

氏名(本籍)	井 出 政 行 (茨城県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4429 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Failure to support a genetic contribution of <i>AKT1</i> polymorphisms and altered AKT signaling in schizophrenia</b> (統合失調症における <i>AKT1</i> 遺伝子多型との関連およびAKTシグナルの変化は認めなかった)		
主査	筑波大学教授	医学博士	有 波 忠 雄
副査	筑波大学助教授	医学博士	高 野 晋 吾
副査	筑波大学助教授	医学博士	松 崎 一 葉
副査	筑波大学講師	医学博士	大 塚 定 徳

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

目 的：統合失調症の成因に関してはドーパミン仮説やグルタミン酸仮説の他に、最近では神経発達障害仮説が広く支持されている。これは、統合失調症は思春期以降に発症するが、その始まりは胎生期からの神経発達の障害に遡るといふ説である。この仮説に基づき神経の発達に関係する多くの遺伝子が研究され、そのいくつかは統合失調症の原因遺伝子である可能性が示唆されている。著者等は以前に、神経の発達に関連する Wnt シグナル伝達経路に注目し、Wnt タンパク質の受容体である Frizzled3 遺伝子について統合失調症との関連を調べたが結果は否定的であった。2004 年に Emamian らは、Wnt シグナル伝達経路に含まれる GSK3 $\beta$  をリン酸化する AKT1 の発現量が統合失調症患者のリンパ球と死後脳で減少し、GSK3 $\beta$  のリン酸化も減少していると報告した。また AKT1 の遺伝子多型が統合失調症に関連すると報告している。AKT には AKT1 のほか AKT2, AKT3 のサブタイプが存在する。この論文では著者らはこの報告について追検すると共に、AKT 全体のシグナル伝達の変化及び GSK3 $\beta$  の下流に位置する tau のリン酸化についても検討した。

対象と方法：遺伝子多型と統合失調症との関連解析には、日本人の統合失調症家系 124 家系から採取した血液より抽出した DNA を用いた。すでに報告されている AKT1 遺伝子上の 5 つの一塩基多型 (SNP) について TaqMan PCR 法により遺伝子型を決定し、伝達不平衡テストを行った。

リンパ球の解析には EB ウィルスで不活化した日本人の統合失調症患者と健常者、双極性障害患者と健常者 (各 7 名) のリンパ球を用いた。死後脳の解析には NSW tissue Resource Centre (統合失調症と年齢・性別を合わせた健常者のペアで前頭葉 [Brodmann9 野] 18 組, 海馬前部 14 組) および Stanley Medical Research Institute (統合失調症, 双極性障害, うつ病, 健常者の前頭葉 [Brodmann6 野] 各 15 名) より提供された Caucasian の死後脳を用いた。リンパ球および死後脳は AKT, AKT1, phospho-Ser473-AKT, GSK3 $\beta$ , phospho-Ser9-GSK3 $\beta$ , tau, phospho-Ser199-tau, phospho-Ser396-tau, に対する抗体を用いてウェ

スタンプロット法により解析を行った。内部標準にはリンパ球では  $\beta$ -actin を、死後脳では tubulin を用いた。2群間の差の統計解析にはペアのサンプルは Wilcoxon 検定を用い、それ以外のサンプルについては Mann-Whitney 検定を用いた。相関の検定には Spearman の順位相関検定を用いた。尚、この研究は理化学研究所倫理委員会の承認を得て行われた。全ての対象者は研究目的方法などの説明を受けた後、本研究への参加に書面で同意した。

結果:分子遺伝学的解析の結果、5つの SNP いずれについても統合失調症との有意な関連は認めなかった。また3つの SNP からなるハプロタイプについても解析も行ったが、有意な関連は認めなかった。

ウェスタンブロット解析の結果、リンパ球では双極性障害で AKT のリン酸化に優位な上昇を認めたものの統合失調症では有意な変化を認めなかった。統合失調症の死後脳の解析では AKT, AKT1, GSK3 $\beta$  の発現量に有意な変化は認めなかった。また、AKT のリン酸化、GSK3 $\beta$  のリン酸化、tau のリン酸化についても有意な変化は認めなかった。AKT のリン酸化は GSK3 $\beta$  のリン酸化（不活性化）を介し tau のリン酸化を抑制することから AKT のリン酸化と tau のリン酸化は負の相関を示すと思われたが、結果は逆に正の相関を示していた。また、AKT のリン酸化は脳の pH と負の相関を示していた。GSK3 $\beta$  のリン酸化は死後経過時間と負の相関を示す傾向を示していた。双極性障害やうつ病の死後脳でもタンパク質の発現やリン酸化に有意な変化は認めなかった。

考察:分子遺伝学的解析の結果、我々のサンプルでは AKT1 遺伝子の多型と統合失調症の間に有意な関連は認めなかった。AKT1 の遺伝子解析では Emamian らの報告のほかに、Caucasian での有意な報告が1つある。東アジアでは1つの有意な報告と2つの否定的な報告がある。以上のことから、東アジアのヒトでは AKT1 は統合失調症の主な原因遺伝子である可能性は高くない。

ウェスタンブロットでも AKT シグナル伝達の低下と統合失調症の関連を示唆する結果は得られなかった。一方、AKT と tau のリン酸化は正の相関を示し、AKT のリン酸化は pH と負の相関を示していた。pH は検体の死亡直前の状態を反映するといわれている。また、GSK3 $\beta$  のリン酸化は死後経過時間と負の相関を示す傾向にあった。これらのことから、AKT, GSK3 $\beta$ , tau のリン酸化は死因や死後経過時間の交絡因子の影響を受けやすいと考えられた。

結論:本研究における遺伝子解析およびタンパク質の発現解析の結果からは AKT シグナル伝達経路の異常と統合失調症との関連は確認できなかった。また、死後脳でタンパク質のリン酸化状態を議論するのは慎重を期すべきである。

## 審査の結果の要旨

本論文は統合失調症の分子病態に関わっていると報告されたシグナル系について、遺伝子多型と統合失調症との関連、株化リンパ球と死後脳を使ったウェスタン解析、リン酸化解析を行い、関連が支持されなかったことを報告したものである。論文はすでに Journal of Neurochemistry 誌に発表されている。この論文はすでに報告された統合失調症の分子病態に関わるシグナル伝達系の一部を詳細に解析して、統合失調症との関係を否定したものである。オリジナリティという点において学位論文としての物足りなさが審査の過程では指摘された。しかし、統合失調症の研究分野では重要な所見を提供したものであり、統合失調症の分子生物学的研究として将来多く引用される可能性が高い価値があるものと判断された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。