

平成 21 年 6 月 7 日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19591386
研究課題名（和文） 気分安定薬による臨床効果と細胞内イノシトール枯渇の関連性
研究課題名（英文） Relationship between therapeutic efficacy of mood stabilizers and cellular inositol
研究代表者 大西 哲生 (OHNISHI TETSUO) 独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・研究員 研究者番号：80373281

研究成果の概要：

気分安定薬、とりわけリチウムの作用機序と脳内細胞内イノシトールの枯渇の関連に注目し、主にモデルマウスを用いた解析を行った。具体的には、IMPase(*myo*-inositol monophosphatase)をコードする二つの遺伝子 *Impa1*, *Impa2* の機能欠損マウスの表現型を観察した。IMPase はリチウムの直接の標的であると想定されている酵素であり、実際 *in vitro* で *Impa1*, *Impa2* タンパク質の酵素活性はリチウムにより阻害される (Ohnishi *et al.* JBC, 2007 など)。

Impa1 機能欠損ホモマウスは、ほとんどが出産直前あるいは出産直後に死亡したが、下あごの形成不全や胸骨-肋骨接合部の非対称性、心臓の低形成といった極めて特徴的な表現型が現れ、少なくとも胎生期においては *Impa1* によってイノシトールモノリン酸から供給されるイノシトールが、胎児の正常な発生に必須の役割を果たすことが証明された。一方、*Impa2* KO マウスは一見正常に成育し、発生学上の異常を見いだすことは出来なかった。さらに、各種行動試験においても際だった異常を示さなかった。これらの結果やいくつかの状況証拠から、少なくとも胎生期において *Impa2* 経路は主要なイノシトール合成経路ではなく、*Impa1* 経路が重要であると予測された。

Impa1 機能欠損マウスに関しては、妊娠中に母親の飲み水にイノシトールを供給（離乳時まで）すれば、その致死性の大部分を回避できた。そこで、イノシトールレスキューマウスを用いて各種行動試験を行ったところ、ホモマウスは対照マウスと比較して顕著な過活動性を示した。このことは、脳内イノシトールの不足が躁様行動変化につながる事を示しており、さらにはリチウムの（抗躁ではなく）抗鬱作用には、*Impa1* の酵素活性抑制が関与している可能性が考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
H19年度	1,800,000	540,000	2,340,000
H20年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
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：双極性障害、気分安定薬、イノシトール枯渇仮説、IMPase、リチウム、モデルマウス、IMPA1、IMPA2

1. 研究開始当初の背景

双極性障害は、躁うつ病ともいわれ、生涯のうち何度もうつと躁の病相を繰り返す、気分障害の一種である。その治療には気分安定薬（代表的なものにリチウム塩、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンがある）と呼ばれる一連の薬剤が使われるが、その作用機序はいずれも判明していない。しかしながら、気分安定薬として半世紀以上の歴史があるリチウムに関しては、1989年にBerridgeらにより「イノシトール枯渇仮説」が提唱されている。この仮説では、リチウムが細胞内イノシトールの生成を最終段階で司るIMPase (*myo*-inositol monophosphatase)を阻害することで、細胞内イノシトールを枯渇させ、その結果イノシトールを原料の一つとして合成される膜リン脂質の一種フォスファチジルイノシトール (PI) 含量を低下させ、そのことによりPI由来セカンドメッセンジャー (IP₃やジアシルグリセロール) の産生をも抑制するからであるとの説明がなされた。

2. 研究の目的

一般に、疾患の治療に有効な薬剤の作用機序を解明することは、より有効で副作用の少ない薬剤を開発する、あるいはその疾患の病態さらには病因をも明らかにする有効な手段であることは論を待たない。イノシトール枯渇説は現在でも有力であるが、未だに証明されたわけではない。本研究は、新規に作成したIMPase遺伝子改変モデルマウスを用いて本仮説を検証しようとするものである。

2. 研究の方法

ほ乳類において、IMPaseは二種の遺伝子（ヒトでは*IMP1*と*IMP2*）によってコードされている。マウスにおける対応遺伝子は

*Impa1*と*Impa2*であり、互いに極めて類似する構造を示すが、その生化学的特性は多少異なる (Ohnishi *et al.* JBC, 2007)。本研究では、*Impa2*に関しては通常のジーンターゲット法によりノックアウト(KO)マウスを獲得した。同時に、条件的KOマウスの作成にも成功した（本研究では使用せず）。

*Impa1*に関しては、理研ゲノムセンター（当時）の権藤チームと共同で、同センターが保有するENU (ethylnitrosourea) 誘導性点変異誘導マウスライブラリーから、*Impa1* 遺伝子のコーディング領域に点変異を有するものをスクリーニングした。その結果、ミスセンス変異を持つものを3系統発見した。組み替えタンパク質を用いて検討したところ、その一つ(T95K)は酵素活性を完全に失うものであることを見いだした。そこで、その後の研究はこの変異体を用いて行うこととした。なおミスセンス変異を持つ他の2系統に関しても、ホモマウスを交配により作出したが、少なくとも、致死性や形態的な異常は認められずこの段階で解析は保留とした。

4. 研究成果

Impa1 機能欠損(ENU)マウス(T95K)に関しては、その変異をホモに持つ個体のほとんどは出産直前あるいは出産直後に死亡した。非常に興味あることに、出生前の胎児の段階(E18.5)で、下あごの形成不全や胸骨-肋骨接合部の非対称性、心臓の低形成といった極めて特徴的な表現型が現れた。ホモマウスの直接の死因は現在のところ不明ではあるが、これらの異常の出現は、少なくとも胎生期においては *Impa1* によってイノシトールモノリン酸から供給されるイノシトールが、正常な発生に必須の役割を果たすことを明確に証明している。この知見

は、リチウムを服用した妊婦から、心奇形(Ebstein's anomaly)を持つ子供が高頻度で産まれる (Lithium baby)、イノシトールの服用が二分脊椎などの CTD (neural tube defect) のリスクを有意に抑制するという報告との関連でも極めて興味深い。

Impa2 KO マウスは一見正常に成育し、各種行動試験 (Open-field, EPM, TST, FST, LD box, PPI など) においても、際だった異常を認めなかった。これらの結果や、いくつかの状況証拠から、少なくとも発生期 (あるいは脳では) *Impa2* 経路は主要なイノシトール合成経路ではなく、*Impa1* 経路が重要であると予測された。ヒト *IMPA2* 遺伝子は、双極性障害だけでなく、熱性けいれん、統合失調症との遺伝統計学的関連も報告されているものの、これらとの関連を伺わせる行動学的異常も見られなかった。たとえば、プレパルス抑制(PPI)試験での異常が、統合失調症患者で報告されており、このパラダイムはマウスでも施行可能である。しかしながら、*Impa2* KO マウスには何ら PPI の異常は認められなかった。

前述のように *Impa1* 機能欠損ホモマウスは周産期にその多くが死亡するため、行動実験による評価は不可能であった。しかしながら妊娠中に母親の飲み水由来でイノシトールを供給 (離乳時まで) すれば、その致死性の大部分を回避できることが判明した。離乳の時点で飲み水によるイノシトール供給を停止しても、その後の致死率は野生型マウスとそれほど変わらない。生後 4 週でイノシトール供給を停止、~10 週前後から各種行動実験バッテリーで検討したところ、ホ

モマウスには躁状態を思わせる顕著な活動性の亢進が認められた。この行動異常が成体になってからのイノシトール不足による異常に起因するものなのか、胎児期から離乳期の間でのイノシトール不足 (外部イノシトールでは補い得ないほどの) によるものなのかは、現時点でははっきりしないが、リチウムの抗鬱作用との関連で極めて興味深い知見であると考えられる。また覚醒剤様物質投与による躁モデルにおいて、反応性の違いの有無を検討する等、さらなる検討の必要があろう。

本マウスは、飲み水にイノシトールを混入するかどうかにより、ある程度自由に体内イノシトール濃度をコントロールできるという極めて有用な性質を併せ持つことから、今後のイノシトール枯渇と行動の関連を研究するに当たって、重要なツールとなると期待される。

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 2 件)

1. Ohnishi T, Yamada K, Ohba H, Iwayama Y, Toyota T, Hattori E, Inada T, Kunugi H, Tatsumi M, Ozaki N, Iwata N, Sakamoto K, Iijima Y, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nanko S, Osumi N, Detera-Wadleigh SD, Kato T, Yoshikawa T. A promoter haplotype of the inositol monophosphatase 2 gene (*IMPA2*) at 18p11.2 confers a possible risk for bipolar disorder by enhancing transcription. *Neuropsychopharmacology*. 32(8): 1727-37,2007. (査読あり)
2. Arai R, Ito K, Ohnishi T, Ohba H, Akasaka R, Bessho Y, Hanawa-Suetsugu K, Yoshikawa T, Shirouzu M, Yokoyama S. Crystal structure of human myo-inositol monophosphatase 2, the product of the

putative susceptibility gene for bipolar disorder,
schizophrenia, and febrile seizures. (査読あり)

Proteins. 67(3): 732-42, 2007

[その他]

ホームページ等

<http://molpsych.brain.riken.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西哲生 (OHNISHI TETSUO)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学

研究チーム・研究員

研究者番号：80373281

(2) 研究分担者

吉川武男 (YOSHIKAWA TAKEO)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学

研究チーム・チームリーダー

研究者番号：30249958