里 彰仁 (Uezato, Akihito)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：90547449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：発症が思春期以後である精神疾患では、思春期に成熟する神経回路の異常やそれに関連する遺伝子や分子の変化が想定される。動物実験により、シナプス関連タンパクをコードするSAP97遺伝子は、臨界期以後にのみNMDA受容体遮断薬に反応することがわかり、統合失調症の発達依存的リスク遺伝子と位置付けられた。統合失調症患者の死後脳におけるSAP97の新規スプライシングバリエーションmRNAを測定したところ、早期発症統合失調症において発現低下と遺伝子型の関連が見られ、疾患の発症過程に関与する可能性が示唆された。

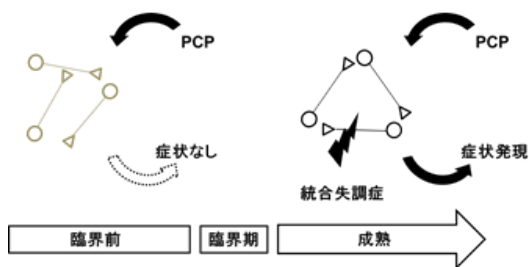
研究成果の概要(英文)：In mental diseases with post-adolescent onset, a dysfunction of neural circuits that mature during adolescence or alterations of the related molecules and genes are speculated. We found the expression of synapse-associated protein 97 (SAP97) increased only after a developmental critical period in response to NMDA receptor blocker administration, therefore, SAP97 gene was regarded as development-dependent risk gene of schizophrenia. The mRNA expression analysis of SAP97 new splicing variant in postmortem brains of schizophrenia revealed the reduced expression in early-onset schizophrenia, indicating its involvement in the disease development process.

研究分野：精神医学

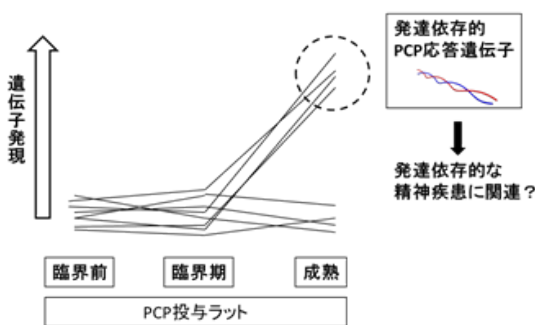
キーワード：死後脳 遺伝子 精神疾患

1. 研究開始当初の背景

統合失調症や気分障害などの精神疾患の発症が思春期以後である事実から、これらの疾患の発症において、思春期に成熟する神経回路や関連する分子・遺伝子の異常が推測される。ラットを用いた動物実験では、ある臨界期以前に NMDA 受容体遮断薬であるフェンサイクリジン (PCP) を投与しても行動異常を惹起せず、臨界期以後に PCP を投与した場合、過動や常同行動などの統合失調症様症状を惹起する。このときラット脳内では、臨界期前の PCP 投与では発現応答しない一方、臨界期以後の PCP 投与には発現応答する遺伝子群が存在し、これらが異常行動に関連していることが予想されると同時に、精神疾患の発達依存的な発症様式に関連していると考えられる。



我々はこれらの遺伝子を複数同定し、発達依存的リスク遺伝子として位置づけた。発達依存的リスク遺伝子は、グルタミン酸受容体複合体を構成する分子や、軸索骨格に関連する分子、内皮細胞の接着を促進する分子などが含まれ、発達臨界期で成熟すると想定される神経回路への関与を予想させる。精神疾患を持つ患者の脳内で、これらの遺伝子が発達依存的な異常を示し、発症年齢に関連している可能性がある。

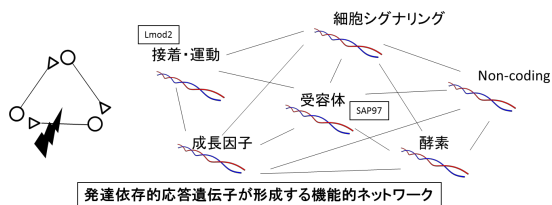


2. 研究の目的

このように、発達依存的に発現応答する遺伝子を検出しその機能や疾患における変化を解析することにより、発達依存的に発症する精神疾患における神経・遺伝子ネットワークを理解することができると考えられる。このような考えのもと、本研究は以下のことを目的とする。

・発達依存的に発現応答する遺伝子の検出と機能的マッピング：統合失調症の陽性症状・

陰性症状・認知機能障害のすべてを誘発するグルタミン酸伝達阻害薬である PCP による発現応答と、主に陽性症状のみを誘発するドパミン伝達促進薬であるメタンフェタミンによる発現応答の違いに着目して発達依存的発現応答遺伝子を検出する。また発現応答した遺伝子をもその機能により分類し、機能的ネットワークを検討する。



・検出した遺伝子の精神疾患死後脳における発現の検討：検出した遺伝子に関して死後脳を用いて発現量を解析する。その際、これらの遺伝子は神経・遺伝子ネットワークの発達に関連すると考えられるため、精神疾患の発症年齢との関連を検討する。

3. 研究の方法

(1)発達依存的に発現応答する遺伝子を検索するために、幼若ラットと成熟ラットに PCP を投与し、新皮質・視床における mRNA 発現量を DNA microarray を用いて評価する。PCP, methamphetamine, haloperidol 前投与による発現パターンの違いを調べ、スクリーニングした遺伝子の機能を検討する。

(2)着目する遺伝子を複数選択し、死後脳バンクより提供された死後脳組織（統合失調症・双極性障害・健常対照者）を用いて、RT-PCR 法、in situ hybridization 法を利用して mRNA 発現量を評価する。

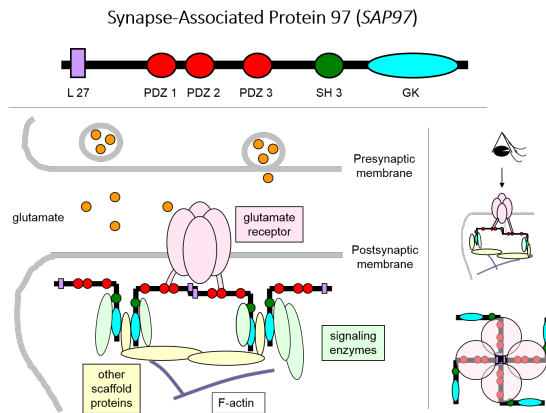
(3)発症年齢を考慮した解析

死後脳研究の対象とする遺伝子は、精神症状を誘発する薬剤に発達依存的に応答したのものであり、このことは精神疾患発症のタイミング（発達依存性）と関連している可能性があることを示唆している。したがって本死後脳研究では、サンプルの臨床情報を利用して、発症年齢が 18 歳未満の若年発症精神疾患とそれ以外、健常対照群を比較する。

4. 研究成果

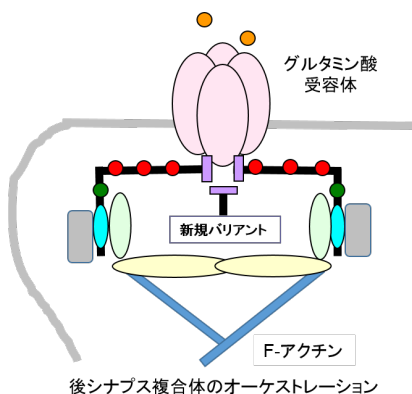
発達依存的リスク遺伝子として、シナプス関連タンパクをコードする SAP97 遺伝子が同定された。

SAP97 は 4 量体を形成して、後シナプスにおける NMDA 受容体を含むグルタミン酸受容体の足場タンパクとして機能すると考えられている。

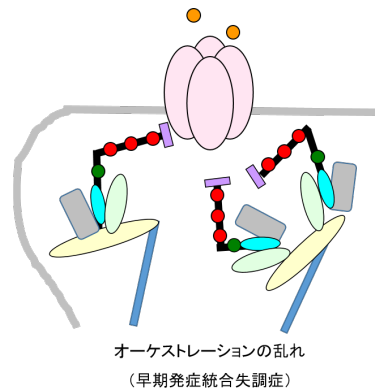


本研究では、SAP97 遺伝子の既知の mRNA バリエーションと、新たに同定された新規スプライシングバリエーションについて、死後脳における発現を発症年齢を考慮して解析した。既知バリエーションでは、早期発症統合失調症・非早期統合失調症・早期発症双極性障害・非早期発症双極性障害のいずれにおいても健常対照者と発現の違いを認めなかった。しかし、新規スプライシングバリエーションでは、早期発症統合失調症において、他の群に比べて発現の低下を認めた。更に、この新規バリエーションの発現は、本遺伝子内に存在する一塩基多型の遺伝子型の違いに相関があることがわかった。

これらのことから、我々は以下の仮説を提案した。すなわち、SAP97 タンパクは、受容体タンパクや他の足場タンパク、F-アクチンなどを集結し、後シナプスの受容体複合体を形成し、グルタミン酸シグナル伝達において協調して作動する（正常な後シナプスオーケストレーション）。



一方、新規バリエーションは死後脳において一定の割合で発現していることがわかったが、これがコードするタンパクは、集結を担うドメインを中心としており、後シナプス受容体複合体の均衡を仲介していると考えられる。早期発症統合失調症では新規バリエーションの発現が低下していたが、このタンパクの発現が低下により、複合体を形成する各分子どうしのオーケストレーションが乱れ、より早期の症状発現に貢献したと推測される。



したがって今後の展望としては、本新規バリエーションを含めたシナプス関連発達依存的リスク遺伝子の発現を早期発症統合失調症死後脳において解析し、後シナプスオーケストレーション障害仮説を検証することである。これらの遺伝子がコードするタンパクについての死後脳を用いたプロテオーム解析や、培養細胞を用いたタンパクとグルタミン酸受容体の相互作用の解明を通して、後シナプスオーケストレーション障害の分子生物学的理解を深める。また大規模ゲノムサンプルを用いて遺伝子関連解析を行い早期発症との関連を検証する。

#### 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5件)

Uezato A, Yamamoto N, Iwayama Y, Hiraoka S, Hiraaki E, Umino A, et al. Reduced cortical expression of a newly identified splicing variant of the DLG1 gene in patients with early-onset schizophrenia. *Transl Psychiatry* 2015; 5: e654. doi: 10.1038/tp.2015.154. 査読あり

上里彰仁, 山本直樹, 西川徹. 統合失調症のグルタミン酸仮説と診断の可能性. *精神科治療学* 2015; 30(1): 11-17. 査読なし

上里彰仁, 山本直樹, 西川徹. グルタミン酸仮説における治療抵抗性と今後の展望. *臨床精神薬理* 2014; 17(12): 1625-1630. 査読なし

上里彰仁, 西川徹. 統合失調症の分子病態. *日本臨牀* 2013; 71(4): 591-598. 査読なし

上里彰仁. グルタミン酸/D-セリン系と精神疾患. *D-アミノ酸研究会誌* 2013; 1(1): 1-6. 査読なし

[学会発表](計5件)

上里彰仁. 統合失調症に対する D-cycloserine 二重盲検試験の概要と症例報告. 第11回 D-アミノ酸学会学術講演会; 新潟県長岡市. シティープラザホールアオーレ長岡. 2015.8.25.

Uezato A. Genetic association and postmortem analyses of PAPST1, a D-serine modulator in schizophrenia and bipolar disorder. The 2nd International Conference of D-Amino Acid Research; Utsunomiya-shi, Tochigi, Japan. Tochigi Prefectural Culture Center. 2014.9.3.

上里彰仁. 精神疾患における死後脳および遺伝子研究. 日本生物学的精神医学会将来計画委員会企画・第三回若手研究者育成プログラム; 奈良県奈良市. 奈良県文化会館. 2014.9.30.

上里彰仁. 発達依存的に PCP 応答する遺伝子の双極性障害死後脳における発現. 日本生物学的精神医学会将来計画委員会企画・第二回若手研究者育成プログラム; 京都府京都市. 国立京都国際会館. 2013.6.23

上里彰仁. 統合失調症とグルタミン酸系: シンポジウム 難治性病態の打開に向けて ~統合失調症~. 第 23 回日本臨床精神神経薬理学会・第 43 回日本神経精神薬理学会 合同年会; 沖縄県宜野湾市. 沖縄コンベンションセンター. 2013.10.25

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上里 彰仁 (UEZATO, Akihito)

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号: 90547449