

特集 1 脆弱性とレジリエンスの精神疾患研究

4. 統合失調症におけるペントシジン蓄積の分子機序

鳥海 和也*, 新井 誠*

抄録：筆者らは、約 4 割の統合失調症患者において終末糖化産物 AGEs のひとつであるペントシジン (PEN) が血中に蓄積していることを見いだした。しかし、この統合失調症で認められる PEN 蓄積の原因は不明であり、結果的に PEN 蓄積がどのように統合失調症の分子病態に関与するのかについても解明されていない。本研究では、血漿を用いたメタボローム解析により、PEN の新たな前駆物質としてグルクロン酸 (GlcA) を同定した。さらに、GlcA が統合失調症の診断や罹病期間、陰性症状などの臨床的特徴と有意に関連することを見いだした。また、統合失調症患者では GlcA を分解する *aldo-keto reductase* (AKR) 活性が減少し、GlcA 蓄積に関連している可能性が認められた。今後、これら知見は統合失調症のみならず、PEN 蓄積を伴う多くの疾患の分子病態解明に寄与するものと期待される。

日本生物学的精神医学会誌 34 (3) : 111-116, 2023

Key words : pentosidine, glucuronic acid, advanced glycation end-products, schizophrenia, *aldo-keto reductase*

はじめに

体内における過剰なグルコース状態は、タンパク質に非酵素的糖化反応 (メイラード反応) を生じ、終末糖化産物 (advanced glycation end-products : AGEs) を生成する。主要な AGEs のひとつであるペントシジン (pentosidine : PEN) はタンパク質上のリジンとアルギニンを架橋する構造をもつ糖化修飾体である。このようなタンパク質上の AGEs 形成は、タンパク質の機能喪失を生じ、活性や物性に大きな影響を与えることが知られている。この AGEs による「糖化ストレス」は、糖尿病合併症や動脈硬化、腎障害、関節リウマチ、骨疾患、アルツハイマー病など、多岐にわたる疾患の一要因として考えられており、AGEs の形成阻害はそれら疾患に対する有効な予防法・治療法として期待されている⁵⁾。

その状況の中で、筆者らは精神科領域では初めて、統合失調症患者の約 4 割に PEN が血中に蓄積していることを発見した²⁾。PEN 蓄積を有する患者群は治療抵抗性を示し、長期入院、抗精神病薬の高服薬量、認知機能の低下、処理速度の低下などの臨床的・

心理学的特徴を示すことも明らかにした^{9, 10)}。さらに、PEN 蓄積は、発症前の前駆期の状態にある被験者においてもすでに認められること¹⁾、統合失調症発症リスクとされる思考の問題を PEN の蓄積が媒介することも明らかにしてきている²⁰⁾。また、大規模出生コホート (東京ティーンコホート) との連携から、思春期児童の 5% が持続した精神病様体験 (現実に存在しないものや事実ではないと感じたりしてしまうことなど) を有し、AGEs の高値が精神病症状の持続を予測することを明らかにしている¹¹⁾。これら一連の結果は、統合失調症における PEN 蓄積が発症前から、抗精神病薬服用とは独立に生じる可能性を提示し、PEN 蓄積が統合失調症の発症メカニズムに関与することが推察される。

その一方で、これまでに PEN 蓄積がどのような分子機序により統合失調症に関与しているのかについての基礎医学研究に関しては進捗が乏しく、未知の点が多いのが現状である。というのも、PEN をはじめとする AGEs はグルコースの蓄積によって産生されると考えられているが、筆者らが発見した高 PEN 値を示す統合失調症患者では、糖尿病患者な

Molecular mechanisms of pentosidine accumulation in schizophrenia

*公益財団法人 東京都医学総合研究所 統合失調症プロジェクト (〒156-8506 東京都世田谷区上北沢 2-1-6) Kazuya Toriumi, Makoto Arai : Schizophrenia Research Project, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, 2-1-6 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506, Japan

【鳥海 和也 E-mail : toriumi-kz@igakuken.or.jp】

どとは異なり、HbA1c 値が正常範囲内に留まっており、血糖（グルコース）値が慢性的に高い状態にはない。つまり、この統合失調症患者内で増加した PEN が一体どのような物質から生成されているのかについては不明なのである。そのため、血糖値を増加させずに PEN 値が増加する「PEN 蓄積型統合失調症」の病態を再現するような細胞・動物モデルの構築が叶わず、これまで統合失調症病態における PEN の関与、およびその分子機序については、ほとんど研究がなされてこなかった状況がある。

1. PEN 高値群と正常群の 血漿中代謝産物の比較

筆者らは PEN による脳機能への影響を評価するために、まず統合失調症における「PEN の由来」を明らかにすべきと考え、PEN 濃度が高い被験者と正常な被験者の血漿サンプルを用いてメタボローム解析を実施した。コホート 1 では、高 PEN 群には 48 人の統合失調症患者が含まれ、血漿中の平均 $182.1 \pm 173.3 \text{ ng/mL}$ の PEN を示したのに対し、正常 PEN 群には統合失調症患者 50 人と健常者 50 人が含まれ、平均 $37.2 \pm 9.2 \text{ ng/mL}$ の PEN を示した。メタボローム解析の結果、高 PEN 群では通常 PEN 群と比較して 4 種類の代謝産物が増加しており、7 種類の代謝産物が低下していた。そのうち、もっとも増加していたものはグルクロン酸（glucuronic acid: GlcA）であり、血漿中の GlcA 濃度は PEN 濃度と有意な相関を示した。一方、これまでの先行研究で PEN の前駆物質として知られているグルコース、フルクトース、リボース、アラビノース、キシロース、アスコルビン酸の濃度は有意差を認めなかった。この高 PEN 値群における GlcA の増加という結果は、別の独立したコホート 2（PEN 高値群 38 名、正常群 149 名）でも、同様の結果を得ることができた。これらの結果は、GlcA が末梢血中の新たな PEN 前駆物質である可能性を示唆している。

2. GlcA による PEN 合成

次に筆者らは、GlcA が本当に PEN の前駆物質であるかどうかを調べるために、GlcA をリジンおよびアルギニンと一緒に、生理的条件下（pH7.4, 37°C）で 1 週間インキュベートした。その結果、PEN と同じ蛍光波長と保持時間を持つ生成物が得られた。この生成物が PEN であるかどうかを確認するために、生成物を分取し、液体クロマトグラ

フィー - 四重極飛行時間型質量分析計（LC-QTOF）により分析したところ、GlcA 由来の生成物からは、PEN $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4$ の組成式と一致する m/z 190.1180 ± 0.005 （2 価イオン）のピークが検出された。さらに、この GlcA 由来の生成物で検出された m/z 190 のフラグメントイオンは、PEN 標準品のフラグメントイオンと一致した。これらの結果から、GlcA 由来の生成物が PEN であることが実証された。

次に、筆者らは、GlcA を bovine serum albumin (BSA) およびヒト血漿とインキュベートした場合でも、PEN が合成されることを確認した。また、マウスとモルモットに GlcA を 2 週間投与することにより PEN が生体内で産生されるかどうかを調べたところ、モルモットでは血漿中の PEN が増加し、*in vivo* 合成を誘導することに成功した。しかし一方で、マウスに GlcA を投与しても PEN の蓄積は認められなかった。この理由のひとつとして、アスコルビン酸合成系が関与している可能性があると考えている。マウスは GlcA から十分な量のアスコルビン酸を合成できるが、モルモットはアスコルビン酸合成経路の最後の酵素である glono- γ -lactone oxidase (GLO) の遺伝子変異により、アスコルビン酸を合成することができない¹²⁾。したがって、マウスに投与された GlcA はアスコルビン酸の合成に利用されたが、モルモットでは利用されず、結果として体内に蓄積された可能性がある。ヒトは GLO 遺伝子の欠損により、モルモットと同様に GlcA からアスコルビン酸を合成できないため⁴⁾、マウスよりも GlcA を蓄積しやすく、結果として PEN を蓄積しやすいのかもしれない。

以上の結果より、*in vitro* および *in vivo* の両方において、GlcA から PEN が合成されることを実証できた。これまで GlcA から PEN が合成されるという報告はなく、糖尿病^{6, 13, 17, 19)}、慢性腎臓病¹⁵⁾ や肝疾患¹⁶⁾ など、PEN 蓄積が認められる身体疾患においても、GlcA の蓄積が報告されている。その高い PEN 合成能力を考慮すれば、これらの疾患においてもグルコースよりもむしろ GlcA が PEN の主要な供給源である可能性がある。さらには、GlcA と PEN は加齢とともに体内に蓄積され、寿命と関連する^{7, 18)}。筆者らの発見は、GlcA が加齢に伴う PEN の蓄積にも関与していることを示唆している。

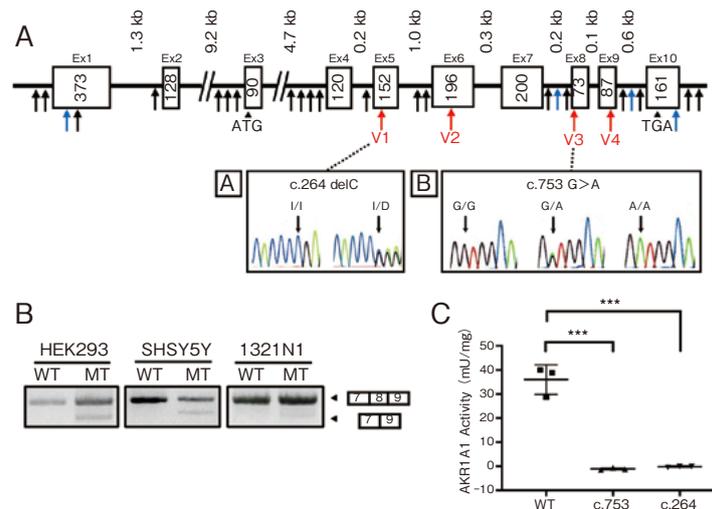


図1 AKR1A1 遺伝子内バリエントとエキソンの読み飛ばし

A: 同定された新規バリエント (青矢印), コーディング領域におけるバリエント (赤矢印), その他のバリエント (黒矢印) を示す。B: 野生型 (WT) と c.753G > A バリエント (MT) におけるスプラシングの違いを示す。MT では, どの細胞においてもエクソン 8 の読み飛ばしが生じた。C: c.264delC および c.753G > A バリエントより生じる断片型の AKR1A1 タンパク質の活性を示す。どちらのバリエントの産物も, AKR1A1 活性をもたなかった。(文献 8 より引用)

3. 統合失調症における 血漿中 GlcA 値と臨床特徴

筆者らは以前に, 統合失調症患者の PEN の平均血漿濃度が対照群に比べ 1.7 倍高いことを報告した²⁾。そこで, PEN の前駆物質である GlcA が統合失調症患者でも増加しているかどうかを検討した。統合失調症患者 218 名および健常者 117 名の平均 (±標準偏差 (SD)) 年齢は, それぞれ 45.9 ± 11.5 および 39.8 ± 11.3 だった (年齢 $P < .0001$: 性別 $P = .0014$)。HbA1c と eGFR に有意差はなかった。これまでの知見と同様に, 統合失調症患者の血漿中 PEN 濃度は対照群に比べ高かった ($P < .0001$)。また, 患者は健常者と比較して GlcA 値の増加を示した ($P < .0001$)。年齢と性別を調整したロジスティック回帰分析でも, 統合失調症と血漿中 GlcA 濃度との有意な関連性が示され (オッズ比 = 1.94, $P = 1.15 \times 10^{-4}$)。GlcA が 1SD 増加すると統合失調症のオッズは約 2 倍増加した。さらに, 統合失調症患者における GlcA と生物学的特徴の関連について検討したところ, GlcA 値は年齢, 血漿 PEN, 血清ピロキサル値と有意に関連していた。また, 臨床的特徴のうち, GlcA は罹病期間および陽性・陰性症状評価尺度 (Positive and negative syndrome scale: PANSS) の陰性症状合計得点と有意に関連しており, これらの結果は, GlcA の蓄積が統合失

調症の病態生理に関係している可能性を示唆している。

4. 統合失調症における 血漿中 GlcA 値と AKR 活性

体内において GlcA は aldo-keto reductase (AKR) によって, グロン酸に代謝される¹⁴⁾。統合失調症における GlcA 量の増加が AKR 活性の減少によるものかどうかを実証するために, コホート 1 および 2 の被験者から得た全血細胞を用いて, AKR の酵素活性を測定した。その結果, 統合失調症患者の AKR 活性は健常対照者と比較して有意に低く, AKR 活性は血漿中の GlcA 濃度と負の相関が認められた。統合失調症患者における AKR 活性の低下が血漿中の GlcA 濃度を上昇させ, PEN の蓄積につながっている可能性がある。これらの知見は, *Akr1a1* ノックアウトマウスが末梢血中で GlcA の蓄積を示し²¹⁾, AKR1A1 を阻害したマウスでは尿中 GlcA 量が増加したという先行研究と一致する³⁾。また, 筆者らは以前, GlcA 分解酵素である AKR1A1 の遺伝子変異が統合失調症と関連しており, この変異により酵素活性が低下していることを報告した⁸⁾。PEN 蓄積例を多く含む統合失調症患者を対象に遺伝学的解析を行った結果, 4 箇所の新規バリエントを含む 28 箇所のバリエントを確認した。その中でも 753

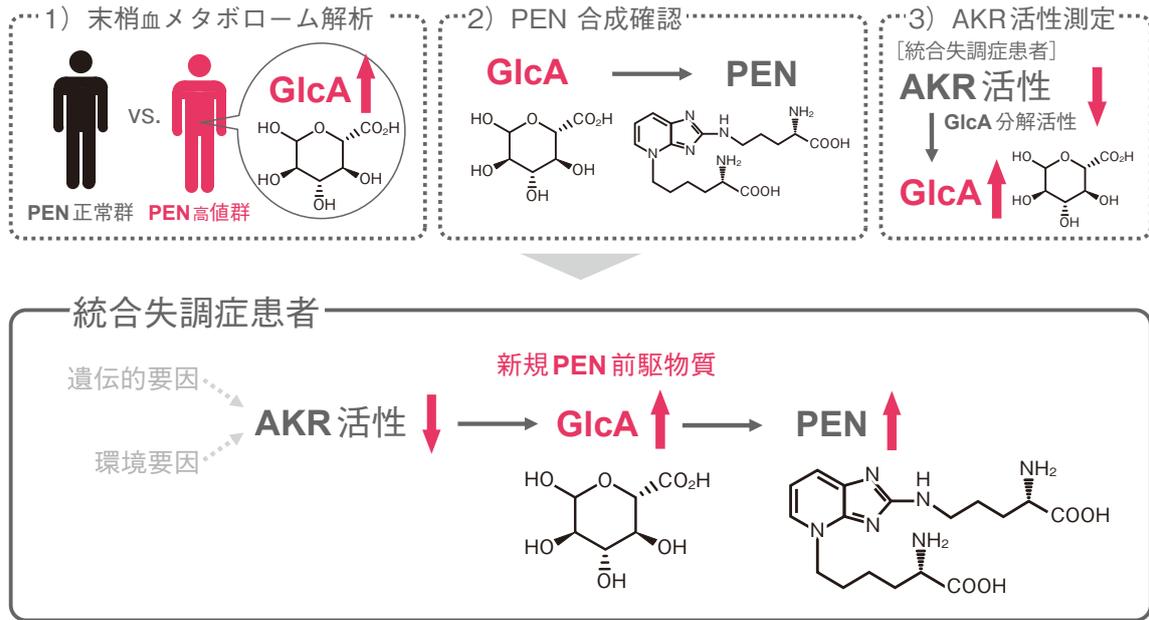


図 2 研究概要

番号のグアニンがアデニンに置き換わった c.753G > A は、統合失調症患者で 14 例、健常者で 5 例確認され、患者で頻度が高い傾向が認められた (図 1)。また、264 番目のシトシンが欠失した c.264delC は統合失調症患者の 1 例でのみ確認された。c.753 G > A バリエントはアミノ酸の置換を生じないものの、エキソン 8 の先頭に位置するため、スプライシングによりエキソン 8 の読み飛ばしが生じ、フレームシフトを生じることが明らかになった。このとき、産生された断片型の AKR1A1 と、c.264delC バリエントにより産生される断片型の AKR1A1 は、どちらもほとんど酵素活性をもたないことが明らかとなった。実際に、ヒト赤血球を用いて AKR1A1 の酵素活性を測定したところ、c.753G > A バリエントをもつ統合失調症患者では、もたない人に比べて酵素活性が低下する傾向が認められた。以上の結果は、c.753G > A バリエントをもつ統合失調症患者では、AKR1A1 の機能活性低下を介して GlcA の蓄積を生じている可能性を示している。今後、より多くの患者を対象として検討する必要があるが、このような遺伝的な影響も GlcA 蓄積に寄与している可能性があると考えている。

おわりに

筆者らの今回の結果より、統合失調症における、GlcA からの新たな PEN 合成経路を同定することができた (図 2)。今後、GlcA から PEN が合成され

る新規経路に基づいて構築されたモデルの解析により、統合失調症における PEN 蓄積の病態生理の理解が進むと期待される。

本論文に記載した研究に関しては、各施設の倫理委員会の承認を得たうえで実施しており、倫理的配慮を行っている。また、開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Arai M, Koike S, Oshima N, et al (2011) Idiopathic carbonyl stress in a drug-naïve case of at-risk mental state. *Psychiatry Clin Neurosci*, 65 : 606-607.
- 2) Arai M, Yuzawa H, Nohara I, et al (2010) Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 67 : 589-597.
- 3) Barski OA, Papusha VZ, Ivanova MM, et al (2005) Developmental expression and function of aldehyde reductase in proximal tubules of the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289 : F200-207.
- 4) Burns JJ (1957) Missing step in man, monkey and guinea pig required for the biosynthesis of L-ascorbic acid. *Nature*, 180 : 553.
- 5) Chaudhuri J, Bains Y, Guha S, et al (2018) The role of advanced glycation end products in aging and metabolic diseases : bridging association and causality. *Cell Metab*, 28 : 337-352.
- 6) Fiehn O, Garvey WT, Newman JW, et al (2010) Plasma metabolomic profiles reflective of glucose ho-

- meostasis in non-diabetic and type 2 diabetic obese African-American women. *PLoS One*, 5 : e15234.
- 7) Ho A, Sinick J, Esko T, et al (2019) Circulating glucuronic acid predicts healthspan and longevity in humans and mice. *Aging (Albany NY)*, 11 : 7694-7706.
 - 8) Iino K, Toriumi K, Agarie R, et al (2021) AKR1A1 variant associated with schizophrenia causes exon skipping, leading to loss of enzymatic activity. *Front Genet*, 12 : 762999.
 - 9) Kobori A, Miyashita M, Miyano Y, et al (2021) Advanced glycation end products and cognitive impairment in schizophrenia. *PLoS One*, 16 : e0251283.
 - 10) Miyashita M, Arai M, Kobori A, et al (2014) Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress. *Schizophr Bull*, 40 : 1040-1046.
 - 11) Miyashita M, Yamasaki S, Ando S, et al (2021) Fingertip advanced glycation end products and psychotic symptoms among adolescents. *NPJ Schizophr*, 7 : 37.
 - 12) Nishikimi M, Kawai T and Yagi K (1992) Guinea pigs possess a highly mutated gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the key enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in this species. *J Biol Chem*, 267 : 21967-21972.
 - 13) Park S, Sadanala KC and Kim EK (2015) A Metabolic Approach to Understanding the Metabolic Link between Obesity and Diabetes. *Mol Cells*, 38 : 587-596.
 - 14) Penning TM (2015) The aldo-keto reductases (AKRs) : Overview. *Chem Biol Interact*, 234 : 236-246.
 - 15) Roshanravan B, Zelnick LR, Djucovic D, et al (2018) Chronic kidney disease attenuates the plasma metabolome response to insulin. *JCI Insight*, 3.
 - 16) Saltzman A and Caraway WT (1953) Cinnamic acid as a test substance in the evaluation of liver function. *J Clin Invest*, 32 : 711-719.
 - 17) Saltzman A, Caraway WT and Beck IA (1954) Serum glucuronic acid levels in diabetes mellitus. *Metabolism*, 3 : 11-15.
 - 18) Sell DR, Lane MA, Johnson WA, et al (1996) Longevity and the genetic determination of collagen glycoxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93 : 485-490.
 - 19) Suhre K, Meisinger C, Doring A, et al (2010) Metabolic footprint of diabetes : a multiplatform metabolomics study in an epidemiological setting. *PLoS One*, 5 : e13953.
 - 20) Suzuki K, Yamasaki S, Miyashita M, et al (2022) Role of advanced glycation end products in the longitudinal association between muscular strength and psychotic symptoms among adolescents. *Schizophrenia (Heidelb)*, 8 : 44.
 - 21) Takahashi M, Miyata S, Fujii J, et al (2012) In vivo role of aldehyde reductase. *Biochim Biophys Acta*, 1820 : 1787-1796.

■ ABSTRACT

Molecular mechanisms of pentosidine accumulation in schizophrenia

Kazuya Toriumi, Makoto Arai

*Schizophrenia Research Project, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences,
Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*

Pentosidine (PEN), type of AGEs with fluorescence, possesses a cross-linked structure between lysine and arginine residues in proteins. PEN accumulation is associated with aging and various diseases such as diabetes mellitus. We previously reported that PEN levels in the peripheral blood of a subpopulation of patients with schizophrenia is significantly higher than that in healthy controls. However, the precursor of PEN accumulated in schizophrenia is unknown, and consequently the molecular pathogenesis of schizophrenia caused by PEN accumulation has not been clarified. To elucidate the origin of PEN, we performed metabolome analysis with plasma and identified glucuronic acid (GlcA) as a new precursor of PEN. Furthermore, GlcA has been associated with the diagnosis of schizophrenia. GlcA was significantly associated with mean disease duration and total negative symptom score in the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Moreover, we showed that AKR activity to degrade GlcA was decreased in patients with schizophrenia, and its activity was negatively correlated with GlcA levels in the plasma, suggesting that the decreased AKR activity in patients with schizophrenia increases GlcA levels in the plasma, leading to PEN accumulation. This study indicates that GlcA is a novel source of PEN in schizophrenia. Our findings are expected to elucidate the aging process and pathology of all diseases associated with PEN accumulation.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (3) : 111-116, 2023)
