

令和 6 年 5 月 16 日現在

機関番号：10101
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：21H02845
研究課題名（和文）CCL11による大脳の老化促進仮説に着目した統合失調症の認知機能障害の病態解明

研究課題名（英文）Pathophysiology of cognitive dysfunction in schizophrenia focusing on the hypothesis of accelerated cerebral aging by CCL11

研究代表者
久住 一郎（Kusumi, Ichiro）

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：30250426
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的ではCCL11が統合失調症の認知機能障害の病態に関与するかを検証するためにトランスレーショナル研究を行った。動物研究ではドパミン神経伝達、グルタミン酸神経伝達の異常はCCL11は上昇しなかったことから、精神症状に関わる病態と、認知機能に関わる神経炎症の病態は独立することを示唆した。CCL11単独投与動物では、活性化ミクログリアの増加、ミエリン鞘の組織傷害は見られなかったことから、CCL11の直接的な炎症への関与は弱い可能性を示唆した。臨床研究では統合失調症患者群ではCCL11濃度が高いと認知機能障害が低下することが示され、患者ではCCL11の神経炎症の寄与が大きいことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ケモカインCCL11は動物を用いた研究では神経細胞傷害、ミエリン鞘傷害を引き起こし、動物で評価できる認知機能を低下させることが報告されている。他方で統合失調症では末梢血のCCL11濃度が増大することと、認知機能検査による検査成績の低下があることが報告されている。本研究の成果は、動物の脳ではCCL11は直接的に細胞傷害に寄与しない可能性が示された。他方で、患者群ではCCL11濃度増加が認知機能低下を予測したことから、動物と患者群での神経炎症の代謝機構は大きく異なることを示している。CCL11に注目した研究は国内外で少なく、CCL11の認知機能障害への関与の一側面の解明に寄与したと考える。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to test whether CCL11 is involved in the pathogenesis of cognitive dysfunction in schizophrenia. Translational studies were conducted using basic and clinical research. Studies of animal models showed that acute and chronic alterations in dopamine and glutamate neurotransmission showed no elevation of CCL11, suggesting that pathophysiology related to psychiatric symptoms and neuroinflammation related to cognitive function are independent. Animals injected with CCL11 alone didn't show an increase in activated microglia and myelin sheath tissue injury, suggesting that the direct involvement of CCL11 in inflammation may be weak. Clinical studies showed that higher CCL11 concentrations were associated with lower cognitive dysfunction in a patient group with schizophrenia, indicating a greater contribution of CCL11 in patients.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症 神経炎症 ケモカイン CCL11 認知機能障害 ミエリン鞘

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症では妄想・幻覚などの陽性症状、意欲低下などの陰性症状に加えて認知機能障害が見られる。認知機能障害は精神症状以上に、患者の社会生活機能に影響することから病態解明、新規治療法の開発が望まれている。統合失調症の認知機能障害の脳の病態として、疾患特異的な病態があるのではなく、健常者で見られる正常な加齢による認知機能の低下が病的に促進しているという仮説がある(Harvey et al, Schizophrenia Research, 2017)。ケモカインのCCL11は、中枢神経系で神経炎症、酸化ストレスを亢進する分子であり、加齢により産生能が高まり、脳の老化を引き起こし、認知機能の低下をもたらすことが報告されている(Villeda et al, Nature, 2011)。統合失調症でも血中CCL11濃度が上昇しており、認知機能障害に寄与する可能性が指摘されている。CCL11は認知機能障害を促進する有力な分子の1つであると思われるが、国内外で研究数がまだ少ない。

2. 研究の目的

本研究の目的ではCCL11が統合失調症の認知機能障害の病態に関与するかを検証することである。基礎研究と臨床研究によるトランスレーショナル研究を行った。基礎研究では、統合失調症のモデル動物でCCL11が増大し、認知機能障害を生じさせているかどうか明らかにする。モデル動物とは別にCCL11を単独で投与する動物を作成する。これらの動物について、脳切片を用いて神経炎症を促進する活性化ミクログリア、ミエリン鞘を形成するグリア細胞であるオリゴデンドロサイトの組織学的な評価を行う。臨床研究では、統合失調症患者において血中CCL11濃度を測定し、認知機能障害と相関するかどうか、また新しいMRIの撮像シーケンスであるミエリン鞘密度画像から、CCL11濃度と相関するかどうか検討する。

3. 研究の方法

【基礎研究1】げっ歯類を用いて統合失調症で見られる陽性症状、陰性症状、認知機能障害が出現するモデル動物が確立している。基礎研究1では統合失調症モデル動物でCCL11濃度が上昇するかどうか、そして認知機能低下と相関するか、さらに断頭して得られた脳切片の大脳皮質のミエリン鞘の傷害が生じるかを検討した。それぞれドパミン仮説によるモデル動物として野生型マウスにメタンフェタミンを単回投与、頻回投与する群と、グルタミン酸仮説(NMDA受容体低機能仮説)によるモデル動物としてフェンサイクリジンを単回投与、頻回投与する群を作成した。マウスでの認知機能の行動指標(新規物体認識試験、強制水泳試験)を計測し、行動成績とCCL11濃度が相関するか検討した。

【基礎研究2】統合失調症モデル動物とは別にCCL11そのものが認知機能障害をもたらすかどうか、神経炎症を引き起こすミクログリアの活性化を引き起こすかどうか、ミエリン鞘傷害をもたらすかを検討した。野生型マウスにCCL11を単回投与、頻回投与し、マウスの認知機能の行動指標が低下するか検討した。溶媒投与マウスとCCL11投与マウスをそれぞれ断頭し、大脳皮質の脳切片を作成した。ミエリン結合蛋白質を用いて免疫染色し、ミクログリアの形態を画像化した。脳切片の電子顕微鏡画像を解析し、軸索直径とミエリン鞘の直径を自動的に算出し、ミエリン鞘の肥厚、軸索直径とミエリン鞘直径の比(g-ratio)を算出した。これらの指標はミエリン鞘の傷害による組織脱落を意味する。

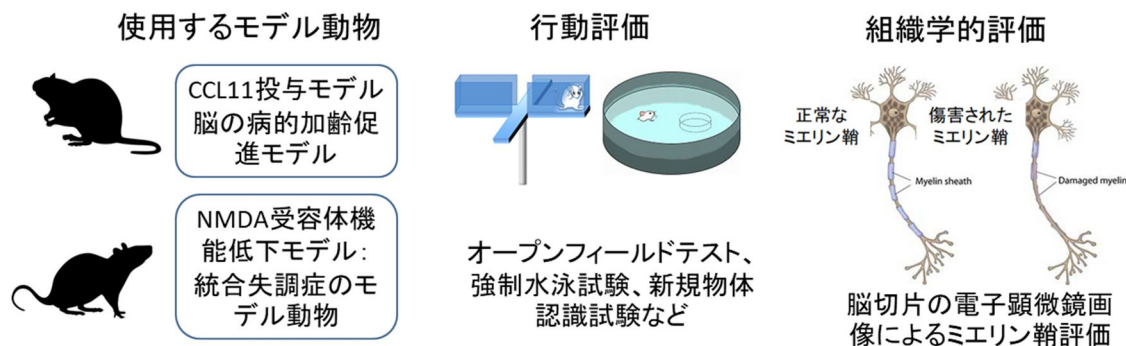


図1 基礎研究の方法の概要

【臨床研究1】

臨床研究では統合失調症患者で先行研究と同様に末梢血CCL11濃度が上昇するかどうかを評価し、認知機能検査(MATRICES コンセンサス認知機能評価バッテリー: MCCB)を実施して認知機能低下が見られるかどうか、CCL11濃度と相関するかを検討した。評価項目としてはMCCBに加えて、患者背景(年齢・性別・教育年数)、病前IQ(Japanese Adult Reading Test: JART)、CCL11

濃度を用いて重回帰分析を行った。目標例数は健常者 50 名、統合失調症患者 50 名とした。

【臨床研究 2】

臨床研究 1 と同じ研究参加者を対象として、非侵襲的にミエリン鞘の状態を評価するために最新の MRI のシーケンスを導入した。ミエリン鞘に感度のある画像シーケンスにより、全脳のミエリン鞘密度を定量化した。それにより CCL11 との相関、認知機能検査との相関、さらには、CCL11 濃度がミエリン鞘密度を媒介して認知機能検査を予測するかを検討する媒介分析を行うこととした。

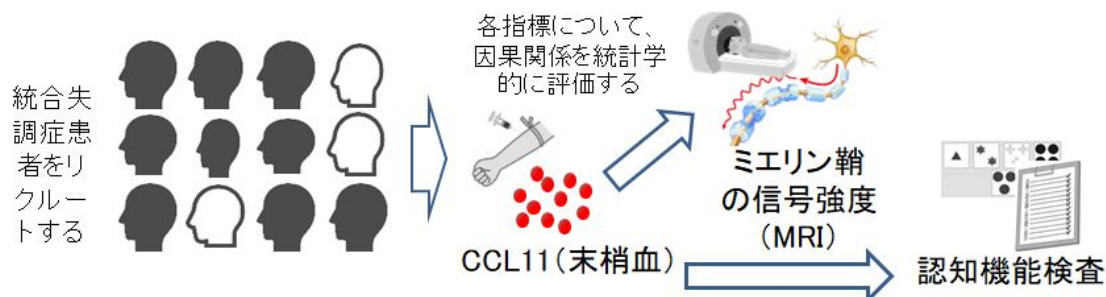


図 2 臨床研究の方法の概要

4. 研究成果

【基礎研究 1】それぞれドパミン仮説、グルタミン酸仮説 (NMDA 受容体低機能仮説) による統合失調症のモデル動物を作成した。そして行動課題を実施した。末梢血の CCL11 濃度を測定したが、両モデル動物について、そして単回投与群、頻回投与群について統計学的に有意な上昇は見られなかった。先行研究ではこれらのモデル動物では認知機能低下が見られることがわかっているが、本研究では CCL11 と認知機能低下の関連性は見られなかった。これらのことから、統合失調症の有力な仮説であるドパミン仮説、グルタミン酸仮説 (NMDA 受容体低機能仮説) のモデル動物では CCL11 の増加が見られなかったことから、臨床研究の先行研究から得られた統合失調症患者で末梢血 CCL11 濃度が増大している知見とは齟齬をきたす結果であるといえる。ドパミン神経伝達、グルタミン酸神経伝達の急性、慢性的異常は神経炎症を引き起こす病態ではないことを示唆している。そして患者では、これらの神経伝達機能異常とは別に神経炎症が生じる病態を有することを示唆している。

【基礎研究 2】統合失調症モデルマウスでの検討とは別に正常な動物で CCL11 投与 (単回、および頻回) により認知機能低下が生じるかどうか、断頭した脳切片でマイクログリアの活性化の有無、ミエリン鞘傷害を評価した。主たる結果の 1 つとして、本報告書執筆時点では溶媒投与マウス、CCL11 投与マウスの海馬 (CA1、CA3 領域) だけの活性化マイクログリアの定量的比較の結果が得られた。CA1 領域では、CCL11 投与マウスでは統計学的に有意に減少していた。CA3 領域では有意差は見られなかった。マイクログリアは CCL11 の受容体を持ち、活性化状態では CCL11 を分泌して多様な炎症性サイトカイン、ケモカインを分泌して免疫応答を活性化する。本検討の結果は、CCL11 投与により通常状態よりも活性化マイクログリアが減少したことから、我々の仮説とは異なる機序を示唆している。統合失調症などの精神疾患、神経疾患で報告されている神経炎症の促進は、単一の神経炎症促進因子では再現できるものではなく、多様な炎症促進因子が寄与することを示唆する。そして CCL11 単独の増加はマイクログリアに対するネガティブフィードバックが優位となり、仮説に反する結果に寄与しているかもしれない。

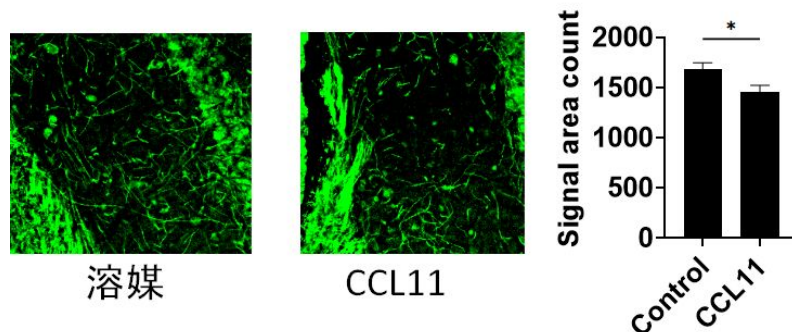


図 3 CCL11 投与マウスと溶媒投与マウスでの海馬 CA1 領域における脳切片のミエリン結合タンパク質による免疫染色画像 (左図)。活性化マイクログリア量は仮説と異なり CCL11 投与動物で低下していた (Control は溶媒投与マウス)。

また、CCL11 投与マウスと溶媒投与マウスの脳切片のうち、脳梁の切片について電子顕微鏡画像で軸索、及びミエリン鞘の直径を計測したところ、軸索直径とミエリン鞘直径の比 (g-ratio)、ミエリン鞘の厚さには統計学的な有意差は見られなかった (図 4 右参照)。本報告書執筆時点では、解析手法が探索的なものであり、軸索、ミエリン鞘の直径の評価に適した脳梁だけを行った。今後は他の部位でも行っていく予定である。脳梁での結果を踏まえると、CCL11 投与は本研究の仮説とは異なり、ミエリン鞘傷害を引き起こさないことを意味する。前述したミクログリアの免疫染色画像の画像解析を支持する結果である。CCL11 単独の投与では、神経炎症が促進する代謝経路と抑制する代謝経路 (ネガティブフィードバック) の活性化が生じ、他の炎症促進要因分子が増大しない状況では先行研究で示されたような CCL11 濃度増加による神経炎症促進は生じないかもしれない。今後は脳梁以外の皮質領域での検討も行う。

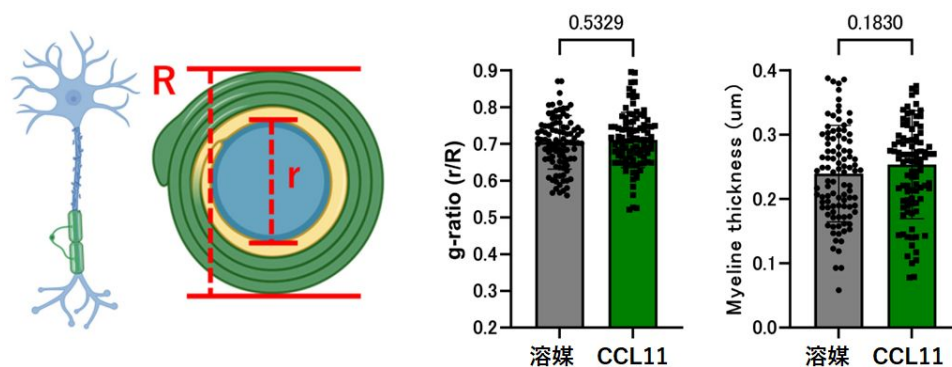


図 4 ミエリン鞘傷害の指標。大脳皮質の脳切片の電子顕微鏡画像から神経細胞の軸索の直径とミエリン鞘の直径を算出し、それらの差分と比 (g-ratio) を算出する (左図)。基礎研究 2 で得られた溶媒投与マウスと CCL11 投与マウスの軸索直径とミエリン鞘直径の比とミエリン鞘の肥厚 (右図)。有意差は見られなかった。

【臨床研究 1】統合失調症患者で CCL11 濃度が増加するかどうか、認知機能障害と相関するかどうかについて検討した。MCCB (認知機能検査) は患者群で統計学的に有意に低下していた (図 5 左参照)。しかし CCL11 濃度は統計学的に有意傾向があるものの、有意差は見られなかった。MCCB を従属変数にし、CCL11 濃度を含めた認知機能に影響する可能性のある各評価項目を独立変数にした重回帰分析では、患者群で CCL11 濃度が有意に MCCB の低下を予測した (図 5 右参照)。健常者群では CCL11 濃度の関与は見られなかった。この結果は本研究の仮説を支持する結果であった。統合失調症では健常者では見られない、CCL11 濃度の増大による認知機能を低下させる病態が存在することを示している。ただし、CCL11 濃度だけを計測した先行研究では有意に CCL11 濃度が上昇していたが、本研究の患者群では統計学的に有意な上昇は見られなかったため、CCL11 分泌能は患者群でも異種であることを示す。

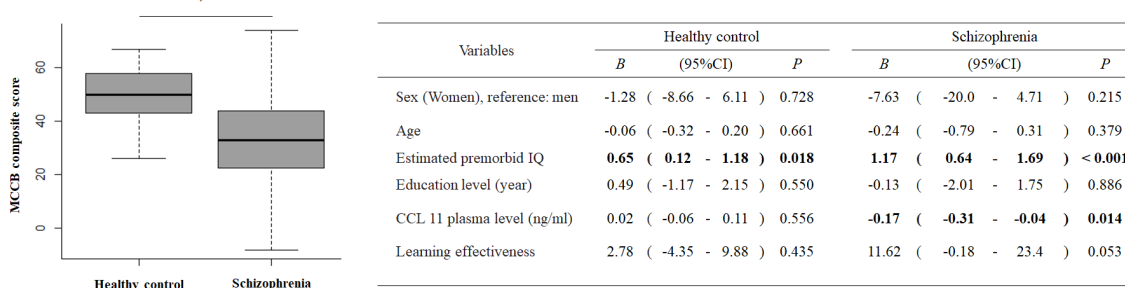


図 5 統合失調症患者群、健常者群での MCCB 総合スコアの比較 (左図)。患者群では有意に成績の低下が見られた。MCCB 総合スコアを従属変数にした重回帰分析の結果 (右図)。患者群は有意に CCL11 濃度が MCCB 総合スコアの低下を予測した。

【臨床研究 2】

本報告書作成時点では全被験者 (健常者と統合失調症患者) の新規撮像シーケンスによるミエリン鞘密度画像の解析が終了しておらずまとまった成果が得られていない。今後は論文等で公表する。

【基礎研究と臨床研究の総合的な考察】

本研究は研究期間終了間際まで基礎研究、臨床研究を行っていたため、まだ解析が終わってない指標などがあるため、本報告書では得られた結果に基づいて考察するが今後変わる可能性がある。基礎研究 1 からは、統合失調症の作成したモデル動物では異常な神経伝達機能が短期、あ

るいは長期に持続するが、CCL11 分泌能には直接関与しないことが示された。他方で、患者は神経伝達機能異常が存在し、さらに CCL11 含めた様々な神経炎症促進分子が慢性的に分泌過剰になっているので、動物では単一の病態が現れるが、患者では複数の病態が生じていることを示唆している。研究 2 では、正常なマウスに CCL11 を単回、頻回に投与したが、活性化ミクログリアの増加、ミエリン鞘傷害は見られなかった。これは仮説と異なる結果である。前述したように、神経炎症が生じている場合は多数の炎症促進分子が増大するが、ミクログリアの活性化、免疫誘導によるミエリン鞘の組織傷害は複数の代謝経路が複合的、もしくは相加的に関わることで生じるだろう。CCL11 単独の投与による下流の炎症性サイトカインの免疫誘導では、不十分か、あるいは抑制性サイトカインの放出促進などのネガティブフィードバックを誘導するかもしれない。いずれにしろ今後も動物研究の先行研究との CCL11 の投与方法の異同、脳切片の解析領域を広げるなどの検討を行う。臨床研究からは統合失調症患者で CCL11 濃度の増加が認知機能低下を予測することを発見した。統合失調症の臨床研究での実施が推奨されている MCCB を用いて CCL11 との関与を示したのは本研究が初めてである。この関係性が、ミエリン鞘傷害と関与するかについては報告書執筆時点では MRI の解析が終わっておらず不明であるが、検討を続ける。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川修平
2. 発表標題 統合失調症モデル動物を用いた脳内炎症と陽性症状の関連性の検証
3. 学会等名 BPCNP/PP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 扇谷昌宏
2. 発表標題 神経毒性評価におけるグリア細胞の重要性：マウス由来の株化細胞を用いた基礎的検討
3. 学会等名 BPCNP/PP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古賀農人
2. 発表標題 不安症状の病態形成においてマイクログリアは正にも負にも寄与する
3. 学会等名 BPCNP/PP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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	石川 修平 (Ishikawa Syuhei) (30880091)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	

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
研究分担者	橋本 直樹 (Hashimoto Naoki) (40615895)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	扇谷 昌宏 (Ohgidani Masahiro) (60636455)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	
研究分担者	豊巻 敦人 (Toyomaki Atsuhito) (70515494)	北海道大学・大学病院・助教 (10101)	
研究分担者	古賀 農人 (Koga Minori) (70744936)	防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・精神科学・助教 (82406)	

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