

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

宮川 剛(藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 教授)

主たる共同研究者

西 昭徳(久留米大学 教授)

小林 克典(日本医科大学 講師)

一瀬 宏(東京工業大学 教授) ~H24.3

高橋 琢哉(横浜市立大学 教授) ~H24.3

神谷 之康(ATR 脳情報研究所 主任研究員) ~H21.3

湯浅 茂樹(国立精神・神経センター 部長) ~H20.3

池中 一裕(生理学研究所 教授) H20.9~H22.3

3. 研究実施概要

:本研究は、網羅的行動テストバッテリーを用いてスクリーニングした精神疾患様行動異常を示す遺伝子改変マウスを共通のプラットフォームとし、分子生物学的、組織化学的手法をはじめとした様々な手法により多面的に解析し、精神疾患の中間表現型を解明することを目的とした。

A. 遺伝子改変マウスの網羅的行動解析

・網羅的行動テストバッテリーを用いて精神疾患様行動異常を示す遺伝子改変マウスの探索を行い、統合失調症様の行動異常を示す α CaMKII ヘテロノックアウト(HKO)マウス、Schnurri-2 (Shn2) KO マウスをはじめとする遺伝子改変マウスの行動解析を実施した。

B. 精神疾患モデルマウスの脳の生理学的・生化学的・形態学的特徴の抽出

・とりわけ顕著な行動異常のプロファイルを示す α CaMKII HKO マウスにおいて、成体の脳にもかかわらず、海馬歯状回のほぼすべての神経細胞が未成熟な状態にあるという「未成熟歯状回」という現象を世界で初めて見出した。この「未成熟歯状回」はやはり顕著な行動異常を示す Shn2 KO マウス、変異体 SNAP-25 ノックイン(SNAP-25 KI) マウス、前脳特異的カルシニューリン(CN) KO マウスなどでも見られることがわかってきた。脳内セロトニンが低下している Dpr KO マウスと、多動性を示す Nurr1 HKO マウスでは未成熟歯状回は認められなかった。

・抗うつ薬フルオキセチンや、ピロカルピンによるてんかんなどの環境的要因により成熟した歯状回が擬似的な未成熟状態に戻る「脱成熟歯状回」という現象を発見した。未成熟歯状回、脱成熟歯状回をあわせて「非成熟歯状回 (immature Dentate Gyrus: iDG)」と名付けた。歯状回の神経細胞の成熟度が双方向性に变化し得ることを世界で初めて明らかにした。

・iDG のレスキューと、一部の精神疾患様異常行動の改善に成功した。抗炎症剤イブプロフェンとロリプラムを慢性投与した Shn2 KO マウス、さらにロリプラムを投与した CN KO マウスにおいて、iDG がレスキューされている可能性が高いことが分かってきた。また SNAP-25 KI マウスで認められた未成熟歯状回及びワーキングメモリーの異常が、抗てんかん薬バルプロ酸投与によってレスキューされることを明らかにした。

・iDG を示すマウスの前頭葉も未成熟な状態になっていること(「未成熟前頭葉」)も明らかとなってきた。これは新たな精神疾患の中間表現型の存在を示唆するものである。

•Shn2 KO マウスの海馬では、ドーパミンやセロトニンなどの量はほとんど変化せず、モノアミン放出の低下によると考えられるモノアミンの代謝回転の低下が起きていた。Shn2 KO マウスに NMDA 受容体阻害剤 MK-801 を投与した時のモノアミンの変化を、脳内微量透析法により解析したが、有意な変化は見られなかった。

•精神疾患モデルマウスの脳について、主要な細胞内シグナル伝達分子のリン酸化・脱リン酸化シグナル伝達系について解析を行い、組織特異的にドーパミン D1 受容体シグナルに異常が生じていることを明らかにした。歯状回神経細胞に発現したドーパミン D1受容体は、フルオキセチンによる歯状回の脱成熟を顕著に増強することを明らかにした。

•ラットの大脳新皮質に神経前駆細胞 (Layer 1 Inhibitory Neuron Progenitor cell; L1-INP 細胞) が存在することを世界で初めて発見した。抗うつ薬により L1-INP 細胞からの抑制性神経細胞の産生が誘導されること、この抑制性神経細胞の産生が脳虚血に対して神経保護作用を示すことなどを見出した。

C. 網羅的解析技術によるバイオマーカーの探索

•ゲノムワイドの遺伝子発現解析やプロテオミクス解析によって、この iDG を示すすべての精神疾患モデルマウスの脳において軽度の慢性炎症が共通して生じていることが明らかになった。さらにこの軽度の慢性炎症では、複数の補体遺伝子や MHC 遺伝子などが上昇しているが、典型的な炎症性サイトカインにはあまり変化が見られない。この非定型的炎症様の遺伝子発現パターンは、統合失調症をはじめとするいくつかの精神神経疾患患者の死後脳遺伝子発現解析でも確認されており、この種の非定型炎症が精神疾患をもたらす脳の各種異常の原因の一つとなっていることが推測される。

•Shn2 KO マウスの前頭前皮質において統合失調症患者の死後脳の前頭極と共通した遺伝子・タンパク発現パターンがみられたほか、統合失調症と共通した脳波パターンが生じていること、さらに皮質の厚さが薄くなることを見出した。これらは精神疾患の新たな中間表現型の存在を示唆するものである。

•ジーンチップ解析で得られた歯状回の遺伝子発現データから、機械学習アルゴリズムを用いて、活動量に長日周期的な変化をもつ α CaMKII HKO マウス、Shn2 KO マウスの過去 (サンプリング前) の活動量変化の予測を試みた。 α CaMKII HKO マウスにおいて歯状回の遺伝子発現パターンから、過去の一定期間における活動量の変化の定量的な予測を行うことに成功した。意外なことに予測式に含まれる歯状回の遺伝子の大半が時計遺伝子 (Bmal1, Per2, Tef 等) であった。時計遺伝子が概日リズムに関わる他に、長日周期と共に発現量が変化することを世界で初めて示す発見である。

D. ヒト精神疾患での中間表現型探索

•ヒトモデルである霊長類のマーマセットにおいて、抗うつ剤慢性投与や発達期のウイルス感染モデルを用いて、マーマセットでも iDG 化が起こるかどうかの検討を進めた。iDG と共通した成熟度マーカータンパクの発現パターンを Poly I:C を用いた発達期ウイルス感染モデルのマーマセットにおいて確認した。

•さらに、ヒト死後脳におけるタンパク発現解析により、iDG が統合失調症患者と双極性気分障害患者の死後脳でもみられることを確認した。これらは iDG が精神疾患の有力な中間表現型の候補であることを示している。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果 (論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)
主な研究成果は以下のごとくである。

- 1) 遺伝子改変マウスの網羅的行動解析を行い、 α CaMK II ヘテロノックアウト (HKO) マウス、Schnurri-2(Shn2)KO マウスをはじめとする統合失調症様の行動異常を示す遺伝子改変マウスを同定した。
- 2) α CaMK II HKO マウスの海馬歯状回に「未成熟な神経細胞 (未成熟歯状回) iDG」を見出した (世界初)。

この iDG は他のモデルマウス (Shn2 KO マウス、SNAP-25 KI マウス、前頭特異的カルシニューリンマウスなど) でも認められた。ピロカルピンなどの環境的要因により、成熟した歯状回が未成熟状態に戻る (脱成熟歯状回) 現象を発見。iDG を示すマウスでは前頭葉も未成熟な状態になっている (未成熟前頭葉)。精神疾患モデルマウスの脳について組織特異的にドーパミン D1 受容体シグナルに異常が生じていることを明らかにした。

- 3) iDG を示すすべての精神疾患モデルマウスの脳に軽度の慢性炎症が共通して生じていることを明らかにした。この非定型的炎症様の遺伝子発現パターンは統合失調症をはじめいくつかの精神神経疾患の死後脳遺伝子発現解析でも確認された。
- 4) iDG が統合失調症患者と双極性障害患者の死後脳でも見られることが確認された。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

精神疾患様行動異常を起こす遺伝子改変マウスを網羅的行動テストバッテリーによってスクリーニングし、 α CaMK II HKO マウスあるいは Shn2 KO マウスの脳の歯状回において「非成熟歯状回」という現象を見出し、これが統合失調症の中間表現型である可能性を追求した。この「非成熟歯状回」はまったく新しい発見であり、概念であることから科学的インパクトは高いものである。しかし、これが真の中間表現型と言えるかどうかについては更なる詳細な検討が必要である。今後、疾患特異的なマーカーであることが証明され、これを抗炎症薬等により正常化されることが検証されれば、統合失調症の治療に画期的な新規治療薬が導入されることにつながるため、社会への還元が大いに期待されるが、現時点ではまだ十分評価できるエビデンスがそろったとは言えない。

統合失調症の動物モデルを複数系統同定し、これらのマウスに共通する行動パターンとともに未成熟歯状回、遺伝子発現パターン、脳内表現型に共通項があることを明らかにした点は戦略目標に貢献するものである。

4-3. 総合的評価

本研究の目的は網羅的行動テストバッテリーを用いてスクリーニングした精神疾患様行動異常を示す遺伝子改変マウスを共通のプラットフォームとし、精神疾患の中間表現型を解明することであった。

本研究の成果として、統合失調症の新たなモデルマウスが得られたこと、これらのマウスに共通する iDG が中間表現型となる可能性を示唆したことは統合失調症に関する新たな中間表現型となり得る発見で、統合失調症の病態、治療にブレークスルーをもたらす可能性を有しており、着実な研究を進めたことで、大きな成果をおさめた。 今後は、さらに十分なエビデンスを得ることが必要で、神経細胞の成熟度が双方向性に变化するメカニズムとその意義を明らかにすること、その疾患特異性を明らかにすること、軽度の炎症と iDG の関係についても明らかにすることなどが必要である。これらにより、治療ターゲットをより明確化できれば、画期的な新規治療薬の導入につながり、社会への還元が期待できる。