

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16367

研究課題名(和文)統合失調症の難治症状を形成する核内構造変化の分子病態の解明

研究課題名(英文)Intranuclear molecular pathology of schizophrenia

研究代表者

塩飽 裕紀(Shiwaku, Hiroki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：90747502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症は、現状の治療薬では十分に加療できない症状もあり、新しい病態仮説を想定して検証する必要がある。本研究では新しい病態仮説として、DNA二重らせんに対するダメージが蓄積することで、統合失調症の進行性の分子病態、すなわち残遺状態に至る分子病態になるという仮説を検証した。NMDA受容体阻害薬のPhencyclidine(PCP)の投与による統合失調症モデルマウスを用いて解析した結果、海馬のPV neuronにDNA二重鎖切断が起こっていることを見出した。その下流として、PV neuronの遺伝子発現抑制が起こっていることを見出した。これらが蓄積して、残遺状態へ進行する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、すでに提唱されている統合失調症病態だけでは理解及び治療が不十分な、残遺状態に至る進行性・蓄積性の統合失調症の認知機能障害及び陰性症状の分子病態について、これまでに触れられていないDNA二重鎖切断病態が提唱された。統合失調症は、人口の約1%が罹患し、難治な場合もある精神疾患である。そのため、本研究により、DNAダメージを抑制する治療方法が確立されれば、統合失調症の残遺状態に至らないようにする治療戦略や、至った後でも回復を促す新たな治療戦略が生まれるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：There are some patients with schizophrenia who cannot be sufficiently treated with the current therapeutic agents. It is necessary to establish and validate new pathological hypotheses. In this study, We analyzed the double-strand break of DNA damage in schizophrenia. Using mouse model of schizophrenia by PCP, we identified the double-strand breaks in PV neurons in hippocampus. As a result, we found that gene expression in PV neuron was suppressed. These damages may accumulate to form the symptoms of schizophrenia.

研究分野：精神医学、分子細胞生物学

キーワード：統合失調症 精神疾患 DNAダメージ

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、全人口の約 0.8%が罹患する頻度の高い精神疾患で、思春期以降に発症し、幻覚・妄想を初め多彩な精神症状を呈する。さらに現在の治療薬に抵抗する陰性症状や認知機能障害により慢性化し、十分な社会復帰が困難になる例が多く、病因・病態の解明と新しい治療法の開発が急がれている。統合失調症の治療に関して問題になることの一つは、急性期を繰り返したり、未加療期間が長かったりすると、現在の加療に抵抗性の病態を形成したり、また発症早期に適切な加療がなされたとしても、進行を防ぎ切れていないと感じざるを得ない病態が存在するという点である。端的に言えば、進行して蓄積していく統合失調症の分子病態の解明と治療が不十分であるために、統合失調症の残遺状態に至れば、完全に病前の状態まで戻ることが困難になると考えられる。しかし、これまで進行性の分子病態の観点から統合失調症を解明するアプローチはほとんど行われていない。

このような進行性に蓄積しうる分子病態の一つとして、本研究計画では DNA ダメージ、特にその中でも最も重篤とされる DNA 二重鎖切断の病態について提案した。申請者は、DNA 二重鎖切断は転写を抑制し (Shiwaku et al. *Curr Mol Med*. 2015) また転写抑制は DNA 二重鎖切断を引き起こして (Enokido, Shiwaku et al. *J Cell Biol* 2010) 悪循環を引き起こすことを指摘し、特に神経変性疾患での DNA 二重鎖切断の重要性について示してきた (Fujita, Shiwaku et al. *Nat Commun* 2013, Barclay, Shiwaku et al. *Hum Mol Genet* 2014)。意外なことに、これまで統合失調症では、この重篤な DNA 二重鎖切断に着目した研究が全く行われていなかった。

我々は統合失調症のリスク遺伝子に DNA ダメージ修復に関わる遺伝子の異常が含まれること (Saadat et al. 2008)、統合失調症では酸化ストレスが亢進し、特に GABA 神経細胞 (特に Parvalbumin 陽性神経細胞: PV neuron) は酸化ストレスに脆弱であること (Cabungcal et al. 2013)、DNA ダメージ修復異常と酸化ストレスが併発すると DNA 二重鎖切断につながる (Shiwaku et al. 2015) を総合的に考えて、統合失調症でも DNA 二重鎖切断が重要な病態を形成していると仮説を立てた。

2. 研究の目的

統合失調症では PV neuron の広範な遺伝子の発現が低下していることや、PV neuron の機能が低下していることが指摘され、症状との関連が指摘されている (Gonzalez-Burgos et al. 2012)。しかし、なぜ PV neuron の遺伝子発現が低下するのかは明らかにされていない。上述で指摘した PV neuron における DNA 二重鎖切断は、その蓄積と進行によって転写が抑制され、その結果、進行性に PV neuron の遺伝子発現が低下し機能低下につながる可能性が考えられる。本研究の目的は、PV neuron をはじめとして、DNA 二重鎖切断が脳内のどの部位のどの細胞に存在し、これらが統合失調症にどのように関与するかを明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) PCP による統合失調症モデルマウスでの DNA 二重鎖切断の部位と細胞の同定
NMDA 受容体阻害薬である PCP を投与した統合失調症モデルマウスで、海馬、大脳皮質、視床、小脳などの脳部位についての詳細を解析した。また他の NMDA 受容体阻害薬である MK-801 や、統合失調症様症状を引き起こすドーパミン受容体刺激薬である metamphetamine でも同様の現象が起こるかについて解析した。DNA 二重鎖切断の検出は確立されたマーカーである抗 H2AX 抗体による免疫組織化学的手法と、同じく確立された検出系であるコメットアッセイで行った。

(2) NMDA 受容体機能不全から DNA 二重鎖切断が引き起こされるメカニズムの解明
DNA ダメージ修復遺伝子の機能不全に関して、DNA ダメージ修復遺伝子やクロマチン構造制御遺伝子の発現を定量 PCR 及び、免疫組織化学的手法により解析した。

(3) DNA ダメージの背景としての炎症
統合失調症と炎症は以前から指摘されている。DNA ダメージを引き起こす原因としての免疫反応で、統合失調症に関連するものの候補として自己抗体が考えられる。統合失調症の患者血清からこれらの自己抗体を cell based assay によって検証した。

4. 研究成果

本研究により、NMDA 受容体阻害薬である PCP により、海馬の PV neuron に特に DNA 二重鎖切断が引き起こされることが分かった。これにより、PV neuron に発現している GAD67 や ErbB4 などの発現が低下していることが明らかになった。これは統合失調症患者でみられている変化と一

致しており、NMDA 受容体の機能不全による DNA 二重鎖切断が、PV neuron のこれらの発現低下の背景になり得ることを示した。また、これらの発現低下の背景に、PGC1alpha などの発現低下が関与する知見を得た。

また、NMDA 受容体の機能不全の他に DNA ダメージにつながりうるものとして、患者血清の中の自己抗体を候補に挙げた。統合失調症では NMDA 受容体に対する自己抗体が報告されているが、これは抗体価が低かったり、健常者でも見つかったりと、統合失調症の病態に十分関わり得るかは未確定な部分が多い。そのため、まだ統合失調症で十分に解明されていない自己抗体について解析を行った。そこで、Cell based assay により、GABAA 受容体 alpha1 サブユニットに対する自己抗体を解析したところ、統合失調症患者の約 4%程度にこの自己抗体が存在することを見出した。これらは、統合失調症の GABA 病態に関わり得る知見であり、PV neuron の機能不全やその DNA ダメージにも関わり得るかもしれない(Shiwaku et al. 2020)。

今後は、この自己抗体が統合失調症の病態にどのようにかわるか、また今回新規に、統合失調症で GABAA 受容体 alpha1 サブユニットに対する自己抗体が明らかになったが、さらに新規の自己抗体があり得るかを研究する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shiwaku H, Nishikawa T	4. 巻 74
2. 論文標題 Paroxetine ameliorates whole-body allodynia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Clin Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 979-980
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00228-018-2438-0.	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 -
1. 著者名 塩飽裕紀、田村起紘、治徳大介、車地暁生、西川徹	4. 巻 34
2. 論文標題 Donepezil により精神病症状を伴う重症うつ病エピソードが誘発された1例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 精神科治療学	6. 最初と最後の頁 231-236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Shiwaku H, Umino A, Umino M, Nishikawa T.	4. 巻 1674
2. 論文標題 Phencyclidine-induced dysregulation of primary cilia in the rodent brain.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 62-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2017.08.022.	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 -
1. 著者名 Fujita K, Mao Y, Uchida S, Chen X, Shiwaku H, Tamura T, Ito H, Watase K, Homma H, Tagawa K, Sudo I, Okazawa H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Developmental YAPdeltaC determines adult pathology in a model of spinocerebellar ataxia type 1.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1864
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-017-01790-z.	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 -

1. 著者名 Shiwaku H, Nakano Y, Kato M, Takahashi H.	4. 巻 216
2. 論文標題 Detection of autoantibodies against GABAAR 1 in patients with schizophrenia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Schizophr Res.	6. 最初と最後の頁 543-546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.schres.2019.10.007.	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 -

1. 著者名 Tamura T, Shiwaku H, Jitoku D, Kurumaji A.	4. 巻 21(5)
2. 論文標題 Effect of Tansospirone, a Partial Agonist of the 5-HT1A Receptor, in a Patient With Chronic Poststroke Emotional Incontinence With Anxiousness.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Prim Care Companion CNS Disord.	6. 最初と最後の頁 18102403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4088/PCC.18102403.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 塩飽裕紀、田村起紘、治徳大介、車地暁生、西川徹
2. 発表標題 ドネペジルにより精神病症状を伴う重症うつ病エピソードが誘発された1例
3. 学会等名 第114回 日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩飽裕紀、西川徹
2. 発表標題 ROSS 症候群における片側の脱力発作と脳幹の新規アセチルコリン病態
3. 学会等名 第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroki Shiwaku, Yuri Nakano, Hidehiko Takahashi
2. 発表標題 Detection of autoantibodies against GABAAR 1 in patients with schizophrenia.
3. 学会等名 Australasian Neuroscience society annual scientific meeting (国際学会)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----