

統合失調症発症に関連する糖化エピジェネティクス機構の解明

鳥海和也

東京都医学総合研究所 精神行動医学研究分野 統合失調症プロジェクト

【研究の背景】

酸化ストレス下で生じる有害な反応性カルボニル化合物は、タンパク質/脂質との反応により、細胞毒性を有する終末糖化産物 (AGEs) を生じる。このカルボニルストレスへの生体防御機構としては、Glyoxalase 1 (GLO1) などによる反応性カルボニル化合物の分解系^{1, 2)}、ビタミン B6 (VB6) による反応性カルボニル化合物のスカベンジ機能及び AGEs 産生阻害機能が知られている^{3, 4)}。当研究室では、統合失調症と診断された患者群の約 2 割で、AGEs のひとつであるペントシジンが血中に蓄積し、VB6 が有意に低下していることを見出した^{5, 6)}。さらに、統合失調症多発家系の発端者から、GLO1 遺伝子内に酵素活性の低下をもたらす稀なフレームシフト変異を同定した。これに端を発し、他の国内外グループからも当研究室の成果を支持する報告が相次ぎ^{7, 8)}、「糖化ストレス」という代謝障害が統合失調症の病態基盤のひとつとして確実に存在することを示唆した。

近年、この糖化ストレスによる修飾が、DNA やヒストンに生じていることが報告されてきており、遺伝子発現に影響を与えていることを示唆する結果が報告された⁹⁻¹¹⁾。しかし、この糖化による遺伝子発現の制御、そして精神行動や精神疾患との関連について検討した前例はない。

【目 的】

本課題では、糖化ストレス負荷マウスを用い、糖化ストレスが遺伝子発現変化を通してマウスの精神行動に与える影響及びその分子機序について明らかにすることを目的とした。

【方 法】

糖化ストレス負荷マウスとして、統合失調症患者で認められた GLO1 機能欠損変異及び VB6 欠乏を模したモデルを作成した。8 週齢の *Glo1* ノックアウト (KO) マウスに VB6 欠乏餌 (VB6 含有量 5 μ g/100g ペレット) を 4 週間給餌し、VB6 欠乏マウスを作成した。一方、VB6 を 1.4mg/100g ペレットで含む通常餌を与えたものをコントロールマウスとして用いた。

【結 果】

まず、行動試験の結果、*Glo1* KO、及び VB6 欠乏単独では認められなかった統合失調症様行動障害として特徴的なプレパルスインヒビション (PPI) の障害が、それらを組み合わせた際に初めて認められることが明らかとなった。さらに、反応性カルボニル化合物のメチルグリオキサール (MG) の脳内含有量の測定を行ったところ、*Glo1* KO と VB6 欠乏を組み合わせた群においてのみ、PFC、海馬 (HIP)、線条体 (STR)、側坐核 (NAC) での蓄積が認められた。このマウスの脳より RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用い RNA-seq による網羅的な脳内遺伝子発現解析を行ったところ、VB6 欠乏単独、及び *Glo1* KO 単独の効果はそれほど大きくなく、両者が合わさったときにはじめて、PFC 特異的に遺伝子発現に大きな影響を与えていることが明らかとなった。このとき PFC において有意に変動した 286 遺伝子については、グリア細胞や内皮細胞由来の遺伝子を多く含むことが明らかとなり、さらにミトコンドリア機能に関連することが示された。この結果を受け、これらマウスの前頭

皮質よりミトコンドリアを抽出し、Flux analyzer を用いてミトコンドリア呼吸鎖能を評価したところ、*Glo1* KO と VB6 欠乏を組み合わせた際に有意に機能低下を生じていることが分かった。

【考 察】

Glo1 KO と VB6 欠乏の組み合わせは脳内において糖化ストレスを生じ、PFC 特異的な遺伝子発現の異常によりミトコンドリア機能の障害を引き起こすことで、PPI など統合失調症に特徴的な障害をもたらしている可能性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本課題の結果は、糖化ストレスを有する統合失調症患者の PFC において、ミトコンドリア機能の障害が生じている可能性を提示する。これまで糖尿病や肥満などの代謝性疾患で主に研究されてきた糖化ストレスが、脳機能に与える影響及びその分子メカニズムの一端を明らかにできたことは、臨床的にも意義の大きい発見であったと言える。糖化ストレスを有する統合失調症患者群に対し、ミトコンドリア機能を正常化させるような薬剤の有効性が期待される。

また、当研究室では、糖化ストレスを有する統合失調症患者群を標的とした新規治療薬のひとつとして、高用量の VB6 (ピリドキサミン) を投与する臨床治験をすでに進めており、一部の統合失調症症状の改善に有望な可能性を見出している。本課題より、VB6 が正常な群においてはたとえ *Glo1* 遺伝子に変異があろうともミトコンドリア病態が生じなかった事実を考慮すれば、VB6 補充療法の有効性についても期待できる。本課題により得られた一連の基礎的なデータは、今後治験を推進する上でも貴重な基礎医学的知見と考えられる。

今回の結果では、糖化ストレスの負荷により遺伝子発現に影響を与えることは明らかになったが、糖化ヒストンや糖化 DNA の検出までには至っておらず、糖化による直接的な遺伝子発現制御が行われたかどうかについては不明な点が多いのが現状である。今後は、糖化ヒストンや糖化 DNA の定量を行い、今回認められた脳内の変化に糖化による直接的な遺伝子発現制御がどれほど関与しているのかを明らかにしたい。

【参考・引用文献】

1. Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. *Biochem Biophys Res Commun* **458**, 221–226 (2015).
2. Mannervik B. Molecular enzymology of the glyoxalase system. *Drug Metabol Drug Interact* **23**, 13–27 (2008).
3. Onorato JM, Jenkins AJ, Thorpe SR, Baynes JW. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, also inhibits advanced lipoxidation reactions. Mechanism of action of pyridoxamine. *J Biol Chem* **275**, 21177–21184 (2000).
4. Amarnath V, Amarnath K, Amarnath K, Davies S, Roberts LJ, 2nd. Pyridoxamine: an extremely potent scavenger of 1,4-dicarbonyls. *Chem Res Toxicol* **17**, 410–415 (2004).
5. Arai M, *et al.* Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **67**, 589–597 (2010).
6. Miyashita M, *et al.* Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress. *Schizophr Bull* **40**, 1040–1046 (2014).
7. Katsuta N, *et al.* Significance of measurements of peripheral carbonyl stress markers in a cross-sectional and longitudinal study in patients with acute-stage schizophrenia. *Schizophr Bull* **40**, 1366–1373 (2014).
8. Tomioka Y, *et al.* Decreased serum pyridoxal levels in schizophrenia: meta-analysis and Mendelian randomization analysis. *J Psychiatry Neurosci* **43**, 194–200 (2018).
9. Galligan JJ, *et al.* Methylglyoxal-derived posttranslational arginine modifications are abundant histone marks. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**, 9228–9233 (2018).
10. Zheng Q, *et al.* Reversible histone glycation is associated with disease-related changes in chromatin architecture. *Nat Commun* **10**, 1289 (2019).
11. Richarme G, *et al.* Guanine glycation repair by DJ-1/Park7 and its bacterial homologs. *Science* **357**, 208–211 (2017).