

# 統合失調症の分子病態

渡部 雄一郎

新潟大学医学部医学科総合医学教育センター・医学教育推進部門

## Molecular Pathology of Schizophrenia

Yuichiro WATANABE

*Division of Medical Education, Comprehensive Medical Education Center,*

*School of Medicine, Faculty of Medicine, Niigata University*

### 要 旨

統合失調症は複数の遺伝要因と環境要因が相互に影響し合って発症する複雑な脳疾患であると考えられている。統合失調症の分子病態はいまだ明らかでないが、筆者らはその一端を解明しつつある。統合失調症のサイトカイン仮説に基づいて、統合失調症患者の死後脳や末梢血におけるサイトカイン発現異常を明らかにするとともに、高い妥当性を有する統合失調症の動物モデルとして新生仔期サイトカイン投与動物を作成した。また、ゲノム解析により疾患感受性座位を同定し、ごく一部ではあるが遺伝要因を明らかにした。さらに、統合失調症の血液検査キットの開発を目指して、末梢血トランスクリプトーム解析に基づく診断分類予測モデルを構築し、このモデルにより高い感度・特異度をもって患者群と対照群を判別できることを示した。統合失調症の分子病態を完全に解明し、妥当性の高い診断法や根治的な治療法の開発につながるために、今後も研究を進めていくことが必要である。

キーワード：ゲノム，サイトカン，統合失調症，動物モデル，トランスクリプトーム

### はじめに

統合失調症は複数の遺伝要因と環境要因が相互に影響し合って発症する複雑な脳疾患であると考えられているが、その分子病態はいまだ明らかでない。統合失調症の分子病態が解明されれば、妥当性の高い診断法や根治的な治療法の開発につながる可能性がある。本稿では、統合失調症の分子病態解明を目指して筆者らが取り組んできた、①死後脳・末梢血サイトカイン発現解析、②新生仔期サ

イトカイン投与動物モデル解析、③ゲノム解析、④末梢血トランスクリプトーム解析に関する研究成果を概説する。紙幅の都合から文献の引用は最小限としたため、詳細については筆者らの総説<sup>1)–9)</sup>を参照されたい。

### 死後脳・末梢血サイトカイン発現解析

サイトカイン (cytokine) とは細胞間の情報を伝達するタンパク質の総称であり、細胞の増殖や分

Reprint requests to: Yuichiro WATANABE  
Division of Medical Education Comprehensive  
Medical Education Center School of Medicine  
Faculty of Medicine Niigata University  
1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,  
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757  
新潟大学医学部医学科総合医学教育センター・  
医学教育推進部門 渡部 雄一郎

表1 新生仔期サイトカイン投与動物の認知行動発達

サイトカイン	運動量		驚愕反応		Prepulse inhibition		社会行動
	3週齢	8週齢	3週齢	8週齢	3週齢	8週齢	8週齢
EGF	=	(高)	=	高	=	低	低
Epiregulin		=		高		低	
IFN- $\gamma$	低	=	=	=	=	=	=
IL-1 $\alpha$	=	=	=	高	=	低	高
IL-2	高	=	=	=	=	=	=
IL-6	=	=	=	=	=	=	=
LIF	低	=	=	=	=	低	
NRG-1		=		=		低	低
TGF- $\alpha$		=		高		低	
TNF- $\alpha$	=	=	=	=	=	=	=

EGF, epidermal growth factor; IL, interleukin; IFN, interferon; LIF, leukemia inhibitory factor; NRG, neuregulin; TGF, transforming growth factor; TNF, tumor necrosis factor.

化, 細胞死などに関与する。サイトカインの機能は, 単一のサイトカインが様々な生理活性をもつ多様性 (pleiotropy) および複数のサイトカインが同一の作用をもつ重複性 (redundancy) によって特徴づけられる。免疫系や血液系でよく知られているように多種多様なサイトカインは相互に作用し, 複雑なネットワークを形成している。中枢神経系においてもサイトカインの生理機能に関する研究が進められ, 神経細胞の発生・分化・生存維持, シナプス可塑性など神経発達に重要な役割を果たしていることが明らかにされている。

那波らのグループは, 統合失調症患者の死後脳や末梢血におけるサイトカイン発現異常を明らかにしてきた。例えば, 代表的な炎症性サイトカインである interleukin- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) とその受容体の内在性アンタゴニスト IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) のタンパク量を前頭前皮質, 海馬, 頭頂皮質, 被殻で測定し, IL-1 $\beta$  は対照群と差がなかったものの IL-1RA は前頭前皮質での

み減少し, その mRNA レベルも同部位で低下していることを示した<sup>10)</sup>。一方, 血清の IL-1RA タンパク量は, 抗精神病薬を服用していない患者群で増加していたが, 慢性期の患者群では変化が認められなかった。同グループからは, 他にも brain-derived neurotrophic factor (BDNF), epidermal growth factor (EGF), neuregulin-1 (NRG1) の発現異常が報告されている。

#### 新生仔期サイトカイン投与動物モデル解析

さらに那波らのグループは, 新生仔期サイトカイン投与動物モデルを作製し, その妥当性を検証した。具体的には, 生後2~10日まで過剰量のサイトカインをラットあるいはマウスに皮下投与し, 認知行動発達を観察した。ここでは, 筆者が中心となって解析した leukemia inhibitory factor (LIF) 投与ラット<sup>11)</sup> について述べる。投与を終了して1週間以上経過した3週齢における新奇環

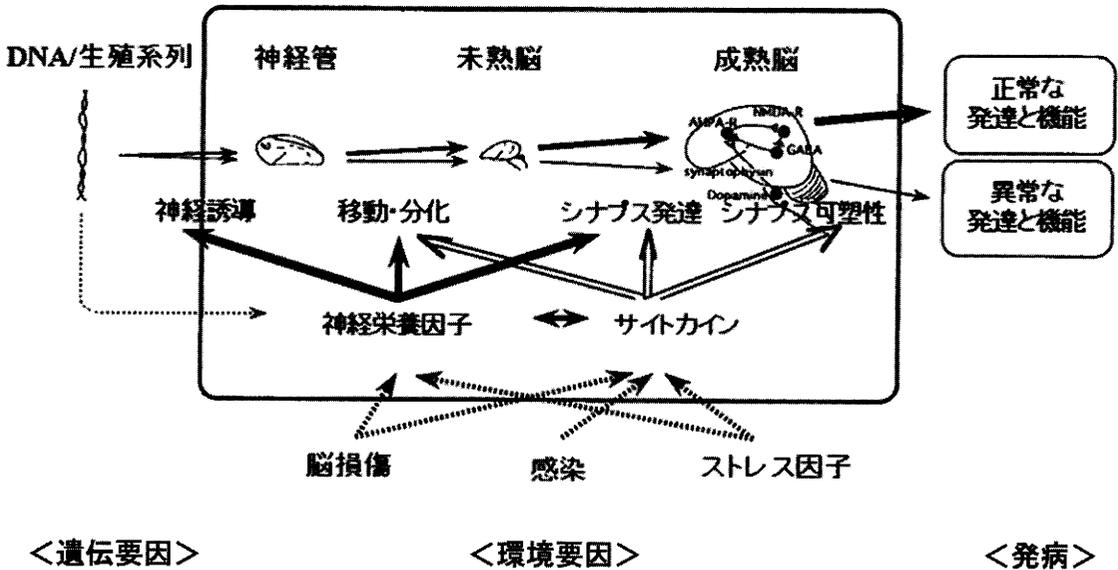


図1 統合失調症のサイトカイン仮説

境下の運動量は減少していたが、この変化はラットが性成熟を迎える8週齢では消失していた。また、プレパルス抑制 (prepulse inhibition : PPI) は、3週齢では対照群と有意な差を認めなかったが、4週齢以降は低下が認められた。PPIとは音などの強い感覚刺激 (例：120 dB) の直前 (例：0.1秒前) にそれ自身では驚愕反応を引き起こさない程度の弱いプレパルス (例：75 dB) を予め負荷することで驚愕反応が減弱する現象である。PPI低下は、統合失調症やハンチントン舞踏病などの精神・神経疾患を有する患者で報告されており、脳内の感覚運動ゲート機構 (sensorimotor gating) の障害を反映していると考えられている。PPIはヒトと動物でほぼ同じ試験デザインが適応できるという利点があり、統合失調症動物モデルの評価法として汎用されている。新生仔期 LIF 投与ラットは、性成熟後に PPI 低下を示したことから、統合失調症の動物モデルとなりうる可能性が示唆された。

他のサイトカインについても同様の解析がなさ

れており、その種類によって惹起される認知行動発達の障害はそれぞれ異なることが明らかとなった (表1)。統合失調症の動物モデルという観点からみると、EGF あるいは NRG1 投与動物は PPI 以外にも社会行動の低下やメタンフェタミンへの過感受性を示すなど表面妥当性 (face validity) が最も高く、IL-1 $\alpha$  投与動物がそれに続くと考えられた。また EGF, NRG1, IL-1 $\alpha$  投与動物では、PPI 低下が抗精神病薬投与により改善されたことから一定の予測妥当性 (predictive validity) を有しているとみなせる。さらに EGF の発現異常が統合失調症患者の死後脳において認められていることから、新生仔期 EGF 投与ラットは構成妥当性 (construct validity) の高い理想的な動物モデルといえる。

死後脳・末梢血サイトカイン発現解析および新生仔期サイトカイン投与動物モデル解析の結果に基づいて、那波らはサイトカインのシグナル伝達異常が統合失調症の病態に関与しているとする統合失調症のサイトカイン仮説を提唱した (図1)<sup>8)</sup>。

つまり、何らかの遺伝要因が神経発達における脆弱性を形成し、さらに脳損傷、感染あるいは心理的ストレス因子といった環境要因が加わることで、正常な神経発達が阻害され、青年期以降に統合失調症の発症に至ると考えられる。

### ゲノム解析

統合失調症のようなありふれた疾患の感受性多型の頻度は高く、相対危険度は低いであろうと考えられている (common disease - common variant 仮説)。最近では、ゲノム上に存在する頻度の比較的高い一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) を (半) 網羅的に大規模サンプルで解析するゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) が行われるようになり、いくつかの疾患感受性遺伝子が同定されている。日本人における GWAS およびフォローアップ研究では、新潟大が収集したサンプルを含む大規模サンプル (症例 6,668・対照 12,791) のメタ解析によって、*NOTCH4* の rs2071287 (T アレル) と統合失調症とのゲノムワイドに有意な関連が示された (オッズ比 0.87, 95%信頼区間 0.83 ~ 0.92)<sup>12)</sup>。この SNP (C/T) はイントロンにあるスプライシングエンハンサーと予測され、C アレルによって転写因子 GATA3 (GATA binding protein 3) の結合部位配列が変化する。GATA3 は Th2 サイトカインの遺伝子発現に必須であり、Th2 サイトカインの分泌を促進する。これらのことから、rs2071287 の C アレルは、Th2 サイトカインの機能異常を惹き起こすことで統合失調症のリスクを増大させるのかもしれないが、rs2071287 の機能解析により実験的な裏付けを行う必要がある。

GWAS では統合失調症の遺伝要因 (3分の1) の一部のみを説明できると推定されており、頻度は稀だが相対危険度の高い統合失調症のリスク変異を同定することも重要である (common disease - rare variant 仮説)。染矢らのグループは、統合失調症の発症に大きな効果をもつ遺伝子が存在すると考えられる多発罹患家系のゲノム解析を進

めてきた。金子らは、家系内で DNA サンプルの収集が可能であった 15 人 (罹患患者 6 人、非罹患患者 8 人、罹患状態不明者 1 人) について、常染色体上の 322 個のマイクロサテライト・マーカーを用いた連鎖解析を行い、候補領域として 4q (ロッド値 1.69) と 3q (ロッド値 1.66) を見出した<sup>13)</sup>。布川らは、陽性領域内の 3q13.3 に存在するドパミン D3 受容体遺伝子について、多発罹患家系サンプルを用いたエクソン・シーケンスにより検索された変異を含め関連解析を行ったが、統合失調症との有意な関連は認められなかった<sup>14)</sup>。このように、統合失調症のような多因子疾患においては、連鎖解析から得られる広い陽性領域からリスク座位を同定することに大きな困難を伴っていた。いわゆる次世代シーケンサーの登場により、ゲノム中の全エクソン (エクソーム) を (半) 網羅的にシーケンスするエクソーム解析の実施が可能となった現在では、多発罹患家系のエクソーム解析を行うことにより、統合失調症の発症に強い影響を与えるリスク変異を同定できるものと期待される。筆者らは、多発罹患家系内の罹患患者 2 人と非罹患患者 1 人についてエクソーム解析を実施し、7つのミスセンス変異を候補リスク変異として選択した。これらの候補リスク変異について家系内における疾患との共分離を解析したところ、罹患患者 5/6 人、非罹患患者 0/8 人、罹患状態不明者 0/1 人がヘテロ接合体である変異を同定した。今後は、この変異が特定の家系のみでなく一般に統合失調症の発症リスクに大きな効果を有していることを確認するために、大規模症例・対照サンプルを用いた関連解析を行う予定である。

### 末梢血トランスクリプトーム解析

死後脳研究は統合失調症の分子病態を理解するためには重要だが、実際の臨床現場で脳組織を診断に利用することは現実的ではない。染矢らのグループは、統合失調症の血液検査キット開発を目指して、52の症例 (抗精神病薬未投与あるいは無投与) と 49の対照サンプルについて、DNA マイクロアレイ (54,847プローブ) による末梢全血の

トランスクリプトーム解析を実施した<sup>15)</sup>。品質チェックを通過した19,129プローブの中で、両群間で発現の差があったのは729プローブであった。さらにシグナル強度や変動係数に基づいて127プローブを選択し、学習例（症例35・対照33）についてニューラルネットワーク解析を行い、14プローブを用いた分類予測モデルを構築した。このモデルにより、学習例では症例31/35（88.6%）および対照31/33（93.2%）、試験例でも症例14/17（82.4%）および対照15/16（93.8%）と高い感度と特異度をもって両群を判別することができた。これらの結果は大規模サンプルにより追試される必要があるものの、統合失調症の血液検査キットが実用化されれば早期診断の支援に役立つものと思われる。

## ま と め

統合失調症のサイトカイン仮説に基づいて、統合失調症患者の死後脳や末梢血におけるサイトカイン発現異常を明らかにするとともに、新生仔期サイトカイン投与動物が高い妥当性を有する統合失調症の動物モデルであること示した。また、ゲノム解析により疾患感受性座位を同定し、ごく一部ではあるが遺伝要因を明らかにした。さらに、統合失調症の血液検査キットの開発を目指して、末梢血トランスクリプトーム解析に基づく診断分類予測モデルを構築し、このモデルにより高い感度・特異度をもって患者群と対照群を判別できることを示した。統合失調症の分子病態を完全に解明し、妥当性の高い診断法や根治的な治療法の開発につなげるために、今後も研究を進めていくことが必要である。

## 謝 辞

研究にご参加いただいた多くの方々に謝意を表します。本稿で取り上げた研究は、科学研究費などによる支援を受けて、新潟大学大学院医歯学総合研究科精神医学分野・染矢俊幸教授、同脳研究所分子神経生物学分野・那波宏之教授をはじめとする多くの研究者と共同で実施した。利益相反はない。

## 文 献

- 1) 渡部雄一郎, 那波宏之: 神経栄養因子・サイトカインと精神疾患. 現代医療 33: 2697-2702, 2001.
- 2) 那波宏之, 津田法子, 渡部雄一郎, 任海 学, 水野 誠: 炎症性サイトカインと統合失調症; 複雑な環境-遺伝子相互作用. 分子精神医学 5: 301-307, 2005.
- 3) 津田法子, 任海 学, 渡部雄一郎, 染矢俊幸, 那波宏之: サイトカインを用いた統合失調症のマウスモデル-環境・遺伝子の相互作用-. 脳と精神の医学 17: 53-58, 2006.
- 4) 那波宏之, 渡部雄一郎, 染矢俊幸: 統合失調症におけるサイトカインの機能と役割. Brain Medical 20: 73-78, 2008.
- 5) 布川綾子, 渡部雄一郎, 染矢俊幸: 精神疾患とゲノム多様性. 治療学 43: 307-311, 2009.
- 6) 渡部雄一郎, 布川綾子, 金子尚史, 那波宏之, 染矢俊幸: 統合失調症とゲノミックス. 臨床精神医学 38: 1031-1037, 2009.
- 7) 渡部雄一郎, 那波宏之, 染矢俊幸: モデル動物を用いた統合失調症病態解析. 脳と精神の医学 20: 213-220, 2009.
- 8) Watanabe Y, Someya T and Nawa H: Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: evidence from human studies and animal models. Psychiatry Clin Neurosci 64: 217-230, 2010.
- 9) 渡部雄一郎, 染矢俊幸: 薬物治療の根拠と理論: 薬物治療と生物学的・薬理学的理解とのクロストーク. 臨床精神薬理 15: 1267-1275, 2012.
- 10) Toyooka K, Watanabe Y, Iritani S, Shimizu E, Iyo M, Nakamura R, Asama K, Makifuchi T, Kakita A, Takahashi H, Someya T and Nawa H: A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients. Neurosci Res 46: 299-307, 2003.
- 11) Watanabe Y, Hashimoto S, Kakita A, Takahashi H, Ko J, Mizuno M, Someya T, Patterson PH and Nawa H: Neonatal impact of leukemia inhibitory factor on neurobehavioral development in rats. Neurosci Res 48: 345-353, 2004.
- 12) Ikeda M, Aleksic B, Yamada K, Iwayama -

- Shigeno Y, Matsuo K, Numata S, Watanabe Y, Ohnuma T, Kaneko T, Fukuo Y, Okochi T, Toyota T, Hattori E, Shimodera S, Itakura M, Nunokawa A, Shibata N, Tanaka H, Yoneda H, Arai H, Someya T, Ohmori T, Yoshikawa T, Ozaki N and Iwata N: Genetic evidence for association between *NOTCH4* and schizophrenia supported by a GWAS follow-up study in a Japanese population. *Mol Psychiatry* 18: 636 - 638, 2013.
- 13) Kaneko N, Muratake T, Kuwabara H, Kurosaki T, Takei M, Ohtsuki T, Arinami T, Tsuji S and Someya T: Autosomal linkage analysis of a Japanese single multiplex schizophrenia pedigree reveals two candidate loci on chromosomes 4q and 3q. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 144B: 735 - 742, 2007.
- 14) Nunokawa A, Watanabe Y, Kaneko N, Sugai T, Yazaki S, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Ozaki N, Hashimoto R and Someya T: The dopamine D3 receptor (*DRD3*) gene and risk of schizophrenia: case-control studies and an updated meta-analysis. *Schizophr Res* 116: 61 - 67, 2010.
- 15) Takahashi M, Hayashi H, Watanabe Y, Sawamura K, Fukui N, Watanabe J, Kitajima T, Yamanouchi Y, Iwata N, Mizukami K, Hori T, Shimoda K, Ujike H, Ozaki N, Iijima K, Takemura K, Aoshima H and Someya T: Diagnostic classification of schizophrenia by neural network analysis of blood-based gene expression signatures. *Schizophr Res* 119: 210 - 218, 2010.
-