

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15520

研究課題名(和文)動物モデルを用いた精神疾患様行動に關与するLINE-1制御分子機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of molecular mechanisms of LINE-1 regulation related to psychiatric disorders using animal models

研究代表者

村田 唯 (Murata, Yui)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特別研究員 (SPD・PD・RPD)

研究者番号：10802077

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)：統合失調症患者脳試料において、レトロトランスポゾンLINE-1コピー数が増大していることが見出されているが、背景にある分子メカニズムや脳神経系での役割について明らかになっていない。今回、精神疾患モデル動物であるpoly(I:C)投与マウスにおける行動異常、また胎仔脳において過剰発現するLINE-1の特徴を特定することができた。さらに網羅的遺伝子発現解析から、RNAプロセッシング関連遺伝子群が発現上昇していることが分かり、脳神経系LINE-1の制御機構の探索に有効なデータを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精神疾患の発症メカニズムはまだまだ不明点が多く、その分子機構を解明することは急務である。また、脳におけるLINE-1転写・転移活性メカニズムやその影響についても解明されていない。LINE-1新規転移がどのように生じ、脳機能の異常に關与するのかを検証することは、精神疾患の病態を解明する一助になると考えられる。胎生期の免疫活性ストレスによるLINE-1制御メカニズムが明らかになれば、精神神経疾患の予防・治療戦略に寄与できると期待される。

研究成果の概要(英文)：LINE-1 copy number was increased in the brain tissue of schizophrenic patients. However, the molecular mechanisms and the roles of LINE-1 retrotransposition in the brain are unknown. We used poly(I:C)-treated mouse, a commonly used animal model of psychiatric disorders, and confirmed that adult mice of this model showed behavioral abnormalities. We found that expression of LINE mRNA was increased in prenatal brain. From RNA sequencing analysis of prenatal brain, expression of the genes related to RNA processing was increased. These data provided the possible regulatory mechanisms of brain LINE-1 overexpression in schizophrenia.

研究分野：分子脳科学

キーワード：LINE-1 レトロトランスポゾン 統合失調症 poly(I:C) 母体免疫活性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症などの精神疾患の発症には、ゲノム配列の変異だけでなく、エピゲノム修飾状態や体細胞変異などといった後天的に生じる異常が関連していると考えられている。近年我々の研究室から、統合失調症患者および精神疾患モデル動物においてレトロトランスポゾン LINE-1 (long interspersed element-1) のコピー数が増大していることを報告した。LINE-1 は全長約 6 kb の配列で、自身の配列を増幅することによって宿主ゲノムの安定性や周辺遺伝子の発現に影響する。LINE-1 の新規転移は、生殖系列以外の体細胞では制御メカニズムによって厳密に抑制されていると考えられてきた。しかし、近年の研究により、神経前駆細胞においても転移が生じていることが明らかになり、神経系の機能・構造の多様性や精神疾患の病因・病態と関連している可能性が提唱されている。

我々は、LINE-1 新規転移の分子メカニズムや精神疾患との因果関係について調べるため、精神疾患モデル動物として広く利用されている poly(I:C) (polyinosinic-polycytidylic acid) 投与マウスを用いた研究を進めている。poly(I:C) 投与モデルでは、二重鎖 RNA のアナログである poly(I:C) を妊娠動物に投与することによって母体免疫活性を惹起し、仔において行動異常や神経発達障害などを起こすことができる。疫学調査から、妊娠期のウイルス・細菌感染が精神疾患の発症リスク要因として挙げられており、poly(I:C) 投与モデルは精神疾患の有用なモデル動物であると考えられる。これまでに我々は、安定的に LINE-1 コピー数増大を誘発する poly(I:C) 投与プロトコルを確立した。また、マウス LINE-1 配列に存在する複数の転移活性型サブファミリーを考慮した DNA メチル化解析法を樹立し、poly(I:C) 投与マウスにおいて特定の LINE-1 サブファミリーのエピゲノム修飾状態が変動していることを見出した。本研究では、これらの研究を発展させるため、発達縦断的な解析を加えることによって行動異常に関連する LINE-1 転写・転移の分子機構を解明することを目的とした。

2. 研究の目的

精神疾患モデル動物 poly(I:C) 投与マウスを用いて、LINE-1 転移制御に破綻が生じている発達時期および LINE-1 サブファミリーを同定するとともに、網羅的遺伝子発現解析などを通して LINE-1 制御に関連する分子メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

poly(I:C) 投与マウスの作製には、我々が独自に確立した投与プロトコル (妊娠 12 日目 ~ 16 日目に腹腔内投与) を用いた。得られた仔マウスについて行動異常を確認するため、統合失調症の代表的な表現型であるプレパルスインヒビション (PPI) テストおよび社会性スリーチャンパーテストを行った。胎生期 poly(I:C) 投与によって発現変動のある LINE-1 サブファミリーを同定するため、

活性を持つ A、Gf、Tf タイプをターゲットとした RT-PCR 解析法を確立した。胎仔 poly(I:C)投与マウスより脳試料をサンプリングし、先に確立した RT-PCR 解析に供した。加えて、同試料を用いて RNA sequencing 解析を行った。

4 . 研究成果

行動解析から、成体期 poly(I:C)投与マウスにおける PPI 異常が認められ、精神疾患モデル動物としての有用性が確認できた。我々の先行研究より、LINE-1 コピー数の増大は成体期だけでなく、出生直後といった発達初期においても生じていることが確認できていた。今回胎生期脳を用いて、発達依存的に LINE-1 mRNA 発現量を検討したところ、poly(I:C)投与後あるタイムポイントにおいて LINE-1 の発現上昇が認められた。またサブファミリーを考慮した LINE-1 発現定量を行った結果、先行研究でエピゲノム変化が認められたサブファミリーの過剰発現が認められた。続いて、LINE-1 mRNA 発現量上昇のタイミングにおいてどのような遺伝子群に異常がみられるのか調べるため RNA sequencing 解析を行った。解析の結果、RNA プロセッシングに関連する遺伝子の発現が上昇していることが確認できた。一連の解析から、母体免疫活性ストレスによって引き起こされる脳神経系 LINE-1 活性のプロフィールが見出されたとともに、LINE-1 制御機構の同定に重要なデータが得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ikegame Tempei, Hidaka Yosuke, Nakachi Yutaka, Murata Yui, Watanabe Risa, Sugawara Hiroko, Asai Tatsuro, Kiyota Emi, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Sasaki Tsukasa, Hashimoto Mamoru, Ishikawa Tomohisa, Takebayashi Minoru, Iwata Nakao, Kakiuchi Chihiro, Kato Tadafumi, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification and functional characterization of the extremely long allele of the serotonin transporter-linked polymorphic region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-021-01242-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kuroki Ryota, Murata Yui, Fuke Satoshi, Nakachi Yutaka, Nakashima Jun, Kujoth Gregory C., Prolla Tomas A., Bundo Miki, Kato Tadafumi, Iwamoto Kazuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Establishment of Quantitative PCR Assays for Active Long Interspersed Nuclear Element-1 Subfamilies in Mice and Applications to the Analysis of Aging-Associated Retrotransposition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 519206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fgene.2020.519206	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ikegame Tempei, Bundo Miki, Okada Naohiro, Murata Yui, Koike Shinsuke, Sugawara Hiroko, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Owada Keiho, Fukunaga Masaki, Yamashita Fumio, Koshiyama Daisuke, Natsubori Tatsunobu, Iwashiro Norichika, Asai Tatsuro, Yoshikawa Akane, Nishimura Fumichika, Kawamura Yoshiya, Ishigooka Jun et al	4. 巻 46
2. 論文標題 Promoter Activity-Based Case-Control Association Study on SLC6A4 Highlighting Hypermethylation and Altered Amygdala Volume in Male Patients With Schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Schizophrenia Bulletin	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/schbul/sbaa075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Murata Yui, Ikegame Tempei, Koike Shinsuke, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Sasaki Tsukasa, Iwata Nakao, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 99
2. 論文標題 Global DNA hypomethylation and its correlation to the betaine level in peripheral blood of patients with schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 109855 ~ 109855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pnpbp.2019.109855	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ide Masayuki, Ohnishi Tetsuo, Toyoshima Manabu, Balan Shabeesh, Maekawa Motoko, Shimamoto Mitsuyama Chie, Iwayama Yoshimi, Ohba Hisako, Watanabe Akiko, Ishii Takashi, Shibuya Norihiro, Kimura Yuka, Hisano Yasuko, Murata Yui, Hara Tomonori, Morikawa Momo, Hashimoto Kenji, Nozaki Yayoi, Toyota Tomoko, Wada Yuina et al	4. 巻 11
2. 論文標題 Excess hydrogen sulfide and polysulfides production underlies a schizophrenia pathophysiology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 e10695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/emmm.201910695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Murata Yui, Fujii Ayaka, Kanata Sho, Fujikawa Shinya, Ikegame Tempei, Nakachi Yutaka, Zhao Zhilei, Jinde Seiichiro, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 39
2. 論文標題 Evaluation of the usefulness of saliva for DNA methylation analysis in cohort studies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 301 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murata Yui, Bundo Miki, Sunaga Fumiko, Kasai Kiyoto, Iwamoto Kazuya	4. 巻 52
2. 論文標題 DNA Methylation Profiling in a Neuroblastoma Cell Line Exposed to the Antipsychotic Perospirone	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmacopsychiatry	6. 最初と最後の頁 63 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0044-101467	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugawara Hiroko, Murata Yui, Ikegame Tempei, Sawamura Rie, Shimanaga Shota, Takeoka Yusuke, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Yoshikawa Akane, Nishimura Fumichika, Kawamura Yoshiya, Kakiuchi Chihiro, Sasaki Tsukasa, Iwata Nakao, Hashimoto Mamoru, Kasai Kiyoto, Kato Tadamumi, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 72
2. 論文標題 DNA methylation analyses of the candidate genes identified by a methylome-wide association study revealed common epigenetic alterations in schizophrenia and bipolar disorder	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 245 ~ 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.12645	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Kuroki R, Murata Y, Fuke S, Kujoth G, Prolla T, Kato T, Bundo M, Iwamoto K
2. 発表標題 Establishment of qPCR protocol for quantifying the copy number of active LINE-1 subfamilies in mice and its application to the aging mice
3. 学会等名 World Congress of Psychiatric Genetics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井綾香、村田唯、金田渉、藤川慎也、池亀天平、仲地ゆたか、趙治磊、神出誠一郎、笠井清登、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 コホート研究における唾液試料を用いたエピゲノム解析の有用性の検討
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 緒方啓仁、藤井綾香、村田唯、上田順子、笠井清登、加藤忠史、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 抗精神病薬リスペリドン投与によるマーマセット脳組織DNAメチル化状態への影響
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松原ひかり、村田唯、上田順子、加藤忠史、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 インフルエンザウイルス母体感染マウスの脳内遺伝子発現とエピゲノム解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松原ひかり、村田唯、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 インフルエンザウイルス母体感染モデルにおける仔マウス脳試料のトランスクリプトームおよびエピゲノム解析
3. 学会等名 第38回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池亀天平、日高洋介、菅原裕子、村田唯、渡邊理沙、清田恵美、近藤健治、池田匡志、吉川茜、西村文親、河村代志也、垣内千尋、佐々木司、石川智久、橋本衛、竹林実、岩田仲生、笠井清登、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 多数例ゲノムサンプルを用いたSLC6A4 における新規5-HTTLPRの同定
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松原ひかり、村田唯、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 インフルエンザウイルス母体感染仔マウスの脳内遺伝子発現状態の解析
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒木遼太、村田唯、福家聡、加藤忠史、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 老化モデルマウスにおけるLINE-1のコピー数の検討
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井綾香、金田渉、藤川慎也、村田唯、池亀天平、笠井清登、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 コホート研究での DNAメチル化解析における唾液試料の有用性
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田唯、上田順子、内布恵美、大西新、葛西秀俊、池亀天平、趙治磊、神出誠一郎、饗場篤、須原哲也、笠井清登、加藤忠史、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 poly(I:C)投与マームセットモデルを用いたDNAメチル化異常の同定と検証
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊理紗、文東美紀、上田順子、村田唯、石井貴男、鶴飼渉、橋本恵理、笠井清登、清水史郎、加藤忠史、岩本和也
2. 発表標題 ヒト死後脳の神経細胞におけるLINE-1プロモーターのエピジェネティック修飾状態の検討
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田唯、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 精神疾患におけるレトロトランスポゾンとエピゲノム
3. 学会等名 第34回日本ストレス学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yui Murata, Bundo M, Ueda J, Oh-Nishi A, Kubota-Sakashita M, Ikegame T, Suhara T, Kasai K, Kato T, Iwamoto K
2. 発表標題 Investigation of abnormal molecular pathways in LINE-1 regulation in the brain using embryonic poly(I:C) model mouse
3. 学会等名 WFSBP 2018 Kobe (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugawara H, Murata Y, Ikegame T, Sawamura R, Sasaki T, Iwata N, Hashimoto M, Kasai K, Kato T, Bundo M, Iwamoto K
2. 発表標題 DNA methylation analyses of the candidate genes identified by a methylome-wide association study revealed common epigenetic alterations in schizophrenia and bipolar disorder
3. 学会等名 31st CINP World congress of neuropsychopharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murata Y, Bundo M, Kato T, Iwamoto K
2. 発表標題 Increased hmC levels of active LINE-1 promoter in neural precursor cells of poly(I:C) mouse model
3. 学会等名 Keystone symposium, Mobile Genetic Elements and Genome Plasticity (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒木遼太、村田唯、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 マウスLINE-1コピー数定量のための新規プロトコル確立
3. 学会等名 第37回躁うつ病の薬理・生化学研究懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 緒方啓仁、藤井綾香、村田唯、上田順子、笠井清登、加藤忠史、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 リスベリドン投与マーマセット脳組織におけるDNAメチル化状態の解析
3. 学会等名 第37回躁うつ病の薬理・生化学研究懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤井綾香、金田渉、藤川慎也、村田唯、池亀天平、笠井清登、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 コホート研究でのDNAメチル化解析における唾液試料の有用性の検討、
3. 学会等名 第37回躁うつ病の薬理・生化学研究懇話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村田唯、上田順子、文東美紀、大西新、葛西秀俊、池亀天平、趙治磊、神出誠一郎、饗場篤、須原哲也、笠井清登、加藤忠史、岩本和也
2. 発表標題 新生児Poly (I:C) 投与マーマセットモデル前頭前野組織を用いたDNAメチル化プロファイル解析
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒木遼太、村田唯、澤村理英、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 転移活性を有するマウスLINE-1のコピー数定量のための新規プロトコール確立
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村田唯、仲地ゆたか、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 精神疾患の病態理解を目指したpoly(I:C)投与モデル動物を用いたLINE-1動態の解析
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川慧、仲地ゆたか、日高洋介、村田唯、渡邊理紗、菅原裕子、石川智久、橋本衛、高野裕治、瀧靖之、岡本泰昌、竹林実、文東美紀、岩本和也
2. 発表標題 セロトニントランスポーター5-HTTLPR多型と老年期脳形態との関連の検討
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田順子、村田唯、文東美紀、加藤忠史、橋本謙二、岩本和也
2. 発表標題 社会的敗北ストレスマウスにおけるケタミン立体異性体のエピジェネティック効果の差異
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村田唯、仲地ゆたか、文東美紀、窪田-坂下美恵、大西新、葛西秀俊、池亀天平、趙治磊、内布恵美、今村悠子、神出誠一郎、饗場篤、須原哲也、笠井清登、加藤忠史、岩本和也
2. 発表標題 poly(I:C)投与精神疾患動物モデルの新生仔脳におけるLINE-1コピー数と発現解析
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林雄太郎、村田唯、岩本和也、那波宏之
2. 発表標題 Poly(I:C)によって誘導された母体免疫活性化による子供の認知行動障害
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 松原ひかり、村田唯、文東美紀、岩本和也	4. 発行年 2019年
2. 出版社 星和書店	5. 総ページ数 1013-1015)
3. 書名 精神科治療学「統合失調症と妊娠期ウイルス感染」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	岩本 和也 (Iwamoto Kazuya)	熊本大学・生命科学研究部・教授 (17401)	
研究協力者	文東 美紀 (Bundo Miki)	熊本大学・生命科学研究部・准教授 (17401)	
研究協力者	仲地 ゆたか (Nakachi Yutaka)	熊本大学・生命科学研究部・助教 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤飯 慎也 (Fujii Shinya)	熊本大学・生命科学研究部・研究員 (17401)	
研究協力者	加藤 忠史 (Kato Tadafumi)	順天堂大学・医学研究科・教授 (32620)	
研究協力者	窪田一坂下 美恵 (Kubota-Sakashita Mie)	順天堂大学・医学研究科・特任准教授 (32620)	
研究協力者	笠井 清登 (Kasai Kiyoto)	東京大学・医学系研究科・教授 (12601)	
研究協力者	池亀 天平 (Ikegame Tempei)	東京大学・医学系研究科・助教 (12601)	
研究協力者	上田 順子 (Ueda Junko)	熊本大学・生命科学研究部・大学院生 (17401)	
研究協力者	大西 新 (Oh-Nishi Arata)	島根大学・医学部・特任教授 (15201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------