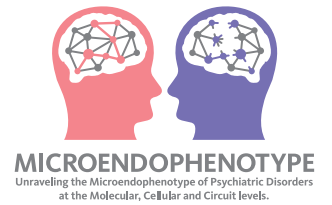


MICROENDOPHENOTYPE

Unraveling the Microendophenotype of Psychiatric Disorders
at the Molecular, Cellular and Circuit levels.



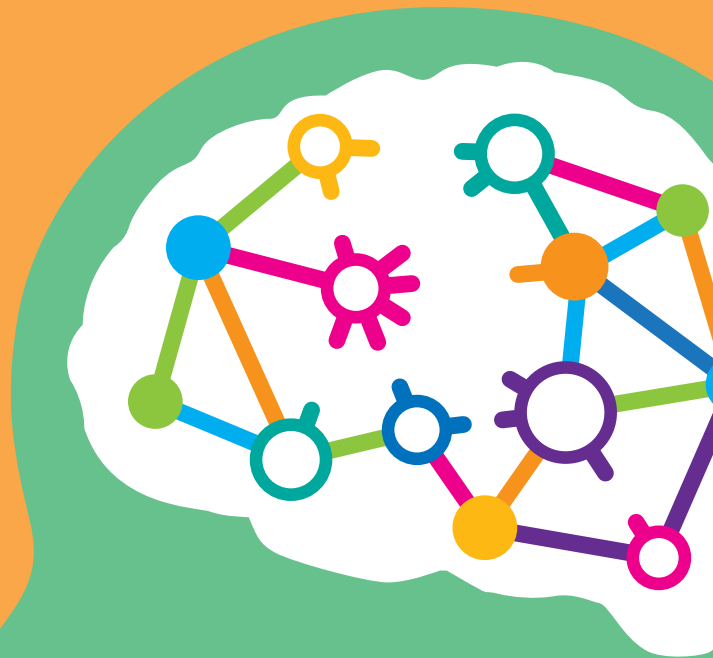
Newsletter

Mar. 2015

Vol.2

文部科学省科学研究費補助金
「新学術領域研究(領域提案型)」平成24年度～28年度

マイクロエンドフェノタイプによる 精神病態学の創出



CONTENTS

01 領域代表挨拶

はじめに

喜田 聡

02 新学術領域「マイクロ精神病態」第2回座談会

精神疾患モデルを使った研究の現状と問題点

喜田 聡／糸原 重美／岡野 栄之／宮川 剛／
加藤 忠史／那波 宏之

研究成果

09 統合失調症の認知機能障害と大脳皮質パルブ アルブミン神経細胞におけるカリウムチャンネル

橋本 隆紀

10 治験の段階にある抗がん剤が統合失調症モデル 動物にも効果

思春期のマウスで過剰なシナプス除去を予防

林(高木) 朗子

11 統合失調症患者神経細胞で レトロトランスポゾン配列が増大している

岩本 和也／加藤 忠史

12 恐怖記憶を思い出すだけで恐怖が増強する新 規PTSDモデルマウスの開発

喜田 聡

13 計画研究／公募研究

班員リスト

公募研究班員紹介

14 A01 細胞～シナプスレベルの マイクロエンドフェノタイプ

17 A02 回路～個体レベルの マイクロエンドフェノタイプ

24 A03 脳外環境要因が脳内に引き起こす マイクロエンドフェノタイプ

28 領域活動報告

はじめに

科研費新学術領域「マイクロ精神病態」のニュースレター第2号を発刊致しました。今回は、精神疾患の動物モデルのあり方に関する座談会を企画しました。国内の動物モデル研究を牽引されている先生方にご参加いただき、盛りだくさんにモデル動物論を展開しております。今回はその第一部となります。また、一般向けの企画としては計画班の吉川武男先生と鶴飼渉先生にご寄稿頂きました。こちらは両先生のお考えやお人柄が感じられる貴重な内容となっており、教科書からは学べない精神疾患を窺い知ることができます。

第1号においても記しましたが、我が国では、気分障害(うつ病、双極性障害など)、不安障害(心的外傷後ストレス障害(post traumatic stress disorders;PTSD)など)、統合失調症の精神疾患の生涯有病率は、5人に1人の割合を超えています。また、マスメディアから発信される情報量の多さからも、精神疾患は非常に身近な病気であり、社会的な関心が極めて高いと言えます。本新学術領域では、この精神疾患のメカニズムを理解し、その解決策を見出すために、分子動態・シナプス・細胞・回路レベルで可視化された精神疾患の病態を「マイクロエンドフェノタイプ」と名付け、このマイクロエンドフェノタイプを同定し、この分子基盤と病態機序の解明することを共通目的として、様々なアプローチで研究を進めております。

現在、脳機能を制御するメカニズムの解明ですら、発展途上であると言えます。したがって、脳を理解した上で、ようやく明らかになると思われる精神疾患のメカニズムは極めて難易度の高い研究対象と言え、この研究進展には基礎から臨床に至る研究者の叡智の結集が不可欠です。一方、生活習慣病やガンの研究領域では医学、農学、工学、理学の学問領域の垣根を超えて多くの基礎研究者がその屋台骨を支えています。本領域では、マイクロエンドフェノタイプを共通概念とすることで、領域代表である私がそうであるように、PhDが臆すること無く、精神疾患研究に参入しやすい状況を作り出し、国内の精神疾患に携わる基礎研究者層を厚くすることを目指して、領域内外の活動を進めております。

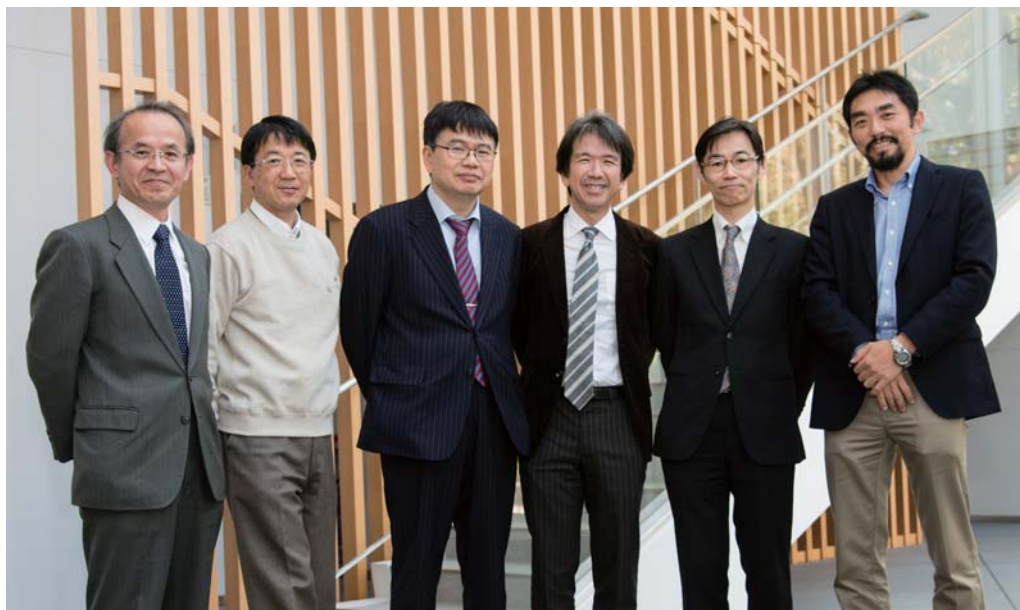
患者さんに接する機会のない基礎研究者にとって、精神疾患は想像しがたい疾患です。「幻想」や「幻聴」は言葉の上では理解できますし、本を読めば疾患の定義や病状を知ることが可能です。しかし、脳内の病態という目印が不明な以上、「どのような状態が病気であるのか?」という実態を知る機会は限られています。他の多くの疾患と違って、時には、遠くの世界の出来事と思ひ、目に見えない距離感を感じます。そこで、本領域では、基礎研究者を対象にして、精神疾患を理解する機会を設けております。まず、平成26年2月に群馬県大和会西毛病院を総勢約60名で見学しました。高木博敬先生(副院長)、諸川由美代先生(臨床医学研究センター長)、亀山正樹先生に講師と案内役をお引き受け頂き、見学にあたってのガイダンスを受け、その後、病院内の見学、診断の様子などのお話を伺いました。また、病院見学に先立って、福田正人先生(群馬大学大学院医学研究科)、溝口健介先生ケンクリニックに臨床の観点より、疾患に関してレクチャー頂きました。続いて、平成26年9月日本神経科学会(横浜)において、高橋良輔大会長(京都大学)のご理解の下で、基礎研究者を対象として「基礎脳科学者のための精神疾患臨床ABC教育コース」を開催しました。本領域以外にも、日本生物学的精神医学会西川徹理事長(東京医科歯科大学)にご協力頂き、尾崎紀夫先生(名古屋大学)、古川壽亮先生(京都大学)にご講演頂きました。最後になりますが、平成26年12月の領域班会議において、北海道「べてるの会」の皆様にご講演頂きました。本号では鶴飼渉先生がべてるの会の紹介をされておりますので、詳細は鶴飼先生の文章をご一読下さい。このような企画を通じて、精神疾患という生物学的な現象(医学的には疾患ですが、このようにも表現できるように感じております)を見つめ直す良い機会を得ることができました。特に、基礎研究者にとっては、モデル動物等を用いて病態を再現するための様々な切り口を得たように感じております。以上までの企画にご尽力いただいた皆様方には、厚く御礼申し上げます。今後も、領域内外の基礎研究者に精神疾患研究を紹介するシンポジウムやワークショップ等を計画できればと考えております。ご要望がありましたら、マイクロ精神病態事務局までお寄せ下さい(micro@nodai.ac.jp)

国内の精神疾患研究の進展に少しでも貢献できますように、領域一同一層努力する所存です。今後とも、どうぞ宜しくお願い申し上げます。



領域代表
東京農業大学
応用生物科学部 教授
喜田 聡

精神疾患モデルを使った 研究の現状と問題点



日 時：平成26年10月24日(金) 9:00～12:00

場 所：理化学研究所脳科学総合研究センター中央棟 Brain Box前会議室
(中央棟1F 展示室前会議室 C106)

司 会：喜田 聡 氏(東京農業大学・応用生物科学部・教授)

参加者：糸原 重美 氏(理化学研究所・脳科学総合研究センター・シニアチームリーダー)

岡野 栄之 氏(慶應義塾大学・医学部・生理学教室・教授)

宮川 剛 氏(藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・システム医科学研究部門・教授)

加藤 忠史 氏(理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー)

那波 宏之 氏(新潟大学・脳研究所・教授)

(喜田) 本日はお忙しい中お集まり頂き、有難うございます。精神疾患モデルを使った研究の現状、また、直面している問題点をお話頂き、これを基にして、議論を進めていきますので、よろしくお願いします。まず、岡野先生、口火を切っていただけますか。

(岡野) 私たちは、精神疾患モデルとして、精神疾患の患者さん由来のiPS細胞を使った細胞レベルのin vitroモデルと、霊長類を用いた in vivoモデルと、二つを目指しております。いずれにせよ、単一遺伝子による疾患ではないので、ジェノタイプとフェノタイプの関係が非常に複雑で、そこが一番苦労のあるところですよ。

そうは言っても、患者さん由来のiPS細胞を作成する過程において、エピジェネティックなモディフィケーション(ヒストンの翻訳後修飾や、DNAメチル化などの後天的な遺伝子修飾)がいったんクリアになり、多能性の状態に戻って、その後、神経細胞を誘導する過程を経てい

るにもかかわらず、患者さんのiPS細胞に特定のフェノタイプが観察されるということは、やはり何らかの遺伝的素因が効いているのは間違いないと思います。しかし、どの遺伝子がどの程度コントリビューションするかは、まだまだこれから知見を重ねていかないと分からないと思っています。

最も遺伝的影響が強いといわれている22q11領域については、ある程度の結果が出てきましたが、同じ変異を有していても、精神疾患を発症する人としない人は一体どこが違うのか、まだ諸説粉々の状態です。この点をしっかり明らかにしていくことが重要だと思います。

さらに、iPS細胞に関しては、先週、北京で行われた(AAAS、すなわちScience Translational Medicine、そしてIPSEN)シンポジウムで、ソーク研究所のFred Gagelは、双極性障害の患者さん由来のiPS細胞の解析から、リチウム感受性と非感受性の患者さんの違いを見事に再現で

きたと言っていました。まだ、遺伝的な差異はあまりクリアではなく、違いは一体何に起因しているかというところはまだまだ分かりません。しかし、次世代シーケンスによる解析方法とゲノム編集の手法が急速に進展しているので、遺伝要因が複数あるにせよ、突破口が開けてくる可能性はあると思います。

また、僕は精神疾患由来のiPS細胞に関して、尾崎紀夫先生(名古屋大学医学部)らとも共同研究をしています。患者さんの全ゲノムシーケンスとプロファイリングの両方をみっていますが、その中で共通のCNV(Copy number variation; コピー数多型)を見出しており、しかも、そのCNVに発生過程において重要な役割を果たすと思われる遺伝子が存在することから、突破口が開けてくる可能性があります。

また、統合失調症には、ドーパミン産生ニューロン、グルタミン酸作動性ニューロン、GABA産生ニューロン、セロトニン産生ニューロン、あるいは、グリアなどを原因とする説がさまざまあります。iPS細胞から、それぞれの細胞に分化誘導することができますので、どの細胞に誘導した場合、そして、どの細胞とどの細胞をco-cultureした場合に異常が出るのかということなど、かなり解析を進めることができると思います。しかし、iPS細胞を使った解析に関しては、あくまでもin vivoの解析ではないので、脳内のシステムレベルにおいて、どのように反映されるか?と言った事への落とし込みが難しいところです。

in vivoのモデルについて簡単に説明しますと、自閉症あるいは自閉症関連疾患でかなり遺伝的な素因がはっきりしているものに関しては、この遺伝子のノックアウトのサル(マーモセット)が作れるようになってきました。我々は、MeCP2遺伝子のノックアウトマーモセットのヘテロ接合体まで作ることができています。今後、行動解析を進めると何が起きるのか、非常に楽しみです。先週の北京の会議でも、中国のグループが作ったMeCP2遺伝子のノックアウトのアカゲザルが、手をもんでいたり、うつむいたりしていることを発表していました。ああいうものを見ますと、かなりロバストに、ヒトに近いフェノタイプを初めて示せる系が作れてきたと思っています。

統合失調症になると、どの遺伝子を標的にするか、私もいまだに決めかねています。今後、いろいろな形でヒューマンジェネティクスの知見と臨床的な考え方や知識が集積すると、モデルが作れるようになるかもしれません。しかし、今のところ、環境誘導型モデルが霊長類の統合失調症モデルとして大事だと思っていて、遺伝学のみでどこまでモデルを作れるかということが今後の問題と思っています。

メンデルの法則に必ずしも従わない精神疾患に関して、全ゲノムシーケンス、ゲノム編集、iPS細胞、遺伝子改変霊長類でどこまで迫れるかが私にとって重要な課題です。



喜田 聡氏

1、霊長類モデルを用いた精神疾患研究の現状

(喜田) 今のお話に関して、マーモセットのプロジェクトに関して、議論できればと思います。まず、マウスの重要な遺伝子について、マーモセットでミュータントを作るというような戦略は、どれぐらい費用がかかるのでしょうか。

(岡野) ゲノムエディティングが安定してきましたので、マーモセットの受精卵の段階と飼育が一番律速にはなりますが、技術的にはかなりルーチンにできるようになってきています。しかしながら、依然としてかなりの費用が必要で、1ライン3000万円ぐらいは頂かないとできません。これを1000万円程度にすることが、脳プロで、普及技術として目指すべきところですが、できるようになってきています。

今、われわれが目指しているのは、ヒトの遺伝学から明らかになっている遺伝子と、マウスのノックアウトスタディで行動異常を示す遺伝子、両方で共通の遺伝子、例えばNeurologin, Shank3, TSC1, TSC2, MeCP2といったような遺伝子のloss of functionを作っていくことが一つの目標です。しかし、これだけで済むほど精神疾患は単純ではありません。これ以外で、明らか多因子が関与するものについて今後どう展開するのかと、批判されるのですが、「では、あなたは答えがあるのですか」と逆に聞かざるを得ないですね。

加藤さんが扱っている精神疾患でも、重要そうな遺伝子がありますよね。このような遺伝子を全部、ノックインで変異を誘導して、ヘテロ接合体まで作って、本当に精神疾患を再現できるかを検証することを考えると、それだけの労力を払うほどまだエビデンスがしっかりしていませんよね。

(加藤) 双極性障害は、ゲノム研究そのものがまだ遅れています。

(岡野) ゲノム要因の同定までに、近い精神疾患とかなり遠いものがあるって、遺伝学的なエビデンスがしっかりしたものでないと、霊長類モデルはとても怖くて作れないということですね。



糸原 重美氏

理論的には、霊長類でforward geneticsを進めるという手もあるのです。非常に大きなコロニーの中で行動異常を示すものが出て、既に家系をつくっているのだったら、全ゲノム配列が明らかとなった現状では、この原因遺伝子をクローニングするのは、不可能ではないですが、相当大変ですよ。それよりは、reverse geneticsで攻めていけるところから攻めることしか、今はできないというところが問題です。

一方、頭頂葉など、ヒトと比べて明らかにマウスでは対応部位がない疾患に関しては、霊長類でしかミミックできませんので、これは霊長類の利点として活用していけばいいのではないかと思います。

(喜田) マーモセットの表現型の解析はどのようにされるのでしょうか。

(岡野) 一番簡単なのは、アイトラッカーを使ってマーモセットが何をしているかを調べるとか、アイコンタクト的なことだと思います。理研の入来先生たちが、自発的な行動の中でいろいろなパラダイムを同時に観察するシステムを作っていますので、このシステムを用いて見ていくこともできます。タスクベースなワーキングメモリなど、システムができつつありますが、ある程度ヒトと対応したような表現型が観察できるかどうかという点がネックになると思います。もう一つは、自由行動中のいろいろな脳の活動をまとめています。そこで、ヒトのresting state fMRIにおける異常にも、モデル霊長類に相同なものがあるかがネックになると思います。

しかし、動物ですので、いろいろなインターベンションができます。いわゆるresting state fMRIで得られたdefault mode networkの解剖学的なデータベースを目指していると思いますので、この点からのアプローチは可能だと思います。

(加藤) サルというのは、視線が合うのですか。サル同士で見つめ合ったりするのですか。

(那波) 見つめ合うし、マーモセットは人間ともバリバリに見つめ合いますよ。

(加藤) さすがにマウスだと、視線という解析は絶対あり得ないですね。

(那波) ただ、マーモセットはやはり種が違うので、ヒト用の精神疾患診断基準DSM-5は多分適用できません。サルにはサルの文化があり、コミュニケーション手段があります。この点がヒトと完璧に一致しているなら割と答えは簡単なのですが、マウスよりはヒトに近いけれども、同じではないので、どういう形で表現型が出るのか、例えば、自閉症のモデルだからと言って、マーモセットでも目合わせが外れるかどうかは、分からないですね。逆に目合わせしないからといって、このマーモセットは自閉症ではないと言えるのかも難しい議論かもしれません。

(岡野) 今、やっとできたレット症候群のマーモセットモデルで本当にやってみたいところは、そこなのです。結果が出てもいいし、出なくても面白いだろうと。

(那波) 行動の異常性は多分出ると思いますが、同じ異常が出るかどうかは分かりません。

(加藤) DSM-5に関してはマウスでは無理だとおっしゃったのですが。

(那波) ごめんなさい、うつ病は少しヒトとも共通性が高く、一部適用の可能性があるかもしれません。

(加藤) DSM-5におけるうつ病の診断基準を見ると、九つの基準の中で、抑うつ気分と罪責感と希死念慮は無理としても、他は調べられそうな体の症状です。食欲、睡眠、疲れやすい、動きがゆっくりなど、かなり調べられることが多いですね。しかし、そういうことすら調べられていないのが現状で、取りあえず見てみるというのがいいと思うのです。もちろん、統合失調症における幻聴などは難しいかもしれませんが、幻聴そのものは難しくても、那波先生のモデルのように、ひよとして幻覚が見えているかもしれないというときに、PETで後頭葉がどうなっているのかと見たら、幻覚に相当するものが見えるかもしれません。ですから、DSM-5が全く動物に適用できないかということ、そんなこともないと思うのです。

実際問題、宮川先生が解析された内匠透先生(理研)のラボからの論文では、自閉症の3主徴を全てマウスで押さえたというところが、ものすごくインパクトがあったと思うのです。それまで、そういうことをきちんとやった人がいなくて、その三つの症候群を全てしっかりマウスで検証したということがとても大きかったし、DSMに従ってそのとおりに診断したということが、インパクトにつながったのだと思うのです。

2. 精神疾患由来iPS細胞の可能性

(喜田) また岡野先生にお尋ねしたいのですが、精神疾患患者由来のiPS細胞の話が出てきました。我々の新学術領域

の中でも吉川先生が解析をされていて、培養レベルでも表現型を見るとすごい差があるように見えて、有効性が高いのかなと思います。特に基礎研究者にとったら、あまり精神疾患のことを知らなくても培養細胞で健常人と比較できるということで、分子細胞生物学的な研究がしやすいかと思うのですが、iPS細胞を使った研究の可能性に関して、もう少しお話しただけるとありがたいのですが。

(岡野) 血液から、レトロウイルスのインサーションなしで作れますので、iPS細胞を作る過程での異常がかなり否定できるということで、作るのは昔より非常に楽になりました。いろいろな細胞への分化条件もかなりエスタブリッシュされてきましたので、ドーパミンニューロンが欲しい、GABA作動性ニューロンが欲しい、セロトニン作動性ニューロンが欲しいということも実験上では可能になってきています。患者由来の細胞としてディッシュの中で解析できるようになったのは非常に大きいですね。

もう一つ大きいと思っているのは、これはどれだけ業界の人に評価していただけるかわかりませんが、EBウイルスでトランスフォームしたリンパ芽球からiPS細胞を樹立して、しかも、神経細胞にしっかり分化するシステムをつくったのです。これは、われわれのシステムでないと、他のプロトコルでは絶対うまくいきません。

リンパ芽球に関しては、かつては精神疾患の生化学的解析をしようとするリンパ芽球を使っていて、過去のストックが全部使えるようになりましたので、今から新しくインフォームドコンセントを取らなくても、これも比較的ハードルが低くできるのではないかと思います。まずは大阪大学橋本亮太さんが持っている精神疾患のライブラリーでやってみようということで、パイロット的にやりはじめているところです。きちんとした樹立方法、そして分化誘導法がしっかりとしてきましたので、多くの人が使えるチャンスができてきたのではないかと思います。

(加藤) iPS細胞で難しいところは、特に僕らがやっている双極性障害などの場合は、一体どのニューロンに分化させたらこの病気の原因の解明につながるのかが分からないことです。今できるものの中でどれかをやるしかないのでしょうか、実際には、どのニューロンがどのようにおかしくなっているということを、動物モデルや死後脳研究である程度詰めてからiPS細胞をやっていかないと、なかなかそこが分からないのです。

(岡野) Fred Gageがやっていたのは、海馬歯状回のグルタミン酸作動性ニューロンでしたね。

(加藤) そうなのです。双極性障害が海馬歯状回の病気なのかというと、それはどうなのだろうという感じはあるのですが。

(那波) 僕も岡野先生から22q欠損のiPS細胞をもらって



研究しているのですが、遺伝要因がしっかりしたものは非常に強いツールです。全てin vitroの系で再現できますから。人間では当然実験できないけれども、その患者さんから取ったiPS細胞で、例えばMeCP2をノックアウトするとか、GABAニューロンが標的と思うならiPSをGABAニューロンまで分化することができます。フェノタイプを調べたり、移植をするなりということができるので、ものすごくパワフルなのです。しかし、iPS細胞は毎日メディアムを交換し細かなケアをしてやらないと、簡単に形質が変わるので。サブクローンにすると、また全部フェノタイプが変わったりして、誰が飼っているかによって全く違う細胞になったりします。慎重を要するし、技術も要します。また、検証にはものすごくいいツールなのですが、iPS細胞はどんな細胞種にでもなるわけですから標的細胞や標的遺伝子を探索するにはあまりにも大変です。ドーパミンニューロンにもなるけれども、GABAニューロンにもなるし、グリアにもなるので、全部やっていたらとてつもないことになります。

(岡野) どうやってGWASのミッシングリンクをiPS細胞で埋めるか。

(那波) そこが課題ですよ。

(岡野) たくさん作るしかないですよ。それで統計的な差が出るかどうか。だから、ハイスループットで、96穴プレートで、一人一人の血液で一気に全員のiPS細胞を作って神経分化させる。そういうのもできるようになりましたのでね。ALSなどは、IN Cell Analyzerで見ると、神経突起長などに有意な差が出ます。そういうバイオマーカーを精神疾患で見いだしたら、結構面白いかなと。統計学的には、Nが96ですから、それで差が出たら、結構説得力あると思います。

(加藤) マイクロエンドフェノタイプがはっきりしてくれば、そういう実験で検証できるのではないのでしょうか。

(宮川) 動物モデルでいろいろな仮説を用意しておいて、仮説をiPS細胞で試してみるという流れはあるのではないかと思います。



(那波) あるでしょうね。結果がどうなるかは、テクニカルなバリエーションがあるので、分かりませんが。例えば、先生の言う炎症仮説であれば、炎症シグナルとしてマイクログリアの活性化剤や酸化ストレスを入れたときに、非患者群のフェノタイプはそれほど変わらないけれども、患者群のiPS細胞は大きく遺伝子発現が変わるとか、in vitroで実験は設定できます。仮説の実験検証は可能だと思います。

(岡野) ALSは、in vitroでの表現型がしっかりしていますね。様々な細胞ストレスを加えた場合に、神経突起長などを見ると、患者由来細胞の方が感受性が、すごく高いです。

(那波) でも、ALSの場合は、motor neuronが死ぬという現象がしっかりしているけれども、統合失調症の患者さんだと何を調べていいかわからないから、どこを見るか、何を研究対象にするかというのが難しいですよ。

(宮川) われわれの場合は、炎症と神経の過剰興奮で神経細胞あるいはグリア細胞が疑似的な脱成熟をしてしまうという、未成熟仮説というか脱成熟仮説があって、そういう仮説があると、iPS細胞でも検証は可能なのです。

(岡野) そうか、iPS細胞でdentate gyrusのprecursorは作れますから、やろうと思えばできますよね。

(宮川) できますね。脱成熟したかしないかは遺伝子発現パターンのようなもので検証できますので、実験としては成り立つと思います。

(那波) 成り立ちますね。そこまで仮説が集約されていけば、探索的ではないですから。

(宮川) その種の仮説は、多分、動物モデルをしっかり調べていけばいろいろできると思います。パルプアルブミンでも、恐らくそうでしょう。そういういろいろな仮説を集約的にiPS細胞で調べていくということです。

(喜田) 基礎研究者からすれば、動物モデルで出てきた自分の仮説を、ヒトを扱うのは難しいのでiPS細胞で検証するというのは、比較的やりやすいですよ。

(宮川) 実現可能です。

(岡野) この間、那波先生や加藤先生と一緒に出させていただいたニューロンの論文というのは、死後脳も使っているし、動物モデルも使っているし、iPS細胞も使っている。

(加藤) 結局、総動員しなくては駄目だということですね。死後脳、動物モデル、iPS細胞、全部使わないと解明できないということなのでしょうね。

(宮川) トランスポゾンですね。これも、ある種の仮説として検証が可能です。

(岡野) トランスポゾンがどういうバイオマーカーになるかはなかなか難しいところがあるので、ニューロンのアクティビティとか、そちらでしっかりしたマーカーを見いだしていきたいですよ。

(加藤) 今後、そういう組み合わせたペーパーが増えていくといいし、この新学術がそういう場になっていくといいですよ。

3. 精神疾患モデル動物はどうあるべきか？

(喜田) ここまでに、遺伝子改変マーマセットとiPS細胞の話題が出てきました。これに続けて、お願いします。

(糸原) そもそもモデル動物は何のために必要かという、大きな目的は二つあると思うのです。一方は病理機構を理解するためのツール、もう一方は、実際に治療戦略の手段を検証するためのツールという、二つの側面があるのではないかと思います。

精神疾患の場合、特に多因子性であるということについて、本質的にどういうアプローチの仕方があるのかという大きな問題があると思います。しかし、まずは病理機構という観点から考えると、個別の行動学的な表現型と回路機能との関係性を明らかにしていくことが大事ではないかと思っています。この研究を行うには、どういうモデル動物を立案すれば可能になるのかというところを議論する必要があると思います。

(喜田) モデル動物開発の戦略に関して、説明があればお願いします。

(糸原) 戦略的に言うと、できるだけ多種類の方法論を用いるということです。あまり偏った特定のモデル動物を選択するのではなく、それぞれの動物固有の長所をどれだけ生かすかということが必要ではないかと思っています。種を超えた比較論的な研究が大事ではないかと思っています。

(喜田) 宮川さん、マウスを対象とする研究者が抱えるような問題点は、いかがでしょうか。

(宮川) 僕は、マウスでの精神疾患モデルはもうできていると思っています。というのは、我々は、100系統以上の遺伝子改変マウスの行動異常をスクリーニングしてきましたが、統合

失調症様の行動異常パターンが出てくるマウスがいるのです。行動異常のパターンのみでは怪しいといえば怪しいのですが、脳の中を調べてみると、そういったマウスには統合失調症や双極性気分障害の患者さんの死後脳でよく報告されているような脳内の中間表現型的なものがかかり見られます。

例えば、Schnurri-2という遺伝子のノックアウトマウスは、われわれが見ている中で一番いい例です。作業記憶の低下、社会的行動の低下、ストレスに対する感受性が強くなるといった行動異常パターンだけでなく、軽度の慢性炎症やアルブミンの低下のような脳内の異常が見られます。その他、オリゴデンドロサイトがどうも脱落しているようだとか、脳の領域間連絡の低下が脳波の特徴から示唆されるとか、ヒトでいわれている脳内の異常が観察されています。

このような特徴が見出されるのは、行動異常のパターンのみでも考えにくいのですが、脳内の異常までも非常によく似ているので、これは偶然では考えにくいと思います。Schnurri-2遺伝子のノックアウトマウス以外にも、類似した表現型が観察されるマウスがいそうであり、疾患モデルになるのではないかと考えています。

一方で、精神疾患モデル動物を使った研究が直面している問題点の中で、僕が大きい問題と思っているのは、マウスが精神疾患モデルになるとなかなか信じてもらえないことです。もし僕の言っていることが本当で、マウスがモデルになるのだとすれば、そのマウスをどんどん調べていけば病態がかなり分かってくるはずですし、創薬で薬の効果を試すこともできますので、これは非常に重要であると思います。しかし、まだ説得力が薄い状況です。僕の中では自信があるのですが、それを説得するのは難しいということが、直面している問題ではないかと思っています。

(喜田) 信じてもらえない原因として、どのようなことを考えていらっしゃるんですか。

(宮川) まず一つは、精神疾患のようなヒトのユニークな病気のモデルがマウスでできるのかとの印象があることです。もう一つ非常に大きいのは、精神疾患の場合、ヒトのゲノムや人類遺伝学的な研究をしてみたときに、これだという遺伝子が出てこないのですね。この前、GWASの決定版の研究が「Nature」で出しましたが、十何万人も使っていて、結局、共通性があり、かつ、非常に強い効果を持つようなSNP(一塩基変異)などは存在しないという結論です。その一方で、マウスだと、なぜ一つの遺伝子を改変しただけで精神疾患用の表現型を示すのか、ここがよく指摘されるところです。

ヒトではさまざまな遺伝子が関連している中で、仮に、マウスでは一つの遺伝子を改変したものが精神疾患のモデルになるとしても、たくさんあるヒトの精神疾患の中で、ごく一部のポピュレーションをリプレゼントしているのに過ぎない



加藤 忠史 氏

のではないかとのご意見は、よく頂きます。

(喜田) この問題に対して、加藤先生、いかがでしょうか。

(加藤) 私の立場としては、構成的妥当性、表面妥当性、予測妥当性の三つを満たす動物モデルが必要であると思っています。構成的妥当性は原因が同じである、表面妥当性は症状が似ている、予測妥当性は患者に効く薬がモデルにも効くということです。この三つを満たすことが必要だといわれているのですが、精神疾患モデルでは、遺伝要因(ゲノムの変異)がまだはっきりしていなかったため、三つそろっていなくてもやむなしという雰囲気があり、一つでも満たせば許されてきたという過去があります。

例えば、嗅球摘除モデルは、嗅球を取ると攻撃的になるというだけのモデルですが、これに抗うつ薬が効くということで、なぜか抗うつ薬のスクリーニングに使われます。表面妥当性もないし、構成的妥当性もないけれども、予測妥当性だけはあります。そういうモデルが多用されてきたわけです。

ところが、22qの欠失が統合失調症を20倍ぐらいのリスクで増やすとか、その後、CNVが、1番とか、15番、16番との関連性が次々と見つかってきて、全く新しい時代に入ってきていると思います。ゲノムの変異で明らかに統合失調症や自閉症を起こすものが分かってきたので、ゲノムの変異を有するモデルに、場合によっては、環境要因を加えて、構成的妥当性を担保するということが現代では可能になってきています。これを基に、さらに表面妥当性と予測妥当性を確認すれば、現代では精神疾患モデルは十分に可能であると思っています。

しかし、問題点としては、古い時代のことを引きずっているということがあろうかと思っています。例えば、うつ病のモデルを作っても、レフェリー(論文の査読者)は、強制水泳試験を試してみるべきだということになるわけです。強制水泳試験では、直前に抗うつ薬を注射して、その後水に入れた時に泳ぐ時間を計測します。ところが、抗うつ薬は、臨床では1~2週間たたないと効きははじめません。そういう薬なのに、直前に投与した影響を見ても、全く臨床と関係がありません。し



那波 宏之 氏

かも、うつ病の患者さんがプールに落ちたとして、よく泳ぐのか泳がないのかもわからないのに、この試験を根拠にするというのは、もはや論理が破綻しています。ところが、研究の歴史があるので、動物モデルとしては、強制水泳試験において条件を満たさなければいけないという雰囲気になってしまっている。このことが新しい時代の動物モデルへの移行を妨げている面は大いにあると思います。

ですから、ゲノム情報を基にして、モデル動物を作って、もちろん種が違えば習性が違いますので、100%同じということとはあり得ないのですが、ある程度の表面妥当性は確認して、さらに、薬が効くということがわかってくれば、精神疾患モデルとして確立できるのではないかと思います。

現在、CNVのモデルなどもかなり開発されています。この中で、病態解析として、CNVの中のどの遺伝子がフェノタイプに関わっているかという研究が盛んなようですが、私は、これは内向きの議論ではないかと思います。というのは、CNVを原因として発症する統合失調症は1%以下で、非常にまれなケースであり、動物モデルの所見をより一般化する

ために、そのCNVによるフェノタイプの原因が何かということを追うのは、基礎研究としてはもちろん面白いのですが、病態を解析して治療戦略を立てるという意味では、全く違った染色体部位のCNVにもかかわらず、同じようなフェノタイプが出ることに着目して、では、そのフェノタイプの基盤となっている脳の病態は何なのか、マイクロ精神病態は何なのかということを探求する方向性が、今はまだまだ弱いのではないかと思います。しっかりしたフェノタイプを示す複数のモデルを用いて、同じマイクロ精神病態を同定し、それが精神症状と対応しているということを確認することが、今後の研究の中で重要ではないかと見ております。

(糸原) 今のお話に対して、質問していいでしょうか。三つの妥当性がそろったことの重要性を指摘されていますが、その三つの妥当性のうち、価値が非常に分かりにくいのは予測妥当性のように思います。先ほど例を挙げておっしゃったように、実際の臨床では数日かけて効果が現れてくるような薬であっても、アキュートな効果があるかないかという観点で予測妥当性の検証に使われています。しかし、このギャップは非常に大きい気がしていて、少なくとも現段階では、予測妥当性を満たすことにあまりこだわらない方がいいのではないかと思います。どうでしょうか。

(加藤) 確かに、三つの中では、予測妥当性が最も重要性が少ないものかもしれません。というのは、自閉症などはもともと薬がないから研究しているのであって、予測妥当性を満たしようがありません。また、うつ病でも抗うつ薬が効かない人がいるから困っているのであって、抗うつ薬が効かないからモデルではないと言ってしまふのは違うと思います。ですから、その三つの中では、予測妥当性が最もプライオリティが低いのもかもしれません。おっしゃるとおりだと思います。

(この続きは次号にて掲載します)



統合失調症の認知機能障害と大脳皮質 パルブアルブミン神経細胞におけるカリウムチャンネル

橋本 隆紀 (金沢大学医薬保健研究域医学系 脳情報病態学(神経精神医学))

統合失調症は若年期の代表的な精神疾患で、世界各国共通に人口の約1%が罹患することが知られています。症状としては幻覚や妄想が目立ちますが、一方で注意や思考などの認知機能の低下が慢性的に持続します。幻覚や妄想は、抗精神病薬と呼ばれる脳内の神経伝達物質(神経細胞の間の連絡部位であるシナプスで情報伝達を行う物質)ドーパミンの働きを止める薬により改善しますが、認知機能の低下は、それに対する効果的な薬が無いことから、患者さんの自立や社会復帰を妨げる最大の原因となっています。そこで我々は、認知機能障害がどのように生じてくるのかを解明する研究を行っており、それを有効な治療法の開発に役立てたいと考えています。

人間で最もよく発達した大脳皮質には、様々な機能を担っている多くの領域があり、それぞれの領域には無数の神経細胞があります。神経細胞はシナプスを介して連絡しネットワークを作っています。このネットワークにおける複雑な情報処理が認知機能を支えています。効率的な情報処理に重要と考えられているのが、ネットワークを構成する神経細胞集団の周期性をもった活動(オシレーション)です。統合失調症の患者さんでは、オシレーションの変化が多く報告され、認知機能低下に関係していると考えられています。

大脳皮質の神経細胞には多くの種類がありますが、その中でもオシレーションの形成に特に重要なのが、パルブアルブミンという物質を発現する特殊な神経細胞(図1の緑色の細胞、パルブアルブミン細胞)です。この細胞は、周囲の多くの神経細胞(図1の水色の細胞)に強力なシナプスを作りその活動を同期させることで、オシレーションの形成を担っています。統合失調症では、

患者さんの大脳皮質の研究からパルブアルブミン細胞の変化が多く報告され、この神経細胞の変化がオシレーションの変化を引き起こし、認知機能低下に結びついていることが考えられます。

我々は、他の神経細胞には悪影響をおよぼさずにパルブアルブミン細胞の機能を選択的に改善することが認知機能低下の治療法につながると考え、この細胞に選択的に存在しオシレーション形成に重要な役割を持つ分子を探してきました。そこで見出したのがKCNS3です。KCNS3は、パルブアルブミン細胞の膜に存在し、細胞の中と外をつないでカリウムイオンを通す穴(チャンネル)を構成する蛋白質の1つです。KCNS3が構成するチャンネルは、パルブアルブミン細胞の興奮性を調節することで、他の神経細胞活動の同期化を促進し、オシレーションの形成に役立っていると考えられます(図1)。

それでは、統合失調症の大脳皮質では、KCNS3の発現はどうなっているのでしょうか?それを明らかにするためには、患者さんや比較のための対照となる精神疾患の無い方の脳組織の解析が必要となります。現在、精神疾患の分子メカニズムの解明のために米国やオーストラリアでは大規模な死後脳バンクが存在します。私たちは、米国ピッツバーグ大学精神医学部門との共同で、その死後脳バンクの脳組織を用いて、統合失調症の大脳皮質におけるKCNS3の発現量をメッセンジャーRNAの量として調べました。

まず、統合失調症患者22名と性別や年齢などの条件が等しく精神疾患のない対照者22名から前頭前野と呼ばれる認知機能に重要な領域の組織切片をつくり、in situ hybridization法で、組織の形態を保持した状態でKCNS3の発現を調べました(図2)。その結果、統合失調症では

KCNS3の発現量が23%ほど低下していることが判明しました。さらに、別の統合失調症患者14名と健常者14名の前頭前野からパルブアルブミン細胞のみを顕微鏡下に切り出してKCNS3の量を計測したところ、統合失調症で41%ほど低下していることが確認されました。以上の結果は、統合失調症の大脳皮質のパルブアルブミン細胞では、KCNS3の発現量が低下が生じていることを示すものですが、解析をした患者さんの多くが幻覚や妄想の治療のための抗精神病薬を長期に渡り服用されていますので、その影響でKCNS3が低下した可能性についての検討が必要です。そこで、人と同じ霊長類のサルに、偽薬または抗精神病薬を1年以上かけて服用させてKCNS3の発現を調べましたが、抗精神病薬による影響は認められず、統合失調症でのKCNS3の発現低下は、薬物治療によって生じているのではなく、疾患による変化であることが考えられました。今回の研究結果から、統合失調症では、KCNS3の低下によりパルブアルブミン細胞によるオシレーションの形成に問題が生じ、認知機能の低下に結びついている可能性が示唆されました。

現在は、前頭前野以外の様々な皮質領域でのKCNS3の発現を調べており、今後は、遺伝子操作でパルブアルブミン細胞でのKCNS3の発現を低下させたマウスを使って、脳内のオシレーションや認知機能の変化を調べ、新規治療法の開発に役立てたいと思います。

掲載論文

Lower gene expression for KCNS3 potassium channel subunit in parvalbumin-containing neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Georgiev D, Arion D, Enwright JF, Kikuchi M, Minabe Y, Corradi JP, Lewis DA, Hashimoto T. American Journal of Psychiatry 171:62-71 (2014)

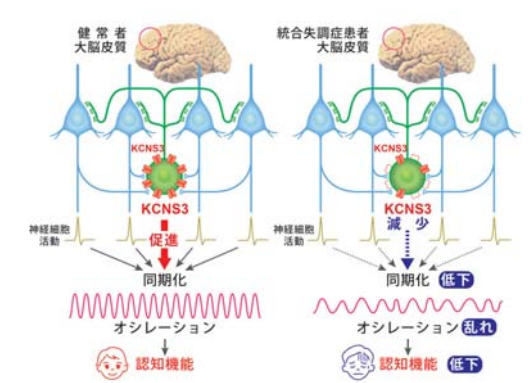


図1: KCNS3と認知機能 健常と統合失調症の比較
KCNS3が構成するカリウムチャンネルは、パルブアルブミン細胞(緑色)に選択的に存在し、パルブアルブミン細胞による他の神経細胞(水色)の活動の同期化を促進することで、周期性神経活動(オシレーション)の形成と認知機能に貢献している(左)。統合失調症ではKCNS3の発現低下によりオシレーションの変化が生じ認知機能障害に結びついている可能性がある(右)。

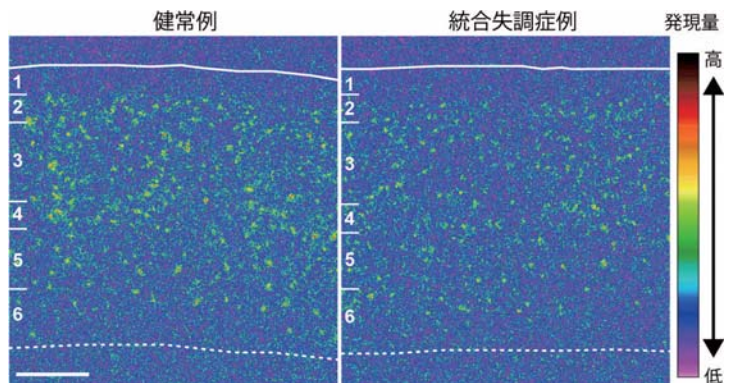


図2: 性別が同じで、年齢、死後経過時間(死亡から脳組織を保存するまでの時間)に近い健常例と統合失調症例のペアの大脳皮質前頭前野におけるKCNS3の発現
発現量は右の色見本によりカラー表示されている。写真左端の数字は大脳皮質の1-6層を示す。左下の実線は1mmに相当する。図中の緑黄色の点が、KCNS3を発現しているパルブアルブミン陽性細胞に相当する。統合失調症例における発現量の減少が認められる。

治験の段階にある抗がん剤が統合失調症モデル動物にも効果 思春期のマウスで過剰なシナプス除去を予防

林(高木) 朗子 (東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 構造生理部門)

概要

統合失調症は思春期から成人にかけて発症し、さまざまな精神神経症状により社会生活が障害される精神疾患です。統合失調症の発症には遺伝因子が関与し、そして前頭野における神経細胞の接合部位(シナプス)が減少していることが報告されているものの、遺伝子の機能不全がどのように思春期の神経回路網形成に影響をあたえ、統合失調症への発症につながるのかは解明されていません。そこで我々は、統合失調症の発症関連分子として確立されている遺伝子DISC1に注目し、DISC1ノックダウンマウス(DISC1 KDマウス)のシナプスを縦断的に解析しました。DISC1 KDマウスでは、思春期にシナプスが過剰に除去され成体時にはシナプス密度が大きく減少すること、PAK阻害剤は、この過剰なシナプスの除去を予防し、統合失調症に関連する症状の一つである感覚運動情報制御機能の障害も部分的に正常化させることを見出しました。これまでの統合失調症の創薬はドーパ

ミン遮断薬を中心とした開発が進められてきましたが、その効果は極めて限定的なものでした。本研究は、「シナプスを保護する」という従来の統合失調症の治療戦略にない新たな観点により、特に早期介入による治療効果の可能性を示唆し、今後の統合失調症の治療戦略に応用されることが期待されます。

背景

統合失調症は思春期から成人にかけて100人に1人が発症し、幻聴や妄想、意欲低下、認知機能障害などのさまざまな精神神経症状により社会生活が障害される精神疾患です。統合失調症の発症には遺伝因子が濃厚に関与していること、また死後脳研究より興奮性シナプスの主要な接続部位である樹状突起スパインと呼ばれる小突起構造が前頭野で減少していることが報告されているものの、遺伝子の機能不全がどのように思春期の神経回路網形成に影響をあたえ、最終的な疾患病態へ進行するのかが解明され

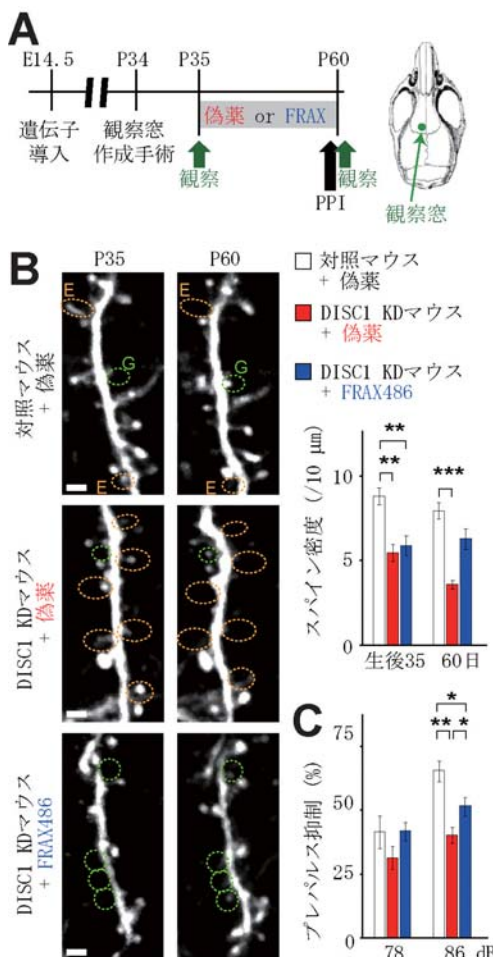
ていません。そこで統合失調症の発症関連分子として確立されている遺伝子DISC1に注目し、神経培養細胞や生きたままのマウス前頭葉のライブ撮影を行うことで、DISC1の機能を抑制した神経細胞におけるシナプスの動態を観察し、その分子基盤の解明を試みました。

結果

はじめにラット大脳皮質の神経細胞初代培養系でDISC1をshRNAで発現抑制し(KD)、神経細胞のスパインのサイズや密度を測定しました。対照神経細胞と比較して、DISC1 KD神経細胞ではスパインのサイズ・密度ともに大きく減少しており、統合失調症患者の死後脳で見られる現象と矛盾しない所見を得ました。DISC1 KD神経細胞では、PAKと呼ばれる酵素の機能が上昇していることが確認できたため、PAKの働きを阻害することによって、DISC1機能不全によるスパイン減少を予防する可能性を検証しました。シナプス保護効果を指標にPAK阻害剤をスクリーニングし、3種類の化合物を見出しました。そして、これらの3種類の化合物(FRAX120、355、486)は、DISC1 KDによるスパインサイズや密度の減少を予防できるだけでなく、すでに縮小しているスパインのサイズを正常化する作用を有していたため、このようなシナプス保護作用を生体の脳に作用させることにより、統合失調症様症状の新しい治療戦略になりうるのではないかと、この仮説を検証しました。

この仮説を検証するために、2光子励起レーザー顕微鏡を用いてマウスの前頭野に相当する脳領域を生きたまま内部までライブ撮影しました(図A)。生後間もない人やマウスなどの動物の脳には過剰なシナプスが存在しますが、神経発達とともに必要なシナプスは強められ、不要なシナプスは除去されて(シナプスの刈り込み)、神経回路は成熟することが知られています。我々のグループにおいても、対照マウスでは、生後35日(マウスの思春期に相当)から生後60日目(マウスの成体期に相当)にかけて約1割程度のシナプスが刈り込まれることを観察しました。一方で、DISC1 KDマウスでは生後35日において既にスパイン密度が減少しており、生後60日になるとそのうちの4割ものスパインがさらに刈り込まれ、成体時にはスパイン密度が対照マウスと比較し半数以下になることを見出しました(図B)。

次に、DISC1 KD群が精神疾患関連症状を呈するか検証しました。生体には「感覚のフィルター機能」が備わっており、この機能が障害されると重要度の低い感覚刺激を排除して必要とさ



図A マウスのライブ撮影実験

前頭野の神経細胞でDISC1の機能が抑制されるようにマウスを遺伝子改変した。マウスの生後34日目に2光子レーザー観察のための観察窓を前頭野上に作製した。生後35日から60日にかけて偽薬もしくはFRAXを投与。生後35日と60日にスパインの形態および密度を観察、60日にはPPIを測定した。

図B 2光子レーザー顕微鏡によるスパイン撮影

生後35日の時点で、DISC1の機能を抑制したマウス(DISC1 KDマウス)のスパイン密度は減少していた。生後35日から60日にかけてのスパインの刈り込みが、DISC1の機能を抑制していない対照マウスでは1割程度であることと比べて、DISC1 KDマウスでは4割に達し、生後60日の時点では対照マウスの半数以下しか残存しないことが観察された。FRAX486の投与によりDISC1 KDマウスのスパイン減少は完全に予防できた。図内のEはスパイン消失を、Gはスパイン新生を示す。

図C プレパルス抑制試験(PPI)

DISC1の機能を抑制したマウスで検出されたPPIの異常は、FRAX486投与により部分的にだが統計学的に有意に改善された。

れる感覚に注意を向けるといった、普段私たちが無意識に行っている注意や集中などの認知情報処理が障害されるとされています。統合失調症ではこの機能の障害があり、認知機能の低下や思考障害、さらには幻聴などの発生機序の一因として示唆されています。この感覚フィルター機能はプレパルス抑制テスト(PPI)によって客観的に定量化できるため、スパイン観察した同一の個体群にPPIを測定したところ、DISC1 KDマウスではPPIの障害が見られました。このことはマウスモデルにおいてもヒト統合失調症の中核症状の1つを定量的に評価出来ること、このマウスを創薬評価としてのモデル動物の一つとなりうることを示唆しました。そこで、DISC1 KDマウスにおけるPAK阻害剤の効果を検証するために、脳血管閉鎖の通過性が優れている化合物であるFRAX486を生後35日から60日まで連日腹腔に投与し、スパイン密度を縦断的に解析したところ、KDマウスで観察されていた過剰なスパインの刈り込みは完全に予防され、PPIの障

害は部分的に正常化することを見出しました(図C)。PAK阻害効果のない偽薬を投与しても上記の効果は認められなかったため、シナプス保護効果やPPI改善効果は、PAKを阻害することにより得られたものと考えられます。

今後の展開

これまでの知見より、スパイン密度の低下が統合失調症の死後脳所見より示唆されてきましたが、スパイン病態が疾患発症前後でどのように進行するかは未解明でした。疾患モデルマウスにおいて思春期にかけてスパイン密度が過剰に減少すること、そしてスパイン減少を防止する効果があるPAK阻害剤は、統合失調症関連症状も部分的に正常化すること等がはじめて見出されました。このことは前頭野のスパイン密度が精神疾患のマイクロエンドフェノタイプの1つとして有用であることを示唆します。

これまでの統合失調症の創薬はドーパミン遮断薬を中心とした開発が進められてきました

が、その効果は幻覚や妄想などの陽性症状に限定的で、意欲低下や認知障害などの患者の社会予後に直結した精神機能にはほとんど奏功しないことが良く知られています。本研究のPAK阻害剤は前頭野のシナプス密度減少を予防できることより、統合失調症患者で生じている神経回路網の異常を予防できる可能性があります。またPAK阻害剤は各種がんに対する治験がすでに進行しており、正常の細胞機能に対する影響が少ない安全性の高い薬剤であることが示されつつあります。これらの知見を精神神経疾患創薬へ応用することで、シナプス保護という新しい観点より見た統合失調症の治療戦略が加速されると期待されます。

発表雑誌

Hayashi-Takagi A, Araki Y, Nakamura M, Vollrath B, Duron SG, Yan Z, Kasai H, Haganir RL, Campbell DA, Sawa A. PAKs inhibitors ameliorate schizophrenia-associated dendritic spine deterioration in vitro and in vivo during late adolescence. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014; 111(17):6461-6.

統合失調症患者神経細胞でレトロトランスポゾン配列が増大している

岩本 和也 (東京大学大学院医学系研究科分子精神医学講座)

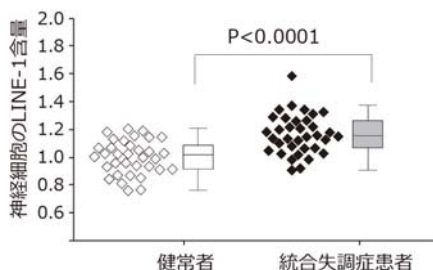
加藤 忠史 (理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム)

統合失調症はおよそ100人に1人が発症し、幻聴、妄想などの陽性症状、意欲低下などの陰性症状、認知機能障害などが出現し、社会生活が障害される精神疾患です。統合失調症の発症メカニズムには、遺伝因子および環境因子の相互作用による脳発達の障害が関係していると考えられていますが、その詳細なメカニズムはわかっていません。2001年に終了したヒトゲノムプロジェクトにより、ヒトゲノムのおよそ半分が一見無意味な反復配列であることが判明し、ゲノムの約6分の1を占める主な反復配列は、LINE-1(ラインワン)と呼ばれています。LINE-1は、ゲノムDNAがRNAに転写された後、逆転写により再びDNAとなり、ゲノムの他の部分を壊して入り込む、レトロトランスポゾンと呼ばれる転移因子です。LINE-1がヒトゲノムの多くを占めるのは進化の結果であり、これが実際に転移することはほとんどないと考えられていました。しかし、2009年に米国のグループが、ヒトの脳が発達する過程において神経前駆細胞でLINE-1が活性化し、ゲノムの他の領域に転移する現象を初めて確認しました。

我々は、統合失調症の病態にLINE-1が関係している可能性を考え、患者の脳組織や神経細胞におけるDNA中のLINE-1配列の含量を測定したところ、健常な対照群と比較してLINE-1配列が統計学的に有意に増加している

ことを見出しました(図)。次に統合失調症の危険因子である発達期の環境因子(胎生期のウイルス感染や周産期障害)をシミュレーションした動物モデルを用いて検討したところ、これらの環境因子によって、LINE-1配列が増加することがわかりました。また、統合失調症の最も確実な遺伝因子として、22番染色体の欠失が知られています。このような染色体異常を持つ統合失調症患者から作成したiPS細胞を用いて調べたところ、患者由来のiPS細胞から誘導した神経細胞では、LINE-1配列が増加していることを見出しました。さらに、統合失調症患者群および対照群の脳組織の全ゲノム解析を行ったところ、患者群では、シナプス(神経細胞の接合部位で、神経細胞同士が連絡する場所)で働く遺伝子や統合失調症の発症に関与していることが疑われている遺伝子の近くに、LINE-1が多く転移していることがわかりました。これらの結果は、環境因子および遺伝因子の双方によってレトロトランスポゾンLINE-1が転移し、神経活動に関わる遺伝子の働きに影響を与えることが、統合失調症の発症や病態に関与している可能性を示しています。本研究の成果は、統合失調症の病態の理解に大きな手がかりを与るとともに、統合失調症の治療法、診断法や発症予防法の開発に寄与すると期待されます。

本研究は、奈良県立医科大学の岸本年史教



授、新潟大学の那波宏之教授(本新学術領域研究者)、柿田明美教授、理化学研究所の吉川武男シニアチームリーダー(本新学術領域研究者)、慶應大学の岡野栄之教授ら多くの先生方との共同研究の成果であり、Neuron誌2014年1月号に掲載されました。

掲載論文:

Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, Akamatsu W, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Kato M, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Okano H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Neuron. 2014 81(2):306-313

恐怖記憶を思い出すだけで恐怖が増強する新規PTSDモデルマウスの開発 —再固定化をメカニズムとして想起後に恐怖増強を担う神経ネットワークの同定とその分子機構の解明—

喜田 聡 (東京農業大学応用生物科学部)

研究の背景

心的外傷後ストレス障害 (Post-Traumatic Stress Disorder; PTSD) は恐怖体験の記憶、すなわち、恐怖記憶が原因となった精神疾患です。PTSDの発症過程では、恐怖記憶が断続的に蘇り (フラッシュバック)、精神病態が導かれます。しかし、本来、恐怖記憶とは、恐怖を感じた経験を記憶しておき、同じような恐怖体験を回避するために動物が持っている防御機構です。この観点からは、PTSDとは、恐怖記憶をコントロール (制御) できなくなって起こる疾患、すなわち、恐怖記憶制御の破綻を原因とすると言い換えることができます。重要な点として、ヒトと動物の間で恐怖記憶制御機構の類似性が観察されているため、恐怖記憶制御基盤の解明が心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の治療方法に貢献できると注目されています。そこで、現在、世界的にも、動物モデルを用いて、恐怖記憶制御を解明し、PTSDの予防法及び治療法開発に貢献する試みが活発に行われています。

パプロフ型の恐怖条件づけは音や文脈 (場所) (条件刺激) と恐怖 (非条件刺激) とを関連付けて記憶する恐怖記憶モデルです。現在、パプロフ型の恐怖条件づけを恐怖記憶のモデルとして研究が進められています。このパプロフ型の恐怖条件づけでは、恐怖記憶形成後、音や場所といった条件刺激に遭遇すると、恐怖記憶が思い出 (想起) され、恐怖が蘇ります。しかし、動物は、条件刺激に遭遇し続けると、条件刺激に反応して恐怖を感じる必要がないことを新たに学習します。この現象は、恐怖記憶消去と呼ばれています。パプロフ型の恐怖条件づけでは、この恐怖記憶消去が容易に誘導されてしまいます。

本研究の特色

先に記したように、パプロフ型の恐怖条件づけでは、恐怖記憶消去が容易に起こるため、PTSDの発症過程で観察されるような、恐怖記憶消去が起こりにくい現象を再現することが困難です。すなわち、PTSD発症時のような、恐怖記憶の想起が繰り返され、恐怖が増強するような状況を再現できないわけです。

そこで、我々は、消去が起こらない条件下で、恐怖

記憶を想起させるPTSD発症モデルの開発を進めました。そこで、着目したのが受動的回避反応課題です (図1)。この課題では、ドアを隔てて明箱と暗箱に分かれた装置を用います。マウスを明箱に入ると、マウスは暗い場所を好むため、暗箱に移動します。そこで、マウスが明箱から暗箱に移動すると電気ショックを与え、暗箱に対する恐怖記憶を形成させます (暗箱が怖い場所であると記憶させます)。そのため、マウスを再び明箱に入ると、恐怖記憶は想起されますが、(暗箱に移動しない限り、電気ショックが来ないことをわかりようがないので) 消去は誘導されないと予想しました。以上の仮説から、この実験系を利用して、恐怖記憶想起の影響を解析しました。

本研究の成果

受動的回避反応課題を用いて、まず、マウスが明箱から暗箱に移動した際に電気ショックを与えて恐怖記憶を形成させました。その24時間後に明箱にマウスを戻して恐怖記憶を想起させて (再エクスポージャー)、その影響を解析しました。その結果、この再エクスポージャーの48時間後にマウスを明箱に再び入れたところ、再エクスポージャー時に電気ショックを与えなかったにもかかわらず、明箱から暗箱に移動するまでの時間が大幅に増加することが明らかとなりました (図1)。すなわち、この実験系では、恐怖記憶を想起させるだけで、恐怖記憶が増強されることが明らかとなりました。この結果から、記憶消去が誘導され得ない条件下で、恐怖記憶を思い出させることで恐怖記憶が増強されることが示されました。

最近の研究により、恐怖記憶を想起すると、記憶を再貯蔵させるためには遺伝子発現を必要とする再固定化のプロセスが誘導されることが明らかになっています。そこで、受動的回避反応課題において、マウスを再び明箱に入れた後に、転写調節因子 CREB1による遺伝子発現を阻害した結果、恐怖記憶の破壊が観察されました。この結果から、恐怖記憶想起後に、再固定化のプロセスが作動することによって、恐怖記憶増強が誘導されるメカニズムの存在が明らかとなりました。

さらに、恐怖記憶が想起された際に、転写因子 CREBを介する遺伝子発現が誘導される脳領域が

調べられた結果、扁桃体、海馬、前頭前野皮質において、遺伝子発現が誘導され、その結果、恐怖記憶増強が誘導されることが明らかとなりました。さらに、これら脳領域では、AMPA型グルタミン酸受容体のリン酸化を介してシナプス可塑的变化が誘導されることも示されました。扁桃体、海馬、前頭前野皮質の役割をさらに解析したところ、扁桃体が再固定化を経る恐怖記憶増強に対して中心的な役割を果たしているのに対して、海馬と前頭前野皮質は恐怖記憶増強を補佐する役割を果たすことが明らかとなりました。

この想起後の恐怖記憶増強の分子メカニズムを解析した結果、想起後に、扁桃体、海馬、前頭前野皮質の興奮性ニューロンにおいて、プロテアソーム依存的なタンパク質分解系の活性化が誘導され、同時に、CREB依存的な遺伝子発現も誘導されていることも示されました (図2)。さらに、脱リン酸化酵素であるカルシニューリンが上流因子として、プロテアソーム依存的なタンパク質分解を活性化させることも示されました。以上のように、恐怖記憶想起後のニューロンではタンパク質分解と合成が同時に進行するといった劇的な分子レベルの変化が起こり、その結果、恐怖記憶が再固定化のプロセスを経て増強されることが明らかとなりました。

まとめと今後の展望

本研究により、恐怖記憶消去が誘導されないような条件下で、恐怖記憶が想起されると、再固定化と呼ばれるプロセスが作動して、その結果、恐怖が増強するメカニズムが存在することが初めて明らかとなりました。また、想起後の再固定化のプロセスの実体は記憶を強化することであることも強く示唆されました。本研究で開発された、恐怖記憶を思い出すだけで、恐怖が増強されるマウスモデルは、PTSDの発症モデルであると考えられ、この新規PTSDモデルを活用することで、PTSDの発症予防や治療方法確立に貢献することが期待されます。

発表論文

Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation
Fukushima, H., Zhang, Y., Archbold, G., Ishikawa, R., Nader, K., Kida, S. *eLife* 3, e02736 (2014)

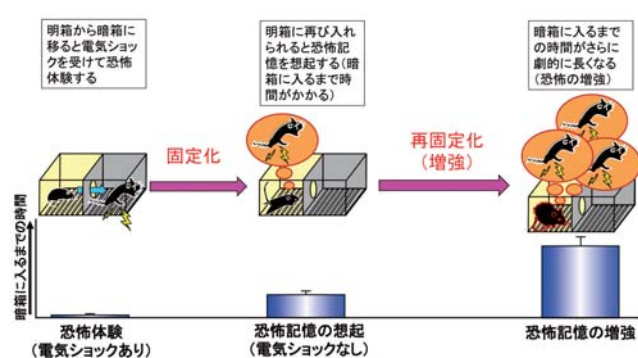
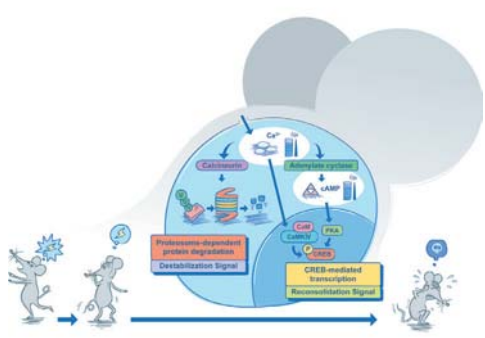


図1 受動的回避反応課題における想起後の恐怖記憶の増強

図2 PTSD (外的心的外傷後ストレス障害) モデルにおける扁桃体、海馬、前頭前野野生において想起後の恐怖記憶増強を司る細胞内情報伝達



計画研究

A01 細胞～シナプスレベルのマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
統合失調症由来iPS細胞を用いた病態関連分子・細胞基盤の解明	吉川 武男	理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー
精神疾患マイクロエンドフェノタイプとしての樹状突起スパインの解析	林(高木) 朗子	東京大学大学院・医学系研究科・特任講師
精神疾患におけるシナプス超分子構造機能連関の変容	廣瀬 謙造	東京大学大学院・医学系研究科・教授

A02 回路～個体レベルのマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
双極性障害の原因神経回路の解明	加藤 忠史	理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー
グルタミン酸シグナルを介した精神疾患病態に関するマイクロエンドフェノタイプの解明	橋本 謙二	千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授
精神神経免疫相関が関与する精神疾患病態のマイクロエンドフェノタイプの解明	富田 博秋	東北大学・災害科学国際研究所・教授

A03 脳外環境要因が脳内に引き起こすマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
環境要因が導く精神疾患モデルを用いたマイクロエンドフェノタイプ同定と分子基盤解明	喜田 聡	東京農業大学・応用生物科学部・教授
精神疾患患者死後脳における神経細胞ゲノム動態の解析	岩本 和也	東京大学大学院・医学系研究科・分子精神医学講座・特任准教授
精神疾患においてサイトカインがもたらす神経エンドフェノタイプの変換と病態	那波 宏之	新潟大学・脳研究所・教授

公募研究

A01 細胞～シナプスレベルのマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
高感度シナプスカルシウムプローブを用いたスパイン病態進行機構の研究	大倉 正道	埼玉大学・脳科学融合研究センター・准教授
精神神経疾患の発症基盤としてのNMDA受容体の制御機構の解明	真鍋 俊也	東京大学医学部研究科・教授
統合失調症におけるKv9.3カリウムチャンネルサブユニット発現変化の脳内分布	橋本 隆紀	金沢大学・医学系・准教授
免疫電子顕微鏡(凍結切断および3次元)を用いたシナプスとグリアの微細形態異常解析	木下 専	名古屋大学・理学系・教授
精神疾患のプレシナプスエンドフェノタイプとその発現機構の解析	小林 克典	日本医科大学・医学部・講師
PACAP高発現マウスを用いたPTSD発症リスク個人差の神経基盤解析	小出 剛	国立遺伝学研究所・准教授

A02 回路～個体レベルのマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
うつ病・不安障害モデル動物における分界条床核神経回路の機能的変化	南 雅文	北海道大学・薬学研・教授
ストレス性精神疾患における扁桃体外側核の役割の解明	森 寿	富山大学大学院・医学薬学研究部(医学)・教授
病態マーカーとしてのin situグルタチオン化タンパク質検出法の確立と応用	戸田 重誠	金沢大学・付属病院・講師
精神疾患のグリア性マイクロエンドフェノタイプ	小泉 修一	山梨大学・医学部・薬理学講座・教授
社会性行動の異常に関わる回路のマイクロエンドフェノタイプの解明	櫻井 武	京都大学・医学系研・准教授
前頭前野皮質回路の遺伝子操作による病態モデル解析	小林 和人	福島県立医科大学・医学部・教授
統合失調症脳内タンパク質群の発現解析ータンパク質多項目同時測定システムを用いてー	國井 泰人	福島県立医科大学・医学部・助教
うつ病における神経回路変容の抽出と解析	田中 謙二	慶應義塾大学・医学部・特任准教授
非定型炎症を伴う精神疾患モデル動物を活用したマイクロ精神病態の同定と分子機序解明	宮川 剛	藤田保健衛生大学・教授
仮想現実環境下の機能イメージングによる精神・発達障害の微小回路病態の解明	佐藤 正晃	理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員
CA2 Disinhibition and Schizophrenic Phenotypes	Thomas McHugh	理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー
ドーパミンシグナルを介した精神疾患病態に関するマイクロエンドフェノタイプの解明	池田 和隆	東京都医学総合研究所・依存性薬物プロジェクト・プロジェクトリーダー
微細な組織構築の異常をマイクロエンドフェノタイプとした精神病態の解明	久保 健一郎	慶應義塾大学・医学部・解剖学・専任講師

A03 脳外環境要因が脳内に引き起こすマイクロエンドフェノタイプ

テーマ	研究代表者	所属
新奇環境認知により活性化される単一ニューロン種のトランスクリプトーム解析	奥野 浩行	京都大学大学院・医学研究科・メディカルイノベーションセンター・特任准教授
ストレス応答性転写因子NPAS4欠損マウスにおけるGABA神経発達と表現型解析	山田 清文	名古屋大学・医学部附属病院・教授
マウス反復ストレスにおける自然免疫関連分子の作用とその活性化機構	古屋敷 智之	京都大学大学院・医学研究科・メディカルイノベーションセンター・特任准教授
エピジェネティクスと組織化学的手法によるPTSDの病態解明と予防法の開発	森信 繁	広島大学・医歯薬保健学研究院・特任教授
NADPHオキシダーゼを介する精神疾患発症の新しい概念の開拓	衣斐 督和	京都府立医科大学・医学系研・助教
精神ストレスによるマイクロエンドフェノタイプに対するストレスタンパク質の効果	水島 徹	慶應義塾大学・薬学部・教授
心的外傷後ストレス障害(PTSD)における記憶情報処理の病態生理	坂口 昌徳	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・准教授
Identifying a microendophenotype of post-traumatic stress disorder	Joshua Johansen	理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー



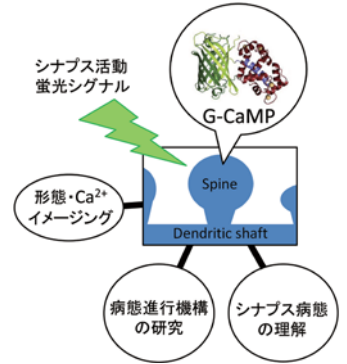
高感度シナプスカルシウムプローブを用いたスパイン病態進行機構の研究

大倉 正道 (埼玉大学・脳科学融合研究センター・准教授)

略歴

平成4年 東北大学薬学部製薬化学科卒業
 平成9年 東北大学大学院薬学研究科製薬化学専攻博士課程修了 (博士(薬学))取得
 平成9年 日本学術振興会海外特別研究員(米国ノースカロライナ大・医)
 平成11年 日本学術振興会特別研究員(PD)(生理学研究所)
 平成14年 生理学研究所特別協力研究員 生理学研究所研究員(科学研究) 生理学研究所講師(研究機関研究員)
 平成15年 九州保健福祉大学薬学部講師
 平成19年 山形大学医学部講師
 平成20年 山形大学大学院医学系研究科講師兼任
 平成21年 埼玉大学総合研究機構脳科学融合研究センター准教授
 平成22年 埼玉大学大学院理工学研究科准教授兼任
 平成24年 埼玉大学研究機構脳科学融合研究センター准教授(改組による変更)
 平成26年4月より 埼玉大学大学院理工学研究科准教授(改組による変更)(現職) 埼玉大学研究機構脳科学融合研究センター准教授兼任(改組による変更)(現職)

私たちは、脳の情報処理を担う神経回路における個々のシナプスの活動を細胞内カルシウムイオンの濃度変化を指標として目で見えるようにしながら、精神疾患の発現・進行に伴うシナプスの機能変化を明らかにしたいと考えています。単一シナプス活動の検出には高い性能(高感度、高シグナル、高輝度、高速応答性、タンパク質安定性、低副作用)を備えたプローブが必要となります。私たちの強みはイメージングにあります。私たちは蛍光カルシウムプローブタンパク質G-CaMPを開発し、またその後の改良を通じて、生体内の細胞活動の検出を可能にしてきました。私たちが開発したG-CaMPは線虫、ハエ、ゼブラフィッシュ、マウス、ラット、サル等多くのモデル生物で応用されています。最新のG-CaMPでは、マウスやラットの脳スライスにおいてシナプス前細胞の単一発火にตอบสนองしたシナプス後細胞の個々の樹状突起スパインのカルシウム活動を感度良く検出できることを確認しています。私たちは最新の高性能なプローブを使用できる環境にあります。



本研究では海馬シナプスの形態と機能の変化に注目します。海馬は記憶の形成や想起に関わる脳部位であり、海馬錐体細胞においてグルタミン酸作動性の興奮性シナプスの入力部位である個々の樹状突起スパインが記憶に重要であると考えられています。統合失調症等の一部の精神疾患では進行性の記憶障害が生じますが、そのマイクロ病態として海馬でのスパインの萎縮やスパイン数の減少等が明らかにされてきました。しかしこれらのマイクロ病態がどのように進行しているのかは未だに解明されていません。そこで本研究では、海馬スライスの錐体細胞を標本として用い、進行性の記憶障害を誘発させる薬物の投与や遺伝子の操作によって個々のスパインの形態・機能やシナプス近傍の神経内外環境がどのように変化するかを明らかにし、記憶障害の発現・進行に関わるマイクロ病態を解明することを目指します。



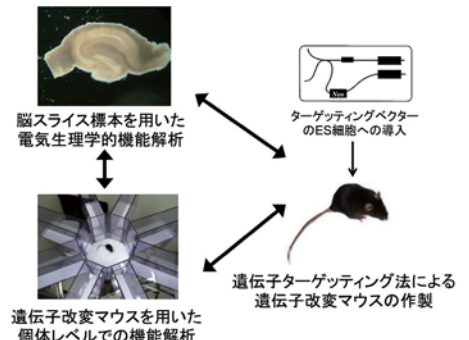
精神神経疾患の発症基盤としてのNMDA受容体の制御機構の解明

真鍋 俊也 (東京大学医科学研究所・教授)

略歴

昭和60年 京都大学医学部医学科卒業
 平成元年 京都大学大学院医学研究科生理学専攻修了(医学博士取得)
 平成2年 米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校博士研究員
 平成5年 米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校薬理学研究員(常勤)
 平成8年 東京大学医学部脳研究施設助手
 平成11年 東京大学医学部脳研究施設講師
 平成13年 神戸大学医学部生理学第一講座教授
 平成13年 東京大学医科学研究所教授(現職)

哺乳類の中樞神経系の興奮性シナプス伝達では、ほとんどの場合、グルタミン酸が神経伝達物質として作用する。グルタミン酸がシナプス前終末から放出されると、シナプス後細胞のスパイン上に存在するグルタミン酸受容体に結合して、シナプス後細胞の興奮性を調節する。グルタミン酸受容体には、受容体チャンネルを開きイオンを透過させるAMPA受容体、NMDA受容体、および、カニン酸受容体の3種類のイオン透過型受容体とシナプス後細胞内のシグナル伝達系を調節する8種類の代謝型受容体が存在し、そのいずれもが神経系の機能発現に重要な役割を担っている。当研究室では、これまでに、いずれのタイプの受容体についても、その機能解析を進めてきたが、その中でも、NMDA受容体については、正常マウスあるいは遺伝子改変マウスの海馬および扁桃体のスライス標本を用いた電気生理学的解析や個体を用いた行動学的解析を積極的に進めてきた。



NMDA受容体は、同じイオン透過型であるAMPA受容体とは異なり、1価の陽イオンだけでなく、2価のカルシウムイオンも透過するという特性を有している。シナプスが高頻度で活性化すると、細胞内のカルシウムイオン濃度が大きく上昇し、種々のカルシウム依存性の生化学過程を調節する。その代表的な例として、シナプス伝達の長期増強が挙げられる。また、個体レベルでは、記憶・学習のような高次機能だけでなく、種々の精神神経疾患にNMDA受容体が関与していることも明らかになりつつある。その中でも、グルタミン酸と同時にNMDA受容体に対してコアゴニストとして作用するD-セリンが、統合失調症や不安障害に関与する可能性が示唆されている。本研究計画では、正常マウスやD-セリンの制御に関与する分子の遺伝子改変マウスを用いて、分子レベル、細胞・ネットワークレベル、さらには、個体レベルでD-セリンの生理機能を明らかにすることを目指す。

統合失調症におけるKv9.3カリウムチャンネルサブユニット発現変化の脳内分布

橋本 隆紀 (金沢大学・医学系・脳情報病態学 (神経精神医学)・准教授)



略歴

平成元年3月
新潟大学医学部医学科卒業
医師国家試験合格

平成元年4月
総合研究大学院大学生命科学研究科
生理科学専攻入学

平成4年3月
総合研究大学院大学生命科学研究科
生理科学専攻卒業 博士(学術)

平成4年4月
岡崎国立研究機構生理学研究所
神経化学部門 助手

平成5年4月
東京医科歯科大学神経精神医学教室入室
東京都職員共済組合清瀬病院 精神科
研修医

平成7年4月
国立精神神経センター神経研究所
疾病研究3部 研究員

平成9年4月
科学技術振興事業団
心象プロジェクト研究員
(東京大学医学部統合生理学教室)

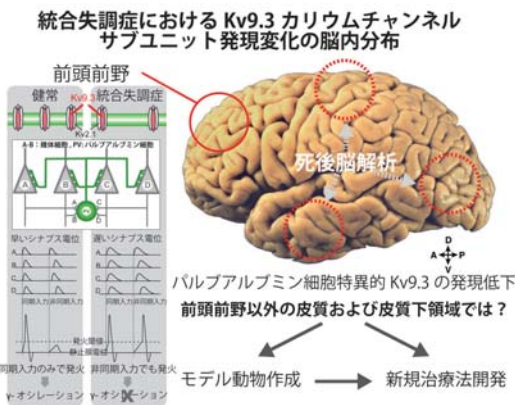
平成12年9月
ピッツバーグ大学 精神医学部門 研究員

平成15年7月
ピッツバーグ大学 精神医学部門 助教授

平成19年5月
金沢大学脳情報病態学 (精神医学) 准教授

統合失調症の大脳皮質では、GABA作動性介在ニューロンの中でもパルプアルブミン(PV)を発現するサブタイプ(PVニューロン)の機能低下を示す死後脳所見が集積している。PVニューロンは周期性皮質活動 γ オシレーションの形成を介して認知機能に重要な役割を果たすので、統合失調症ではPVニューロンの機能低下が γ オシレーションの異常を引き起こし認知機能障害に結びついていると考えられる。Kv9.3カリウムチャンネルサブユニットは、皮質PVニューロンに特異的に発現し、Kv2.1サブユニットと複合体チャンネルを形成する。Kv2.1/Kv9.3複合体チャンネルは、発火閾値以下の膜電位によっても活性化される。PVニューロンにおいて、発火閾値以下K⁺の透過性は、周囲の錐体ニューロンによって形成される興奮性シナプスにおけるシナプス電位の時間経過を早める効果があることが報告されていた。早い興奮性シナプス電位は短い時間においてのみ積算されるので、PVニューロンは周囲の錐体ニューロンの同期性の高い活動

によってのみ発火する特性を有し、これが γ オシレーションの形成に役立っていると考えられる。最近我々は、統合失調症の前頭前野においてKv9.3 mRNAの発現低下を見出した。すなわち、Kv9.3の低下が γ オシレーション異常及び認知機能障害の分子メカニズムの一つである可能性がある。本研究では、大脳皮質や皮質下の様々な領域においてKv9.3 mRNAの発現様式や統合失調症での変化を解明することで、病態のモデル動物の作成に加え、Kv9.3サブユニットを標的とした治療法の開発に役立てる。本研究は、ピッツバーグ大学精神医学部門の死後脳バンクより脳組織の提供を受けて行う。



免疫電子顕微鏡 (凍結切断および3次元) を用いたシナプスとグリアの微細形態異常解析

研究代表者: 木下 専 (名古屋大学・理学研究科・教授)

連携研究者: 深澤 有吾 (名古屋大学・医学系研究科・准教授)



略歴

平成元年
京都大学医学部医学科卒業、医師免許取得

平成2年
(財)田附興風会医学研究所北野病院
眼科研修医

平成4年
(財)癌研究会癌研究所ウイルス腫瘍部
嘱託研究員

平成7年
京都大学大学院医学研究科博士課程
外科系眼科学専攻修了
博士(医学)取得、京都大学大学院
医学研究科分子腫瘍学講座 助手

平成12年
米国Harvard Medical School Human
Frontier Science Program Fellow

平成15年
京都大学大学院医学研究科先端領域
融合医学研究機構 特任助教授
(兼)科学技術振興機構戦略的
創造研究推進事業 さきがけ研究者

平成19年
京都大学大学院医学研究科生命科学系
キャリアパス形成ユニット講師

平成21年4月より
名古屋大学大学院理学研究科生命理学
専攻情報機構学講座教授(現職)

発達障害や統合失調症の患者死後脳や精神疾患モデル動物において、興奮性シナプスにおける樹状突起棘(スパイン)の形態や容積の異常が多数報告されている。加えて、シナプス近傍の微細構造や、精神疾患との関連が深いシナプス分子(グルタミン酸やドーパミンの受容体・輸送体、足場蛋白質など)の数や分布も精神症状ないし行動異常と相関するマイクロエンドフェノタイプとしての有用性が期待される。これらの情報を必要十分な空間分解能で取得できるイメージング手法は免疫電子顕微鏡法に限られる。申請者らは、統合失調症や双極性障害患者脳で蓄積する複数のセプチン(シナプス膜およびグリア膜直下の足場蛋白質)のうちSEPT4の欠損がマウスの線条体/側坐核シナプスの微細形態と分子動態に及ぼす影響を探索し、軸索終末のドーパミン輸送体DATの減少が行動(薬理)学的異常をもたらすことを示した(Neuron 2007)。本研究では行動学的異常(常同行動、固執傾向、迷路学習における拙速性など)を呈する別のセプチン欠損マウスの海馬や線条体の微細形態と分子局在に関する定量的指標を3次元免疫電顕(連続切片immuno-TEM)再構築法で抽出するとともに、シナプス間隙~シナプス膜近傍の重要分子の定量評価には連携研究者の専門とする凍結切断レプリカ標識(SDS-FRL)免疫電顕法を適用する。対照群との差異をマイクロエンドフェノタイプとみなし、このうち行動(薬理)学的解析で得られた定量的フェノタイプに対する寄与度が高い指標を同定し、病態における意義を検証する。上記の微細形態計測手法を領域内で共有し、共同研究によって他グループが研究対象とする分子、実験系、精神疾患モデル動物にも解析対象を拡張することで領域の推進に貢献する。





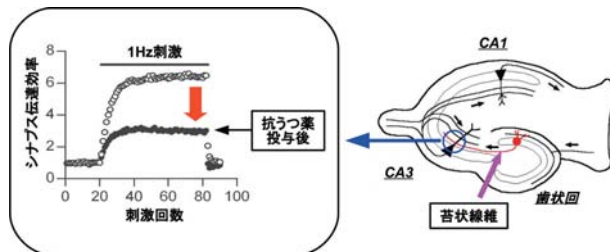
精神疾患のプレシナプスエンドフェノタイプとその発現機構の解析

小林 克典 (日本医科大学・薬理学・講師)

略歴

平成4年 東京大学文学部心理学科卒業
 平成10年 東京大学大学院医学系研究科博士課程機能生物学専攻修了
 平成10年 東京大学大学院医学系研究科神経生理学教室ポスドク
 日本学術振興会特別研究員
 平成11年 東京大学大学院医学系研究科神経生理学教室 助手
 平成13年 カリフォルニア大学パーフルー校分子細胞生物学科ポスドク
 ヒューマンフロンティアサイエンスプログラム長期研究員
 平成16年 日本医科大学薬理学講座 助手
 平成16年 日本医科大学薬理学講座 講師
 平成25年 日本医科大学薬理学 准教授

精神疾患において中枢シナプス伝達の異常が示唆されているが、シナプスのどのような異常が特定の疾患もしくは症状に寄与するのかわかりません。我々は顕著な精神疾患様の行動異常を示す α -CaMKIIヘテロ欠損マウス(CaMKII^{-/-})の表現型解析結果に基づき、海馬歯状回の成熟異常が精神疾患のエンドフェノタイプとなる可能性を提唱した。このマウスの最も顕著な機能異常はシナプス伝達のプレシナプス側の変化として観察される。歯状回から海馬CA3に投射する苔状線維が形成する興奮性シナプスでは、頻回刺激によって巨大なシナプス促進(プレシナプス性の短期的増強)が見られるが、CaMKII^{-/-}ではこの促進が非常に強く抑制されていた。同様の促進の低下がSchnurri-2欠損マウス(Shn2^{-/-})、変異型SNAP-25ノックインマウス、高用量の抗うつ薬フルオキセチンを慢性投与したマウスなどにおいても見られ(図参照)、いずれも顕著な行動異常と歯状回の成熟異常を伴う。また、統合失調症脆弱性遺伝子Dysbindin-1、Disc1の変異マウスでも苔状線維シナプス促進の軽度の異常が報告されている。Shn2^{-/-}の行動異常は多くの点で統合失調症の症状に類似しているが、CaMKII^{-/-}の異常は統合失調症と双極性障害の中間的である。抗うつ薬は躁転、気分不安定化を起こすことが知られている。以上を考慮すると、苔状線維のシナプス促進の低下は、特定の疾患ではなく、統合失調症や双極性障害(のサブグループ)、薬物誘発性の行動異常に共通した神経病態に寄与する可能性が考えられる。本研究では、マウスの海馬苔状線維シナプスをモデル系として、精神疾患病態に関与すると考えられるプレシナプスエンドフェノタイプの発現機構を解析し、プレシナプス機能の正常化による行動異常の改善を試みる。さらにこのエンドフェノタイプの一般性を検討するとともに、機能変化と直結したバイオマーカーを探索する。



PACAP高発現マウスを用いたPTSD発症リスク個人差の神経基盤解析

小出 剛 (国立遺伝学研究所・マウス開発研究室・准教授)



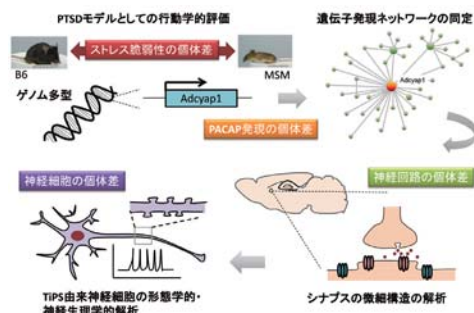
略歴

昭和59年 愛媛大学理学部生物学科卒業
 昭和61年 東京都立大学大学院理学研究科修士課程遺伝学専攻修了
 平成2年 大阪大学大学院医学研究科博士課程生理学専攻修了(医学博士 学位取得)
 平成2年 日本学術振興会特別研究員(受入:国立遺伝学研究所)
 平成4年 英国ケンブリッジ大学 Wellcome/CRC研究所研究員
 平成7年 国立遺伝学研究所 系統生物研究センター・助手
 平成14年 国立遺伝学研究所 系統生物研究センター・助教授
 平成19年4月より 国立遺伝学研究所 系統生物研究センター・准教授(現職)

心的外傷後ストレス障害(PTSD)は、事故、災害、犯罪被害などの極度のストレス経験によって引き起こされる疾患で、生涯診断有病率が1%と推定されている。しかし、全ての人が極度のストレス経験の後にPTSDに罹るわけではなく、その発症リスクの個人差には遺伝的要因が関与していることが示されてきている。本研究では、このようなストレス脆弱性の個体差について、遺伝的基盤と、そのマイクロエンドフェノタイプを明らかにすることを目的とする。野生由来マウス系統であるMSMは、他の実験用マウス系統とくらべて極度に高い情動反応性を示す。我々は、コンソミック系統を用いた解析により、原因遺伝子としてPACAP遺伝子を同定した。この遺伝子がMSM型となっているマウス(PACAP高発現系統)は、ストレス応答が増強しており、また遺伝子産物であるPACAPペプチド量が増加していることが明らかとなった。神経ペプチドであるPACAPは、自律神経系の興奮制御に強く関わっており、PTSDの症状と関連することが患者の研究により報告されている。このことから本マウスは、ストレス脆弱性やPTSD罹患リスクの個人差メカニズムの探索において、有用なモデル動物になると期待される。

本研究では、領域支援班と協力して以下のような研究を行ない、PTSD発症リスクの個人差に関する研究に貢献することを旨とする。

- ① PACAP高発現マウスの行動解析により、PTSDモデルとしての妥当性を検討
- ② ストレス応答の個体差に関わる遺伝子発現ネットワークの解析
- ③ PACAP発現量の違いによる神経回路微細構造の個体差解析
- ④ PACAP高発現マウス由来細胞の形態学的・神経生理学的特徴の解析

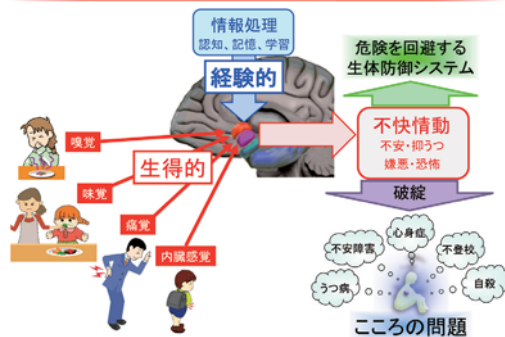


うつ病・不安障害モデル動物における分界条床核神経回路の機能的変化

南 雅文 (北海道大学・薬学研究院・薬理学研究室・教授)

うつ病や不安障害を患うために、抑うつ・不安情動を生成する神経機構を有しているとは考え難い。ヒトを含む哺乳類は、危険な時間帯や場所において、また、疾患や傷害を患った際に、自らの行動を抑制し周囲に対する警戒をより高めることで身を守る生体防御システムとして、このような負情動生成機構を獲得・進化させてきたと考えられる。したがって、うつ病や不安障害のメカニズムを理解するためには、生体防御システムとしての抑うつ・不安の神経機構あるいはそれを構成する神経回路を明らかにした上で、患者あるいは病態モデル動物においてその神経機構・神経回路がどのように変化しているかを解析することが必要である(図:生体防御システムとしての負情動生成機構とその破綻)。我々は、これまで、痛みの情動的側面について、扁桃体や分界条床核に着目した研究を行ってきた(Eur J Neurosci, 18, 2343-2350 (2003); Behav Brain Res, 176, 367-371 (2007); J Neurosci, 28, 7728-7736 (2008); Neuropharmacology, 61, 156-160 (2011); J Neurosci, 33, 5881-5894 (2013))。最近では、分界条床核2型神経細胞の活動亢進が負情動生成に重要であることを明らかにした。本研究では、嫌悪・不安情動生成における分界条床核の役割に関する申請者らのこれまでの研究成果を基盤として、うつ病・不安障害モデル動物における、分界条床核神経細胞のシナプス伝達と神経細胞興奮性、およびそれらに対する各種神経情報伝達物質・神経ペプチドの効果を解析することにより、疾患マイクロエンドフェノタイプとなる神経機構・神経回路の機能的変化を見出すとともに、うつ病・不安障害の神経機構を明らかにすることを目的とする。

生体防御システムとしての負情動生成機構とその破綻



略 歴

- 昭和62年3月 京都大学薬学部卒業
- 平成元年3月 京都大学大学院薬学研究科修士課程修了
- 平成4年3月 京都大学大学院薬学研究科博士後期課程単位取得退学
- 平成5年5月 京都大学博士(薬学)取得
- 平成4年4月 京都大学薬学部 助手
- 平成9年9月 京都大学大学院薬学研究科 助教授
- 平成10年6月 文部省在外研究員として米国スタンフォード大学脳外科学教室にて研究に従事(平成11年3月31日まで)
- 平成17年4月 北海道大学大学院薬学研究科 教授

ストレス性精神疾患における扁桃体外側核の役割の解明

森 寿 (富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・分子神経科学講座・教授)
 連携研究者: 井上 蘭 (富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・分子神経科学講座・助教)

気分障害や不安障害等のストレスが関わる精神疾患の生涯有病率は、我が国では20%近くに達しており、国民の健康福祉や経済的観点から克服すべき課題のひとつである。ストレス性精神疾患の原因のひとつとして、扁桃体が担う情動制御の異常が示唆されている。

我々は、ストレスホルモンのひとつであるグルココルチコイド受容体(GR)遺伝子を扁桃体外側核(LA)選択的に欠損させた(LA-GRcKO)マウス系統を作製した(図)。LA-GRcKOマウスでは、恐怖条件付けを用いた情動学習課題で、記憶の獲得異常が観察され、恐怖記憶形成にLAのGRが関わる事を初めて明らかにした。本研究では、このマウスを用いて情動が関わる行動の評価を進め、異常の原因となっている分子動態変化や細胞構造の変化等を明らかにし、心的外傷後ストレス障害(PTSD)をはじめとするストレス性の精神疾患や感情障害で見られる情動認知機能障害の分子機構ならびに責任神経回路を明らかにする。

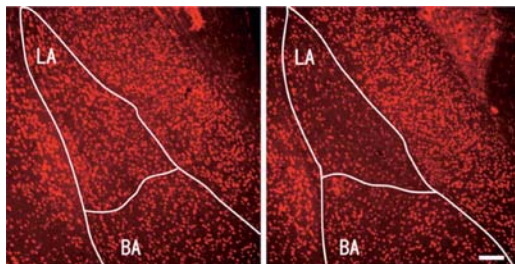


図 扁桃体LA-GRcKOマウス

まず、LA-GRcKOと野生型(WT)コントロールマウスを用いて、情動記憶学習試験、恐怖反応試験、うつ症状試験等の一連の行動学的解析を行い、ストレス性精神疾患におけるLAでのGRの機能を明らかにする。このマウスの行動変化とGR遺伝子欠損の因果関係を明確にするために、GR発現ウィルスベクターのLA注入による機能回復を行動学的試験で評価する。さらに、マウスの扁桃体スライスを作製しマイクロダイセクション法によりLAならびに海馬を切り出し、トランスクリプトーム解析を実施し、GRの標的遺伝子群を明らかにする。見出した遺伝子産物の発現は、ウェスタンブロット法と免疫組織化学法により検証し、ストレス性精神疾患のあらたなバイオマーカーや薬物標的となりうるか評価を行う。領域内では積極的に共同研究を実施し、得られた研究成果を、学会発表や論文発表、HP情報として広く社会に発信する。



略 歴

- 1985年3月 広島大学理学部生物学科 卒業
- 1991年3月 大阪大学大学院医学研究科博士課程修了 博士(医学)
- 1991年4月 新潟大学脳研究所神経薬理学部門 助手
- 1994年4月 東京大学医学部薬理学講座 助手
- 1999年1月 東京大学大学院医学系研究科分子神経生物学・薬理学教室 講師
- 2003年7月 富山医科薬科大学医学部生化学第2講座 教授
- 2004年4月 富山医科薬科大学大学院医学研究科 分子神経科学講座 教授
- 2005年10月 富山大学大学院医学薬学研究部(医学) 分子神経科学講座 教授



病態マーカーとしてのin situグルタチオン化タンパク質検出法の確立と応用

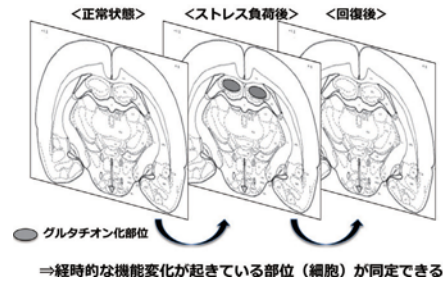
戸田 重誠 (金沢大学・附属病院・神経科精神科・講師)

略歴

平成3年 東北大学医学部医学科卒業
 平成3年 都立松沢病院臨床研修医
 平成5年 東北大学医学部附属病院医員
 平成12年 東北大学大学院医学系研究科修了、医学博士取得
 平成12年 東北大学医学部附属病院助手
 平成14年 米国サウスカロライナ医科大学ポスドク
 平成18年 同大学研究助教
 平成20年 金沢大学附属病院神経科精神科講師～現在に至る

酸化ストレスと言えば、一般に神経変性疾患で見られる細胞死のような非可逆的な強い反応が想像され、細胞死を伴わない精神疾患とは縁遠い印象がある。しかし実際には、細胞死に至らない一過性でマイルドな酸化ストレス(mild oxidative stress: MOS)が存在し、様々な細胞活動に影響するシグナルとして機能していると考えられている。例えば、うつ病を引き起こすような社会的ストレスや、過剰な運動、精神刺激薬の投与など、精神疾患発症の引き金となる要因の多くがMOSを誘導する。我々はこれまでに、薬理的に連日MOSを誘導すると、動物の意思決定を慢性ストレス負荷後に見られるモードに誘導できることを確認した。しかもこの変化はストレス負荷終了後しばらく経って発現したことから、一過性の反応ではなく、より長期に持続する適応性の変化と推察された。では様々なMOSは各精神疾患において、脳のどの部位で、どのような分子レベルの変化を経て、高次行動の変化をもたらすのか?この問いに答えるには、まず脳内のどこでMOSが影響しているのか網羅的に知る必要がある。

図：ストレス・刺激負荷後における経時的・局所的なタンパク質グルタチオン化の出現・消退パターンの予想例



そこで我々は酸化ストレスに拮抗する機序の一つ、タンパク質のグルタチオン化という現象に着目した。これはタンパク質が酸化され非可逆的に構造変化するのを防ぐ反応で通常可逆的だが、多くの場合タンパク質の機能変化を伴う。タンパク質のグルタチオン化を脳内でin situで検出できれば、MOSが脳内のどのような回路・細胞に影響を与え、そこでどのようなタンパク質が機能変化しているのかを知る上で重要な手がかりとなる。本研究グループは、in situグルタチオン化タンパク質検出法を動物脳で初めて確立し、うつ病や薬物依存などMOSの関与が予想される精神疾患の動物モデルを用いてMOSの標的部位を同定することで、MOSが関与する精神疾患発症の病態解明と治療法の開発を目指す。



精神疾患のグリア性マイクロエンドフェノタイプ

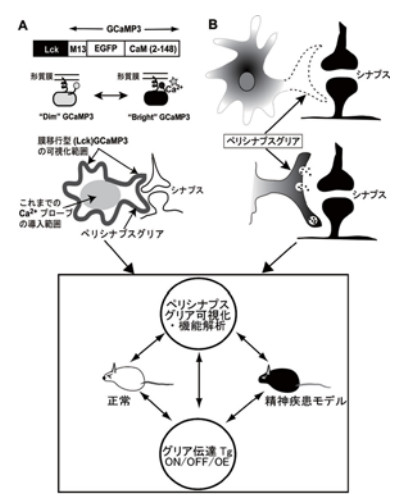
小泉 修一 (山梨大学・医学部・薬理学講座・教授)

連携研究者: 繁富 英治(山梨大学・医学部・薬理学講座・助教)

略歴

昭和62年 九州大学薬学部卒業
 平成4年 九州大学大学院薬学研究科博士課程修了(博士(薬学))取得
 平成4年 (財)ヒューマンサイエンス振興財団ポスドク
 平成7年 厚生省入省 厚生技官
 平成8年 英国ケンブリッジ大学ペイブラム研究所 ポスドク
 平成11年 国立医薬品食品衛生研究所 研究員、主任研究官、室長
 平成19年 国立大学法人山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学学域・薬理学講座(医学部薬理学講座)、教授
 平成26年 国立大学法人山梨大学・大学院総合研究部・医学学域・薬理学講座(医学部薬理学講座)、教授(現職)

グリア細胞が脳の情報処理・発信を制御していることが明らかとなり、脳機能は「神経-グリアネットワーク」コミュニケーションとして捉えられるようになった。従って、本ネットワークの変調は、脳の機能変調、特にシナプス伝達の変調や神経細胞の基礎活動性に影響すると考えられ、これは顕著な神経変性や神経細胞死を伴わない精神疾患の分子病態との関連性を強く示唆する。実際、うつ病や統合失調症患者の死後脳のトランスクリプトーム解析、プロテオーム解析では、グリア関連分子の変動が上位に並び、さらに動物実験ではグリア細胞を阻害すると、抗うつ薬が奏功しないことも示された。神経-グリアネットワークのコミュニケーション変調と、精神疾患等各種脳疾患の分子病態は密接に関連すると考えられるが、両者の関連性の多くは不明のままである。その大きな理由は、神経とグリア細胞(アストロサイト及びミクログリア)がコミュニケーションを行うインターフェース「ペリシナプスグリア」の(1)可視化・機能解析技術、(2)グリア伝達(グリア細胞による化学情報伝達)を精密に制御する技術、が欠如していたからである。本研究は、それぞれ(1)「膜移行型Ca²⁺プローブGCaMP3」によるペリシナプス機能解析、(2) FASTシステムによる細胞種・時期特異的「グリア伝達制御」、の2つの新技術により、この問題に答える。環境要因を再現した精神疾患モデル動物のペリシナプス機能を可視化し、またグリア伝達を精密に制御することにより、精神疾患における「グリア性マイクロエンドフェノタイプ」を抽出・同定する。また、本領域内で開発されたゲノム要因モデルを含む各種精神疾患モデルを用いた解析を行い、各精神疾患特異的なグリア性マイクロエンドフェノタイプの同定を目指すものである。



ペリシナプスグリア機能を見る技術 (A) 及びグリア伝達を細胞種・時期特異的に制御する技術 (B) により、精神疾患のグリア性マイクロエンドフェノタイプを抽出・同定する。

社会性行動の異常に関わる回路のマイクロエンドフェノタイプの解明

櫻井 武 (京都大学大学院・医学研究科・メディカルイノベーションセンター・准教授)

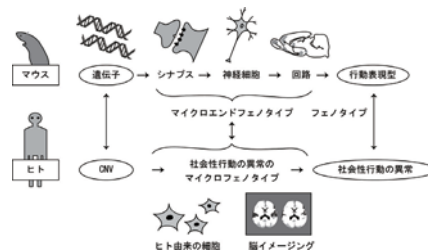


略歴

昭和63年
名古屋大学医学部医学科卒業
平成5年
名古屋大学大学院医学研究科病理系修了
医学博士取得
平成5年
ニューヨーク大学メディカルセンター
ポスドクトラルフェロー
平成12年
ラトガースニュージャージー州立大学
アシスタントプロフェッサー
平成13年
マウントサイナイ医科大学
アシスタントプロフェッサー
平成23年4月より
京都大学大学院医学研究科
メディカルイノベーションセンター准教授
(現職)

社会性行動の異常は自閉症のみならず、様々な精神疾患に見られる行動表現型である。社会性行動は社会性刺激への単純な反応から始まり、個体の成長に伴って刺激に対してより複雑な対応をするようになっていくが、おそらくこれは発達の段階において社会性行動に関与する様々な神経回路が形成され、成熟することにより社会性行動を支えるのに必要な様々な能力が獲得されることによると考えられる。自閉症や統合失調症といった発達精神障害ではこういった神経回路の形成、成熟過程に異常が生じ、結果として社会性行動の異常という表現型が生じると考えられる。

ヒトの精神疾患に染色体の微小欠損、重複によるコピー数変異が関与していることがゲノム解析から明らかになってきているが、その中で、染色体の7q11.23領域は、その欠損が過剰な社会性行動をその特徴的な行動表現型として示すWilliams-Beuren症候群(WBS)を、またその重複が自閉症を示すことから、コピー数依存性に社会性行動を支える神経回路の形成に関わる遺伝子を含むことが示唆されている。我々は、WBSの非典型欠損例の遺伝子型-表現型相関の解析から、その領域の遺伝子の一つである転写調節因子であるGtf2iがその有力な候補ではないかとの仮説を立て、これを1コピー欠損したマウスを作製し、それがWBS様の過剰な社会性行動を示すことを明らかにした。また、1コピー過剰に持つマウスは自閉症様の症状を示すことが予測され、現在そのマウスを作製しその行動表現型を解析している。



ヒトゲノム解析の知見に裏付けられたこれらのマウスモデルは社会性行動の異常の根本にある神経細胞及び回路レベルでの発達段階での変化(マイクロエンドフェノタイプ)を解析するのに有用であると考えられる。当該領域で得られる新しい技術を利用して社会性行動の異常に関わるマイクロエンドフェノタイプを解明し、それらを当該領域で得られるヒトの知見と比較することにより、様々な精神疾患に付随する社会性行動の異常のメカニズムに迫る。

前頭前野皮質回路の遺伝子操作による病態モデル解析

小林 和人 (福島県立医科大学・医学部・生体機能研究部門・教授)



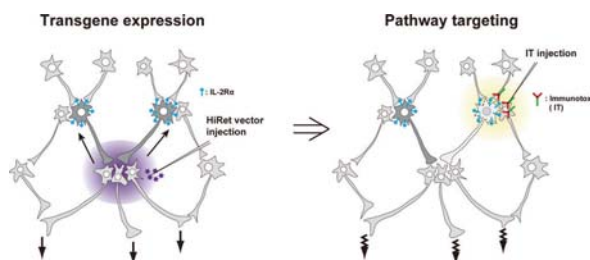
略歴

昭和58年3月
名古屋大学農学部農芸化学及び食品工業化学科 卒業
昭和60年4月—昭和62年3月
名古屋大学農学研究科博士課程(前期課程)修了
昭和62年4月—平成2年3月
名古屋大学医学研究科博士課程 修了
平成元年4月—平成3年3月
日本学術振興会特別研究員
平成3年4月—平成3年7月
名古屋大学医学部・助手
平成3年8月—平成5年7月
藤田保健衛生大学医学部
総合医科学研究センター・助手
平成5年8月—平成8年6月
同上・講師
平成8年7月—平成11年4月
奈良先端科学技術大学院大学
遺伝子教育センター・助教授
平成11年5月より現在に至る
福島県立医科大学医学部附属
生体情報伝達研究所 生体機能部門・教授

私たちの研究室では、遺伝子改変技術を利用して、大脳皮質—基底核—視床ネットワークを介する学習や行動制御のメカニズムの解明に取り組んでいます。マウスやラットというげっ歯類を動物モデルとし、特定の神経細胞に目的の遺伝子を発現する動物を作製します。また、最近では、高頻度逆行性遺伝子導入ベクターという新しい技術を用いて、特定の神経路に遺伝子導入を行うことも可能になっています。このような技術を応用して、特定の神経路の機能を改変・操作し、回路の動態や行動への影響を解析することが可能になります。

統合失調症などの精神疾患の発病は、前頭前野皮質を中心とする脳領域の機能異常に起因し、それらをめぐる脳領域での物質代謝や神経伝達の変化が病態に深く関係することが知られていますが、精神疾患の病態の基盤となる脳内神経回路の障害のメカニズムについては十分に理解されていません。新学術領域研究では、内側前頭前野皮質 (medial prefrontal cortex/mPFC)を中心とする神経回路について、mPFC への入力経路およびmPFCに局在する GABA 作動性介在ニューロンの役割が、統合失調症様の行動障害にどのように関係するのかを解析したいと考えています。特に、mPFC機能に依存する作業記憶および attentional shift 機能に着目して、これらの障害に結びつく神経回路機構の解明に取り組む計画です。

文献(1) Kobayashi, K., Okada, K., and Kai, N. (2012) Functional circuitry analysis in rodents using neurotoxins/immunotoxins. In *Neuromethods, Controlled Genetic Manipulations* (ed. Alexei, M.), chapter 10, pp. 193-205. Humana Press Inc., New York. (2) Kato, S., Kobayashi, K., and Kobayashi, K. (2013) Dissecting circuit mechanisms by genetic manipulation of specific neural pathways. *Rev. Neurosci.* 24 (1) 1-8.



図の説明:選択的な神経路ターゲティング技術
組み換え体イムノトキシン(IT) に対する受容体遺伝子をコードする高頻度逆行性遺伝子導入(HiRet)ベクターを脳領域に注入し、複数の入力経路に遺伝子を導入する。その後、上流の特定領域にイムノトキシンを注入することにより、特定神経路の除去を誘導する。



統合失調症脳内タンパク質群の発現解析 —タンパク質多項目同時測定システムを用いて—

國井 泰人 (福島県立医科大学・神経精神医学講座・助教)

略歴

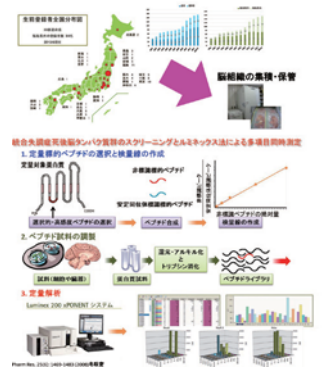
- 2001年3月 福島県立医科大学 医学部 卒業
- 2005年4月 福島県立医科大学大学院医学研究科入学
- 2008年4月 公立大学法人福島県立医科大学 神経精神医学講座助教
- 2010年3月 福島県立医科大学大学院医学研究科卒業 (医学博士)
- 2011年5月-2012年5月 米国国立衛生研究所(NIH)特別研究員 visiting fellow
- 2013年10月 公立大学法人福島県立医科大学 神経精神医学講座講師(現職)

私は、2003年4月より、福島精神疾患死後脳バンク(<http://www.fmu-bb.jp/index.htm>)の運営と拡充に従事して参りました。生前登録促進のための啓発活動や同意の取得、保管死後脳例の臨床情報の整理・データベース化、ホルマリン固定脳のパラフィン切片化、ネットワーク病院運営委員との関係強化、登録者死亡時から遺体搬送・脳の切り出し・保存までの一連の業務、国内外の研究施設へのバンク保存脳サンプルの提供の実務を行っています。

同バンクのサンプルを用いた統合失調症発症のメカニズムに関する研究として、統合失調症死後脳におけるDARPP-32及びカルシニューリンの免疫組織化学的プロファイルテーマとして行ってきました。2011年からは、米国国立衛生研究所に留学し、精神疾患死後脳におけるDARPP-32の発現異常とSNPs遺伝子型の関連解析を行いました。

本研究ではこれまでの研究を踏まえ、統合失調症死後脳に発現しているタンパク質の多項目同時測定を進める予定です。ドーパミン関連分子、グルタミン酸関連分子、GABA関連分子を標的タンパク質として、統合失調症群と健常対照群の死後脳凍結組織における発現量の差異を、熊本大学薬学部大槻純男教授らの開発した質量分析法による網羅的なタンパク質絶対定量解析法を用いてスクリーニングしたタンパク質について、脳内の複数の部位でルミネックス法によるタンパク質定量を行います。さらに免疫組織化学的手法を用いて、より詳細な標的タンパク質の組織内分布を観察し発現している細胞を同定し、統合失調症群に関しては、当バンク特有の詳細な臨床情報を駆使して関連を検討します。解析した分子の中で異常が捉えられたものについては、レーザーマイクロダイセクションにより、免疫組織化学解析と同じ解析部位の組織を抽出し、局所的遺伝子発現やエピジェネティクス解析も実施したいと考えています。

生前登録システムに基づいた精神疾患死後脳集積システムの構築と統合失調症死後脳研究—統合失調症脳内タンパク質群の発現解析—



うつ病における神経回路変容の抽出と解析

田中 謙二 (慶應義塾大学・医学部・精神神経科学教室・情動の制御と治療学研究寄附講座・特任准教授)

略歴

- 1997年 慶應義塾大学医学部卒業
- 1997年 慶應義塾大学病院研修医(精神・神経科)
- 1998年 山梨県立北病院 医師
- 1999年 慶應義塾大学大学院博士課程
- 2003年 生理学研究所 分子神経生理学研究部門 ポストドク
- 2004年 生理学研究所 分子神経生理学研究部門 助手
- 2006年 コロンビア大学 René Henラボ ポストドク
- 2008年 生理学研究所 分子神経生理学研究部門 助教
- 2012年 現職

うつ病における側坐核の活動変容は、ヒト脳機能イメージングの結果・深部脳刺激のターゲットと、妥当性の高いうつ病モデルを用いた神経活動マーカーの発現様式から支持される。しかし、側坐核には全く機能の異なる2種類の神経細胞(直接路と間接路)がランダムに配置しているために、これらの異なる細胞集団の活動を切り分けて記載してはじめて活動変容をマイクロエンドフェノタイプとして確立できるようになる。

申請者が独自に開発した改良型テトラサイクリン遺伝子発現誘導システムをもちいて、側坐核間接路神経細胞特異的にカルシウムセンサー: yellow cameleon nano50 (YCnano)、チャンネルロドプシン、アーキロドプシンを発現する遺伝子改変マウスをそれぞれ用意する。覚醒下で脳深部に存在する側坐核神経活動変化をカルシウム濃度計測によってモニターするための光計測システムを構築する。このシステムで、側坐核間接路神経細胞の活動亢進、活動抑制が正しく計測できているかコントロール実験を行う。体の大きいマウスに5日間連続で寝かせて実験マウスをうつ状態におちらせるSocial defeat(社会挫折)うつ病モデルを作成する。うつ状態におちいる前後の側坐核間接路神経細胞の活動を上述の覚醒下深部脳カルシウムイメージング法で調べ、うつ状態に伴う活動変容を明らかにする(マイクロエンドフェノタイプの探索)。Defeat後に観察される活動変容がどのような行動変化の原因になっているか明らかにするため、光感受性チャンネル(チャンネルロドプシン、アーキロドプシン)を用いて側坐核間接路神経細胞の活動性を光で操作し、活動変容を正常マウスで再現する。Defeat後に観察される活動変容が不安、葛藤、意欲をどのように変化させるか明らかにし、うつ病の側坐核間接路神経細胞の活動変容をマイクロエンドフェノタイプとして確立する。

図1 KENGE-tetによるD2R陽性細胞におけるCaプロブYCnano50の十分な発現とファイバ光学系によるCa濃度測定、神経活動計測

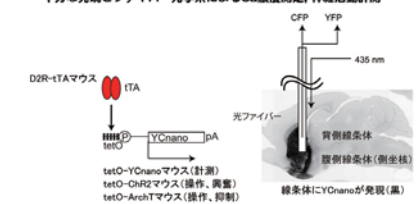
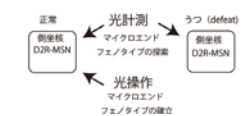


図2 研究内容: うつにおけるD2R-MSNの活動変容を記録する(光計測)。その活動変化を野生型で模倣し、うつに関連する行動を再現・抽出する(光操作)

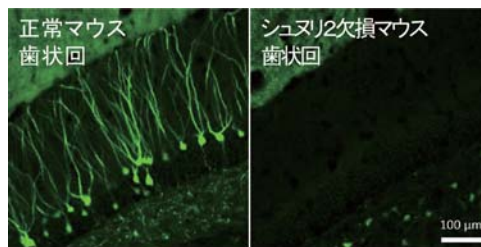


非定型炎症を伴う精神疾患モデル動物を活用したマイクロ精神病態の同定と分子機序解明

宮川 剛 (藤田保健衛生大学・総合医科学研究所システム・医科学研究部門・教授)

私たちは、これまでに160系統以上の遺伝子改変マウスの行動を網羅的に解析し、多数の精神疾患モデルマウスを同定してきました。それらの一部のマウスに共通して、成体であるにもかかわらず海馬歯状回のほぼ全ての神経細胞が未成熟な状態にあるという現象「非成熟歯状回」が生じていることを世界で初めて報告しました¹。非成熟歯状回様の現象は統合失調症や双極性障害の患者の死後脳でも見られることもわかり²、私たちは非成熟歯状回を統合失調症や双極性障害などの精神疾患のエンドフェノタイプ候補の一つとして提唱しています。最近、ひときわ顕著な行動異常パターンと非成熟歯状回を示すマウスとしてSchurri-2ノックアウト(Shn-2 KO)マウスを同定しました³。このShn-2 KOマウスは、脳の遺伝子発現パターンが統合失調症患者の死後脳のものに酷似していたほか、抑制性神経細胞マーカーのパルパルブミンや各種オリゴデンドロサイトマーカーの減少、シータ波・ガンマ波などの脳波異常など統合失調症患者の脳で報告されている多くの特徴を備えており、優れた統合失調症モデルマウスであることがわかりました。さらに、Shn-2 KOマウスを含めた非成熟歯状回を持つマウスや統合失調症患者の脳では、軽度で慢性的な炎症が生じていることが明らかとなり、これが統合失調症の各種のエンドフェノタイプの背景にある可能性があります。しかし、軽度の慢性炎症がなぜ生じ、それがどのような脳の異常を引き起こしているのかは未だ明らかではありません。本研究では、脳の軽度慢性炎症によって誘導される神経細胞やグリア細胞の各種の異常を精神疾患のマイクロエンドフェノタイプとして捉え、(1)遺伝的・環境的要因が軽度慢性炎症を引き起こすメカニズムを解明すること、(2)軽度慢性炎症が原因となって生じるマイクロエンドフェノタイプを同定し制御すること、を目指します。

1. Yamasaki et al. *Mol. Brain*, 1, 6 (2008).
2. Walton et al. *Transl. Psychiatry*, 2, e135 (2012).
3. Takao et al. *Neuropsychopharmacology*, 38, 1409-1425 (2013).



左:正常マウスでは神経細胞の活動でアーク遺伝子が発現(緑)
右:「非成熟歯状回」ではアークは発現しない。



略歴

- 1989年 東京大学文系三類入学
- 1993年 東京大学文学部心理学卒業
- 1995年 東京大学大学院人文科学研究科 修士課程心理学専攻修了
- 1997年 東京大学大学院人文社会科学系研究科 博士課程心理学専攻
- 1997年 博士(心理学)(東京大学)取得
- 1997年~1998年 理化学研究所脳科学総合研究センター 研究員
- 1998年~1999年 米国 国立精神衛生研究所(NIMH) ポストドク研究員
- 1999年~2001年 米国 バンダービルト大学 分子神経科学センター・薬理学科 助教授(研究)
- 2001年~2003年 米国 マサチューセッツ工科大学 ビコワ-学習・記憶センター 主任研究員
- 2003年~2007年 京都大学大学院医学研究科 先端領域融合医学研究機構 助教授 先端技術センター-生体遺伝子機能研究チームリーダー
- 2007年~現在 藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 システム医科学研究部門 教授 (兼任) 自然科学振興機構 生理学研究所 行動・代謝分子解析センター 行動様式解析系 客員教授

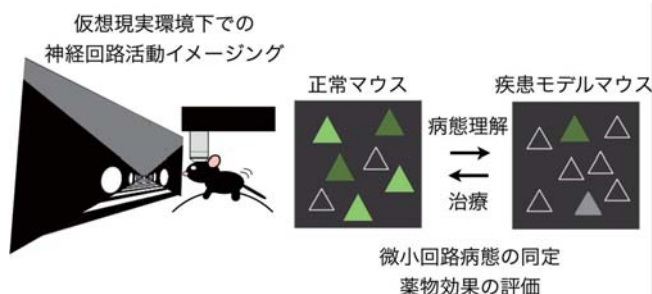
仮想現実環境下の機能イメージングによる精神・発達障害の微小回路病態の解明

佐藤 正晃 (理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員)
連携研究者: 水田 恒太郎 (理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員)

種々の精神疾患で認められる行動異常の背後にある神経回路機能の異常を同定するには、行動中の動物の回路活動を大規模かつ高解像度に計測する技術の確立が不可欠である。本研究では、われわれがこれまでに確立したin vivo深部脳イメージング、蛍光カルシウムセンサータンパク質発現トランスジェニックマウス、およびマウス用仮想現実(バーチャリアリティ, VR)提示システムなどの先端技術を精神疾患研究に応用し、顕微鏡周囲に作り出されたVR環境下で行動する疾患モデルマウスの海馬神経回路活動を、単一細胞解像度の二光子カルシウムイメージングで可視化することで、その微小な機能回路異常を同定する。

VRは被験者に提示する感覚刺激の量と質を柔軟に設定できるため、特に米国をはじめとする海外の精神科領域では、種々の不安障害のリハビリテーションなどに積極的に治療応用されている。基礎脳科学では以前からヒトやサルの大脳皮質における行動課題に利用されていたが、近年ラットがVR空間をナビゲーションできることが報告されて以降、げっ歯類の行動実験系として急速にその重要性を増している。特に、VRは二光子レーザー顕微鏡や多チャンネル細胞外記録などの先端的な回路機能計測法との親和性が高く、精神疾患の微小な機能回路病態の解明に大きな潜在的有用性をもっている。

本研究では、特に興奮性シナプスに存在するタンパク質の欠損によりヒトの精神疾患や発達障害に似た表現型を示す疾患モデルマウスに注目し、このようなモデルマウスのイメージングで同定された神経回路活動の異常が、薬物治療の候補となるような化合物の投与によって改善されるかどうかを検証する。



略歴

- 平成13年 京都大学大学院医学研究科生理生専攻 単位取得退学 博士(医学)
- 平成16年 カリフォルニア大学サンフランシスコ校 ポストドクトラルフェロー
- 平成21年 理化学研究所脳科学総合研究センター 研究員
- 平成24年 科学技術振興機構さきがけ さきがけ研究者(兼任)
- 平成26年 科学技術振興機構さきがけ さきがけ研究者(専任) 理化学研究所脳科学総合研究センター 客員研究員



CA2 Disinhibition and Schizophrenic Phenotypes

McHugh Thomas (理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー)

略歴

Sep 1990- Jun 1994
University of California, Berkeley
B.S. in Molecular and Cell Biology

Sep 1994-Jun 2001
Massachusetts Institute of Technology
Ph. D. in Biology

July 2001-Oct 2004
Massachusetts Institute of Technology
The Picower Institute for Learning and Memory
HHMI Postdoctoral Research Associate

Nov 2004-Feb 2009
Massachusetts Institute of Technology
The Picower Institute for Learning and Memory
Research Scientist

March 2009-Present
RIKEN Brain Science Institute
Laboratory Head
Laboratory for Circuit and Behavioral Physiology

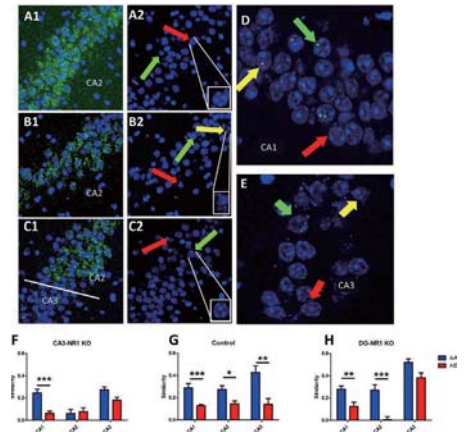
Our laboratory is interested in how circuits in the brain interact to store, organize, recall and use memories. We employ a highly multidisciplinary approach that extends from molecules to circuits and behavior, utilizing genetic approaches, in vivo electrophysiology and neurochemistry.

Several of the lab's projects address how the hippocampus assigns different aspects of mnemonic processing to the specialized, interconnected networks that correspond to the main hippocampal anatomical subfields; the dentate gyrus (DG), CA3, CA2 and CA1 areas, while others focus on factors, both intrinsic and extrinsic to the hippocampus, that modulate a memory's salience and persistence. Finally, the lab retains an interest in understanding the dysfunctional brain, with projects focused on the mechanisms and impacts of epilepsy, stress and schizophrenia on memory and cognition.

Two current projects include:

CA2 and Hippocampal Novelty Encoding

Contextual learning involves associating cues with an environment and relating them to past experience. Previous data indicate functional specialization within the hippocampal circuit: the dentate gyrus (DG) is crucial for discriminating similar contexts, while CA3 is required for associative encoding and recall. We have employed *Arc/H1a* catFISH imaging to address the contribution of the largely overlooked CA2 region to contextual learning by comparing ensemble codes across CA3, CA2, and CA1 in mice exposed to familiar and novel contexts. Further, to manipulate the quality of information arriving in CA2 we used two hippocampal mutant mouse lines as 'circuit alleles' that result in hippocampal activity that is uncoupled from the animal's experience. The loss of NMDA receptors at the CA3 recurrent synapses (CA3-NR1 KO mice) leads to deficits in rapid encoding of information and associative memory storage (Nakazawa et al., 2002; McHugh and Tonegawa, 2009), essentially a CA3 representation that is more novel than it should be, while in contrast, the loss of NRs at the perforant path inputs from the entorhinal cortex to the DG (DG-NR1 KO mice) results in deficits in context discrimination (McHugh et al., 2007); i.e. in CA3 novel contexts appear more familiar than experience dictates. Our data reveal largely coherent responses across the CA axis in control mice; however the CA2 response became uncoupled from CA1 and CA3 in the mutant mice. Moreover, we show in normal mice that CA2 is more sensitive to subtle changes in context. Our data suggest that CA2 may be tuned to remap in response to any conflict between stored and current experience.



Habenula/Hippocampal Interactions

Damage to the habenular complex (HbCpl) results in a wide-range of behavioral changes, including specific deficits in spatial learning tasks and changes in emotional behavior. Lateral habenular recording in primates suggests these neurons may fire in response to negative motivational value and are suppressed by reward. The anatomy in both the rodent and primate support the 'aversive signaling' hypothesis, with excitatory projections from the habenula terminating on GABAergic neurons in the RMTg and VTA that, in turn, inhibit dopamine release (Jhou et al, 2009; Hong et al, 2011) Further, data from multiple species, including humans, suggests dysfunction in the lateral habenula may underlie serious disorders, such as severe depression and schizophrenia (Shumake et al, 2003; Sarotius and Henn, 2007; Savitz et al, 2011). Given the usefulness of the mouse as an experimental model and the powerful genetic approaches available, it is of great interest to assess if habenular neurons encoding aversive outcomes in a similar fashion in the mouse and to study the circuit that underlies their function in learning and behavior. To better understand how this region encodes aversive stimuli in the rodent, we are recording from the lateral habenula (LH) and hippocampus (HPC) of the freely behaving mouse. Mice are trained to run for a food reward (sucrose pellets) on a circular track with four possible reward locations (NE, SE, SW, NW). In each trial only 2 locations contain reward (NE/SW or SE/NW), while at the non-rewarded locations the mouse receives a small aversive air puff, with the location of the rewards and airpuffs pseudo-randomly alternated between trials. In this paradigm we have identified single units in the LH that show a robust increase in their firing rate at the locations the air puffs are delivered. These aversive stimuli responsive neurons come in at least two types; a regular spiking, non-bursting type that exhibits no theta-modulation and a relatively narrow waveform and a theta-modulated bursting type with a relatively wide waveform. These data are being employed to better characterize this circuit in the mouse and understand its interactions with the spatial representation present in the hippocampus.

ドーパミンシグナルを介した精神疾患病態に関するマイクロエンドフェノタイプの解明

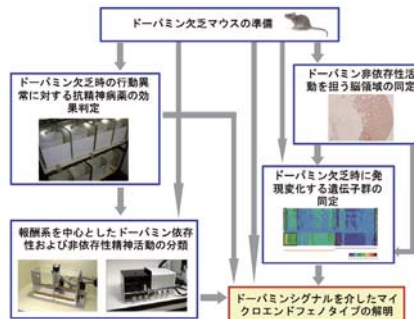
池田 和隆 (東京都医学総合研究所・依存性薬物プロジェクト・プロジェクトリーダー)



略歴

平成01年3月
東京大学工学部反応化学科卒業
工学学士
平成03年3月
大阪大学大学院医学研究科修士課程修了
医学修士
平成07年3月
新潟大学大学院医学研究科博士課程修了
博士(医学)
平成07年4月
理化学研究所・研究員
平成12年10月
(財)東京都医学研究機構・
東京都精神医学総合研究所・
精神薬理研究部門・主任研究員
平成15年9月
(財)東京都医学研究機構・
東京都精神医学総合研究所
分子精神医学研究部門・部門長
(副参事研究員)
平成23年4月
(財)東京都医学総合研究所・
精神行動医学分野・参事研究員
依存性薬物プロジェクト
プロジェクトリーダー

ドーパミンは、快情動、人格、注意など主要な精神活動や運動を制御する極めて重要な脳内物質であり、実際、様々な抗精神病薬の全てが、ドーパミンシグナル伝達を修飾する作用を有することや、依存性薬物のほとんどが側坐核におけるドーパミンの放出を引き起こすことが知られている。従って、ドーパミンシグナルの変調は精神疾患病態におけるマイクロエンドフェノタイプであると考えられる。ドーパミン欠乏マウスの解析は、ドーパミンシステムの機能解明において画期的な手法である。ドーパミン欠乏マウスは、ドーパミンの前駆体であるL-DOPAを毎日投与することで長期間維持することができ、従来ではL-DOPA投与24時間後において様々な実験がなされてきた。しかし、研究代表者らはその条件では脳内マイクロダイアリシス法で細胞外ドーパミンを測定するとドーパミンが残存していることを見出し、真のドーパミン欠乏マウスとは言えないことを明らかにした。また、L-DOPA投与3日後では脳内の細胞外ドーパミン量が検出限界以下になることを見出し、この条件では特徴的な行動異常が現れることを見出した。そこで、L-DOPA投与3日後の真のドーパミン欠乏マウスを解析することで、ドーパミンシグナル変調というマイクロエンドフェノタイプが精神活動に与える真の影響を解明できると考え、本研究を着想した。



本研究の具体的な目標は以下である。

- 1)ドーパミン欠乏時の異常行動に対する定型抗精神病薬(ハロペリドール)、非定型抗精神病薬(クロザピン)の効果を明らかにする。
- 2)ドーパミン欠乏時の活動を制御する脳領域を同定する。
- 3)ドーパミン欠乏時に発現変化する遺伝子群を網羅的に同定する。
- 4)ドーパミン欠乏時の活動を制御する脳内システムを同定する。
- 5)報酬系を中心とした精神活動におけるドーパミンシグナルの役割を解明する。

微細な組織構築の異常をマイクロエンドフェノタイプとした精神病態の解明

久保 健一郎 (慶應義塾大学・医学部・解剖学・専任講師)

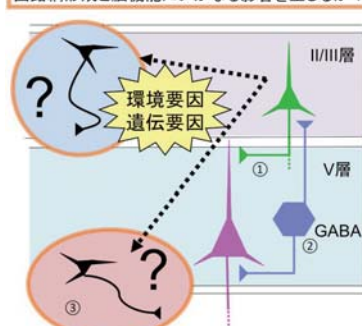


略歴

平成10年
慶應義塾大学医学部卒業
平成14年
東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻博士課程卒業
(博士(医学))取得
平成14年
慶應義塾大学助手(医学部解剖学教室)
平成15年
慶應義塾大学医学部研修医(精神・神経科)
平成17年
慶應義塾大学特別研究助手(医学部解剖学教室)
(平成19年特別研究助教)
平成21年
同大学助教(医学部解剖学教室)
平成25年より
同大学専任講師(医学部解剖学教室)
(現職)

精神疾患の死後脳研究において、神経細胞の配向の異常、層構造の乱れ、異所性の神経細胞など、微細な組織構築の異常がしばしば報告されてきました。これらの所見は統合失調症のみならず、自閉性障害や双極性障害でも報告されており、これらの疾患の神経発達障害仮説を支持する所見として捉えられてきました。一方で、精神疾患多発家系の遺伝学的研究で発見されたDisrupted in schizophrenia 1 (Disc1)の発生段階での機能阻害は、大脳新皮質および海馬において、統合失調症患者の脳組織に類似した微細な組織構築の異常を生じます(Kubo K, et al. 2010, Tomita K, et al. 2011)。また、最近、胎児期の代表的な環境要因のいくつかは、マウスの脳に微細な組織構築の異常を生じ、成熟後のマウスの行動に異常に引き起こすことを見いだしました(投稿準備中)。このように、これまでの研究により、遺伝的要因によっても、環境要因によっても微細な組織構築の異常が生じる可能性があることが明らかになりました。それらの遺伝的要因と環境要因は、いずれも統合失調症への罹患率を高めるため、共通の結果として生じる、微細な組織構築の異常は統合失調症のマイクロエンドフェノタイプの候補となると考えられます。しかし、微細な組織構築の異常がどのように疾患発症に結びつくのか、その病態的な意義は明らかではありません。そこで本研究では、それぞれの微細組織構築障害が、どのような回路網形成の異常に結びつき、また、どのような影響を動物の脳機能や行動に及ぼすのかを解明したいと考えております。特に、精神疾患に関連が強い、海馬や前頭前皮質などに注目して、微細組織構築の異常によって、どのような回路網の異常が生じ、それが発達過程においてどのように変化するかを明らかにしたいと考えております。

環境要因や遺伝的要因による微細な組織構築異常は回路網形成と脳機能に及ぼす影響をどうするか？



- ① 興奮性神経細胞の間で皮質内に形成される微小回路網
- ② GABA作動性神経と興奮性神経細胞との間の回路
- ③ 異所性神経細胞が及ぼす回路網形成への影響



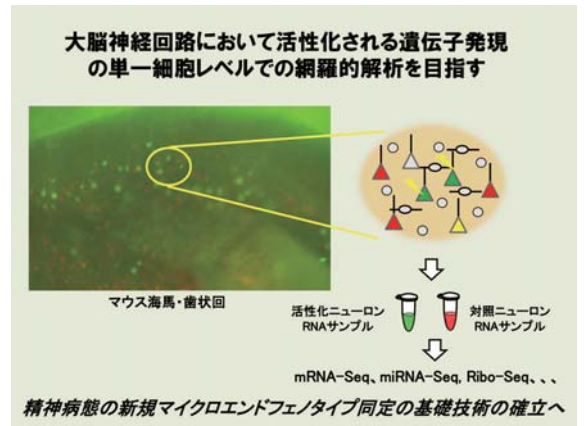
新奇環境認知により活性化される単一ニューロン種のトランスクリプトーム解析

奥野 浩行 (京都大学大学院・医学研究科・メディカルイノベーションセンター・特定准教授)

略歴

平成2年 東京大学理学部生物化学科卒業
 平成4年 東京大学大学院理学系研究科修士課程 生物化学専攻修了
 平成7年 東京大学大学院医学系研究科博士課程 第一基礎医学専攻 単位取得後退学
 平成7年 東京大学医学部第一生理学教室 助手
 平成12年 米国ジョンズホプキンス大学医学部 ポスドク
 平成15年 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学教室 助手
 平成19年 同 助教
 平成25年 同 講師
 平成25年7月より 京都大学大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター 特定准教授 (現職)

脳の認知機能の維持には神経活動依存的な遺伝子発現や蛋白質合成が必要であり、このような細胞遺伝子応答の異常・失調は神経発達障害や精神疾患病態に関連することが示唆されています。特に、外的環境の情報処理や社会的交互作用プロセスに関与する神経ネットワークにおける遺伝子発現応答の全体像を把握することは神経・精神病態の理解に極めて重要だと考えられます。しかしながら、このような神経活動は経験や生活履歴などによる個体差の影響も大きく、これまでのところ遺伝子発現応答の統一的理解には至っていません。また、脳には生化学的・形態的に性質の異なる多種の神経細胞が存在する上、似たようなタイプの神経細胞でも脳の領域・亜領域によっても生理的な性質が異なります。さらに、脳組織には神経細胞以外にもグリア細胞をはじめとする多種多様の細胞が混在しています。このため活動依存的な神経細胞における遺伝子発現を解析するには、対象となる細胞の空間情報を保持したまま、細胞のタイプを特定し、かつ、細胞の活動状態を同定した上でRNAをサンプリングする手法が必要となります。本研究計画では、新奇環境経験によって活性化された大脳・海馬における神経細胞を可視化して同定することにより、脳スライスから実験群と対照群の細胞を単一細胞レベルで採取し、細胞タイプ特異的、活性化ニューロン特異的なトランスクリプトーム解析を行います。本手法が確立すれば、精神疾患病態モデル動物に適用することにより精神疾患のマイクロエンドフェノタイプ同定への有効なアプローチ法のひとつとなると考えられます。



ストレス応答性転写因子NPAS4欠損マウスにおけるGABA神経発達と表現型解析

山田 清文 (名古屋大学・医学部附属病院・教授)

略歴

昭和56年 名城大学薬学部卒業
 昭和58年 名城大学大学院薬学研究科修士課程修了
 昭和58年 大塚製薬(株)徳島研究所 研究員
 昭和62年 米国ジョンズホプキンス大学医学部客員研究員
 平成3年 学位(薬学博士)取得(名城大学)
 平成10年 名古屋大学医学部附属病院 助教授
 平成14年 金沢大学薬学部 教授
 平成16年 金沢大学大学院自然科学研究科 教授
 平成19年8月より 名古屋大学医学部附属病院 教授 (現職)

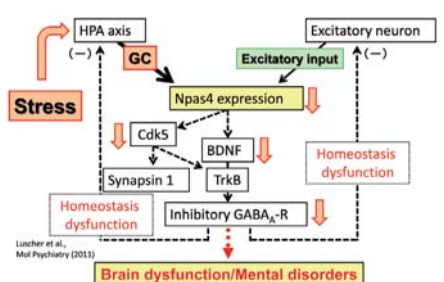
ストレスが抑制性GABA作動性神経の機能を障害し、その結果、脱抑制により興奮性神経系の活動が亢進することが精神疾患発症の要因の一つと考えられている。ストレス(外的環境要因)がGABA神経系障害(マイクロエンドフェノタイプ)を引き起こす分子機構を解明すれば、ストレスによる精神疾患発症を抑制する治療薬の開発への応用も期待できる。これまでに我々は、1) 幼若期隔離飼育ストレスや拘束ストレスを負荷したマウスでは空間学習記憶や情動行動に異常が生じること、2) ストレスにより海馬の神経新生の障害とGABA神経系発達に関与する転写因子Npas4の遺伝子発現が顕著に低下すること、3) ストレスによって分泌増加するグルココルチコイド(GC)がNpas4の転写を直接抑制すること、4) NPAS4がCdk5の遺伝子発現を誘導し、神経突起伸長を促進することなどを明らかにしている。

GABA神経のシナプス形成や海馬シナプス可塑性にはBDNFが重要であるが、NPAS4はBDNFの転写を促進することが知られている。すなわち、NPAS4は脳のホメオスタシスやシナプス可塑性に関与するストレス応答性の転写因子である。したがって、ストレスによるNPAS4の発現低下は、Cdk5やBDNFなどの発現抑制を介してGABA神経系の機能異常を引き起こし、様々な精神症状の出現に関与している可能性がある(図1)。

本研究では、以下の3項目の実験によりNpas4遺伝子欠損(Npas4-KO)マウスの行動異常におけるGABA神経機能の役割を解析し、ストレス誘発性脳機能障害の発症機構の解明を目指す。

- (1) Npas4-KOマウスの行動異常に関連するGABA神経機能の解析
- (2) Npas4-KOマウスにおけるGABA神経発達異常の解析
- (3) Npas4-KOマウスにおける脳部位特異的NPAS4遺伝子レスキューがGABA神経発達に及ぼす影響の解析

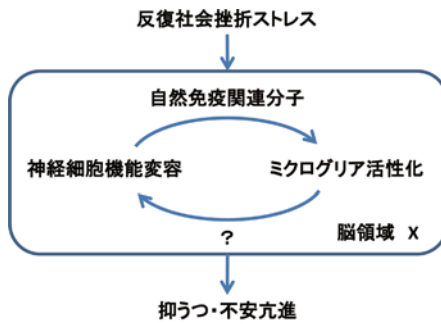
図1 NPAS4発現低下による精神疾患の発症(仮説)



マウス反復ストレスにおける自然免疫関連分子の作用とその活性化機構

古屋敷 智之 (京都大学大学院・医学研究科・メディカルイノベーションセンター・特定准教授)

慢性ストレスや過度のストレスは抑うつや不安亢進といった情動変化を引き起こすと共に、うつ病など精神疾患のリスク因子となる。しかし、ストレスによる脳機能変化の分子・神経回路基盤には不明な点が多く、ストレスを標的とした精神疾患創薬は確立していない。我々は、マウスの反復社会挫折ストレスモデルを用い、ストレスによって前頭前皮質に投射するドーパミン系が特異的に活性化すること、ストレスの反復によりこの皮質ドーパミン系の活性化が抑制され、これが反復ストレスによる情動変容に必須であることを示した。さらに、反復ストレスによる皮質ドーパミン系の抑制には、ストレスによるミクログリア活性化とそれ由来する炎症関連分子が重要であることも示唆している。しかし、ストレスがいかにミクログリアを活性化するか、また活性化されたミクログリアがどこでどのように働くかは不明である。



本研究で検証する「ストレス-自然免疫」仮説

外来性の病原体の特定の分子群は、一群の自然免疫関連分子を介してマクロファージを活性化し、炎症や免疫応答を惹起する。近年、細胞のストレスや損傷に伴い放出されたダメージ関連分子が、同様の自然免疫関連分子を介して、感染を伴わない炎症・免疫応答を誘導することが知られつつある。本研究では、マウスの反復社会挫折ストレスによるミクログリア活性化と情動変容に自然免疫関連分子群が関与するかを調べ、その脳内での作用点や作用機序を明らかにする。さらにストレスが自然免疫関連分子を活性化するダメージ関連分子も探索する。以上の研究から、反復ストレスによる情動変容における自然免疫関連分子の役割を解明し、精神疾患における新たな創薬標的を提唱したい。



略歴

平成9年
京都大学医学部医学科卒業
平成13年
京都大学大学院医学研究科博士課程(博士(医学))取得
平成13年
京都大学大学院医学研究科
日本学術振興会特別研究員
平成15年
京都大学大学院医学研究科助手
平成16年
ジョンズホプキンス大学
脳心理学分野准研究員
平成20年
京都大学大学院医学研究科助教
平成24年
同大学同研究科特定准教授
平成26年5月より
神戸大学大学院医学研究科教授(現職)

エピジェネティクスと組織化学的手法によるPTSDの病態解明と予防法の開発

森信 繁 (広島大学大学院・医歯薬保健学研究院・精神神経医科学・ストレス脆弱性克服プロジェクト・特任教授)

【はじめに】

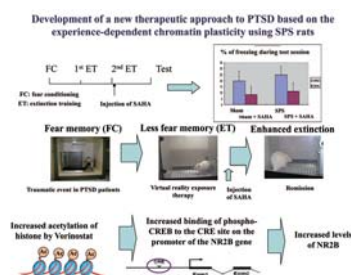
外傷後ストレス障害(PTSD)は重篤なストレスに暴露された結果、恐怖記憶の消去障害(フラッシュバック)・恐怖刺激への回避や麻痺・過覚醒などの症状がみられる疾患であり、その病態は未解明のままである。薬物療法的にはSSRIが有効といわれるも不安・抑うつ症状に効果があるのみで、恐怖記憶の消去障害には認知行動療法(Prolonged exposure法)が用いられているが、長期予後研究から3年予後で約20%の患者が未治の難治性精神障害と位置付けられている。

【本研究に関するこれまでの成果】

我々はこれまでにPTSDの病態解明や新規治療法の開発を目的に、Single prolonged stress (SPS) 負荷を用いたPTSDモデルラットの作製を行ってきた。SPSラットは以下のような、PTSD患者が示す臨床症状と極めて類似した特徴をもつことが分かってきた。1) 視床下部-下垂体-副腎皮質機能のenhanced negative feedback、2) Stress-induced analgesia、3) 不安行動の亢進、4) 恐怖記憶の固定化の亢進、5) 恐怖記憶の消去の障害、6) D-cycloserineによる恐怖記憶の消去障害の修復。

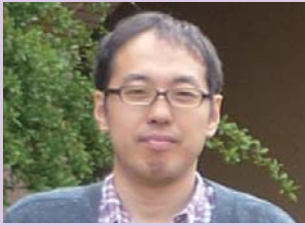
【研究計画】

本研究ではPTSDの病態を、重篤なストレス暴露によるグルココルチコイド受容体(GR)情報系の活性化による脳内の遺伝子発現の障害と考え、SPSラットとChIP-Sequencing法を用いて、ストレス暴露によるGRの結合が増大している遺伝子プロモーターをゲノム・ワイドに探索し、PTSDの病態解明を行う。同時にPTSD患者では恐怖記憶の消去障害がみられ、我々のSPSラットを用いた研究から消去訓練中のHistone deacetylase (HDAC)阻害薬の投与が消去障害に著効を示すことを発見しており、HADC阻害薬による治療効果のメカニズムを、組織化学的に解析する計画である。また記憶の固定化に重要な役割を果たす脳由来神経栄養因子(BDNF)による、新たな消去障害の治療法開発を試みる。



略歴

昭和57年3月
山形大学医学部卒業
昭和61年3月
山形大学大学院医学研究課程
修了(医学博士)
昭和61年9月
山形大学医学部附属病院 精神科神経科
助手
平成4年3月
米国エール大学医学部 分子精神医学部門
留学
平成6年7月
山形大学医学部附属病院 精神科神経科
講師
平成10年6月
滋賀医科大学医学部附属病院
精神科神経科 講師
平成12年1月
広島大学医学部 精神神経医学講座
助教授
平成24年4月
同大学院医歯薬保健学研究院
精神神経医科学
(ストレス脆弱性克服プロジェクト)
特任教授
平成25年9月
高知大学医学部神経精神科学教授



NADPHオキシダーゼを介する精神疾患発症の新しい概念の開拓

衣斐 督和 (京都市立医科大学大学院・医学研究科・助教)

略歴

平成8年 京都薬科大学薬学部製薬化学科卒業
平成13年 京都大学大学院薬学研究科博士後期課程医療薬科学専攻修了(博士(薬学))取得
平成13年 横浜市立大学医学部薬理学助手
平成15年 京都市立医科大学薬理学助手
平成19年 京都市立医科大学薬理学助教
平成20年4月より 京都市立医科大学薬理学講師(学内)

様々な精神疾患の発症に活性酸素種(ROS)による酸化ストレスの関与が示唆されているが、その産生源および酸化ストレスを介した発症機序については未だ明らかになっていない。

ROSの二大産生源としてミトコンドリアと活性酸素産生酵素のNADPHオキシダーゼが位置づけられている。ROSは細胞内機能タンパク(受容体、チャンネル、酵素、転写因子など)のSH基のレドックス(酸化還元状態)を変動させ、そのタンパクの活性を制御するシグナル分子として機能する。しかしROS産生量が過剰になると細胞死を惹起する。事実、ミトコンドリア機能不全や、白血球型NADPHオキシダーゼにより過剰産生されるROSは神経細胞死を惹起し、神経変性疾患の発症・進展に寄与する。一方、ROSの関与が示唆される精神疾患では神経細胞死は認められず、神経細胞の構造や機能の変化が認められる。このことはROSが精神疾患発症において神経変性疾患とは異なるメカニズムで関与することが想定される。

新規触媒サブユニットNOX1により構成されるNADPHオキシダーゼはROS産生能が低く、細胞内機能分子のレドックスを制御することで神経機能に作用する。さらに最近、NOX1はストレスによる精神疾患様行動の発現

に寄与することを見出した。そこで本研究では「NADPHオキシダーゼを介したレドックス制御」をエンドマイクロフェノタイプに設定し、NOX1欠損動物を用いて、未だ明らかでない課題を解決する。すなわち、

- (1)精神疾患におけるNOX1発現機序の解明
- (2)NOX1由来ROSによる標的分子の同定
- (3)NOX1由来ROSによる神経回路構造や機能への解析
- (4)未解析の精神疾患モデルにおけるNOX1の役割を行い、「精神疾患発症に関わる分子としてのNOX1/NADPHオキシダーゼ」の概念を新たに確立する。

これらを通じて得られた結果より、種々の精神疾患発症に寄与する新たな分子としてROS産生酵素NADPHオキシダーゼを提唱することができ、新たな治療法のシーズを提供することを目指す。



精神疾患の新たな発症機序の提案



精神ストレスによるマイクロエンドフェノタイプに対するストレスタンパク質の効果

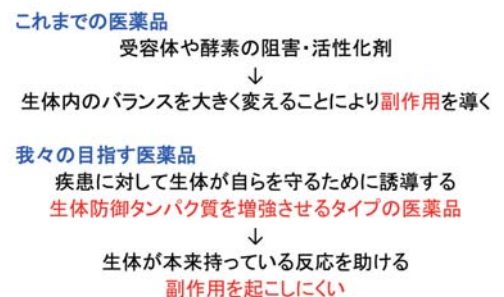
水島 徹 (慶應義塾大学・薬学部・教授)

略歴

1990年3月 東京大学薬学部卒業
1990年4月 東京大学大学院薬学系研究科修士課程入学
1992年3月 東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了(微生物薬品化学教室 名取俊二教授)
1992年4月 山之内製薬株式会社リサーチセンター配属
1994年4月 九州大学薬学部微生物薬品化学教室助手(開水和久教授)
1997年4月 岡山大学薬学部微生物薬品化学教室助教(土屋友房教授)
2004年4月 熊本大学大学院医学薬学研究部(2010年より生命科学研究部)創薬化学講座薬学微生物学分野教授
2006年4月 熊本大学薬学部附属創薬研究センター初代センター長(兼任)
2011年4月 慶應義塾大学薬学部分析科学講座主任教授

生体は様々なストレスに対してストレスタンパク質(熱ショックタンパク質(HSP)やスーパーオキシジスムターゼ(SOD)など)を産生しストレスに対抗している。私は、生体はストレスタンパク質を増やすことにより疾患に対抗しており、このストレスタンパク質の産生が不十分になると疾患が発症・重症化する、即ち、ストレスタンパク質を増やすタイプの医薬品は様々な疾患に有効であるという斬新な仮説を提唱した(本研究提案はこの考えをうつ病へ応用するものである)。そして、アルツハイマー病、小腸潰瘍、特発性肺線維症などの動物モデルにおいて、HSP70が増えていること、及びHSPの産生を増やす薬(誘導薬)を用いてHSP70を増加させると、これら疾患の動物モデルにおいて予防・治療効果が得られることを見出した。また我々は、特発性肺線維症、炎症性腸疾患、COPDの動物モデルにおいて、SODが増加していることを見だし、SODのDDS製剤・PC-SODを開発し、この薬がこれら疾患の動物モデルで予防・治療効果を発揮することを見出した。また製薬企業と共同で特発性肺線維症患者に対するPC-SODの第二相臨床試験を行いその有効性を確認した。一方最近我々は、HSP70を過剰発現している遺伝子改変マウスでは、精神ストレスによるうつ病様症状(行動変化など)が抑制されることを見いだした。そこで本研究で我々は、うつ病抑制に働くストレスタンパク質を網羅的に同定しその分子機構を解明すると共に、そのストレスタンパク質を増やす物質を検索し、うつ病治療薬の開発に繋げる。

創薬研究戦略の変換

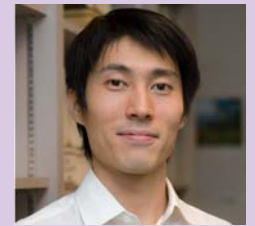
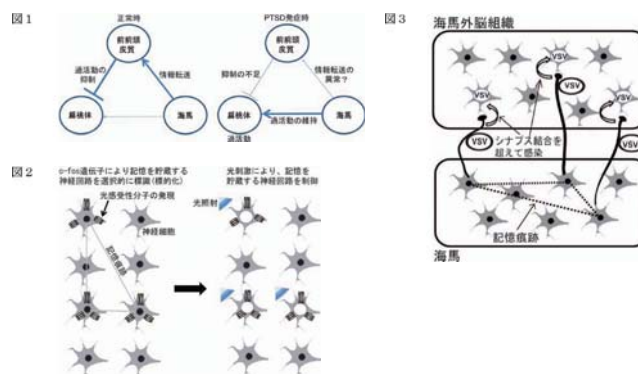


心的外傷後ストレス障害(PTSD)における記憶情報処理の病態生理

坂口 昌徳 (筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・准教授)

的外傷(トラウマ)記憶などの記憶情報は、海馬で記憶され、記憶が処理されるに伴い前前頭皮質などの海馬外の組織へと転送されることが示唆されている(図1)。一方、心的外傷後ストレス障害(PTSD)は、過剰に強度のトラウマ記憶が処理できず、海馬および前前頭皮質の機能不全が起こり、トラウマ記憶が制御不能になるとされている。結果として、軽微な刺激で扁桃体の過活動が誘発され、フラッシュバックなどにより生じる恐怖反応が長期間持続する(図1右)。このことはすなわち、PTSDの発症において、この記憶の転送メカニズムになんらかの関与があることを示唆する。申請者は新規のマウスPTSDモデルおよび光遺伝学(Optogenetics)技術を確立した。これに、記憶痕跡標的化マウス(図2)および前行性経シナプス神経トレーサーウイルス(VSV:図3)を組み合わせ、記憶痕跡(Engram)を直接観察制御することで、この仮説を検証する。これらの技術は全て領域メンバーに共有され領域の他の研究にも貢献する。本研究の目的は、

- 目的1. PTSDが記憶の転送に及ぼす影響を明らかにする(遅延することが予想される)
- 目的2. PTSDにおける記憶転送回路を可視化する(正常な転送回路を形成するか検証)
- 目的3. PTSDにおいて、海馬および記憶転送先の記憶保持細胞が、どの程度恐怖反応に関与するかを明らかにする(個々の回路を人工的に制御し、恐怖反応への寄与を観察する)



略歴

平成25年2月-現在
筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構
4月より准教授(主任研究員)
平成23年4月-25年1月
理研 基礎科学特別研究員
平成22年10月-23年3月
理研 脳科学研究センター 博士研究員
平成21年4月-22年9月
学術振興会 海外特別研究員
(採用時面接免除)
平成19年4月-22年9月
カナダ・トロント小児病院研究所
奨学助成対象研究員
平成17年4月-平成19年4月
慶應義塾大学 医学部生理学教室 助手
平成17年3月
博士号取得(筑波大学)
平成13年6月
医師免許取得

Identifying a microendophenotype of post-traumatic stress disorder

Joshua Johansen (理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー)

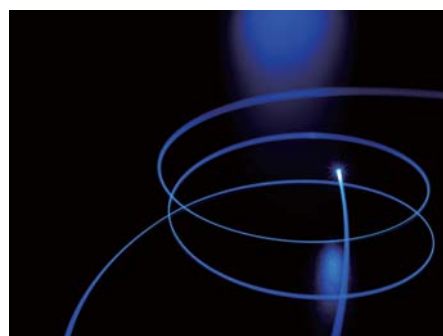
Memories make us who we are. Our experiences in the world produce memories by physically changing the brain. Many experiences, like walking down the street to the store on a normal day, we do not remember. However, some memories, such as being attacked by a dog while walking down the street, are burned into our brains and stay with us for our entire lives. What tells the brain to store some experiences as memories while others are forgotten? How does this learning result in adaptive changes in behavior? Answering these questions is a central goal of our laboratory.

Aversive experiences, such as being attacked by a dog, are powerful triggers for memory storage. To accomplish this task, aversive encounters activate neural 'teaching signal' circuits which can trigger brain alterations resulting in memory formation.

In the lab we study how teaching signals regulate memory formation and guide adaptive behavior. To study this question we use a variety of aversively motivated behavioral assays including fear conditioning, a powerful model for studying emotional memories. Relative to our knowledge of sensory and motor circuits, we understand very little about the brain mechanisms which translate aversive experiences into neural teaching signals. As a result, there is important work to be done in this research area. Furthermore, the study of aversive teaching signal systems represents an important bridge between multiple

areas of neuroscience research. By studying these circuits our ultimate goal is to discover general principles of neural circuit function, neural coding and plasticity as they relate to adaptive behavior. These insights may ultimately guide us toward a better mechanistic understanding of learning and memory, decision making, pain, emotion and many other aspects of human experience.

Dysfunction in aversive teaching signal circuits may underlie some of the clinical pathology associated with chronic pain and anxiety disorders. Understanding the mechanisms of aversive teaching signal circuits could also facilitate the development of novel treatments for these debilitating conditions.



略歴

平成10年
University of Colorado, Boulder卒業
Bachelor of Arts in Psychology,
Magna Cum Laude取得
平成19年
University of California, Los Angeles
卒業
Ph.D. in Neuroscience取得
平成19年~23年
New York Universityポスドク
平成23年より
独立行政法人理化学研究所
脳科学総合研究センター
記憶神経回路研究チーム
チームリーダー(現職)

領域公式行事

1) 第3回マイクロ精神病態領域班会議

日時：2013年8月28日-30日

場所：ホテル名古屋ガーデンパレス、名古屋国際会議場

28-29日には計画研究代表者と公募研代表者が研究進展状況を紹介します。28日には若手育成を目的としたポスター発表が行われました。30日には、包括的脳科学研究推進支援ネットワークの平成25年度夏のワークショップにおいてシンポジウム「精神疾患研究のパラダイムシフト～マイクロエンドフェノタイプとは何か～」を開催し、基礎研究者向けに本領域の研究内容と精神疾患研究の進め方、また、取り組み方を議論しました（講演者：加藤忠史、岩本和也、喜田聡、林（高木）朗子）。



2) マイクロ精神病態若手育成研究会

日時：2014年2月13日-14日

場所：群馬県機部ガーデン、大和会西毛病院

若手育成活動の一環として開催しました。13日午前中には福田正人先生（群馬大学大学院医学系研究科）、溝口健介先生（ケン・クリニック）に教育講演をお願いし、午後には大和会西毛病院を見学しました。西毛病院では、高木博敬副院長による臨床例解説、高木先生、亀山正樹先生、諸川由実代先生（臨床医学研究センター センター長）による病棟見学が行われました（守秘義務等の誓約のもとで見学しました）。夜には、ポスドクと大学院生中心のポスター発表、14日には若手を中心に計画研究代表者を含めた総勢15名による講演が行われました。



3) 第4回マイクロ精神病態領域班会議

日時：2014年7月20日-21日

場所：宮城蔵王ロイヤルホテル

計画研究代表者と公募研代表者が研究進展状況を報告し、21日には若手育成のためのポスター発表が行われました。



4) 第3回国際シンポジウム「International Symposium on Genes to Cognition (遺伝子から認知機能へ) –PTSDの治療方法開発を目指した恐怖記憶制御基盤の解明–認知の分子・細胞・回路機構」

時 間：2014年9月8日午後2時-午後5時
場 所：東京農業大学世田谷キャンパス 横井講堂

若手研究者向けに国際シンポジウムを開催しました。

講演者(敬称略)

Brian Wiltgen (カリフォルニア大学デービス校)、Paul Frankland (トロント大学)、Andrew Holmes (NIAAA)



5) 教育シンポジウム「基礎脳科学者のための精神疾患臨床ABC教育コース」

日 時：2014年9月11日午後2時-午後5時
場 所：パシフィコ横浜

日本神経科学会において、日本生物学的精神医学会と合同で若手研究者向けに教育シンポジウムを開催しました。

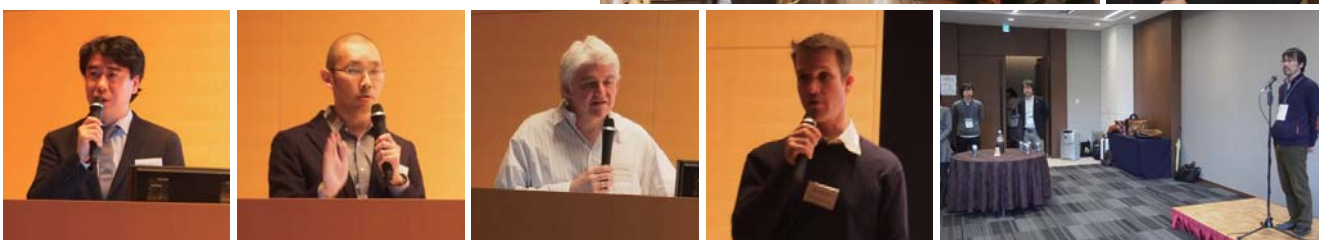
講演者(敬称略)

吉川武男、加藤忠史、尾崎 紀夫(名古屋大学大学院医学系研究科)、古川 壽亮(京都大学大学院医学研究科)

6) 第5回マイクロ精神病態領域班会議

日 時：2014年12月11日-13日
場 所：東京医科歯科大学、東京農業大学、ホテル東京ガーデンパレス

11日には、包括的脳科学研究推進支援ネットワークの平成26年度冬のシンポジウム(東京医科歯科大学)において、脳5領域の合同シンポジウム「精神神経疾患研究の現状と展望」を行いました(マイクロ精神病態からの講演者:富田博秋、那波宏之)。12日には東京農業大学横井講堂において、公募研究代表者による研究進展状況の報告が行われ、また、若手育成活動の一環として、「べてるの家」より精神疾患の当事者研究に関して講演して頂きました。13日には、若手育成活動として、包括的脳科学研究推進支援ネットワークの平成26年度冬のシンポジウム(ホテル東京ガーデンパレス)において、新学術領域「記憶ダイナミズム」との2領域合同若手シンポジウムを開催しました。



若手育成活動

1) 生理学研究所研究会「感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻(情動研究会)」への若手派遣

平成25年9月2-3日に行われた生理研研究会に若手研究者を派遣しました。

2) 生理学研究所研究会「個体内記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解(記憶回路研究会)」への若手派遣

平成25年12月11-12日に行われた生理研研究会に若手研究者を派遣しました。

3) 若手交流研究会

平成26年2月13-14日に実施し、詳細は先述しました。教育講演、病院見学、ポスターセッション、口頭発表を通して、領域内の若手交流を促進しました。



4) 第3回国際シンポジウム「International Symposium on Genes to Cognition(遺伝子から認知機能へ)」

平成26年9月8日に実施し、詳細は先述しました。若手と海外研究者との交流の場を設けました。



5) 生理学研究所研究会「感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻(情動研究会)」への若手派遣

平成26年10月7-8日に行われた生理研研究会に若手研究者を派遣しました。

6) 生理学研究所研究会「個体内記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解(記憶回路研究会)」への若手派遣

平成26年10月8-9日に行われた生理研研究会に若手研究者を派遣しました。

7) 「べてるの会」講演会

平成26年12月12日に行われた領域班会議において、「べてるの会」に精神疾患の当事者研究に関して講演して頂きました。「べてるの会」に関しましては、本ニュースレターに鶴飼渉先生より紹介されております。



アウトリーチ活動

高校生向け公開講演会

平成25年11月2日 東京農業大学18号館8階実験室

アウトリーチ活動の一環として、喜田聡(本新学術領域代表)が高校生向けの公開講演会を行いました。

文部科学省科学研究費新学術領域(領域提案型)
マイクロエンドフェノタイプによる精神病態学の創出

高校生向け公開講演会

先端的脳科学に挑戦する —基礎研究の成果を医学的応用に繋げる—



講師: 喜田 聡
新学術領域「マイクロ精神病態」領域代表
東京農業大学応用生物科学部バイオサイエンス学科教授

2013年11月2日 AM11:00-12:00
東京農業大学世田谷キャンパス18号館8階1881教室
<http://www.nodai.ac.jp/map/setagaya/index.html>

医学部に進学しないと医学に貢献できないと言われた人はいませんか?脳にはまだまだ謎が多く、基礎研究が進歩しなければ、その先の医学的な研究は進みません。すなわち、基礎研究と応用研究は表裏一体の関係です。この講演会では、基礎研究を題材にして、研究成果をどのように医学的研究に発展させるかを講演します。君も、脳のメカニズムを解明し、医学応用を目指す基礎系脳科学者を目指しませんか?
高校生向けの出張講義のレベルで話しますので、高校生であれば気軽に参加して下さい。
当日、東京農業大学では収穫祭(平成25年11月1-3日)が行われているので、講義の前後は収穫祭を楽しんでお帰り下さい。

 問い合わせ先
東京農業大学バイオサイエンス学科動物分子生物学研究室内「マイクロ精神病態」事務局
Tel. 03-5477-2318 E-mail: micro@nodai.ac.jp

 URL
<http://microend.umin.ne.jp>

文部科学省科学研究費補助金
「新学術領域研究(領域提案型)」平成24年度~28年度
マイクロエンドフェノタイプによる精神病態学の創出
ニュースレター Vol.2
平成27年3月発行

編集・発行人 喜田 聡
発行所 新学術領域「マイクロ精神病態」事務局
〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1
東京農業大学 応用生物科学部 バイオサイエンス学科内
TEL&FAX:03-5477-2318 email:micro@nodai.ac.jp
HP <http://microend.umin.ne.jp>