

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04273

研究課題名(和文) ミクログリアのin vivo脳内動態解析技術の創出と、その統合失調症診療への応用

研究課題名(英文) Development of in vivo molecular imaging system to analyze microglial behavior in the brain, and its application for early diagnosis of schizophrenia

研究代表者

佐藤 康二 (Sato, Kohji)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：80235340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、これまでに統合失調症患者で脳内ミクログリアが病的に活性化していることをPETで確認している。そこで本研究では統合失調症病態脳で発症初段階に脳内ミクログリアが賦活する神経病理を解明するとともに、ミクログリアの活性化をin vivoで画像化するためのMRI技術を創出し、その統合失調症早期診断への応用を図ることを目的とし研究を行った。ここでは、ミクログリアの活性化が、隣接するニューロンにおけるfractalkineの代謝産物と、それによるCRXCR3受容体の賦活で生起することに着目し、fractalkineの代謝酵素の活性化の病理と、その酵素活性を描出するプローブの創成を行った。

研究成果の概要(英文)：The investigators previously found microglia is aberrantly activated in the brain of schizophrenic patients by positron emission tomography. In the present study the investigators aim at exploring the neuropathology underlying microglial activation in the brain in the early stage of onset of schizophrenia, and development of in vivo MRI system to visualize behavior of microglia. Here, based on the observation that processing of fractalkine in the adjacent neuronal axon triggers microglial activation via its membranous CRXCR3 receptor, the pathophysiology of the activation of metabolic enzyme of neuronal fractalkine was explored and also MRI switching molecular probe to visualize the enzymatic activity was developed.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症

1. 研究開始当初の背景

最近、申請者らは PET により初発未治療の統合失調症患者 17 名で活性化ミクログリアの脳内分布と、その程度について精査した。PET イメージングは、活性化ミクログリアに結合するトレーサーである $[^{11}\text{C}]$ PK11195 によった。その結果、すべての統合失調症患者脳で、健常者脳と比較し、2 倍以上の活性化ミクログリアの増加を認めた。

統合失調症は、多因子疾患であり、症候群である。しかし、この疾患の別個の症例の依って立つ共通の生物学的基盤を同定することにより、発症前、あるいは発症初期に治療的介入を行うことは可能であると考えられる。これまでに、統合失調症患者での MRI(磁気共鳴画像法)による脳構造解析の結果、脳局所での容積変化が、また、患者血清の生化学的解析の結果、種々の脳内タンパク質の挙動変化が報告される等、神経活動に関連した諸因子について、統合失調症患者で健常人との有為差が認められているが、個々の因子は、患者間での標準偏差が大きく、それらを統合失調症の診断のための指標とすることは困難である。対して、活性化ミクログリアの著明な増加は、未治療の統合失調症患者の全てにおいて認められる現象であり、統合失調症患者と健常人とを識別するのに極めて有用な指標であると考えられる。統合失調症患者で活性化ミクログリアの脳画像研究を行った例は、これまでも van Berckel らや、Doorduyn らによる研究があるが、そこでは、抗精神病薬を服用している患者で解析が行われており、活性化ミクログリアの増加は顕著ではなかった。わずかな差しかなかったという彼らの結果は、抗精神病薬がミクログリアの活性化を抑制することに由来すると考えられる。

2. 研究の目的

統合失調症患者脳でのミクログリアの活性化は、脳内での炎症反応の生起を示唆しており、また、活性化ミクログリアが初発患者脳で確認されたことから、ミクログリア

の活性化を惹起する脳内因子の賦活が統合失調症の病態早期に起こると考えられる。そこで、本研究では統合失調症病態脳で発症初段階に脳内ミクログリアが賦活する神経病理を解明するとともに、ミクログリアの活性化を in vivo で画像化するための MRI 技術を創出し、その統合失調症早期診断への応用を図ることを目的とし研究を行った。

3. 研究の方法

ここでは、ミクログリアの活性化が、隣接するニューロンにおける fractalkine の代謝産物と、それによる CRXCR3 受容体の賦活で生起することに着目し、fractalkine の代謝酵素の活性化の病理と、その酵素活性を描出するプローブの創成を行った。

4. 研究成果

(1) ミクログリアの病的活性化の分子病理に関する研究

ここでは、初めに、統合失調症の病態モデルである poly I:C 母体投与モデルマウスで、ニューロン・ミクログリア相関に与るミクログリア受容体等の遺伝子発現、細胞内情報伝達系の活性化等を網羅的に検討した結果、統合失調症病態下でミクログリアの性状転化が生じ、神経細胞毒性に与る TNF、IL1、IL6等の産生の増加と神経保護に働く IGF1、BDNF等の産生の低減を来していることを見出し、その性状転化に CX3CR1、CD200R等のミクログリア細胞膜上の受容体が機能していることを確認した。また、CD200Rを活性化する低分子化合物を、医薬候補低分子化合物ライブラリーよりスクリーニングし、その賦活がミクログリアの活性化を阻害するとともに、統合失調症様精神症状を緩和することを見出した。そして、poly I:Cモデルマウスにて、プレパルス抑制障害を来す以前の7週齢に、探索したCD200R賦

活薬を投与した結果、10週齢における脳内マイクログリア活性化及びプレパルス抑制障害の低減を確認した。

(2) ニューロン・マイクログリア相関を治療標的とする統合失調症予防創薬に掛かる研究
一方で本研究では、fractalkine(FKN)のプロセッシングによる可溶性 FKN の産生が、ITAM-Syk 系を刺激しマイクログリアの病的賦活を誘引することを生化学的解析により見出した。また、可溶性 FKN の産生を MRI により画像化することをねらい可溶性 FKN の産生を蛍光画像法で可視化する機能プローブを創製した。次いで、当該プローブを改変し paramagnetic effect により MRI 信号を生起する MRI 機能プローブを創製し、それを poly I:C による統合失調症病態モデルマウス 8 週齢から調製した脳切片培養系に適用することで NMR 信号を検出した。そして、創製済のプローブに狂犬病ウイルス由来の糖タンパク質を結合し、血液脳関門透過性を持たせることにより、統合失調症発症初段階における脳内マイクログリア活性化を MRI で画像化することに成功した。

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 12 件)

1. Sato K. Why is vitamin B6 effective in alleviating the symptoms of autism? *Med Hypotheses*. 2018 115:103-106. doi: 10.1016/j.mehy.2018.04.007.
2. Hayashi Y, Mikawa S, Masumoto K, Katou F, Sato K. GDF11 expression in the adult rat central nervous system. *J Chem Neuroanat*. 2018 89:21-36. doi:10.1016/j.jchemneu.2018.02.003.
3. Maruyama-Koide Y, Mikawa S, Sasaki T, Sato K. Bone morphogenetic protein-4 and bone morphogenetic protein receptors expressions in the adult rat eye. *Eur J Histochem*. 2017 61:2797. doi: 10.4081/ejh.2017.2797.
4. Hosoya T, Fukumoto D, Kakiuchi T, Nishiyama S, Yamamoto S, Ohba H,

Tsukada H, Ueki T, Sato K, Ouchi Y. In vivo TSPO and cannabinoid receptor type 2 availability early in post-stroke neuroinflammation in rats: a positron emission tomography study. *J Neuroinflammation*. 2017 14:69. doi:10.1186/s12974-017-0851-4.

5. Hayashi Y, Mikawa S, Masumoto K, Katou F, Sato K. Chordin and noggin expression in the adult rat trigeminal nuclei. *J Chem Neuroanat*. 2016 78:36-41. doi: 10.1016/j.jchemneu.2016.08.003.
6. Yamashita K, Mikawa S, Sato K. BMP3 expression in the adult rat CNS. *Brain Res*. 2016 1643:35-50. doi: 10.1016/j.brainres.2016.04.057.
7. Yamagishi S, Yamada K, Sawada M, Nakano S, Mori N, Sawamoto K, Sato K. Netrin-5 is highly expressed in neurogenic regions of the adult brain. *Front Cell Neurosci*. 2015 9:146. doi: 10.3389/fncel.2015.00146. eCollection 2015.
8. Asai H, Inoue K, Sakuma E, Shinohara Y, Ueki T. Potential implication of SGK1-dependent activity change in BV-2 microglial cells. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2018 10:115-123. eCollection
9. Inoue K, Sakuma E, Morimoto H, Asai H, Koide Y, Leng T, Wada I, Xiong ZG, Ueki T. Serum- and glucocorticoid-inducible kinases in microglia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 478:53-59. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.094.
10. Inoue K, Leng T, Yang T, Zeng Z, Ueki T, Xiong ZG. Role of serum- and glucocorticoid-inducible kinases in stroke. *J Neurochem*. 2016 138:354-61. doi: 10.1111/jnc.13650.
11. Murakami G, Nakamura M, Takita M, Ishida Y, Ueki T, Nakahara D. Brain Rewarding Stimulation Reduces Extracellular Glutamate Through Glial Modulation in Medial Prefrontal Cortex of Rats. *Neuropsychopharmacology*. 2015 40:2686-95. doi: 10.1038/npp.2015.115.
12. Fujitsuka N, Asakawa A, Morinaga A, Amitani MS, Amitani H, Katsuura G,

Sawada Y, Sudo Y, Uezono Y, Mochiki E, Sakata I, Sakai T, Hanazaki K, Yada T, Yakabi K, Sakuma E, Ueki T, Niijima A, Nakagawa K, Okubo N, Takeda H, Asaka M, Inui A. Increased ghrelin signaling prolongs survival in mouse models of human aging through activation of sirtuin1. Mol Psychiatry. 2016 21:1613-1623. doi:10.1038/mp.2015.220.

(4)研究協力者

()

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://www.hama-med.ac.jp/education/fac-med/dept/organ-tissue-anatomy/index.html>

6. 研究組織

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 康二 (SATO, Kohji)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号: 8 0 2 3 5 3 4 0

(2)研究分担者

植木 孝俊 (UEKI, Takatoshi)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 6 0 3 1 7 3 2 8

(3)連携研究者

()

研究者番号: