

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく
診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成 21 年度採択研究代表者

平成 21 年度 実績報告

内匠 透

広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

精神の表出系としての行動異常の統合的研究

§ 1. 研究実施の概要

1) 分子病態解明

発達障害モデルマウスのセロトニン系及び GABA 系ニューロンを中心に、体系的解析による責任神経領域の同定に向けた実験をスタートした。すなわち、発達障害モデルマウスの形態的、細胞生物学的解析による解析では、脳各部位、発達時期を追っての解析を行っている。形態学的解析では、セロトニン系、GABA 系を中心する各神経特異的マーカーを利用し、細胞生物学的解析では、スパインレベルの異常の有無を検討した。

2) 新規診断法の開発

本年度は、身体活動データに基づく精神疾患の客観的評価手法の確立を目的に、気分障害患者(大うつ病性障害、季節性感情障害)および時計関連遺伝子ノックアウトマウスを用いて、気分・身体症状または遺伝子ノックアウトと身体活動の質的特徴変化との関連を検討した。ヒトにおいては、我々が提案する客観的活動統計指標(行動組織化解析)が主観的気分やうつ症状の同定に有用であることが示された。一方、Per2 遺伝子ノックアウトがヒトうつ病患者と同様な身体活動の質的特徴変化を引き起こすことを確認した。今後は、数理解析に基づく診断手法の精度向上、および発達障害マウスへの適用を行う。

3) 治療法の基盤開発

エピジェネティック解析では、モデルマウスの脳サンプルを用いて重複領域内の DNA のメチル化状態をバイサルファイトシーケンス法による体系的に調べた。また、ヒストン修飾の解析では、ChIP 法の条件検討を行うとともに、ChIP-chip 法による網羅的解析を行い、現在解析中である。

発達障害モデルマウスの HPLC を用いたモノアミンの解析を脳各部位とともに、発達時期をおつ

て解析し、セロトニン系の異常を見出した。

薬理学的基盤研究としての電気生理学的解析では、モデルマウスを用いて、まず小脳深部小脳核でのセロトニン神経、受容体、抑制性伝達の修飾機構について検討を行った。

§ 2. 研究実施体制

(1)「内匠」グループ

① 研究分担グループ長:内匠 透(広島大学、教授)

② 研究項目

行動異常の統合的研究

(2)「山本」グループ

① 研究分担グループ長:山本 義春(東京大学、教授)

② 研究項目

数理モデリングの研究、データ解析やその手法開発

(2)「鈴木」グループ

① 研究分担グループ長:鈴木 秀典(日本医科大学、教授)

② 研究項目

行動異常の薬理学的研究

§ 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

1) 分子病態解明

(内匠グループ)

発達障害モデルマウスの形態学的解析では、セロトニン系、GABA系を中心する各神経特異的マーカーを利用し、細胞生物学的解析では、スパインレベルの異常の有無を検討した。また、別途細胞生物学解析の中では、筋萎縮性側索硬化症の新規原因遺伝子であるオプチニューリンの変異体の解析を行った(1)。

2) 新規診断法の開発

(山本グループ)

身体活動データに基づく精神疾患の客観的評価手法の確立を目的に、ヒト季節性感情障害(SAD)患者、種々の時計関連遺伝子(BMAL1, Per2, Clock)ノックアウトマウスの身体活動デー

タの計測・解析を行った。行動組織化解析の結果、非定型の病態を持つとされる SAD 患者でも季節性大うつ病性障害患者と同じ身体活動の質的特徴変化が見られ、提案する活動統計指標がヒトのうつ気分の同定に有用であることを確認した。マウスでの検討では、Per2 時計遺伝子ノックアウトマウス(以下 Per2)においてのみ、ヒト大うつ病性障害患者と同様な身体活動の質的特徴変化が見られた。また、身体活動データの周期性成分を解析した結果、大うつ病性障害では、季節性・非季節性とも長周期の ultradian リズム成分の有意な減少が確認された。同様に、Per2 でも長周期リズム(約 3~10 時間)の不安定化と崩壊が見られた。これらは、うつ状態と身体活動における長周期リズムの不安定化との何らかの関連を示唆する。

一方、自閉症を含む精神・神経疾患への簡易診断装置としての産業化およびスクリーニングへの適用を考えた場合、より時間解像度の高い診断指標の確立が重要である。健常被験者(35 人)を用いて、経時的に測定した主観的な抑うつ気分と、記録前 30 分間の身体活動度の統計指標との関連を個人間・個人内変動を考慮した統計手法(マルチレベル解析)を用いて解析した。その結果、抑うつ気分と身体活動度の平均値には高度に有意な負の関連、歪度には高度に有意な正の関連を認めた。すなわち、抑うつ度が高い時、低活動状態をベースとして時より高レベルの活動が混入するという間欠のパターンが見られることが明らかになった(そのパターンは上記「行動組織化解析」で見られた変化と同等のものであった)。指標の導出に改良の余地はあるものの、客観的に求めた局所的(高時間解像度な)統計指標と主観的気分状態との間に強い関連があったことは、従来は全く不可能であった日常生活内における気分状態の客観的・連続的把握の可能性を示唆する。

3) 治療法の基盤開発

(内匠グループ)

エピジェネティック解析では、モデルマウスの脳サンプルを用いて重複領域内の DNA のメチル化状態をバイサルファイトシーケンス法による体系的に調べた。また、ヒストン修飾の解析では、ChIP 法の条件検討を行うとともに、ChIP-chip 法による網羅的解析を行い、現在解析中である。

(鈴木グループ)

小脳深部小脳核における GABA 作動性抑制性伝達がセロトニンにより、異なる受容体サブタイプを有する2つの部位で修飾作用を示すことを明らかにしている。また、発達過程でセロトニンに対する修飾作用は変化することも見出している。そこで、モデルマウスを用いてセロトニンによる GABA 作動性シナプス修飾作用を野生株と比較することでモデルマウスにおけるセロトニン動態の異常、あるいはセロトニン受容体の発現変化などがあるかを調べた。生後 2~3 週齢における深部小脳核におけるセロトニンによる修飾作用を野生株と比較した結果、有意な差を認めなかった。また、グルタミン酸作動性シナプス伝達もセロトニンにより修飾を受けるが、この作用にも野生株との差は認められなかった。小脳を中心に、モデルマウスにおけるシナプス伝達機構の特異性を見出すために、小脳皮質における平行線維-プルキンエ細胞間のシナプスにおける短期可塑性も調

べた。しかし、現在まで、有意な差を見出していない。先行研究ではモデルマウスは超音波啼鳴が生後限られた早期に有意な差を示していることから、より幼若な発達期における比較を行っていく計画である。モデルマウスにおける重複する 15q11-13 領域は GABA_A 受容体をコードする遺伝子が含まれており、GABA 作動性神経伝達に異常を来している可能性がある。そこで、シナプス伝達の記録対象を小脳に限らず、辺縁系にも広げて検討することを計画している。

§ 4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R and Kawakami H: Optineurin mutations in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* in press.