

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591347

研究課題名（和文）統合失調症の遺伝子治療法の開発

研究課題名（英文） the development project of transgene therapy for schizophrenia

研究代表者

和久田 智靖（WAKUDA TOMOYASU）

浜松医科大学・医学部・リサーチアシスタント

研究者番号：80444345

研究成果の概要：

我々は統合失調症にみられる海馬 Akt の発現減少が統合失調症の症状を惹起するとの仮説を立てた。この仮説に基づき独自に開発したラット X 線照射モデルを用いて、このモデルに見られる行動異常や脳組織病理所見を遺伝子の中枢神経細胞への選択的導入で修復できるかどうかを検証したが、導入したラットの解析では有意な効果が認められなかった。以上の理由により、本研究計画については本年度内限りで中止することを決定した。

交付額：

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：統合失調症，AKT，X線照射モデル，神経新生

1. 研究開始当初の背景

統合失調症では、脳に明らかな病変がないのにドーパミン神経の過活動が起こり、その結果としての幻覚や妄想が現れる。また記憶や学習などの認知機能が障害され、ひいては社会生活上の機能が著しく低下する。この病態の救済は社会的急務であるが、これまで精力的に研究が行なわれてきたにもかかわらず明確な病因や病態は不明のまま、現在その治療手段は十分とはいえない。その大きな理由はヒトの脳への直接的なアプローチが困難で、統合失調症の病態を左右する生物学的指標が不明だった点にある。

こうした情勢のもと γ -aminobutyric acid (GABA) ニューロンの機能異常が近年の統合失調症研究で注目されている (Lewis et al, Nat Rev Neurosci. 2005)。特に GABA の合成に関与する Glutamic acid decarboxylase

(GAD) 67 が生物学的指標の候補として重要視されている (Impagnatiello et al, PNAS 1998; Volk et al, Arch Gen Psychiatry 2000)。これらの報告に着目して、我々は GAD67 遺伝子改変マウス (GAD67 (+/-)) の行動を解析した。先行刺激抑制 (Prepulse Inhibition)、空間学習 (迷路学習)、社会的行動 (Social Interaction) に変化があると予測して行動実験を行ったが、いずれにも変化がみられなかった (未発表)。このことから、GAD67 遺伝子の一次的变化のみでは統合失調症に特徴的な病態を誘導できず、何か他に有力な病因があり、GAD67 の所見はその結果ではないかと推察した。

一方、細胞内の生存シグナル伝達分子として知られていた Akt (PKB) について、精神疾患との関連が指摘されてきた。ことに①統合失調症の患者死後脳の海馬において Akt の発

現減少 (図1) がみられる (Emamian et al, Nat Genet 2004), ②Akt 遺伝子ノックアウトマウスにおいては統合失調症に類似した感覚運動系の障害がみられる (Emamian et al, Nat Genet 2004), ③海馬において Akt は GABA ニューロンのシナプス強化作用を有する (Q Wang et al, Neuron 2003) とする各報告が注目される。しかし, 脳内海馬での Akt の発現・機能の低下を認める統合失調症モデル動物はまだ報告されていない。そこで我々は統合失調症の病態を規定する指標の有力な候補として Akt を選び, その発症時に海馬で誘導される Akt の発現減少が GABA ニューロンの機能低下を介して統合失調症の症状を惹起するとの仮説を立てた。この仮説に基づき, 本研究ではラット X 線照射モデルを用いて Akt 遺伝子導入の効果を検証した。

2. 研究の目的

我々は統合失調症の遺伝子治療法の開発を目指しているが, その実現には動物レベルでの検証が必要である。本研究では独自に開発したラット X 線照射モデルを用いて検証を試みる。このモデルの行動実験の結果では, すでに学習や記憶の障害, 社会性の障害, 感覚運動系の障害が確認された。こうした機能障害が Akt 遺伝子の海馬への特異的導入によって修復できるかどうかがこの実験計画の最重要検討課題である。

3. 研究の方法

これまでの知見に基づく統合失調症モデル (X 線照射ラット) を作製し, このモデルに見られる認知行動異常や病理所見を Akt 遺伝子の中樞神経細胞への選択的導入で修復できるかどうかを検証する (図1)。

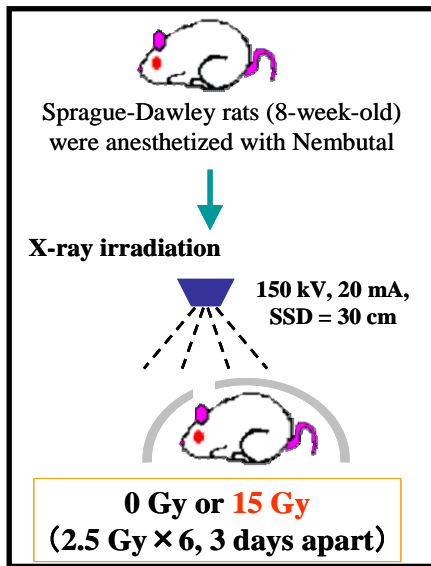


図1

統合失調症の動物モデルとして, 我々が独自に開発した統合失調症モデル (X 線照射ラット: 未発表) を用いる。これはウクライナで起きた 1986 年のチェルノブイリ原発事故にて, その 4 年後から被爆者の統合失調症発症が一般の 5 倍になったという報告

(Loganovsky et al, 2000) からヒントを得て開発されたものである。

X 線をラットの頭部に照射すると脳室下帯の神経幹細胞がほぼ選択的に傷害される (図2)。

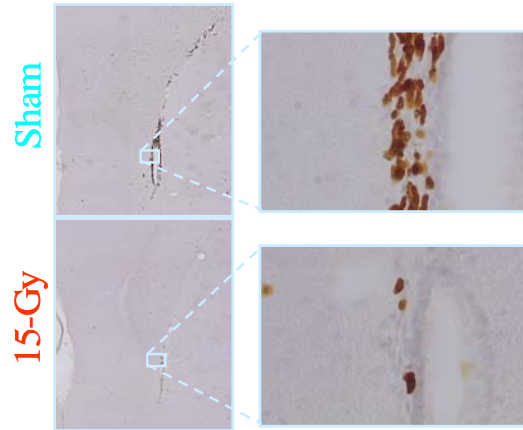


図2

また, 社会的行動の障害や潜伏期間をおいたのちの感覚運動系の障害 (Prepulse Inhibition: PPI), 薬物応答の亢進、空間学習の障害が起こる (表1)。

表1. X線照射モデルの行動評価の要約

	1-M	2-M	3-M	6-M
基礎行動量	→	→	→	→
社会的行動	↓	↓	↓	↓
PPI	→	→	↓	↓
薬物に対する反応				
メタンフェタミン	→	→	↑	↑
MK-801	→	→	↓	↓
空間学習	→	→	↓	↓

また, 海馬の神経幹細胞の新生低下は同部位の顆粒細胞の減少と海馬の容量低下に関係していることなどもわかった。このように頭部に放射線被爆を経験したラットは行動薬理的, 神経生理学および組織病理学的異常から統合失調症の有力なモデルとなりうる。統合失調症の患者死後脳において Akt の発現減少が海馬で観察されることから, 本研究ではヒト Akt 遺伝子を組み込んだアデノウイルスを用いて, 照射ラットの海馬への Akt 遺伝子の特異的導入を施し, 機能障害の改善の可否を検討する。さらに導入した Akt 遺伝子が脳内でどのように機能しているかを免疫組織化学的手法および電気生理学的な手法によって調べる。

4. 研究成果

2007年度はヒトAkt 遺伝子を組み込んだアデノウイルスを用いて、X線照射ラットの海馬へのAkt 遺伝子の特異的導入を施し、ラットに見られる機能障害の改善の可否を検討した。その結果、X線照射ラット海馬へのAkt 遺伝子導入によってモデルに見られる覚醒剤応答や認知機能の変化を十分修復するには至らなかったが、感覚運動系については効果が認められる可能性が見出された。そこで2008年度は海馬へのAkt 遺伝子の特異的導入がラットの感覚運動系にもたらす効果を重点的に検証した。しかし導入実験を多数行った結果、導入したラットにはPPIに有意な変化が認められないとの結論がでた。さらに現在所有するラットX線照射モデルでは海馬でのAktの発現減少が十分再現できないことも判明した。以上の理由により、ラットX線照射モデルの所見のみ論文としてまとめ、本研究計画については2008年度内限りで中止することを決定した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

① Wakuda T, Matsuzaki H, Suzuki K, Iwata Y, Shinmura C, Suda S, Iwata K, Yamamoto S, Sugihara G, Tsuchiya KJ, Ueki T, Nakamura K, Nakahara D, Takei N, Mori N. Perinatal asphyxia reduces dentate granule cells and Exacerbates methamphetamine-induced hyperlocomotion in adulthood. PLoS ONE 3, 2008, e3648, 査読有

② Iwata Y, Suzuki K, Wakuda T, Seki N, Thanseem I, Matsuzaki H, Mamiya T, Ueki T, Mikawa S, Sasaki T, Suda S, Yamamoto S, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nakamura K, Sato K, Takei N, Hashimoto K, Mori N. Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. PLoS ONE 3, 2008, e2283, 査読有

③ 松崎秀夫, 岩田泰秀, 鈴木勝昭, 森則夫 統合失調症と神経幹細胞, 分子精神医学, 7 (2), 2007, 21-26, 査読無

[学会発表] (計5件)

① Matsuzaki H, Wakuda T, Iwata Y, Seki N, Suzuki K, Suda S, Takei N, Tohyama M, Mori N. Neurogenesis correlates sensorimotor gating via activation of hippocampal Akt. The 37th annual meeting, Society for Neuroscience. 2007年11月6日 San Diego, CA, USA

② 松崎秀夫, 和久田智靖, 関規寛, 岩田泰

秀, 鈴木勝昭, 武井教使, 遠山正彌, 森則夫 神経新生は海馬AKTの活性化を介して感覚運動系制御に関与している 第50回日本神経化学会 2007年9月11日 神奈川県横浜市

③ 和久田智靖, 松崎秀夫, 岩田泰秀, 関規寛, 鈴木勝昭, 武井教使, 遠山正彌, 森則夫 脳内神経再生の修飾による統合失調症の新しい治療法開発の試み 第29回日本生物学的精神医学会 2007年7月11日 北海道札幌市

④ 松崎秀夫, 和久田智靖, 土手基慶, 岩田泰秀, 鈴木勝昭, 遠山正彌, 森則夫 脳内神経再生の修飾による統合失調症の新しい治療法開発の試み 第34回日本脳科学会 2007年6月8日 島根県出雲市

⑤ 和久田智靖, 松崎秀夫, 土手基慶, 岩田泰秀, 鈴木勝昭, 遠山正彌, 森則夫 統合失調症病態モデルとしての子宮内仮死経験ラットの検討 第34回日本脳科学会 2007年6月8日 島根県出雲市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和久田智靖 (WAKUDA TOMOYASU)

浜松医科大学・医学部・リサーチアシスタント

研究者番号: 80444345

(2) 研究分担者

松崎秀夫 (MATSUZAKI HIDEO)

大阪大学・医学系研究科・特任准教授 (常勤)

研究者番号: 00334970

岩田泰秀 (IWATA YASUhide)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10285025

土屋賢治 (TSUCHIYA KENJI)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任助教

研究者番号: 20362189

須田史朗 (SUDA SHIRO)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40432207

杉原玄一 (SUGIHARA GENICHI)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任助教

研究者番号: 70402261