

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 発達障害・統合失調症等の克服に関する研究
(英語) Research on overcoming developmental disorder/schizophrenia

研究開発課題名： (日本語) 統合失調症と自閉スペクトラム症のゲノム解析結果を活かした診断法・治療法開発
(英語) Development of diagnostic and therapeutic methods with full use of the results from genome studies on schizophrenia and ASD

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学大学院医学系研究科 教授 尾崎 紀夫
所属 役職 氏名： (英語) Nagoya University Graduate School of Medicine, Professor, Norio Ozaki

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

①ゲノム解析から発症メカニズムの解明

自閉スペクトラム症 (ASD) の発症に関与するパスウェイを同定するために、CNV データを用いて gene set analysis を行い、oxidative stress response, genomic integrity, synapse, cell cycle regulation, mitochondria 等に関連した遺伝子セットを見出した。またこれらの遺伝子セットは統合失調症と高度に重複することから、両疾患の生物学的パスウェイの類似性が示唆された。

①Elucidation of pathogenesis based on genetic analysis

To identify biological pathways implicated in autism spectrum disorder (ASD), we conducted gene set analysis using CNV datasets. We found that several gene sets are implicated in ASD, including oxidative stress response, genomic integrity, synapse, cell cycle regulation, and mitochondria. We also found that there is a substantial overlap of these gene sets between ASD and schizophrenia (SCZ), which suggests a similarity in biological pathways between these disorders.

②診断・治療法に繋がる疾患モデル動物・細胞・組織開発

ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 法による、遺伝子欠失マウスの作製方法を確立した。健常者 iPS 細胞から的大脑皮質オルガノイド作製を開始した。ヒト脳の発生初期と同様に、神経管様構造を有する組織の獲得に成功した。

②Development of disease model animals, cells and tissues

We established the generation of gene-knockout mouse in C57BL/6J strain by CRISPR/Cas9 technology. We generated human iPS cell-derived neocortex organoids that contain neural tube-like structures as observed in the early human brain development.

③ゲノム解析から診断法の開発

発症関連 CNV を ASD 患者、SCZ 患者の各 8.4%、8.6% で同定した。発症関連 CNV をもつ ASD あるいは SCZ 患者の臨床的特徴として知的能力障害の合併率が高いことを見出した。また発症関連 CNV をもつ ASD 患者 70 名の詳しい臨床情報を収集した。

③Development of diagnostics based on genetic analysis

Clinically significant CNVs were detected in 8.4% and 8.6% of ASD and SCZ patients, respectively. We identified intellectual disability as a clinical feature of ASD or SCZ patients with clinically significant CNVs. We also obtained detailed clinical information for 70 ASD patients with clinically significant CNVs.

④ASD,SCZ から特定分子病態群を抽出する末梢バイオマーカー開発

(1)22q11.2 欠失患者由来 LCL (リンパ芽球様細胞株:lymphoblastoid cell line)の網羅的解析から得た分子による診断法開発

健常者由来 LCL から膜タンパク質を抽出し、質量分析器によるプロテオーム解析を実施した。

(2) *RELN* 欠失患者で減少していた末梢血 reelin による診断法開発

健常者末梢血中の Reelin タンパク質は、イムノブロット法により血漿と血清の両方で検出されることを確認した。

④Development of diagnostic biomarkers for ASD and SCZ

(1) Development of diagnostic biomarkers from subjects with 22q11.2 deletion

To develop peripheral biomarkers, we established the proteome analysis system using membrane protein of lymphoblastoid cell lines.

(2) Development of diagnostic biomarkers from subjects with Reelin deletion

We have confirmed that Reelin protein is detectable in both human plasma and serum.

⑤新規治療法開発

(1) モデル動物を用いた分子病態に基づく治療法開発

Reelin 補充実験に使用するためのリコンビナント reelin タンパク質の単離精製系を確立し、精製した reelin タンパク質が活性を保持していることを初代培養神経細胞系で示した。*ARHGAP10* 遺伝子変異を有する統合失調症患者における治療介入時期の妥当性について示すため、発達過程における *ARHGAP10* mRNA

の脳内発現についてマウスを用いて調べた結果、8週齢以降の線条体および前頭前皮質で発現していることを示した。

(2) iPS細胞を用いた分子病態に基づく治療法開発

発症に強い影響を及ぼす稀なゲノム変異がもたらす神経細胞への影響を調べるため、稀な変異を有する患者からのiPS細胞樹立およびゲノム編集技術によるアイソジェニックiPS細胞株の作製を実施し、それぞれ神経細胞へと分化誘導した。健常者由来と比較し、稀な変異を有する患者iPS細胞由来の神経細胞は遊走異常の表現型を示した。

⑤ Development of therapy for ASD and SCZ

(1) Development of therapy based on molecular pathology by model animals

We established isolation and purification system for recombinant Reelin protein, and confirmed its biological activity in primary cultured neurons. To explore a possible therapeutic time window of intervention in patients with ARHGAP10 mutation, we measured expression level of ARHGAP10 mRNA in developing mouse brains. The expression level of ARHGAP10 mRNA reached the plateau in the striatum and prefrontal cortex at 8-week old in mice.

(2) Development of therapy based on molecular pathology by iPS cells

To determine the functional significance of rare variants, we established patient-derived iPS cells or isogenic iPS cell lines carrying rare variants, and induced their differentiation into neuronal cells. As compared to healthy control lines, neuronal cells carrying rare variants showed the impaired neuronal migrations.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 10件）

1. Ishizuka K, Kimura H, Wang C, Xing J, Kushima I, Arioka Y, Oya-Ito T, Uno Y, Okada T, Mori D, Aleksic B, Ozaki N. Investigation of rare single-nucleotide PCDH15 variants in schizophrenia and autism spectrum disorders. PLoS One. 2016, 11 (4), e0153224.
2. Isles AR, Ingason A, Lowther C, Walters J, Gawlick M, Stober G, Rees E, Martin J, Little RB, Potter H, Georgieva L, Pizzo L, Ozaki N, Aleksic B, Kushima I, Ikeda M, Iwata N, Levinson DF, Gejman PV, Shi J, Sanders AR, Duan J, Willis J, Sisodiya S, Costain G, Werge TM, Degenhardt F, Giegling I, Rujescu D, Hreidarsson SJ, Saemundsen E, Ahn JW, Ogilvie C, Girirajan SD, Stefansson H, Stefansson K, O'Donovan MC, Owen MJ, Bassett A, Kirov G. Parental origin of interstitial duplications at 15q11.2-q13.3 in schizophrenia and neurodevelopmental disorders. PLoS Genet. 2016, 12 (5), e1005993.
3. Kimura H, Wang C, Ishizuka K, Xing J, Takasaki Y, Kushima I, Aleksic B, Uno Y, Okada T, Ikeda M, Mori D, Inada T, Iwata N, Ozaki N. Identification of a rare variant in CHD8 that contributes to schizophrenia and autism spectrum disorder susceptibility. Schizophr Res. 2016, 178 (1-3), 104-106.
4. Nakazawa T, Hashimoto R, Sakoori K, Sugaya Y, Tanimura A, Hashimotodani Y, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Umeda-Yano S, Kiyama Y, Konno K, Inoue T, Yokoyama K, Inoue T, Numata S, Ohnuma T, Iwata N, Ozaki N, Hashimoto H, Watanabe M, Manabe T, Yamamoto T, Takeda M, Kano M. Emerging

- roles of ARHGAP33 in intracellular trafficking of TrkB and pathophysiology of neuropsychiatric disorders. *Nat Commun.* 2016, 7, 10594.
5. Okada N, Fukunaga M, Yamashita F, Koshiyama D, Yamamori H, Ohi K, Yasuda Y, Fujimoto M, Watanabe Y, Yahata N, Nemoto K, Hibar DP, van Erp TG, Fujino H, Isobe M, Isomura S, Natsubori T, Narita H, Hashimoto N, Miyata J, Koike S, Takahashi T, Yamasue H, Matsuo K, Onitsuka T, Iidaka T, Kawasaki Y, Yoshimura R, Watanabe Y, Suzuki M, Turner JA, Takeda M, Thompson PM, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R. Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2016, 21 (10), 1460-1466.
 6. Takasaki Y, Koide T, Wang C, Kimura H, Xing J, Kushima I, Ishizuka K, Mori D, Sekiguchi M, Ikeda M, Aizawa M, Tsurumaru N, Iwayama Y, Yoshimi A, Arioka Y, Yoshida M, Noma H, Oya-Ito T, Nakamura Y, Kunimoto S, Aleksic B, Uno Y, Okada T, Ujike H, Egawa J, Kuwabara H, Someya T, Yoshikawa T, Iwata N, Ozaki N. Mutation screening of GRIN2B in schizophrenia and autism spectrum disorder in a Japanese population. *Sci Rep.* 2016, 6 33311.
 7. Umeda K, Iritani S, Fujishiro H, Sekiguchi H, Torii Y, Habuchi C, Kuroda K, Kaibuchi K, Ozaki N. Immunohistochemical evaluation of the GABAergic neuronal system in the prefrontal cortex of a DISC1 knockout mouse model of schizophrenia. *Synapse.* 2016, 70 (12), 508-518.
 8. Xing J, Kimura H, Wang C, Ishizuka K, Kushima I, Arioka Y, Yoshimi A, Nakamura Y, Shiino T, Oya-Ito T, Takasaki Y, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Aleksic B, Mori D, Ozaki N. Resequencing and Association Analysis of Six PSD-95-Related Genes as Possible Susceptibility Genes for Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders. *Sci Rep.* 2016, 6, 27491.
 9. Yoshida K, Go Y, Kushima I, Toyoda A, Fujiyama A, Imai H, Saito N, Iriki A, Ozaki N, Isoda M. Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque. *Sci Adv.* 2016, 2 (9), e1600558.
 10. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing J, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Yamamoto T, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M, Cheng MC, Chuang YA, Chen CH, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki N. High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry.* 2017, 22 (3), 430-440.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Investigation of the association of rare single nucleotide variants in methyl-CpG-binding domain protein 5 (MBD5) with phenotypes of autism spectrum disorders and schizophrenia, ポスター発表, Kanako Ishizuka, Hiroki Kimura, Chenyao Wang, Itaru Kushima, Yota Uno, Takashi Okada, Aleksic Branko, Norio Ozaki, 30th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology, 2016/7/4, 国外.
2. フェンシクリジン連続投与による精神行動異常におけるニコチン性アセチルコリン受容体サブユニットの関与, ポスター発表, 後藤咲香, 山田將玖郎, 吉見陽, 肥田裕丈, 北垣伸治, 久島周, 尾崎紀夫, 野田幸裕, 第 51 回日本アルコール・アディクション学会, 2016/10/7~8, 国内.

3. Possible association of CX3CR1-A55T with the pathogenesis of schizophrenia and autism spectrum disorders, 口頭, 石塚佳奈子, 藤田幸, 川端猛, 木村大樹, 岩山佳美, 久島周, 宇野洋太, 岡田俊, 池田匡志, 稲田俊也, アレクシッチ・ブランコ, 森大輔, 吉川武男, 岩田仲生, 中村春木, 山下俊英, 尾崎紀夫, 第 21 回グリア研究会, 2016/12/3, 国内.
4. 22q11.2 重複を有する神経発達症症例の 1 考察, 口頭, ポスター発表, 石塚佳奈子, 久島周, アレクシッチ・ブランコ, 尾崎紀夫, 第 46 回日本神経精神薬理学会年会, 2016/7/2, 国外.
5. アッシャー症候群にてんかん性精神病を合併した症例, 口頭, 川口高朗, 佐藤真耶, 小林健一, 木村宏之, 尾崎紀夫, 第 175 回東海精神神経学会, 2017/2/26, 国内.
6. 統合失調症を知り、伝え、支える, 口頭, 尾崎紀夫, 第 12 回統合失調症学会ランチョンセミナー, 2017/3/24, 国内.
7. 自閉スペクトラム症ゲノム解析研究の現状と方向性, 口頭, 尾崎紀夫, 第 112 回精神神経学会-研究推進委員会シンポ; 精神医学研究推進のために必要なこと, 2016/06/02, 国内.
8. The dysfunction of neurodevelopmental genes, NDE1 and RELN in schizophrenia revealed by the common disease-rare variant hypothesis, 口頭, 尾崎紀夫, 第 39 回神経科学大会 シンポジウム Cortical development in health and diseases, 2016/07/20, 国内.
9. 自閉スペクトラム症—診断上の留意点と発症メカニズムについて, 口頭, 尾崎紀夫, 第 57 回日本神経学会学術大会, 2016/05/20, 国内.
10. 自閉スペクトラム症の診断と病態, 口頭, 尾崎紀夫, 第 38 回日本生物学的精神医学会 福岡教育シンポジウム—神経化学会会員のための精神疾患教育講座, 2016/09/08, 国内.
11. 統合失調症前駆状態と自閉スペクトラム症の関係性を考える: 症候と病態, 口頭, 尾崎紀夫, 第 20 回日本精神保健・予防学会学術集会—特別シンポジウム「ARMS と発達障害の類似と相違」, 2016/11/12, 国内.
12. 名古屋大学精神科コンソーシアムブレインバンクにおける嗜銀顆粒病の出現頻度と臨床像, ポスター発表, 平野光彬, 三輪綾子, 鳥居洋太, 関口裕孝, 羽瀧知可子, 藤城弘樹, 入谷修司, 尾崎紀夫, 吉田眞理, 藤田潔, 第 35 回日本認知症学会学術集会, 2016/12/1-3, 国内.
13. 新生仔期免疫類似化合物投与による脳内免疫関連遺伝子の発現, 口頭, 羽田和弘, 伊藤教道, 祖父江頭, 永井拓, 山田清文, 第 129 回日本薬理学会近畿部会, 2016/6/24, 国内.
14. Clozapine ameliorates cognitive impairment of Disc1^{Δ2-3/Δ2-3} mice in a touchscreen-based visual discrimination task, ポスター発表, Bolati Wulaer, 永井拓, 黒田啓介, 貝淵弘三, 鍋島俊隆, 山田清文, 第 46 回日本神経精神薬理学会年会, 2016/7/2-3, 国外.
15. Behavioral and neurochemical abnormalities in heterozygous Reelin Orleans mutant mouse model of schizophrenia, ポスター発表, Kiyofumi Yamada, Akira Sobue, Yuki Aoyama, Shan Wei, Taku Nagai, Branko Aleksic, Itaru Kushima, Norio Ozaki, 30th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology, 2016/7/3-5, 海外.
16. TLR3 作動薬を投与した新生仔期マウスの大脳皮質および海馬における MHCI mRNA の発現変化, ポスター発表, 羽田和弘, 伊藤教道, 祖父江頭, 鍋島俊隆, 永井拓, 山田清文, 第 18 回応用薬理シンポジウム, 2016/8/5-6, 国内.
17. アストロサイトにおける MHC Class I の発現が行動に及ぼす影響と神経科学的解析, 口頭, 祖父江頭, 伊藤教道, 羽田和弘, 中島晶, 永井拓, 鍋島俊隆, 山田清文, 第 18 回応用薬理シンポジウム, 2016/8/5-6, 国内.

18. IFITM3 による細胞内輸送の制御機構, ポスター発表, 伊藤教道, 永井拓, 衣斐大祐, 中島晶, 鍋島俊隆, 山田清文, 第 18 回応用薬理シンポジウム, 2016/8/5-6, 国内.
19. Clozapine improves cognitive deficits of Disc1^{Δ2-3/Δ2-3} mice in a touchscreen-equipped visual discrimination task, ポスター発表, Bolati Wulaer, Taku Nagai, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada, 第 18 回応用薬理シンポジウム, 2016/8/5-6, 国内.
20. Reln^{rl-Orl/+} mice show behavioral abnormalities in emotion, social interaction and motor learning: association with dopaminergic dysfunction, ポスター発表, Akira Sobue, Yuki Aoyama, Wei Shan, Taku Nagai Kiyofumi Yamada, Dopamine 2016, 2016/9/5-9/8, 国外.
21. Clozapine treatment ameliorates compulsive behavior Disc1^{Δ2-3/Δ2-3} mice, ポスター発表, Bolati Wulaer, Taku Nagai, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada, 第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム, 2016/9/24, 国内.
22. Glial MHC class I expression leads to behavioral and neurochemical abnormalities, ポスター発表, 祖父江顕, 伊藤教道, 羽田和弘, 中島晶, 永井拓, 鍋島俊隆, 山田清文, 第一回医薬系 3 部局交流シンポジウム, 2016/11/7, 国内.
23. Spatiotemporal expression of ARHGAP10 mRNA and methamphetamine-induced monoamine release in the nucleus accumbens of ARHGAP10 mutant mice. ポスター発表, Kazuhiro Hada, Taku Nagai, Akira Sobue, Bolati Wulaer, Masahito Sawahata, Norimichi Ito, Daisuke Mori, Itaru Kushima, Toshitaka Nabeshima, Norio Ozaki, Kiyofumi Yamada, 第 9 回 Nagoya グローバルリトリート, 2017/2/10, 国内.
24. Expression of MHCI in astrocyte leads to behavioral and neuropathological abnormalities, ポスター発表, Akira Sobue, Norimichi Ito, Kazuhiro Hada, Akira Nakajima, Toshitaka Nabeshima, Taku Nagai, Kiyofumi Yamada, 第 9 回 Nagoya グローバルリトリート, 2017/2/10, 国内.
25. Clozapine treatment ameliorates elevated repetitive and compulsive-like behaviors in Disc1^{Δ2-3/Δ2-3} mice, ポスター発表, Bolati Wulaer, Taku Nagai, Akira Sobue, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada, 第 9 回 Nagoya グローバルリトリート, 2017/2/10, 国内.
26. Behavioral alterations accompanied by neuropathological changes induced by the expression of MHCI in the prefrontal cortex of mice, ポスター発表, Akira Sobue, Norimichi Ito, Kazuhiro Hada, Akira Nakajima, Toshitaka Nabeshima, Taku Nagai, Kiyofumi Yamada, 第 90 回日本薬理学会年会, 2017/3/15-17, 国内.
27. Elevated repetitive and compulsive-like behavior in a schizophrenia animal model, ポスター発表, Bolati Wulaer, Taku Nagai, Akira Sobue, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada, 第 90 回日本薬理学会年会, 2017/3/15-17, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 精神障害はどうして起こるのか? 遺伝? 育ち? 遺伝カウンセリングって何?, 尾崎紀夫, 愛知県精神障害者家族会連合会 50 周年記念式典・講演会, 2016/05/14, 国内.
2. 双極性障害を知り、支える, 尾崎紀夫, 第 13 回日本うつ病学会総会, 2016/08/06, 国内.
3. 精神障害はどうして起こるのか? 遺伝? 育ち?, 尾崎紀夫, 河合塾文化行事講演, 2016/09/16, 国内.

4. 氏と育ちはこころの病にどう関係するのか？— 遺伝？、育ち？、尾崎紀夫，名古屋大学脳とこころの研究センター市民公開講座，2017/01/19，国内.
5. 精神障害はどうして起こるのか？—「氏か？育ちか？」の疑問に答える，尾崎紀夫，サロン・ド・有本講演会，2017/02/01，国内.
6. 妊産婦のうつ病・双極性障害を理解し対応する，尾崎紀夫，平成 28 年度愛知県養育支援訪問事業推進研修会，2017/02/02，国内.
7. 精神障害による休職と社会復帰について，尾崎紀夫，中部電力保健師研修会，2017/02/16，国内.

(4) 特許出願

該当なし

