

115. 統合失調症の病態における神経幹細胞のエピゲノム解析

大内 靖夫

Key words : 統合失調症, 神経幹細胞, エピゲノム

*中部大学 実験動物教育研究センター

緒言

統合失調症は、全人口の約1%にみられる重篤な精神疾患である。近年、この統合失調症の発症において、海馬における神経新生の低下やエピジェネティック制御の異常が重要な役割をしていることが明らかになってきているが、発症機構は不明であり、有効な治療法も存在しない。

これまで我々は、家族性の統合失調症のうちで最も頻度の高い22q11.2欠失症候群の責任領域に存在するDGCR8遺伝子に着目し、Dgcr8遺伝子ヘテロ欠損マウスが、認知機能障害をはじめとした様々な統合失調症様の行動異常を示す有用な統合失調症モデルマウスであることを明らかにしてきた。また本モデルマウスでは海馬におけるIGF2の発現が低下することで、神経新生の低下を引き起こし、認知機能の低下を引き起こしていることを報告してきた¹⁾。IGF2はエピジェネティックな制御を受ける胚発生、癌細胞における増殖因子として良く知られているが、近年、環境変化に起因したIGF2遺伝子のエピジェネティック制御異常が統合失調症の発症を高めている可能性が指摘されている²⁾。

そこで本研究では我々の作製したDGCR8遺伝子ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウスに対して、エピゲノム解析を行うことで統合失調症の発症機構の解明につなげることを目的とした。

方法

1. Agilent mouse CpG Island microarray を用いたゲノムワイドな DNA メチル化領域の網羅的解析

8週齢のDgcr8(+/-)およびDgcr8(+/+)雄マウスより、海馬組織を摘出し、定法にてgDNAの抽出を行った。得られたgDNAに対して、超音波ホモジナイザー (Branson Sonifier 450) を用いてDNAの断片化処理を行い、得られた断片化gDNAのサイズを2% Agarose ゲル電気泳動で確認を行った。続いてDgcr8(+/-)およびDgcr8(+/+)マウスより得られたgDNA断片を、それぞれCy3, Cy5 標識し、Agilent mouse CpG Island microarray 2×105K (Agilent社) を用いてゲノムワイドなメチル化の変化の網羅的な解析を行った。得られた遺伝子群に対して、先行研究から得られたDgcr8(+/-)およびDgcr8(+/+)マウス海馬における網羅的遺伝子発現解析結果を用いた発現解析, Pathway 解析を行った。

2. Bisulfite sequence 法を用いたIgf2-H19 遺伝子領域に対する DNA メチル化解析

8週齢のDgcr8(+/-)およびDgcr8(+/+)雄マウス、各4匹より、海馬組織を摘出し、定法にてgDNAの抽出を行った。得られたgDNAに対して、EpiTect Fast DNA Bisulfite kit (QIAGEN社) を用いてgDNAのBisulfite処理を行い、精製後、得られたDNA産物に対して、Igf2/H19ゲノム領域に存在するICR特異的なPrimerを用いてPCRを行い、増幅を行った。続いて得られたPCR産物をpGEM-T-Easyにクローニングし、Sequenceの解析を行うことでICR領域のメチル化の解析を行った。

*現所属：東京大学 医科学研究所 国際粘膜ワクチン開発研究センター
自然免疫制御分野

結 果

1. Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウス海馬組織に対する網羅的 DNA メチル化解析結果

Dgcr8(+/-) および Dgcr8(+/+) マウスの海馬組織から得られた gDNA に対して、Agilent mouse CpG Island microarray を用いてゲノムワイドな CpG island の DNA メチル化の解析を行った結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では、Dgcr8(+/+) マウス海馬と比較して、数多くの遺伝子で CpG island における DNA メチル化状態に変動が起きていることが明らかとなった (図 1)。

まず、Dgcr8(+/+) マウス海馬 gDNA サンプルから得られた Signal 値に対して、2 倍以上の Signal 強度を示した遺伝子を“Hypermethylated genes”とし、一方、0.5 以下の Signal 強度を示した遺伝子を“Hypomethylated genes”として遺伝子の抽出を行った結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では、Hypermethylated genes として 2,030 遺伝子 (5,020 probes)、Hypomethylated genes として 1,688 遺伝子 (4,121 probes) が存在することが明らかとなった (図 1)。

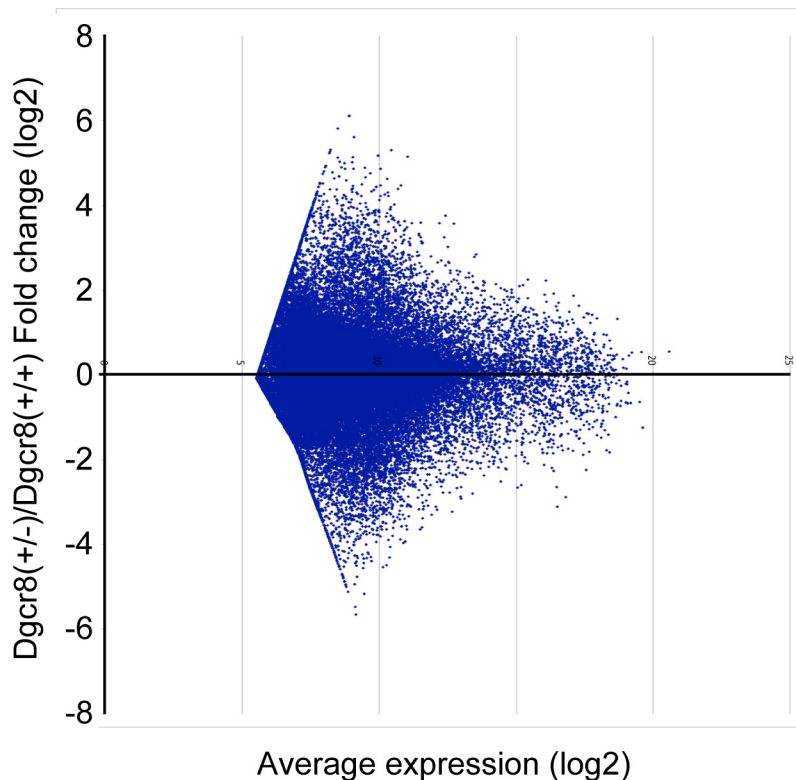


図 1. Agilent mouse CpG Island microarray を用いた Dgcr8(+/-) マウス海馬における DNA メチル化領域の網羅的解析結果。

Dgcr8(+/-) および Dgcr8(+/+) マウス海馬より gDNA を抽出し、Agilent mouse CpG Island microarray を用いて網羅的な DNA メチル化解析を行った。

続いて、Hypermethylated genes および Hypomethylated genes、それぞれの上位 50 位までの遺伝子を抽出し、Pathway 解析を行った結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では Abcd3, Abcc10 といった ABC トランスポーターに関わる遺伝子群が高メチル化状態にあることがわかった。また興味深いことに Hypermethylated genes の上位 41 位には神経幹細胞のマーカー遺伝子であり、未分化性の維持において重要な転写因子である Sox2 が含まれていた (表 1, 表 2)。

Sox2 遺伝子に対して、より詳細なデータ解析を行った結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では 7 種の probe で 2 倍変動以上の Signal 値を示していたことから、本遺伝子は Dgcr8(+/-) マウス海馬において高メチル化状態にあることが示唆された。

表1. Dgcr8(+/-) マウス海馬において高メチル化状態にあった遺伝子群 (上位 50)

	Systematic	Normalized ratio	Dgcr8(++)	Dgcr8(+/-)	Genbank	GeneSymbol	M	A	Chromosome	Fold Change
1	A_68_P32472228	0.014449625	57.77279	3998.2197	NM_175122	Rab39b	6.11	8.91	chrX	69.21
2	A_68_P27083092	0.017821241	47.68201	2675.5715	NM_026113	Gtf3c6	5.81	8.48	chr10	56.11
3	A_68_P27288030	0.020441834	77.11932	3772.6226	NR_015477	2310050B05Rik	5.61	9.08	chr10	48.92
4	A_68_P22803171	0.025196023	47.68201	1892.4418	NM_001122889	Epha7	5.31	8.23	chr4	39.69
5	A_68_P21121772	0.025352519	223.0367	8797.418	NM_001025594	Zbtb43	5.30	10.45	chr2	39.44
6	A_68_P29982440	0.026026906	47.68201	1832.0276	NM_026213	Ttc33	5.26	8.21	chr15	38.42
7	A_68_P24758538	0.026519924	47.68201	1797.9694	NM_170673	Cpne9	5.24	8.19	chr6	37.71
8	A_68_P32403809	0.027645037	166.8535	6035.568	ENSMUST00000137687		5.18	9.97	chrX	36.17
9	A_68_P22207927	0.028243454	353.7196	12523.948	NM_025822	Rsrc1	5.15	11.04	chr3	35.41
10	A_68_P28163657	0.02833048	89.20927	3148.88	NM_001113486	SEPT9	5.14	9.05	chr11	35.30
11	A_68_P25366034	0.028628683	60.91937	2127.9138	NM_026010	Lipt2	5.13	8.49	chr7	34.93
12	A_68_P31625951	0.030585993	65.35752	2136.8447	NR_027885	Vaultc5	5.03	8.55	chr18	32.69
13	A_68_P30931893	0.030764222	91.501	2974.2664	NM_011782	Adams5	5.02	9.03	chr16	32.51
14	A_68_P28058391	0.031293236	74.81212	2390.6802	NM_145434	Nr1d1	5.00	8.72	chr11	31.96
15	A_68_P26268765	0.032703377	47.68201	1458.0149	NM_008737	Nrp1	4.93	8.04	chr8	30.58
16	A_68_P32137920	0.03337398	72.01497	2157.8174	NM_001037758	Btrc	4.91	8.62	chr19	29.96
17	A_68_P24444191	0.03350323	47.68201	1423.2063	NM_010903	Nfe2l3	4.90	8.03	chr6	29.85
18	A_68_P25086654	0.033692893	131.0031	3888.1528	NM_009131	Clec11a	4.89	9.48	chr7	29.68
19	A_68_P23272344	0.03424569	79.52261	2322.1208	NM_153159	Zc3h12a	4.87	8.75	chr4	29.20
20	A_68_P27641461	0.03426113	196.3962	5732.333	NM_153596	Tmem17	4.87	10.05	chr11	29.19
21	A_68_P32050464	0.03433651	99.23474	2890.0647	NM_025950	Cdc37l1	4.86	9.06	chr19	29.12
22	A_68_P21085242	0.035787817	47.68201	1332.3529	NM_080848	Wdr5	4.80	7.98	chr2	27.94
23	A_68_P31304433	0.03629813	60.18593	1658.0999	NM_001003919	Ddx11	4.78	8.30	chr17	27.55
24	A_68_P26626256	0.03686921	156.3453	4240.5386			4.76	9.67	chr9	27.12
25	A_68_P32126180	0.03713332	47.68201	1284.0759	NM_001081257	Hpse2	4.75	7.95	chr19	26.93
26	A_68_P32564060	0.03883637	72.87235	1876.3943	NM_023144	Nono	4.69	8.53	chrX	25.75
27	A_68_P22478807	0.039482053	144.2407	3653.3232	NM_008991	Abcd3	4.66	9.50	chr3	25.33
28	A_68_P31631085	0.040318787	65.53163	1625.3373	NM_010411	Hdac3	4.63	8.35	chr18	24.80
29	A_68_P25261759	0.04062336	252.5744	6217.4673	ENSMUST00000141822		4.62	10.29	chr7	24.62
30	A_68_P31156000	0.041380744	90.42046	2185.0854	NM_019442	Slk19	4.59	8.80	chr17	24.17
31	A_68_P31351017	0.043128062	47.68201	1105.5913	NM_001162870	Spast	4.54	7.84	chr17	23.19
32	A_68_P31206434	0.04349521	51.30489	1179.5526	NM_170680	Abcc10	4.52	7.94	chr17	22.99
33	A_68_P30126791	0.044085704	47.68201	1081.5753	NM_026002	Mtdh	4.50	7.83	chr15	22.68
34	A_68_P21426299	0.04415928	137.9462	3123.8328	ENSMUST00000123840		4.50	9.36	chr2	22.65
35	A_68_P24930171	0.04506621	377.5764	8379.022	NM_172734	Slk38l	4.47	10.80	chr6	22.19
36	A_68_P27565815	0.045079365	226.4817	5024.066	NM_019661	Ykt6	4.47	10.06	chr11	22.18
37	A_68_P28712029	0.045337845	112.6052	2483.691	BC156654		4.46	9.05	chr12	22.06
38	A_68_P27808207	0.04616227	47.68201	1032.9216	NM_001136076	P4ha2	4.44	7.79	chr11	21.66
39	A_68_P32403808	0.046376973	203.7436	4393.206	ENSMUST00000137687		4.43	9.89	chrX	21.56
40	A_68_P25090675	0.0473288	114.1474	2411.796	NM_001008422	Scaf1	4.40	9.04	chr7	21.13
41	A_68_P22049316	0.04763713	113.5989	2384.6714	NM_011443	Sox2	4.39	9.02	chr3	20.99
42	A_68_P31099378	0.047668375	359.1943	7535.274	NM_001012402	Hs3st6	4.39	10.68	chr17	20.98
43	A_68_P31592064	0.047980603	76.84838	1601.6553	NM_181414	Pik3c3	4.38	8.45	chr18	20.84
44	A_68_P23195893	0.048118588	112.0035	2327.6553	NM_024198	Gpx7	4.38	9.00	chr4	20.78
45	A_68_P24760052	0.0481802	64.47649	1338.2362	NM_175101	Tmem111	4.38	8.20	chr6	20.76
46	A_68_P25229881	0.04842917	195.9038	4045.161	NR_037569	1810026B05Rik	4.37	9.80	chr7	20.65
47	A_68_P26807588	0.049674228	187.9194	3783.0361	NM_009895	Cish	4.33	9.72	chr9	20.13
48	A_68_P28706881	0.049824998	47.68201	956.9897	NM_172500	4831426I19Rik	4.33	7.74	chr12	20.07
49	A_68_P21822531	0.05001564	116.4192	2327.6558	NM_174988	Cdh22	4.32	9.02	chr2	19.99
50	A_68_P23567505	0.05046972	129.99	2575.6038	NM_001033457	Nom1	4.31	9.18	chr5	19.81

表2. Dgcr8(+/-) マウス海馬において低メチル化状態にあった遺伝子群 (上位 50 位)

	Systematic	Normalized ratio	Dgcr8(++)	Dgcr8(+/-)	Genbank	GeneSymbol	M	A	Chromosome	Fold Change
1	A_68_P21957442	50.392483	4021.372	79.80104	NM_007892	E2f5	-5.66	9.15	chr3	0.02
2	A_68_P26167376	44.480965	3747.608	84.25195	NM_009149	Glg1	-5.48	9.13	chr8	0.02
3	A_68_P23415878	35.84552	4190.958	116.91721	NM_172705	Phf13	-5.16	9.45	chr4	0.03
4	A_68_P24219275	34.842213	2749.771	78.920685	NM_001077713	Acn9	-5.12	8.86	chr6	0.03
5	A_68_P22310705	31.946745	2518.279	78.8274	NM_026591	Mrpl24	-5.00	8.80	chr3	0.03
6	A_68_P26465443	31.060997	2448.293	78.82211	NM_198092	Usp2	-4.96	8.78	chr9	0.03
7	A_68_P32321502	31.012514	2444.463	78.82183	NM_173779	Ankrd58	-4.95	8.78	chrX	0.03
8	A_68_P23331865	30.611675	3027.02	98.88449	NM_025919	Rpl11	-4.94	9.10	chr4	0.03
9	A_68_P28729919	29.499214	2321.722	78.704544	NM_009537	Yy1	-4.88	8.74	chr12	0.03
10	A_68_P24034072	29.14264	2311.791	79.32676	NM_011535	Tbx3	-4.87	8.74	chr5	0.03
11	A_68_P23349879	27.856304	2190.831	78.64758	NR_033745	2310028O11Rik	-4.80	8.70	chr4	0.04
12	A_68_P32136799	27.338558	2149.602	78.628944	NM_021901	Tlx1	-4.77	8.68	chr19	0.04
13	A_68_P28159311	27.222193	3071.737	112.83945	NM_176902	Fam100b	-4.77	9.20	chr11	0.04
14	A_68_P25011771	26.692022	2095.214	78.4959	NM_144922	Hnmpul1	-4.74	8.66	chr7	0.04
15	A_68_P31378934	26.079092	2044.714	78.40435	NM_009994	Cyp1b1	-4.70	8.65	chr17	0.04
16	A_68_P24921625	26.018824	2039.752	78.39524	NM_177222	Casc1	-4.70	8.64	chr6	0.04
17	A_68_P24057204	23.932604	1868.47	78.07215	NM_027494	Zcchc8	-4.58	8.58	chr5	0.04
18	A_68_P23298061	23.612495	3297.338	139.64377	NM_199305	Tmem39b	-4.56	9.41	chr4	0.04
19	A_68_P24427997	23.256447	5392.206	231.85852	NM_001110160	Lrrc61	-4.54	10.13	chr6	0.04
20	A_68_P27511784	23.066795	2003.413	86.852684	NM_029527	Mirlct7i	-4.53	8.70	chr10	0.04
21	A_68_P32741828	22.939962	1785.396	77.82907	NM_001164683	Tmem29	-4.52	8.54	chrX	0.04
22	A_68_P24797808	22.923336	1784.007	77.82492	NM_198884	B4galnt3	-4.52	8.54	chr6	0.04
23	A_68_P30484706	22.674082	2763.658	121.88621	NM_007497	Atf1	-4.50	9.18	chr15	0.04
24	A_68_P31632489	22.610666	1757.895	77.74628	ENSMUST00000160721		-4.50	8.53	chr18	0.04
25	A_68_P21747600	22.377666	5795.785	258.99863	NM_001160410	Scrt2	-4.48	10.26	chr2	0.04
26	A_68_P24362050	21.836834	1693.386	77.54723	NM_008098	Mtpn	-4.45	8.50	chr6	0.05
27	A_68_P28190284	21.708372	3220.458	148.35097	NM_139147	Rab40b	-4.44	9.43	chr11	0.05
28	A_68_P24777651	21.700485	2591.039	119.40005	NM_178045	Rassf4	-4.44	9.12	chr6	0.05
29	A_68_P26217195	21.43621	2017.622	94.12212	NM_030209	Crispld2	-4.42	8.77	chr8	0.05
30	A_68_P21740959	21.140913	2663.74	125.99929	NM_153781	Pygb	-4.40	9.18	chr2	0.05
31	A_68_P21495963	21.132875	1637.945	77.506966	NM_013627	Pax6	-4.40	8.48	chr2	0.05
32	A_68_P32240694	21.081068	3855.72	182.89964	NM_001083937	Slc35a2	-4.40	9.71	chrX	0.05
33	A_68_P22128828	20.824505	1916.003	92.007126	NM_023502	Elf2	-4.38	8.71	chr3	0.05
34	A_68_P26018644	20.629803	1596.252	77.37602	NR_029821	Mir181c	-4.37	8.46	chr8	0.05
35	A_68_P25091300	20.302187	1714.613	84.45459	NM_009438	Rpl13a	-4.34	8.57	chr7	0.05
36	A_68_P26242531	20.109045	3087.717	153.54868	NM_172288	Nup133	-4.33	9.43	chr8	0.05
37	A_68_P31930182	20.066319	1549.637	77.22577	NM_144868	Pcnxl3	-4.33	8.43	chr19	0.05
38	A_68_P21061710	20.045624	2072.341	103.3812	NM_025979	Mastl	-4.33	8.85	chr2	0.05
39	A_68_P24619076	19.97343	3352.454	167.84569	NM_198622	H1fx	-4.32	9.55	chr6	0.05
40	A_68_P26811671	19.955465	2642.105	132.40005	NM_028369	Mon1a	-4.32	9.21	chr9	0.05
41	A_68_P21081482	19.86333	1532.867	77.170685	NM_207234	Rexo4	-4.31	8.43	chr2	0.05
42	A_68_P21216451	19.758202	5872.991	297.2432	NM_001141982	Rbm43	-4.30	10.37	chr2	0.05
43	A_68_P22201288	19.661121	3664.694	186.39293	NM_001166659	Lekr1	-4.30	9.69	chr3	0.05
44	A_68_P30817232	19.649786	1515.237	77.11215	NM_010140	Epha3	-4.30	8.42	chr16	0.05
45	A_68_P26998901	19.399405	2569.263	132.4403	NM_178934	Slc2a12	-4.28	9.19	chr10	0.05
46	A_68_P30370101	19.312208	1487.396	77.01843	NR_028281	Snord43	-4.27	8.40	chr15	0.05
47	A_68_P27385035	19.210398	2457.978	127.95038	NM_027740	Poc1b	-4.26	9.13	chr10	0.05
48	A_68_P31302648	19.170292	2412.082	125.82396	NM_001114131	Ppp4r1	-4.26	9.11	chr17	0.05
49	A_68_P23701535	19.056477	1611.984	84.58981	NM_009035	Rbpj	-4.25	8.53	chr5	0.05
50	A_68_P27294063	18.925718	2925.501	154.57808	NM_001042513	Txnd1	-4.24	9.39	chr10	0.05

続いてこれらの Hypermethylated genes 上位 50 位の遺伝子発現状態を、Dgcr8(+/-) 及び Dgcr8(+/+) マウス海馬における網羅的遺伝子発現解析結果を用いて解析を行った。その結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では Sox2 遺伝子の発現が約 70%に低下していることが認められたが、他の Rab39b, Gtf3c6 といった遺伝子の発現は変化しておらず、DNA メチル化との相関関係は認められなかった。

一方、Dgcr8(+/-) マウス海馬において顕著な遺伝子発現の低下が認められていた Igf2, Ttr, Kcjl3, Clic6, Htr2c, Prrl, klotho, Ace, Trpm3 などの遺伝子の DNA メチル化状態を解析した結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬では Igf2, Htr2c, Ace 遺伝子の CpG island が 2 倍変動以上の Signal 値で高くなっていたことから、これらの遺伝子は Dgcr8(+/-) マウス海馬において高メチル化状態にあることが示唆された。

2. Bisulfite sequence 法を用いた Igf2-H19 遺伝子領域に対するメチル化解析

マウス Igf2 遺伝子は、第7番染色体に H19 non-coding RNA と隣接して存在しており、通常 Igf2 遺伝子は父性アレルのみ、H19 遺伝子は母性アレルのみから転写される。この遺伝子発現は両遺伝子共通の発現制御領域 (ICR: Imprinting control region) における DNA のメチル化によって制御されることが知られており、父性アレルでは高くメチル化されるのに対して、母性アレルではメチル化がされない。その結果、インスレーター結合タンパク質である CTCF が母性アレル特異的に結合することで Igf2 の遺伝子発現が抑制され、H19 遺伝子の発現が誘導される。これまでに、この ICR には4つの CTCF 結合領域が存在することが知られており、Igf2 遺伝子の発現制御に寄与することが知られている。

そこで次に DGCR8 遺伝子ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウスにおける、Igf2-H19 の発現制御に関わる ICR 領域の CTCF 結合領域のメチル化を Bisulfite sequence 法を用いて解析を行った。その結果、Dgcr8(+/-) マウス海馬組織由来 gDNA では、父性アレルのメチル化、母性アレル脱メチル化により、4つの CTCF 結合領域におけるメチル化、非メチル化アレルの存在比が約 50%であったのに対して、Dgcr8(+/-) マウス海馬由来 gDNA では、CTCF 結合領域第3番が低メチル化状態になっていることが明らかとなった (図2)。

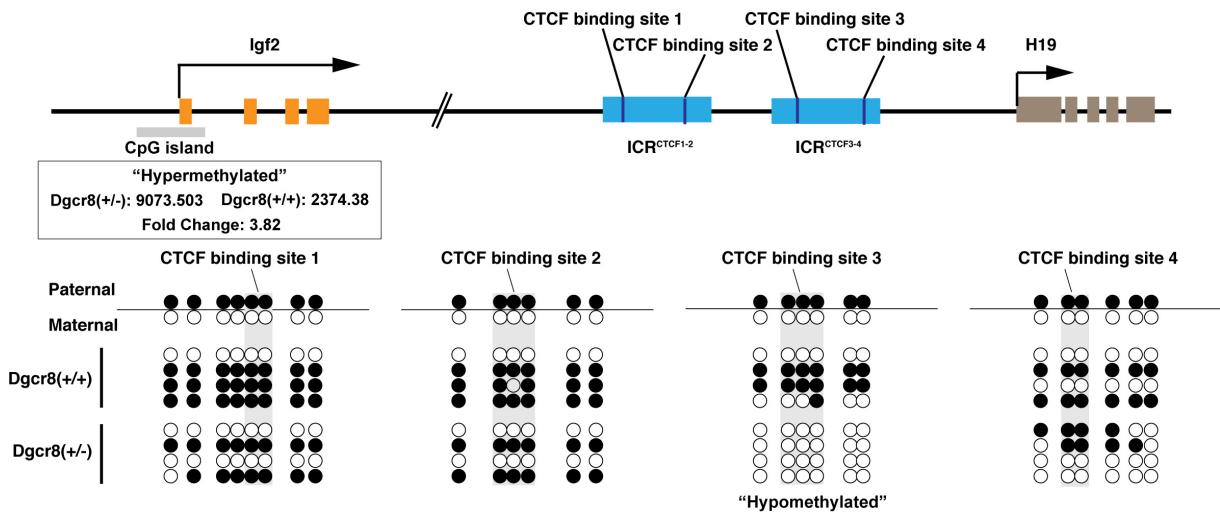


図2. Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウス海馬における Igf2-H19 ICR の DNA メチル化状態の解析結果。

Dgcr8(+/-) および Dgcr8(+/-) マウス海馬より gDNA を抽出し、Bisulfite sequence 法を用いて Igf2-H19 ICR に存在する4つの CTCF 結合配列の DNA メチル化状態の解析を行った。

考 察

以上の結果から、Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウスの海馬では、Igf2 遺伝子のプロモーター領域に存在する CpG island が高メチル化状態にあり、一方で Igf2 の発現制御に関わる ICR 領域の CTCF 結合領域第3番が低メチル化状態になっていることが明らかとなった (図2)。CTCF タンパク質は、非メチル化状態の ICR 領域に結合することで、Igf2 遺伝子の発現を抑制することから、Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウスの海馬における Igf2 遺伝子の発現低下は、Igf2 遺伝子のプロモーター領域の高メチル化と ICR CTCF 結合領域第3番の脱メチル化によって制御されている可能性が示唆された。一方、古くから、統合失調症の発症率を約2倍に増加させた大きな環境因子として、第二次世界大戦末期の“Dutch Hunger Winter”が注目されてきたが、近年、この時期に胎児であったヒトでは、IGF2 の ICR 領域が低メチル化状態になっていることが報告されている²⁾。また IGF2 は海馬における成体神幹細胞の自己分泌型増殖因子であることが報告されていることから³⁾、成体神経幹細胞におけるエピジェネティック制御異常が IGF2 の発現低下を引き起こし、統合失調症の発症を高めている可能性が考えられる。

一方、網羅的 DNA メチル化解析および網羅的遺伝子発現解析結果から、Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウス海馬では、Sox2 遺伝子の発現がエピジェネティックな制御により抑制されている可能性が示唆された。前述の通り、

Sox2 遺伝子は成体神経幹細胞の維持に必要な転写因子であり，近年，統合失調症の発症において最有力候補として注目されている miR-137 の発現を制御することで神経新生に寄与していることが報告されている⁴⁾。

これらの結果から Dgcr8 ヘテロ欠損型統合失調症モデルマウスの海馬では，Igf2, Sox2 といった遺伝子のエピジェネティックな制御異常によって成体神経幹細胞の増殖および神経新生が低下していることが示唆されたが，その分子機構は全く不明である。

今後，より詳細な分子機構の解析をすることにより，統合失調症の発症機構の解明と治療戦略の開発につながることを期待している。

本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Ouchi, Y., Banno, Y., Shimizu, Y., Ando, S., Hasegawa, H., Adachi, K. & Iwamoto, T. : Reduced adult hippocampal neurogenesis and working memory deficits in the DGCR8-deficient mouse model of 22q11.2 deletion-associated schizophrenia can be rescued by IGF2. *J. Neurosci.*, **33** : 9408-9419, 2013.
- 2) Heijmans, B. T., Tobi, E. W., Stein, A. D., Putter, H., Blauw, G. J., Susser, E. S., Slagboom, P. E. & Lumey, L. H. : Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105** : 17046-17049, 2008.
- 3) Bracko, O., Singer, T., Aigner, S., Knobloch, M., Winner, B., Ray, J., Clemenson, G. D. Jr, Suh, H., Couillard-Despres, S., Aigner, L., Gage, F. H. & Jessberger, S. : Gene expression profiling of neural stem cells and their neuronal progeny reveals IGF2 as a regulator of adult hippocampal neurogenesis. *J. Neurosci.*, **32** : 3376-3387, 2012.
- 4) Yin, J., Lin, J., Luo, X., Chen, Y., Li, Z., Ma, G. & Li, K. : miR-137: a new player in schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.*, **15** : 3262-3271, 2014.