

令和 4 年 2 月 15 日現在

機関番号：34304

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07774

研究課題名（和文）てんかん～うつ・不安障害に至る分子発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Clarification of molecular mechanisms that are involved in onset of epilepsy, depression, and anxiety.

研究代表者

加藤 啓子 (KATO, Keiko)

京都産業大学・総合生命科学部・教授

研究者番号：90252684

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：てんかん発作誘導に必須であるシアル酸転移酵素（ST3Gal4）の欠失がうつ、不安症を引き起こすことから、てんかん～うつ不安症の発症に関わるST3Gal4を軸とした分子機構を明らかにすることを目指してきた。ヒトST3GAL4 遺伝子多型が、高脂質血症を含む脂質代謝系に影響を与えることが報告されている一方で、マウスSt3gal4は、血中の脂肪酸組成やアミノ酸代謝に影響することを見つけた。さらに、尿中の代謝産物をてんかんとSt3gal4欠損マウス（うつ、不安症モデル）で解析比較したところ、てんかんおよび、うつ・不安症モデルそれぞれに変化を示す代謝産物を発見し、2件の特許出願となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

てんかん患者における、うつ、不安障害、統合失調症といった精神疾患の出現は、一般の集団に比べて3倍高い。本研究では、マウスのてんかん、うつ・不安症の尿中代謝産物から、それぞれのバイオマーカーを発見するに至った。さらに高齢者うつの尿中バイオマーカーが、St3gal4欠損マウス（うつ・不安症モデル）の尿中バイオマーカーと一致した。高齢者うつの尿中バイオマーカーの発見により3件目の特許出願となった。また、尿中代謝産物から、てんかんマウスの体内では、腸内細菌による代謝が重要な役割を果たすことを見つけた。以上の結果より、尿中代謝産物に影響する代謝変化が精神疾患に関わる事例を世界で初めて見つけた。

研究成果の概要（英文）：We have previously found ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase IV (St3gal4) showing upregulation of the mRNA in temporal lobe epilepsy model mice and the St3gal4 gene-deficient mice suffered from depression/anxiety. On the other hand, it has been reported that human SNPs affect the lipid metabolic system including hyperlipidemia. Presently, we found St3gal4-deficiency induced differential compositions of fatty acids and amino acids in blood. Furthermore, epilepsy model mice and St3gal4 deficient mice showed differential urinary metabolites specifically, leading to two patent applications.

研究分野：神経科学

キーワード：てんかん うつ 不安症 シアル酸転移酵素 疾患モデル 代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

てんかんは、ヒト・ネコで1%、イヌで平均2-3%に発症する、発症頻度の高い慢性神経疾患である。その原因は遺伝的素因に起因した突発性的の場合と、ガン化・虚血・水頭症等も含めた二次的な素因に起因した症候性的の場合によるものが知られているが、根本的な障害は、神経回路網の異常な同期性放電による。てんかんの約2-3割の患者(患者)は、てんかん薬に対する抵抗性を獲得する難治てんかんへと進行する。このヒト難治てんかんの5割を占める側頭葉てんかんは、うつ、不安障害、統合失調症等の精神疾患の併存率が高く、発作に起因するものと、薬剤副作用に起因するものが混在する。この併存症の発症メカニズムに関わる分子基盤を明らかにすることは、てんかん患者の生活の質保証を担保することができるだけでなく、神経精神疾患全般に共通した法則を見つけ出すことにつながる。しかしながらこれまで、てんかん併存症のモデル動物は開発されておらず、研究対象となり得なかった。

研究代表者は、側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん発作誘導に関わる分子基盤の解明を目指した分子群スクリーニングをおこなってきた。その結果、ST3Gal4シアル酸転移酵素がてんかん発症に必須の分子であることを見つけた。そして、このST3Gal4遺伝子を欠損したマウスが、てんかん併存症のモデルマウスとしての妥当性を示すことに成功し、ついに、てんかん併存症の発症メカニズムに関わる分子探索を手がけることのできる研究環境を整えることができたため、本研究を開始することとなった。

2. 研究の目的

本研究では、このST3Gal4の酵素の作用により、直接シアル酸を修飾する受容体基質である、シアル酸化標的分子を同定し、てんかんとその併存症の発症に関わる分子シグナルの全貌解明を目指している。

3. 研究の方法

- (1) 当初は、シアル酸化標的分子を同定することを目指し、アジド糖 ManNAz を利用したダブルクリック反応による検出系と、シアル酸転移酵素を固定化したアフィニティーカラムを用いる方法により、脳内のシアル酸化標的分子(受容体基質)を抽出、同定を試みる予定であった。まずは、*In vivo*にてST3Gal4がシアル酸を付加する糖鎖構造の決定を試みた。
- (2) ヒト ST3GAL4 遺伝子多型が、高脂質血症を含む脂質代謝系に影響を与えていることが報告されていたことから、シアル酸化標的分子に関連する代謝産物の同定を試みた。てんかんモデルマウスと St3gal4 遺伝子欠損マウス(うつ、不安症モデル)の尿中揮発性有機化合物を GCMS により検出し、てんかんおよび、うつ不安症に関わる揮発性有機化合物を検出し、St3gal4 に関わる酵素代謝系の発見を試みた。

4. 研究成果

- (1) *In vivo*にて St3gal4 がシアル酸を付加する糖鎖構造を MALDI により決定した。St3gal4 mRNA の発現の高い視床内側膝状体をマイクロナイフで切り出し、MALDIにて糖鎖構造を確認したところ、野生型でみられた 2,3 結合のシアリル糖鎖構造を持つ糖タンパク質が、欠損マウスでは著しく低下していた(糖鎖構造の決定は、北海道大学古川潤一氏による)。このことは、St3gal4 が、N-結合型糖タンパク質に、2,3-シアル酸の修飾をおこなう可能性の高いことを示している。
- (2) 尿中の代謝産物をてんかんマウスと St3gal4 欠損マウス(うつ、不安症モデル)で解析比較したところ、てんかんおよび、うつ・不安症モデルそれぞれに変化を示す代謝産物を発見し、2件の特許出願となった。さらに、てんかんマウスの腸内において、てんかん発作が腸内細菌叢の変化あるいは、腸内細菌の代謝変化を誘導する可能性を示すことができた。また、高齢者うつの尿中バイオマーカーが、St3gal4 欠損マウス(うつ・不安症モデル)の尿中バイオマーカーと一致したことから、高齢者うつのバイオマーカーについても、特許出願を行なった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 21 件)

1. 藤田明子, 奥野貴哉, Siriporn Tangsdjai, 織田弥伽, 伊川正人, 加藤啓子 てんかん～うつ・不安障害に至る分子発症メカニズムの解明 平成 30 年度【先端モデル動物支援プラットフォーム】成果発表会 (2019-1-30-1-31) (ポスター)
2. 太田 真菜美, 藤田明子, 加藤啓子 側頭葉てんかんモデルマウスにおける代謝変化 第 140 回関西実験動物研究会 2018.12.7 聖護院御殿荘 (口頭)

3. 奥野貴哉, 藤田明子, Siriporn Tangsdjai, 織田弥伽, 加藤啓子 シアル酸転移酵素 ST3Gal4 欠損オスマウスにおける生殖行動と代謝変化について 第 140 回関西実験動物研究会 2018.12.7 聖護院御殿荘 (口頭)
4. 加藤啓子, 太田知沙, 廣田暖奈, 藤田明子 シアル酸転移酵素 ST3Gal IV 欠損マウスの統合失調症陰性症状について 第 161 回獣医学会 2018. 9.12 つくば国際会議場 (口頭)
5. 加藤啓子 マウスうつによる環境, 医薬, 食品のスクリーニング イノベーション・ジャパン 2018.8.30-31 (国際展示場) (ポスター)
6. 奥野貴哉, 藤田明子, 織田弥伽, Paitoon Srimontri, 加藤啓子 シアル酸転移酵素 ST3Gal4 欠損・オスマウスにおける生殖行動と代謝産物の関連性第 65 回日本実験動物学会総会 2018.5.16 富山県民会館(富山市) (口頭)
7. 加藤啓子, 藤田明子, 伊川正人 シアル酸就職に起因する精神神経疾患の発症 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会 2018.1.24-25, 琵琶湖ホテル口頭発表 (口頭)
8. Keiko Kato Neuropsychiatric disorders induced by metabolic loading and sialylation. 2017 International Symposium, The Institute of Animal Resources in KNU 2017.12.7 招待講演 (英語)
9. 加藤啓子, 藤田明子, 太田知沙, 古川潤一 シアル酸修飾と代謝負荷に起因する精神神経疾患の発症 Sialylation is involved in neuropsychiatric disorders induced by metabolic loading. ConBio2017 神戸商工会議所 2017 年 12 月 6 日 (水曜日)(口頭)
10. 藤田明子, 奥野貴也, 織田美伽, Paitoon Srimontri, 加藤啓子, シアル酸転移酵素 ST3Gal4 欠損マウスにおける情動行動と代謝産物の関連 Relationship of emotional behavior with metabolites in ST3Gal4 KO mouse ConBio2017 ポスター会場 1-1 神戸国際展示場 1 号館 1F 2017 年 12 月 6 日 (水曜日)(ポスター)
11. 太田 知沙, 廣田 暖奈, 藤田 明子, 加藤 啓子 シアル酸転移酵素 ST3Gal IV 欠損マウスの統合失調症陰性症状について Sialyltransferase ST3Gal IV deficient (KO) mice show negative symptom of the schizophrenia. ConBio2017 (ポスター)
12. 太田 真菜美, 藤田 明子, 加藤 啓子, 側頭葉てんかん発症と末梢における脂質代謝について Temporal lobe epilepsy and peripheral lipid metabolism ポスター会場 1-1 神戸国際展示場 1 号館 1F 2017 年 12 月 6 日 (水曜日)(ポスター)
13. 加藤 啓子, 「うつ, 不安症, 統合失調症モデルマウスを用いた診断薬開発の提案」 JST オープンイノベーションフェア WEST2017, グランフロント大阪北館ナレッジキャピタルコングレコンベンションセンター, 大阪, 2017 年 2 月 7-8 日 (口頭, ポスター)
14. 加藤 啓子, 「油脂飼料を摂食したシアル酸転移酵素 ST3Gal IV 遺伝子欠損マウスにおける認知行動について」 第 35 回日本糖質学会 2016 年 9 月 2 日 高知市文化プラザ かるぽーと, 高知 (ポスター)
15. 薄 美有, 廣田 暖奈, 藤田 明子, 加藤 啓子 「シアル酸転移酵素 ST3Gal IV 遺伝子欠損マウスの海馬歯状回・神経細胞の形態変化について」 第 35 回日本糖質学会 2016 年 9 月 2 日 高知 (ポスター)
16. 太田 知沙, 廣田 暖奈, 藤田 明子, 加藤 啓子 「シアル酸転移酵素 ST3Gal IV 欠損マウスの統合失調症様症状について」 第 35 回日本糖質学会 2016 年 9 月 2 日 高知 (ポスター)
17. Keiko Kato, Mechanisms of Epilepsy & Neuronal Synchronization: Sialyltransferase ST3Gal IV deletion protects temporal lobe epilepsy but induces the side effects, such as anxiety, depression, and schizophrenia in mice. Gordon Research Conference, PGA Catalunya Business and Convention Centre, Girona, Spain. August 21-26, 2016.
18. 加藤啓子, リエゾンオフィス主催 シンポジウム「脳は不思議だ - 世界は脳でつくられる - 」(2015) 10 月 31 日 京都産業大学 壬生校地 むすびわざ館 2 階ホール 環境と脳-音とチョコレート- (口頭)
19. Paitoon Srimontri, Shogo Endo, Toshiro Sakamoto, Yoshiaki Nakayama, Akira Kurosaka, Shigeyoshi Itohara, Yoshio Hirabayashi, Keiko Kato, SIALYLTRANSFERASE ST3GAL IV DELETION PROTECTS AGAINST EPILEPSY, BUT INDUCES ANXIETY, Glyco23 NEUROGLYCOSCIENCE, Croatia, Split. September 18, 2015 (口頭)

20. Haruna Hirota, Keiko Kato, POSSIBILITY THAT ST3GAL IV DEFICIENT MOUSE IS A SCHIZOPHRENIA MODEL Glyco23 NEUROGLYCOSCIENCE, Croatia, Split. September 19, 2015 (poster)
21. 加藤啓子, 食餌中の油に反応するうつ, 不安障害モデルマウス(Dietary oils and anxiety- and depression-related model mice), イノベーション・ジャパン 2015 大学見本市, 東京ビッグサイト 西1ホール, 2015年8月27日(木曜日)(口頭)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 3 件)

名称: マウスのてんかんバイオマーカー
発明者: 加藤啓子, 藤田明子
権利者: 京都産業大学
種類: 特願
番号: 特願 2018-233113
出願年: 2018年(平成30年)12月13日
国内外の別: 国内

名称: マウスのうつ及び/又は不安症バイオマーカー
発明者: 加藤啓子, 藤田明子
種類: 特願
番号: 2017-226220
出願年: 2017年(平成29年)11月24日
国内外の別: 国内

名称: ヒト尿中におけるうつ, 不安症バイオマーカー
発明者: 加藤啓子, 藤田明子, 田中雅嗣, 河合恒, 大淵修一
権利者: 京都産業大学, 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター
種類: 特願
番号: 2017-209262
出願年: 2017年(平成29年)年10月30日
国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

京都産業大学 総合生命科学部 加藤啓子

<http://www.kyoto-su.ac.jp/faculty/professors/ls/kato-keiko.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 中山 喜明
ローマ字氏名: NAKAYAMA, Yoshiaki
所属研究機関名: 神戸薬科大学
部局名: 薬学部
職名: 准教授
研究者番号(8桁): 40512455

研究分担者氏名: 黒坂 光

ローマ字氏名：KUROSAKA, Akira
所属研究機関名：京都産業大学
部局名：総合生命科学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：90186536

(2)研究協力者

研究協力者氏名：古川 潤一
ローマ字氏名：FURUKAWA, Jyunichi

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、研究者個人に帰属されます。