

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07949

研究課題名(和文)統合失調症の認知機能障害を来す脳リズム活動破綻へのミトコンドリア機能変化の関与

研究課題名(英文) Involvement of mitochondrial dysfunction in disrupted oscillatory brain activity in relation to cognitive deficits with schizophrenia.

研究代表者

紀本 創兵 (KIMOTO, SOHEI)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：00405391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症で障害が認められる視空間作業記憶は、主に後頭頂葉皮質および背外側前頭前野と、これら領域に視覚情報を伝える後頭葉の一次視覚野および二次視覚野の皮質4領域によるネットワーク活動によって実現される。疾患の視空間作業記憶障害の生物基盤を明らかにするために、アクチン動態に関連する遺伝子とATP産生に關するOXPHOS関連遺伝子、TMEM59遺伝子の発現変化について死後脳解析を行なった。視空間作業記憶を形成する皮質領域でのアクチン関連およびOXPHOS関連遺伝子、およびTMEM59の発現変化が存在し、各皮質領域の変化が疾患における作業記憶の障害に寄与をする可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症の認知機能障害は、日常生活や予後に大きな影響を与えることがわかっている。認知機能障害の生物基盤を明らかにするために、大脳ネットワークレベルで、死後脳を使って検討を行ない、その病態基盤の一助を明らかにした。本研究の成果の発展が、治療薬の創発に繋がると考えている。

研究成果の概要(英文)：Visuospatial working memory(VsWM), which is impaired in schizophrenia, is mediated by a distributed cortical network. VsWM is predominantly mediated by coordinated neural activity across a distributed cortical neural network that includes nodes in primary and association visual regions of the occipital lobes which convey visual information to nodes in the posterior parietal cortex and dorsolateral prefrontal cortex. To understand the biological basis for altered VsWM in schizophrenia, we used postmortem brain analysis to assess levels of actin- and OXPHOS-related transcripts and TMEM59 expression from the DLPFC and three other cortical regions of the VsWM network between healthy comparisons and schizophrenia subjects. The differential alterations in markers of actin assembly and energy production across regions of the cortical VsWM network in SZ suggest that each region may make specific contributions to VsWM impairments in the illness.

研究分野：分子精神医学

キーワード：死後脳解析 認知機能障害 統合失調症 ミトコンドリア 酸化的リン酸化 樹状突起スパイン アクチン動態

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

作業記憶の障害といった認知機能障害は、統合失調症患者 (SZ) の長期的な機能的転帰に大きな影響を与え、病態生理とメカニズムの解明に基づく治療薬の開発が望まれる (Kahn & Keefe, 2013)。なかでも視空間作業記憶は、主に後頭頂葉皮質 (PPC) および背外側前頭前野 (DLPFC) と、これら領域に視覚情報を伝える後頭葉の一次視覚野 (V1) および二次視覚野 (V2) の皮質4領域による神経活動と、これら領域が織り成す大脳皮質のネットワーク活動によって実現される (Christophel et al., 2017)。

生物学的には、作業記憶の神経活動は、領域間をつなぐ興奮性の錐体ニューロンの活動と、錐体ニューロンからの興奮性入力の影響を受ける領域局所の抑制性ニューロンの活動、すなわち興奮性と抑制性神経伝達のリズム活動によって形成されている。SZ では、多くの死後脳研究から、興奮性シナプス伝達に關与する錐体ニューロンの細胞成分の構造的・分子的な変化が作業記憶障害に關連することがわかってきた (Glausier & Lewis, 2018)。それは錐体ニューロンの樹状突起スパインの密度低下や、樹状突起スパインの構成成分であるアクチンの形成と維持に重要な役割を果たすアクチン細胞骨格に關連する分子発現の変化であり、SZ 死後脳の DLPFC で多数報告されてきた (Yan et al., 2016)。さらに、作業記憶の実現に必要な神経活動やシナプス伝達には ATP が必要であるが、ATP 供給にはミトコンドリア内の酸化的リン酸化 (OXPHOS) が強く關与する。SZ の DLPFC では、OXPHOS 反応が変化していることが報告されており、SZ の死後脳 DLPFC の興奮性の錐体ニューロンでは、OXPHOS 關連する遺伝子の発現が低いことも報告されてきた (Glausier et al., 2020)。機能解剖学的には、錐体ニューロンの樹状突起スパインの数やミトコンドリアの ATP 生成・需要は皮質領域間で異なることや、樹状突起スパインの密度の低下は SZ では V1 よりも DLPFC (特に3層) で顕著であることがわかっている (Glantz & Lewis, 2000)。さらに樹状突起スパインの密度は錐体ニューロンの神経活動に關連し、それに必要な ATP 産生や需要とは相補的な關係にあることから (Li et al., 2004; Wong-Riley, 2012)、アクチンおよび OXPHOS に關連する遺伝子の発現は相互に影響していることが想定される。しかし、これら相補的な關係にあると想定される分子の発現が、視空間作業記憶に關与する各皮質でどのような発現パターンを示し、疾患でどのような変化を起さるのか、どのようなメカニズム・分子が關与するのかについては、未だ不明な部分が多い。

2. 研究の目的

SZ の視空間作業記憶障害の生物基盤を明らかにするために、興奮性の錐体ニューロンの樹状突起スパイン密度の低下とその關与に着目し、SZ の DLPFC でその変化が報告されている樹状突起スパインの構成成分であるアクチン動態に關与する遺伝子と、ATP 生成に關与する OXPHOS 關連遺伝子の発現パターンについて、疾患における変化を検討し、さらに変化が起さる役割を担う分子発現についても検討する。本研究の目的は、認知機能障害の中核となる大脳皮質のリズム活動の変化の成因を、死後脳解析により生物学的に検証することである。

3. 研究の方法

本研究では、ピッツバーグ大学精神医学部門脳バンクから供与されたデータおよび脳組織の提供を受けた。健常対照者 (HC) の 82 名と SZ の 57 名からの DLPFC 総灰白質サンプルで CommonMind Consortium (Fromer et al., 2016) によって解析された RNA シーケンス (RNAseq) データを最初に用いて解析し、これまで SZ の DLPFC で発現変化が報告されているアクチンと OXPHOS 關連遺伝子の発現レベルの比較と相互關係を検証した。次に、リアルタイム PCR を用いて、視空間作業記憶を構成するの DLPFC および他の 3 つの皮質領域 (V1、V2、PPC) の総灰白質サンプル (図 1) より切片を切り出し、RNA を抽出した。サンプル数およびサンプル背景は、表 1 に示すように HC と SZ の 20 組の性別の一致したペアから (表 1)、RNAseq で調べた同じ遺伝子の発現量を、各領域で同定し SZ における影響を比較した。なお領域間での比較および疾患の影響については、統合失調症の有無を症例間の主効果、領域を症例内の主効果、性別、年齢、死後経過時間、脳内 pH、RIN を共変数とする混合モデル共分散分析により行なった。

表1. 死後脳サンプルの症例について

診断	健常対照	統合失調症
サンプル数	20	20
性別	男性,14 女性,6	男性,14 女性,6
年齢	45.4 (±11.6)	44.3 (±10.4)
RIN [#]	8.3 (±0.5)	8.3 (±0.6)

[#]RIN; RNA integrity number

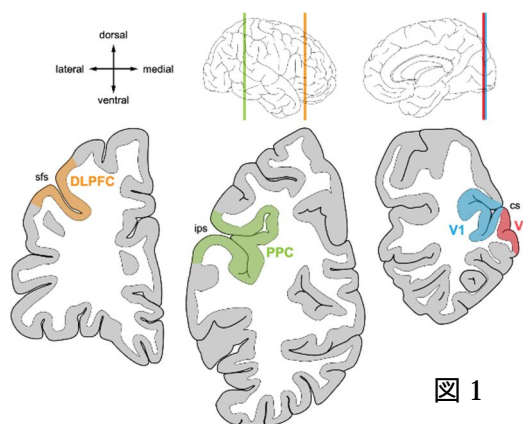


図 1

4. 研究成果

我々はこれまで SZ の DLPFC で発現の変化が報告されているアクチン動態の制御に関連する 4 つの遺伝子 (CDC42, BAIAP2, ARPC3, ARPC4) と OXPHOS 系に関連する 4 つの遺伝子 (NDUFB3, COX4i1, COX7B, ATP5H) について、RNAseq データを用いた解析を行なった。異なるサンプルおよび異なる解析法によって報告された過去の研究に一致して、全ての遺伝子発現量が統合失調症で有意に変化していることがわかった。さらに 4 つのアクチン関連遺伝子と 4 つの OXPHOS 関連遺伝子は有意に強い相関していることがわかり、DLPFC においては樹状突起スパインの密度と ATP 産生は密に関連していることが示唆された。

次に同上の 4 つのアクチン関連遺伝子と 4 つの OXPHOS 関連遺伝子についての視空間作業記憶を司る上述の 4 領域での遺伝子発現量を、表 1 の HC サンプルを用いて mRNA 発現をリアルタイム PCR で定量した。結果、解析した全ての遺伝子の発現量は統計学的に有意に領域間で異なることが明らかになった。さらに SZ への影響について SZ と HC における遺伝子発現レベルの比較検討を行なったところ、BAIAP2 mRNA について、領域間および領域と疾患との交互作用を認めた。CDC42 および ARPC4 mRNA のレベルは診断および領域による有意な変化は認められたが、相互作用は有意ではなかった。ARPC3 mRNA 発現については、領域の影響のみが有意な効果を認めた。一方で 4 つの OXPHOS 関連遺伝子における SZ の影響については診断、領域および交互作用について全て有意な変化を認めた。また qPCR データより、V1、V2、PPC、および DLPFC におけるアクチン関連遺伝子および OXPHOS 関連遺伝子の発現量の相関を検討したところ、DLPFC の RNAseq データで検出された強い相関とは対照的に、各遺伝子間の発現量の相関は各領域で顕著ではなく、DLPFC や PPC に比べて V1 や V2 で低いことが明らかになった (図 2)。さらにアクチン関連遺伝子と OXPHOS 関連遺伝子の発現量に加えて、これまでに報告された抑制性ニューロンの活動指標の分子マーカーとして 4 つの遺伝子 (PV, SST, GAD67, VIP) の発現量との相関について検討を行なったが (Tsubomoto et al., 2019)、各領域で発現量の相関が一様に保たれていることはなかった。

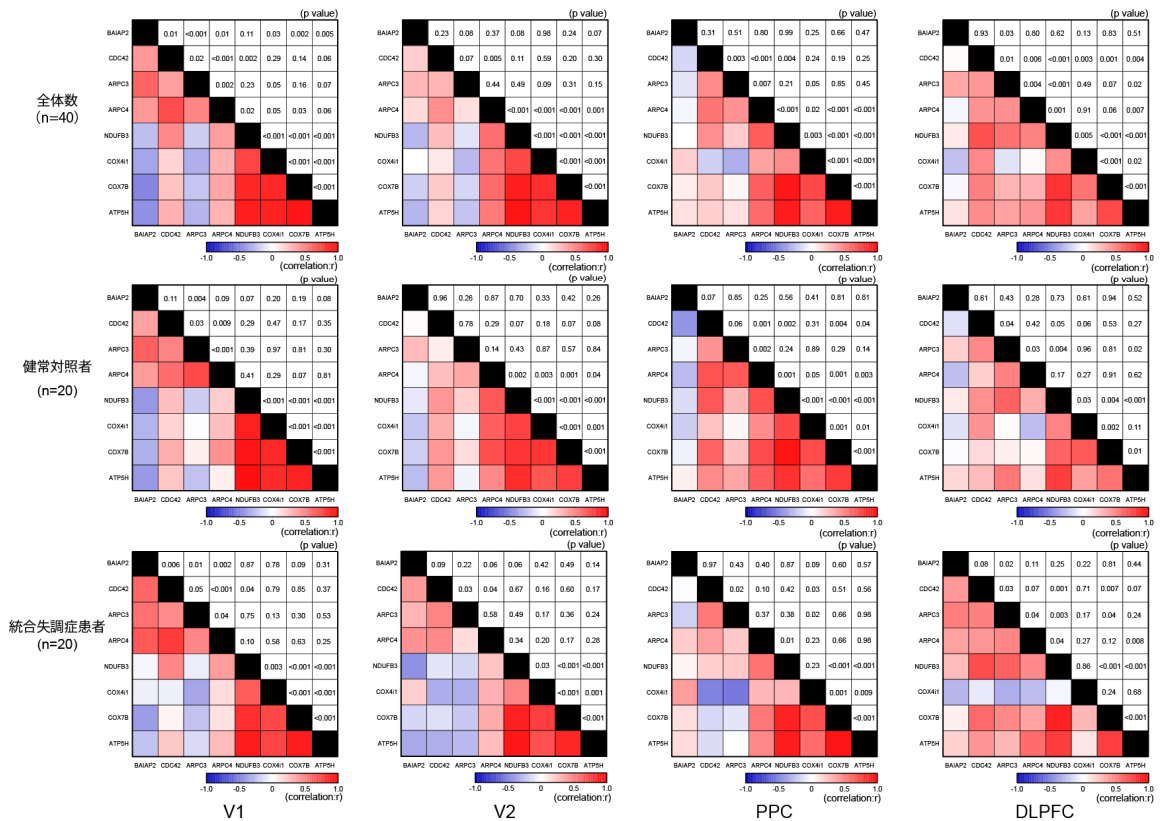


図 2. リアルタイム PCR によって定量された各遺伝子の各領域での発現量の相互相関

視空間作業記憶ネットワークの領域全体にわたるアクチン重合とミトコンドリアの ATP 産生の総指標を検討するために、各カテゴリーの 4 つの転写産物から composite score を計算し、SZ への影響を検討した。HC では、アクチンおよびおよび OXPHOS の composite score は、(領域によって大きく異なった (図 3A, B)。アクチン composite score は DLPFC で最大で、他の 3 つの領域間で差はなかったが、OXPHOS composite score は V1 で最大で、V2、PPC と DLPFC と後部から前部に向かって徐々に値が低下した (図 3A, B)。HC 被験者と比較して、アクチン composite score は SZ 被験者のすべての領域で低いものの、診断と領域の間に有意な相互作用はなかった。OXPHOS composite score は、診断・領域そして二つの交互作用を認めた (図 3A, B)。さらに抑制性ニューロンの活動指標として 4 つの分子マーカー (PV, SST, GAD67, VIP) の発現量から同様に composite score を算出したが、有意な診断および領域の変化の存在を認めた。

図 3A アクチンの composite score

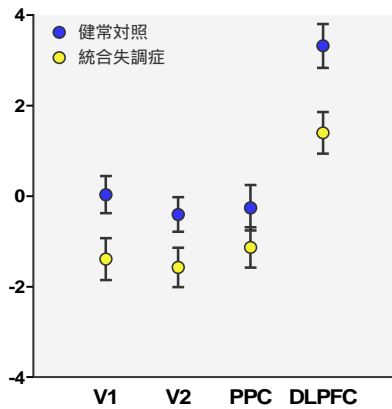
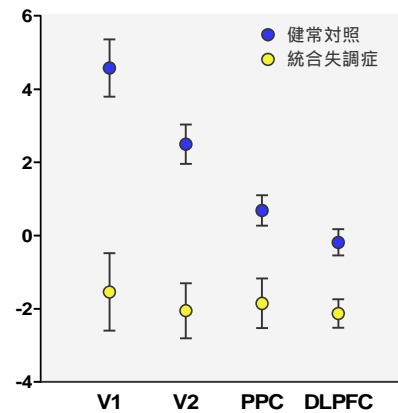


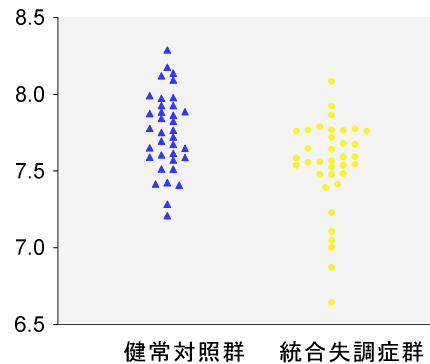
図 3B OXPPOS の composite score



最後に樹状突起スパインおよび ATP 産生の変化の上流因子として、ミトコンドリアの内膜に存在する膜貫通型タンパクで (Chen et al., 2018)、その機能として ATP 産生だけでなく、樹状突起スパインの形成や形態に關与する可能性が想定されている TMEM59 に着目し (Liu et al., 2017; Liu et al., 2018)、SZ への影響を検討した。樹状突起スパイン密度の低下が顕著である DLPFC3 層と 5 層よりレーザー・マイクロダイセクションにより錐体細胞を切り出し、HC と SZ の 36 ペアから得られた RNA サンプルより、トランスクリプトーム解析を行ない、TMEM59 の発現量を比較検討した。その結果、SZ の DLPFC3 層では、平均値にして-14%、TMEM の発現量が低下していることが明らかになった。なおこの低下は DLPFC5 層では認めず、TMEM59 が樹状突起のスパインや OXPPOS の SZ における機能変化の上流因子の一つである可能性が示唆された (図 4)

図 4

DLPFC3 層錐体ニューロン TMEM59 の発現量



まとめ

SZ における視空間作業記憶ネットワークの領域全体にわたるアクチン動態および ATP 産生のマーカー発現の各領域の変化は、SZ における視空間作業記憶の病態基盤に寄与をしている可能性があることを示唆している。また TMEM59 が疾患で認める樹状突起スパイン密度の低下、および ATP 産生の変化の制御に關わる重要な遺伝子となりうることを明らかにした。

引用

1. Chen, Y., Feng, R., Luo, G., et al. (2018). DCF1 subcellular localization and its function in mitochondria. *Biochimie*, **144**, 50-55.
2. Christophel, T. B., Klink, P. C., Spitzer, B., et al. (2017). The Distributed Nature of Working Memory. *Trends in cognitive sciences*, **21**(2), 111-124.
3. Fromer, M., Roussos, P., Sieberts, S. K., et al. (2016). Gene expression elucidates functional impact of polygenic risk for schizophrenia. *Nature neuroscience*, **19**(11), 1442-1453.
4. Glantz, L. A., & Lewis, D. A. (2000). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, **57**(1), 65-73.
5. Glausier, J. R., Enwright, J. F., 3rd, & Lewis, D. A. (2020). Diagnosis- and Cell Type-Specific Mitochondrial Functional Pathway Signatures in Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Am J Psychiatry*, **177**(12), 1140-1150.
6. Glausier, J. R., & Lewis, D. A. (2018). Mapping pathologic circuitry in schizophrenia. *Handbook of clinical neurology*, **150**, 389-417.
7. Kahn, R. S., & Keefe, R. S. (2013). Schizophrenia is a cognitive illness: time for a change in focus. *JAMA psychiatry*, **70**(10), 1107-1112.

8. Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y., et al. (2004). The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell*, **119**(6), 873-887.
9. Liu, Q., Chen, Y., Li, Q., et al. (2017). Dcf1 regulates neuropeptide expression and maintains energy balance. *Neuroscience letters*, **650**, 1-7.
10. Liu, Q., Feng, R., Chen, Y., et al. (2018). Dcf1 Triggers Dendritic Spine Formation and Facilitates Memory Acquisition. *Mol Neurobiol*, **55**(1), 763-775.
11. Tsubomoto, M., Kawabata, R., Zhu, X., et al. (2019). Expression of Transcripts Selective for GABA Neuron Subpopulations across the Cortical Visuospatial Working Memory Network in the Healthy State and Schizophrenia. *Cereb Cortex*, **29**(8), 3540-3550.
12. Wong-Riley, M. T. (2012). Bigenomic regulation of cytochrome c oxidase in neurons and the tight coupling between neuronal activity and energy metabolism. *Advances in experimental medicine and biology*, **748**, 283-304.
13. Yan, Z., Kim, E., Datta, D., et al. (2016). Synaptic Actin Dysregulation, a Convergent Mechanism of Mental Disorders? *J Neurosci*, **36**(45), 11411-11417.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kimoto S, Hashimoto T, Berry KJ, Tsubomoto M, Yamaguchi Y, Enwright JF, Chen K, Kawabata R, Kikuchi M, Kishimoto T, Lewis DA.	4. 巻 -
2. 論文標題 Expression of actin- and oxidative phosphorylation-related transcripts across the cortical visuospatial working memory network in unaffected comparison and schizophrenia subjects.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41386-022-01274-9.	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 紀本創兵, 橋本隆紀, 坪本真, 山口泰成, 岸本年史, David A. Lewis
2. 発表標題 健常対象者と統合失調症患者の死後脳における視空間作業記憶ネットワーク回路におけるアクチン関連およびOXPHOS関連遺伝子の発現解析
3. 学会等名 第64回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 紀本創兵
2. 発表標題 統合失調症の大脳皮質ニューロンの変化とそのメカニズム - 前頭前野の錐体ニューロンにおける分子発現の変化からみた統合失調症の認知機能障害生物基盤
3. 学会等名 第117回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 紀本創兵
2. 発表標題 動物モデルおよびヒト死後脳解析からみた統合失調症の認知機能障害の分子基盤
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 紀本 創兵、橋本 隆紀、川端 梨加、坪本 真、岸本 年史、David A. Lewis
2. 発表標題 統合失調症の作業記憶神経ネットワークにおける興奮性と抑制性神経の機能を制御する遺伝子の発現変化
3. 学会等名 第15回日本統合失調症学会
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 紀本 創兵（分担執筆：編集、鬼塚俊明、橋本亮太）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 新興医学出版社	5. 総ページ数 280
3. 書名 精神医学領域の論文を読みこなすキーワード100!	

〔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
研究分担者	橋本 隆紀 (HASHIMOTO TAKANORI) (40249959)	金沢大学・医学系・協力研究員 (13301)	
研究分担者	山室 和彦 (YAMAMURO KAZUHIKO) (60526721)	奈良県立医科大学・医学部・学内講師 (24601)	

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
---------	---------