

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：84203

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293074

研究課題名(和文) Cxcl12/Cxcr4シグナル破綻が統合失調症発症に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Involvement of Cxcl12/Cxcr4 signaling deficits in schizophrenia

研究代表者

谷垣 健二 (Tanigaki, Kenji)

滋賀県立成人病センター(研究所)・神経病態研究部門・専門研究員

研究者番号：70362473

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、ヒトで高率に統合失調症を発症する22q11欠損症候群のモデルマウスを用い、Dgcr8の欠損がCxcl12/Cxcr4シグナルの異常を引き起こし、海馬歯状回、介在神経細胞の発生異常の原因となることを見出してきた。今回、我々は、Cxcr4シグナルの異常が統合失調症様行動異常を引き起こすか、22q11欠損症候群以外の散発性統合失調症でCxcl12/Cxcr4シグナルの障害が認められるか検討を行った。

研究成果の概要(英文)：22q11 deletion syndrome is a chromosome disorder. 20-30% of the patients with this deletion develop schizophrenia. We previously showed that the heterozygous deletion of Dgcr8 caused Cxcl12/Cxcr4 signaling deficits, leading to developmental abnormalities in the dentate gyrus of the hippocampus and interneurons. In this study, we examined whether Cxcl12/Cxcr4 signal deficits can cause schizophrenia-like behavioral abnormalities using Cxcr4-floxed mice, and whether Cxcl12/Cxcr4 signal deficits exist in sporadic schizophrenia patients using lymphoblastic cell lines.

研究分野：神経科学、精神医学

キーワード：統合失調症 Cxcr4 Cxcl12 ケモカイン

1. 研究開始当初の背景

22q11.2 領域欠損症候群は 3000 人から 4000 人に一人発症する染色体異常である。22q11 領域に欠損を持つ人は高頻度に統合失調症を発症することが知られており、統合失調症患者全体の約 0.5% をしめることから、22q11.2 領域の欠損によって発症する統合失調症者の治療法の開発は意義が大きいと考えられる。

ヒトの 22q11.2 領域には約 30 の遺伝子が存在しており、22q11.2 領域に相当する領域はマウスでは第 16 番染色体に存在し、一部の領域に逆位は認められるが、ほぼ全ての遺伝子群がその領域に保存されていることが知られている。我々は、Cre/loxP の技術でこの領域を欠損させた 22q11.2 欠損症候群モデルマウスを用いて、行動学的解析を行い、このモデルマウスがヒトの統合失調症患者と同様に感覚情報処理の異常や methamphetamine や NMDA 受容体阻害剤の MK801 への感受性の亢進を示すことを見出した。

我々は、22q11.2 欠損症候群モデルマウスにおける行動異常の原因として神経発生異常が生じていないか検討するため、胎児期、成体期のモデルマウス脳の stereology 解析を行い、海馬の歯状回と大脳皮質の介在神経細胞の発生異常が存在することを見出した。我々は、この発生異常の分子機構を明らかにするため、介在神経細胞の前駆細胞が存在する medial ganglionic eminence (MGE) の器官培養及び、介在神経細胞前駆細胞培養の系を用いて、この神経発生異常がケモカインである Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常によって生じること、Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常は 22q11.2 領域に存在する miRNA のプロセッサの Dgcr8 の欠損によって生じること示した。さらに、ヒトの散発性の統合失調症患者の嗅上皮において Cxcl12 が有意に減少していることを見出

した (Deficits in microRNA-mediated Cxcr4/Cxcl12 signaling in neurodevelopmental deficits in a 22q11 deletion syndrome mouse model. Toritsuka M, Kimoto S, Muraki K, Landek-Salgado MA, Yoshida A, Yamamoto N, Horiuchi Y, Hiyama H, Tajinda K, Keni N, Illingworth E, Iwamoto T, Kishimoto T, Sawa A, Tanigaki K. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Oct 22;110(43):17552-7.). Dgcr8 の欠損が前頭葉依存性の作業記憶障害などの統合失調症様行動異常を起こすこと (Nat Genet. 2008 40:751-60)、Cxcr4 シグナル障害で生じる介在神経発生異常が統合失調症でも認められることを考え合わせると、Dgcr8 の欠損によって生じる Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常が 22q11.2 欠損症候群の統合失調症発症の原因の一つである可能性が示唆される。散発性統合失調症患者における CXCL12 の低下は、Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常が 22q11.2 欠損症候群による統合失調症以外の散発性の統合失調症発症に関与する可能性を示唆している。

2. 研究の目的

本研究では、動物モデルを用いて、Dgcr8 欠損を伴わない Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常のみでも統合失調症様行動異常が惹起されるか、Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナルの異常が 22q11.2 欠損症候群モデルマウスと同じ行動異常を惹起するのであれば、中枢神経系のどの領域のどの細胞で Cxcr4 シグナルが必須なのか明らかにする。また、散発性統合失調症患者において CXCL12 の発現低下が存在することは明らかになっているが、Cxcl12 (Sdf1) / Cxcr4 シグナル障害が存在するかは確認できていな

いため、ヒトの統合失調症患者血液細胞を用いて、CXCL12 発現低下だけでなく、Cxcr4 シグナル障害が認められないか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 全ての動物実験は滋賀県立総合病院研究所の動物実験に関する指針に従い、全ての遺伝子組換え実験は滋賀県立総合病院研究所の遺伝子組換え安全委員会の承認を受け行った。

(2) マウスにおける統合失調症様行動異常を定量化するため、Prepulse inhibition の測定と、methamphetamine 0.25mg/Kg, MK801 0.32mg/Kg に対する反応性を Open Field によって定量化した。Preactivation inhibition の測定には、San Diego Instrument の SR lab を用い、Preactivation として 68dB, 71dB, 77dB を、驚愕刺激として 120dB のバースト音を用いた。Open Field 実験には、AccuScan Instrument の VersaMax Open Field Activity Monitoring system を用いた。

(3) 統合失調症患者由来 lymphoblastic cell line の Cxcr4 シグナルを測定するため 8.0- μ m pores cell-culture polyethylene terephthalate (PET) membrane insert (Becton Dickinson) を用い chemotaxis assay を行った。

4. 研究成果

(1) 我々は、Cxcr4 シグナルの異常によって生じる神経発生異常と統合失調症様行動異常の関係を明らかにするため、Cxcr4 シグナルの欠損が行動異常を惹起するか検討を行った。具体的には Cxcr4 floxed mice を Emx1-Cre transgenic mice, Dlx5/6-Cre transgenic mice, CmKII-Cre transgenic mice と掛け合わせ、様々な神経細胞特異的に Cxcr4 シグナルを欠損したマウスを作成

し、Preactivation inhibition の異常や、methamphetamine, MK801 に対する反応性の亢進が認められないか検討を行った。

(2) ヒトの散発性の統合失調症患者で、Cxcl12 発現量低下だけでなく、Cxcl12/Cxcr4 シグナルの異常が認められるのかを確認するため、22q11 欠損症候群 7 名、統合失調症患者 60 名の末梢血より EBV で樹立された lymphoblastoid cell line を用い、chemotaxis assay によって CXCL12 への反応性の定量化を行った。

(3) ヒトの散発性統合失調症と Cxcl12 (Sdf1)/Cxcr4 シグナルの関与が証明できれば、病因に直結するバイオマーカーとして Cxcl12 (Sdf1)/Cxcr4 シグナルを用いることができる可能性がある。Cxcl12 (Sdf1)/Cxcr4 シグナル異常は統合失調症の原因として提唱されるのは初めてであるため、本研究は統合失調症の新規治療法の開発につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

(1) Neuronal migration abnormalities and its possible implications for schizophrenia. Muraki K, [Tanigaki K](#).

Front Neurosci. 2015 9:74. doi: 10.3389/fnins.2015.00074. eCollection 2015.

(2) Arsenic trioxide sensitizes glioblastoma to a myc inhibitor.

Yoshimura Y, Shiino A, Muraki K, Fukami T, Yamada S, Satow T, Fukuda M, Saiki M, Hojo M, Miyamoto S, Onishi N, Saya H, Inubushi T, Nozaki K, [Tanigaki K](#).

PLoS One. 2015 10(6):e0128288. doi: 10.1371/journal.pone.0128288. eCollection 2015.

(3) Polymorphism within a Neuronal Activity-Dependent Enhancer of NgR1 Is Associated with Corpus Callosum Morphology in Humans.

Isobe M, [Tanigaki K](#), Muraki K, Miyata J, Takemura A, Sugihara G, Takahashi H, Aso T, Fukuyama H, Hazama M, Murai T. *Mol Neuropsychiatry*. 2015 1(2):105-15. doi: 10.1159/000430463.

(4) Sex-related difference in human white matter volumes studied: Inspection of the corpus callosum and other white matter by VBM.

Shiino A, Chen YW, [Tanigaki K](#), Yamada A, Vigers P, Watanabe T, Tooyama I, Akiguchi I. *Sci Rep*. 2017 7:39818. doi: 10.1038/srep39818.

(5) Regulation of striatal dopamine responsiveness by Notch/RBP-J signaling.

Toritsuka M, Kimoto S, Muraki K, Kitagawa M, Kishimoto T, Sawa A, [Tanigaki K](#). *Transl Psychiatry*. 2017 Mar 7;7(3):e1049. doi: 10.1038/tp.2017.21.

(6) Contribution of Endothelial to Mesenchymal Transition to the Pathogenesis of Human Cerebral and Orbital Cavernous Malformations.

Takada S, Hojo M, [Tanigaki K](#), Miyamoto S. *Neurosurgery*. 2017 81(1):176-183. doi: 10.1093/neuros/nyx078.

(7) Preparation of Robust Metal-Free Magnetic Nanoemulsions Encapsulating Low-Molecular-Weight Nitroxide Radicals

and Hydrophobic Drugs Directed Toward MRI-Visible Targeted Delivery.

Nagura K, Takemoto Y, Moronaga S, Uchida Y, Shimono S, Shiino A, [Tanigaki K](#), Amano T, Yoshino F, Noda Y, Koizumi S, Komatsu N, Kato T, Yamauchi J, Tamura R. *Chemistry*. 2017 23(62):15713-15720. doi: 10.1002/chem.201702785.

(8) Copy number elevation of 22q11.2 genes arrests the developmental maturation of working memory capacity and adult hippocampal neurogenesis.

Boku S, Izumi T, Abe S, Takahashi T, Nishi A, Nomaru H, Naka Y, Kang G, Nagashima M, Hishimoto A, Enomoto S, Duran-Torres G, [Tanigaki K](#), Zhang J, Ye K, Kato S, Männistö PT, Kobayashi K, Hiroi N. *Mol Psychiatry*. 2018 23(4):985-992. doi: 10.1038/mp.2017.158.

(9) Role of endothelial to mesenchymal transition in the pathogenesis of central nervous system hemangioblastomas.

Takada S, Hojo M, Takebe N, [Tanigaki K](#), Miyamoto S. *World Neurosurg*. 2018. pii: S1878-8750(18)31189-6. doi: 10.1016/j.wneu.2018.05.235.

{学会発表}(計 4件)

(1) 谷垣 健二

Deficits in microRNA-mediated Cxcr4 / Cxcl12 signaling in neurodevelopmental deficits in a 22q11-deletion syndrome mouse model.

第38回神経科学会 2015年7月30日 神戸

(2) 谷垣 健二

22q11 欠損症候群モデルマウスにおける介在
神経細胞移動の異常

第 38 回日本分子生物学会 2015 年 12 月 1
日

(3) 谷垣 健二 Regulation of Striatal
Dopamine Responsiveness by Notch/RBP-J
Signaling Notch 研究会 2016 年 10 月 6 日

(4) 谷垣 健二 Regulation of Striatal
Dopamine Responsiveness by Notch/RBP-J
Signaling

第 40 回日本分子生物学会 2017 年 12 月 8
日

6 . 研究組織

(1)研究代表者

谷垣健二 (TANIGAKI KENJI)

滋賀県立総合病院研究所・神経病態研究部
門・専門研究員

研究者番号：70362473

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()