

令和元年6月17日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15624

研究課題名(和文)小胞体ストレスを介した脳内慢性炎症から探る精神疾患共通分子機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of general molecular mechanism of psychiatric disorder explored from chronic inflammation in the brain via endoplasmic reticulum stress

研究代表者

村尾 直哉 (Murao, Naoya)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20773534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、精神疾患に共通して観察される脳内慢性炎症が、多様化した精神疾患に共通した病態である可能性が考えられている。本研究では、小胞体膜タンパク質 Derlin-1の中樞神経特異的な欠損マウスにおける小胞体ストレスの遷延化が、脳内炎症を引き起こすと同時に複合的な精神疾患様行動を示すことに着目し、その詳細な解析を行った。その結果、脳内炎症は小胞体の恒常性の改善によりある程度沈静化できることがわかった。同時に本マウスでは、ニューロンの樹状突起の形成障害が観察された。さらに、このような精神疾患を引き起こし得る脳内の異常には、コレステロール合成の異常や細胞増殖因子の発現変化等も関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、複数の精神疾患様行動を示すマウスを用いて、脳内炎症の惹起を介した種々の精神疾患に共通したメカニズムの解明を目指した。現代社会の複雑な環境を考慮すれば、個々の精神疾患の発症原因を特定することは非常に困難である。しかしながら本研究では、精神疾患の分子病態を俯瞰的に捉え、その共通性に着目し解析を行った結果、小胞体品質管理の重要性や新たな重要な因子の発見につながってきている。今後のさらなる詳細な解析により、精神疾患を引き起こし得る共通の分子機構が明らかとなれば、精神疾患の種類や病態の程度に囚われない予防や治療・病態改善法の開発にもアプローチできるのではないかと考える。

研究成果の概要(英文)：In recent years, chronic inflammation in the brain commonly observed in psychiatric disorders is considered to be a pathological condition common to diversified psychiatric disorders. In this study, I focused on the fact that prolongation of endoplasmic reticulum (ER) stress caused by the central nervous system-specific defect of the ER membrane protein Derlin-1 causes complex psychiatric disorders-like behavior while causing inflammation in the brain. Analysis of this mouse showed that intracerebral inflammation can be suppressed by improvement of ER homeostasis. At the same time, the dendrite formation disorder of neurons was observed in this mouse. Furthermore, it has been suggested that abnormalities in the brain that can cause such psychiatric disorders also involve abnormalities in cholesterol synthesis, altered expression of cell growth factors, and the like.

研究分野：神経科学

キーワード：小胞体 精神疾患 グリア細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

精神疾患は統合失調症や自閉症に加え、双極性障害などの気分障害、パニック障害などの不安障害に代表される脳の機能的・器質的な障害の総称である。精神的な障害は4人に1人が生涯のうちに何らかの形で経験すると言われており(世界保健機構 2004)、本人の社会生活はもちろんのこと、それを支える周囲の人々に対しても大きな影響を与えるため、根本的治療を目的としたその病態メカニズムの解明は急務である。しかしながら、障害の程度や症状は個人差が大きいこともあり、多様化した精神疾患においては未だ決定的な原因や治療法はわかっていない。これに関連して近年、精神疾患患者の脳内では共通して慢性的な炎症が観察されることが示唆されてきており、脳内炎症沈静化による脳内ホメオスタシスの正常化は多様化した精神疾患の病態改善の鍵となり得ると考えられている。精神疾患患者で脳内炎症が惹起される原因についてはいくつかの報告があり、様々な環境ストレスなどによって誘発され得ることが示されつつあるものの、「環境ストレス-脳内炎症」の詳細なメカニズムに関しては未だ不明な点が多いのが現状である。加えて、一口に脳内炎症と言ってもそこで起こっている変化は多岐に渡るため、多様化した精神疾患において脳内炎症によるどのような因子の変化が重要であるかについても議論の余地が残されている。

2. 研究の目的

小胞体は不良タンパク質の適切な折り畳みや分解(小胞体関連分解(ER-associated degradation; ERAD))、タンパク質の翻訳抑制を行うことでストレスに対応し、細胞の恒常性を維持する機構を有している。これまでに、小胞体ストレスが双極性障害や、うつ病との関連が指摘されている難病の Wolfram 病などに関与することが報告されている(Kakiuchi *Nat Genet* 2003, Yamaguchi *BBRC* 2004)。加えて、小胞体ストレスの関与するパーキンソン病やポリグルタミン病などの運動機能障害を主症状とした神経変性疾患においても、抑うつ症状などの精神障害を引き起こすことが少なくない。これらの理由より、精神疾患の発症や増悪・回復において小胞体ストレス応答の関与が想定される。加えて、精神疾患は心理的ストレスなどの多くの複合的な要因により発症することが報告されているが、同様に小胞体ストレスに関しても様々な内的・外的なストレス要因に応答し惹起されるため、多様化した精神疾患に共通して小胞体ストレスの遷延化による毒性の蓄積が起こっている可能性は十分に考えられる。これらの知見より、小胞体ストレス応答機構が精神疾患に共通した慢性的な脳内炎症および炎症関連分子などの誘導を制御することで、その発症や悪化に関与するのではないかと推察した。

そこで本研究では、中枢神経において小胞体恒常性破綻を引き起こすと同時に、脳内炎症を含めた様々な精神疾患を横断した表現型を示す中枢神経全体での Derlin-1 欠損(Derlin-1cKO)マウスを複合的な精神疾患モデルマウスと捉え解析を行い、小胞体ストレス応答機構の破綻が精神疾患に共通する脳内炎症を引き起こすメカニズムの解明、及びそれにより誘導される精神疾患の発症に共通した新規因子の探索を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 脳内における小胞体恒常性破綻がどのような精神疾患様行動を示すかを行動テストバッテリーにより詳細に解析した。

(2) (1)の解析で示された精神疾患様行動の誘発が脳内のどの領域での脳内炎症、及びニューロンの機能異常・細胞死に依存しているのかを免疫染色法やウェスタンブロットティングなどにより解析した。加えて、小胞体ストレスの遷延化により脳内慢性炎症および精神疾患様行動を引き起こす責任細胞種をそれぞれの中枢神経系細胞特異的な Derlin-1 欠損マウスを用いて解析した。

(3) ケミカルシャペロンによる小胞体品質管理機構の改善により脳内炎症を沈静化できるかを解析した。

(4) (2) (3)の結果を踏まえて、DNA マイクロアレイにより小胞体ストレスの惹起が脳内炎症、及び多様な精神疾患の発症に関与し得る標的因子を探索した。

4. 研究成果

(1) Derlin-1cKO マウスでは精神疾患様の行動異常が観察される

Derlin-1cKO マウスに対して社会的行動テスト、ポーソルト強制水泳テスト、スクロース嗜好性テスト、巣作りテストなどを行なった。その結果、Derlin-1cKO マウスはコントロールマウスと比較して社会行動や巣作り行動の異常、スクロース嗜好性の低下による快樂消失など、精神疾患様の行動異常を示した。先行研究の結果より、これらの行動異常は中枢神経系での小胞体ストレス応答機構の破綻に起因する脳内炎症に関連したものである可能性が考えられた。

(2) Derlin-1 の欠損により影響を受ける脳領域、および責任細胞種の同定

Derlin-1cKO においてアストロサイトの増生がみられ、脳内炎症が引き起こされている可能性のある脳領域を探索したところ、海馬、大脳皮質、線条体、小脳領域でグリア細胞の増生がみられた。次に、Derlin-1cKO (ニューロン特異的) (アストロサイト特異的) マウスをそれぞれ作成し、それらの脳領域におけるグリア細胞数の変化を調べた。その結果、Derlin-1cKO (ニューロン特異的) の線条体で強く観察された。しかしながら Derlin-1cKO (ニューロン特異的)

マウスでは Derlin-1cKO (中枢神経全体) マウスと異なり小脳におけるアストロサイトの増生は観察されなかった。さらに Derlin-1cKO (アストロサイト特異的) マウスでは脳サイズの萎縮やアストロサイトの増生は観察されなかった。これらの結果より、脳内炎症の代表的な病態であるアストロサイトの増生は細胞非自立的に誘導されており、線条体などの脳部位ではニューロンでの小胞体品質管理機構の破綻が強く関与することが示唆された。また線条体以外の脳領域の慢性炎症に関しては、ニューロンとアストロサイト双方での小胞体品質管理機構の破綻がその惹起に関与している可能性が示唆された。

(3) Derlin-1 の欠損はニューロンの樹状突起伸長を阻害する

Derlin-1cKO マウスの解析により、脳内炎症に加え、脳サイズの縮小が観察された。加えてこの脳萎縮は Derlin-1cKO (ニューロン特異的) マウスにおいても観察された。このような脳萎縮はニューロンの脱落や発生異常等が原因である可能性が考えられる。そのため Derlin-1cKO (中枢神経全体) マウスにおける精神疾患様の行動異常の誘発には脳内慢性炎症だけでなく、ニューロン自身での小胞体品質管理の破綻によるニューロンの発達や機能異常が関与している可能性が考えられた。そこで、Derlin-1cKO (中枢神経全体) マウスよりニューロンを単離・培養し、樹状突起の形成を調べたところ Derlin-1 を欠損したニューロンでは樹状突起の長さ及び枝分かれの数が減少していることが明らかになった。この結果より Derlin-1cKO マウスで観察される精神疾患様の行動異常には小胞体品質管理機構の破綻による脳内の慢性炎症に加え、ニューロンの機能異常の関与が示唆された。

(4) ケミカルシャペロン 4-phenylbutyric acid (4-PBA) の投与により脳重量の減少、及びアストロサイトの増生が抑制される

これまでにみられた脳重量の減少やグリア細胞の増加が小胞体品質管理機構の破綻に起因しているかを解析するため、ケミカルシャペロンとして知られる 4-PBA を Derlin-1cKO (中枢神経全体) マウスに 12 日間投与した後、脳重量の測定および免疫組織化学を行なった。その結果、Derlin-1 の欠損による脳重量の減少が抑えられた。また、グリア細胞の増加が顕著であった線条体領域及び小脳領域においてグリア細胞の数を定量したところ、線条体領域では有意な変化は認められなかったが、小脳領域においてはアストロサイトの増加が抑制されていた。これらの結果より、小胞体品質管理機構が脳部位による程度の差はあるものの、脳サイズの制御や脳内炎症において重要であることが示唆された。

(5) DNA マイクロアレイによる脳内炎症および多様な精神疾患の発症に関与し得る標的因子の探索

Derlin-1cKO (中枢神経全体) マウスにおいて脳内炎症が観察され且つ 4-PBA で治療効果の認められた小脳領域を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、小胞体ストレス関連の遺伝子群に加えコレステロール合成経路に関与する遺伝子群や特定の細胞増殖因子の遺伝子発現が変動していることが明らかになった。今後、この変化が実際に脳内炎症やニューロンの樹状突起の伸長に関わるか、またそれと精神疾患様行動との関連について詳しく解析していく予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. **Murao N**, Matsubara S, Matsuda T, Noguchi H, Mutoh T, Mutoh M, Koseki H, Namihira M, *Nakashima K: Np95/Uhrf1 regulates tumor suppressor gene expression of neural stem/precursor cells, contributing to neurogenesis in the adult mouse brain. *Neurosci Res.* S0168-0102 (18) 30276-1 (2018) (査読有).
2. Kimura A, Matsuda T, Sakai A, **Murao N**, *Nakashima K: HMGB2 expression is associated with transition from a quiescent to an activated state of adult neural stem cells. *Dev Dyn.* 247:229-238 (2018) (査読有).
3. **Murao N**, *Nishitoh H: Role of the unfolded protein response in the development of central nervous system. *J Biochem.* 162:155-162 (2017) (査読有).

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Naoya Murao, Hideki Nishitoh, Role of endoplasmic reticulum quality control in the adult hippocampal neurogenesis, Society for Neuroscience (San Diego, 2018)

2. 村尾直哉、西頭英起、小胞体膜分子Derlinファミリーの成体海馬ニューロン新生における役割の解明、第13回小胞体ストレス研究会（宮崎、2018）
3. 杉山崇史、村尾直哉、西頭英起、中枢神経組織における小胞体品質管理機構の破綻に起因する運動障害メカニズム、第13回小胞体ストレス研究会（宮崎、2018）
4. 杉山崇史、村尾直哉、西頭英起、中枢神経における小胞体品質管理機構の破綻に起因する運動障害、第13回臨床ストレス応答学会大会（小樽、2018）
5. 村尾直哉、西頭英起、成体ニューロン新生を介した記憶学習制御における小胞体品質管理機構の役割、第13回成体脳のニューロン新生懇談会（福岡、2017）
6. 村尾直哉、西頭英起、記憶学習における小胞体品質管理機構の役割、2017年度生命科学系学会合同年次大会（Conbio2017）、ワークショップ「小胞体からはじまる多彩なシグナルと包括的生命機能制御」（神戸、2017）
7. 杉山崇史、村尾直哉、西頭英起、中枢神経組織における小胞体品質管理機構の破綻に起因する運動障害のメカニズム、2017年度生命科学系学会合同年次大会（Conbio2017）（神戸、2017）
8. 村尾直哉、西頭英起、記憶学習における小胞体品質管理機構の役割の解明、第12回小胞体ストレス研究会（奈良、2017）
9. 杉山崇史、村尾直哉、西頭英起、中枢神経組織における小胞体品質管理機構の破綻に起因する運動障害のメカニズム、第12回小胞体ストレス研究会（奈良、2017）
10. 村尾直哉、西頭英起、成体ニューロン新生を介した記憶学習制御における小胞体品質管理機構の役割、第12回臨床ストレス応答学会大会（東京、2017）

〔図書〕（計 0件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者
該当なし

(2)研究協力者
該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。