

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08011

研究課題名（和文）シナプス分子に対する新規自己抗体による難治性精神症状の病態解明

研究課題名（英文）Analysis of the Pathogenesis of Novel Autoantibodies Targeting Synaptic Molecules in Psychiatric Disorders

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・テニュアトラック准教授

研究者番号：90747502

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症患者で脳炎でも報告のないシナプス接着分子NCAM1に対する自己抗体が約5.4%（12名/223名）に存在することを発見した（Shiwaku et al. Cell Rep Med. 2022）。さらに2.1%（8名/387名）にNRXN1に対する自己抗体も発見した（Shiwaku et al. Brain Behav Immun. 2023）。これらの自己抗体陽性の患者からIgGを精製し、マウスの髄液中に投与することで、自己抗体が、NCAM1やNRXN1の分子間結合を阻害し、シナプス/スパインの減少につながり、さらに統合失調症関連行動を誘発することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の精神科領域の研究の中心課題は、難治性の病態の治療・バイオマーカーの確立・早期介入などである。本研究計画で明らかになった精神症状の原因となりえる自己抗体は、そのままバイオマーカーとなりえる。また、今後これらの自己抗体を除去する免疫学的治療の妥当性を治験等で明らかにできれば、難治性の病態の治療につながる。さらには、バイオマーカーとして、発症前からの早期介入にも寄与するなど、精神科領域の疾病概念や治療を大きく変える将来展望と波及効果がある。

研究成果の概要（英文）：We identified that approximately 5.4% (12 out of 223) of patients with schizophrenia possess autoantibodies against NCAM1, a synaptic adhesion molecule not previously associated with encephalitis (Shiwaku et al., Cell Rep Med, 2022). Additionally, autoantibodies against NRXN1 were detected in 2.1% (8 out of 387) of patients (Shiwaku et al., Brain Behav Immun, 2023). Purified IgG from these autoantibody-positive patients was administered intrathecally into mice. This resulted in the inhibition of NCAM1-NCAM1 and NRXN1-NLGN1/2 intermolecular binding, leading to reduced synapse and spine density, and subsequently induced behaviors associated with schizophrenia.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 自己抗体 NCAM1 NRXN1 シナプス 自己免疫性精神病

1. 研究開始当初の背景

統合失調症、うつ病、双極性障害、不安障害等の精神疾患は、発症率が高いうえに、薬物療法が奏功しない症状や易再発性によって、十分な回復または社会復帰が難しい患者が多く、医学的のみならず社会的にも、これらの難治性症状の病態解明と診断・治療法の開発が急務となっている。本研究の根本的な核心となる「問い」は、これらの疾患に対して、現在の臨床で用いられる薬物療法が奏効する患者がいる一方で、「著しい薬物治療抵抗性を示したり、一見治療が奏功したように見えた後でも不安定に病状が再燃したりする患者の分子細胞生物学的な病態背景には何があるか」ということである。

この問いを考える一つの仮説が自己抗体病態である。例えば統合失調症の中核的な病態としてドパミン病態と並んで NMDA 型グルタミン酸受容体の機能不全がある。近年、①NMDA 受容体への自己抗体をもつ脳炎患者が統合失調症と同様の症状を呈する (Hanly et al. 2014)、②脳炎のない統合失調症の約 5~10%に抗 NMDA 受容体抗体が検出される (Ezeoke et al. 2013)、等の所見が報告されている。統合失調症は原因が異なる複数の疾患を含むことが示唆される (異種性) ことから、一群の統合失調症が抗 NMDA 受容体抗体に起因する可能性が指摘されている。すなわち、脳炎を起こさないレベルであっても分子機能を阻害する程度に自己抗体が存在すれば、精神症状を引き起こして、症状の慢性化や易再発性の背景になり得るということである。また、脳炎患者から NMDA 受容体以外のシナプス分子に対する新規自己抗体が見つかってきており、さらに未知の自己抗体が存在する可能性があり得る (Dalmau et al. 2016)。これらの中には受容体に限らず細胞接着分子などに対する自己抗体も含まれるだろう。これまで統合失調症のリスク遺伝子にいくつかのシナプス分子が指摘されている。これらから想定される仮説は「統合失調症のリスク遺伝子に挙げられるシナプス分子に対する既知・未知の自己抗体が難治性の統合失調症の症状を形成する」ということである。実際、統合失調症様の症状を呈した自己抗体の関与が疑われる脳炎・脳症で、抗 NMDA 受容体抗体が陰性になる症例がある。このような症例では他の自己抗体が統合失調症様の症状を引き起こしている可能性がある。さらに、同様の概念は統合失調症以外の精神疾患にも適応可能である。そこで、本研究の核心となる学術的な問いを「シナプス分子に対する未知の新規自己抗体が難治性精神症状を形成するか」として研究計画を提案した。

2. 研究の目的

本研究計画の目的は、上述した新しい仮説・問いを検証することである。これまで NMDA 受容体に対する自己抗体と統合失調症の関係は繰り返し報告されているが、その他のシナプス分子に対する自己抗体と統合失調症の関係、さらにその他の精神疾患との関係は調べられていない。そのため、本研究は未知の自己抗体の発見も射程に入れながら、さらに精神疾患との関与を明らかにする点で学術的・臨床的な独自性がある。また本研究で明らかになるシナプス分子に対する自己抗体は難治性の精神症状のマーカーになることが予想される。本研究で提唱される自己抗体を背景とした難治性病態に対して、例えば免疫学的な治療介入も含めた、新たな治療戦略にもつながる創造性がある。さらに、自己抗体の作用機序の解明や、それによる難治性病態のバイオマーカーの確立は、自己抗体に起因しない難治性症状の基盤となる分子カスケードや細胞機能異常を探索するプローブとして役立つと考えられ、新しい精神疾患治療薬の標的開発を加速させる波及効果をもたらすと推察される。

3. 研究の方法

3-1. 患者血液サンプルの収集

本研究計画は次項で記載する実験系において患者血液サンプルを使用する。本研究計画はすでに東京医科歯科大学の倫理委員会の承認を得ており、健常者約 360 名程度、統合失調症患者約 380 名の血清を収集した。

3-2. 自己抗体を検出する実験系として cell based assay が広く利用されている。我々も HeLa 細胞に、統合失調症との関連が指摘されてきたシナプス受容体や細胞接着分子をプラスミドベクターで発現させ、患者血清との免疫細胞化学的反応を観察することにより、患者血清内の自己抗体を検出した。また、これまで精神疾患との関連が報告されていないシナプス分子についてもクローニングを行い、同様の解析を行う。数十個の遺伝子をクローニングすることで幅広い分子をターゲットにした。

3-3. 自己抗体陽性患者に共通する臨床症状の解明

標的分子に応じたそれぞれの自己抗体陽性患者に共通する精神症状を評価した。また既知の自己抗体陽性患者は、腫瘍を伴っていることが知られており、身体症状の評価も併せて行った。

3-4. 初代培養細胞・モデルマウスによる自己抗体病態の解明

前項で明らかになった自己抗体が標的分子の機能にどのように影響するかについて初代培養細胞や脳スライス標本を用いて解析した。すなわち、初代培養神経細胞や脳スライス標本に自己抗体を投与することで、標的分子の局在の変化、下流分子シグナルの変化、スパインの形態変化、神経電気生理学的の変化などを、分子生物学的・形態学的・電気生理学的アプローチにより解析する。また、マウスに自己抗体を投与した病態モデルマウスを作製し、行動実験を行うことで、自己抗体が精神症状の病態の原因になり得ることを示した。

4. 研究成果

4-1. 統合失調症における抗 NCAM1 自己抗体の発見

上記に記載したように、健常者 201 名と統合失調症患者 223 名の血清を用いて、Cell-based assay で NCAM1 に対する自己抗体のスクリーニングを行った。その結果 12 人の統合失調症患者 (5.4%) が抗 NCAM1 自己抗体陽性であった。抗 NCAM1 自己抗体陽性の統合失調症患者では、脳脊髄液 (CSF) 中にも抗 NCAM1 自己抗体が存在したが、これらの患者の髄液の蛋白濃度および白血球数は正常であった。これらの患者では、他の患者と比較して、せん妄や脳炎を含む明瞭な精神・神経症状はみられなかった。さらに、がんや自己免疫疾患などの共通の病歴はなかった。これらの患者では幻覚や妄想を含む精神症状は、2 剤以上の抗精神病薬の使用にもかかわらず残存しており、治療抵抗性であった。

4-2. 抗 NCAM1 自己抗体による病態

我々は抗 NCAM1 自己抗体のエピトープを探索するために複数の deletion 実験を行った。その結果、NCAM1 の最も N 末に存在する Ig1 ドメインにエピトープが存在することを明らかにした。また、抗 NCAM1 自己抗体は NCAM1 どちらのホモ結合を阻害し、また NCAM1 と GDNF の結合を阻害すること明らかにした。もし統合失調症患者に見られる抗 NCAM1 抗体が NCAM1-NCAM1 および NCAM1-GDNF 結合を阻害するのであれば、これらの自己抗体を投与したマウスにおいて、分子シグナルの異常、スパインやシナプスの形成異常、統合失調症に関連した行動を引き起こすと考えられた。これを検証するために、統合失調症患者と年齢・性別をマッチさせた健常者から IgG を精製し、マウス (8 週齢) の髄腔内に注入した。その 1 週間後に分子シグナル伝達、スパインとシナプスの形成、行動を解析した。

NCAM1-NCAM1 結合と GDNF-NCAM 結合は、NCAM1 の細胞質ドメインと Fyn の接触を誘導する。この相互作用は Fyn を活性化し、Fyn は FAK をリン酸化する。そこで、抗 NCAM1 自己抗体陽性患者から精製した IgG をマウスに投与することで、これらのシグナル伝達 (NCAM1 と Fyn の結合、FAK、MEK1、ERK1 のリン酸化) が阻害されるかどうかを調べた。免疫沈降法による解析で、NCAM1 と共沈した Fyn の量を解析したところ、抗 NCAM1 自己抗体の存在により、NCAM1 と Fyn の結合が減少していることが明らかになった。さらに、抗 NCAM1 自己抗体陽性患者から精製した IgG は FAK、MEK1、ERK1 のリン酸化を阻害した。これらの結果は、抗 NCAM1 自己抗体による NCAM1-NCAM1 および NCAM1-GDNF 結合の阻害が、NCAM1-Fyn の相互作用を障害し、FAK、MEK1 および ERK1 のリン酸化を低下させることを示している。

これらの結果から、抗 NCAM1 自己抗体がスパインとシナプスに変化を引き起こすことが推定された。このことを確かめるために、患者 IgG を髄腔内に投与したマウスの 2 光子顕微鏡による解析を行った。その結果、抗 NCAM1 自己抗体陽性患者から精製した IgG を投与したマウスは、前頭皮質においてスパインとシナプスの減少を示した。

最後に、抗 NCAM1 自己抗体が統合失調症に関連する行動変化を引き起こすかどうかを、自己抗体を投与したマウスを用いて解析した。抗 NCAM1 自己抗体陽性患者から精製した IgG を投与すると、Y 迷路試験における認知機能が低下した。さらに、統合失調症患者の IgG を投与したマウスは、統合失調症の中間表現型として確立しているプレパルス抑制が障害されていた。一方で、オープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、3 chamber 試験において、それぞれ運動活性、不安行動、社会的相互作用に異常を示さなかった。

これらの結果は、抗 NCAM1 自己抗体陽性患者から精製した IgG から NCAM1 リコンビナントタンパクによって抗 NCAM1 自己抗体を除去した IgG では引き起こされず、確かに抗 NCAM1 自己抗体がこれらの異常を引き起こしていることが確認された。

4-3. 統合失調症における抗 NRXN1 自己抗体の発見

抗 NCAM1 抗体の発見以降、我々はさらに新しいシナプス自己抗体の探索を前述の cell-based

assay で行った。その結果、我々は neurexin 1 (NRXN1) に対する自己抗体も統合失調症患者から発見した (387 名中 8 名 (2.1%)) の血清及び髄液中から発見した。29 健常者 362 名には陽性者はいなかった。NRXN1 はプレシナプスに存在するシナプス接着分子で、neuroligins を含む様々なポストシナプスの分子と結合するシナプス結合の「ハブ」になっている分子である。NRXN1 のみを遺伝子として含む 2p16.3 領域の deletion syndrome の統合失調症の Odds 比は 14.4 で、この領域に含まれる遺伝子は NRXN1 のみで、NRXN1 の遺伝子変異そのものの odds 比も 5.02 であることから、NRXN1 遺伝子変異と統合失調症の関連が指摘されてきた。30, 31 また NRXN1 遺伝子は ASD や知的障害とも関連が指摘されている遺伝子でもある。抗 NRXN1 自己抗体は NRXN1 の LNS6 ドメインを含むポリクローナルな自己抗体で、LNS6 ドメインは NRXN1 のスプライシングバリエントである NRXN1 α ・NRXN1 β に共通して含まれるドメインである。このドメインは NLGN1, 2 等との結合に必要で、実際、抗 NRXN1 自己抗体は NRXN1 と NLGN1, 2 との結合を阻害することが確かめられた。さらに、抗 NCAM1 自己抗体と同様に、抗 NRXN1 自己抗体陽性の患者から IgG を精製し、マウスの髄液中に投与したところ、電気生理学的変化や、シナプス・スパインの減少や、認知機能低下やプレパルスインヒビションの障害、社交性の障害など、統合失調症に関連した行動異常が見られた。また、この精製した IgG から抗 NRXN1 自己抗体を除去したものは、上記の表現型は消失し、確かに抗 NRXN1 自己抗体が原因になっていることが確かめられた。抗 NCAM1 自己抗体陽性患者と抗 NRXN1 自己抗体陽性患者の間には重複はなく、その合計は 7.5% となることから、統合失調症における自己抗体病態の有病率が比較的高いことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Shiwaku Hiroki, Katayama Shingo, Gao Mengxuan, Kondo Kanoh, Nakano Yuri, Motokawa Yukiko, Toyoda Saori, Yoshida Fuyuko, Hori Hiroaki, Kubota Tetsuo, Ishikawa Kinya, Kunugi Hiroshi, Ikegaya Yuji, Okazawa Hitoshi, Takahashi Hidehiko	4. 巻 111
2. 論文標題 Analyzing schizophrenia-related phenotypes in mice caused by autoantibodies against NRXN1 in schizophrenia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Brain, Behavior, and Immunity	6. 最初と最後の頁 32 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbi.2023.03.028	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 -

1. 著者名 Kubota Manabu, Takahata Keisuke, Matsuoka Kiwamu, Sano Yasunori, Yamamoto Yasuharu, Tagai Kenji, Tarumi Ryosuke, Suzuki Hisaomi, Kurose Shin, Nakajima Shinichiro, Shiwaku Hiroki, Seki Chie, Kawamura Kazunori, Zhang Ming-Rong, Takahashi Hidehiko, Takado Yuhei, Higuchi Makoto	4. 巻 49
2. 論文標題 Positron Emission Tomography Assessments of Phosphodiesterase 10A in Patients With Schizophrenia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Schizophrenia Bulletin	6. 最初と最後の頁 688 ~ 696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/schbul/sbac181	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 Takehiro, Sugihara Genichi, Okita Kyoji, Mukai Yohei, Matsuda Hiroshi, Shiwaku Hiroki, Takagi Shunsuke, Daisaki Hiromitsu, Tateishi Ukihide, Takahashi Hidehiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Dopamine dysfunction in depression: application of texture analysis to dopamine transporter single-photon emission computed tomography imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-022-02080-z	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 -

1. 著者名 Shiwaku H, Katayama S, Kondo K, Nakano Y, Tanaka H, Yoshioka Y, Fujita K, Tamaki H, Takebayashi H, Terasaki O, Nagase Y, Nagase T, Kubota T, Ishikawa K, Okazawa H, Takahashi H.	4. 巻 3(4)
2. 論文標題 Autoantibodies against NCAM1 from patients with schizophrenia cause schizophrenia-related behavior and changes in synapses in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Rep Med.	6. 最初と最後の頁 100597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xcrm.2022.100597.	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 -

1. 著者名 Jin M, Shiwaku H, Tanaka H, Obita T, Ohuchi S, Yoshioka Y, Jin X, Kondo K, Fujita K, Homma H, Nakajima K, Mizuguchi M, Okazawa H.	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 6565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-26851-2.	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 Katayama S, Kubota T, Takahashi H, Shiwaku H.	4. 巻 21(1)
2. 論文標題 Anti-rods/rings autoantibodies in a patient with pancreatic injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Autoimmun Rev	6. 最初と最後の頁 102922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.autrev.2021.102922.	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 Matsumoto Y, Fujino J, Shiwaku H, Miyajima M, Doi S, Hirai N, Jitoku D, Takagi S, Tamura T, Maruo T, Shidei Y, Kobayashi N, Ichihashi M, Noguchi S, Oohashi K, Takeuchi T, Sugihara G, Okada T, Fujiwara T, Takahashi H.	4. 巻 137
2. 論文標題 Factors affecting mental illness and social stress in hospital workers treating COVID-19: Paradoxical distress during pandemic era	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Psychiatr Res.	6. 最初と最後の頁 298-302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpsychires.2021.03.007.	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 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 Schizophrenia Research	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 Shiwaku H, Fujita M, Takahashi H.	4. 巻 9(6)
2. 論文標題 Benzodiazepines Reduce Relapse and Recurrence Rates in Patients with Psychotic Depression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 E1938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9061938.	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 -

1. 著者名 Shiwaku H, Doi S, Miyajima M, Matsumoto Y, Fujino J, Hirai N, Jitoku D, Takagi S, Tamura T, Maruo T, Shidei Y, Kobayashi N, Ichihashi M, Noguchi S, Oohashi K, Takeuchi T, Sugihara G, Okada T, Fujiwara T, Takahashi H.	4. 巻 75
2. 論文標題 Novel brief screening scale, Tokyo Metropolitan Distress Scale for Pandemic (TMDP), for assessing mental and social stress of medical personnel in COVID-19 pandemic	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychiatry Clin Neurosci.	6. 最初と最後の頁 24-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.13168.	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
2. 論文標題 Effect of Tandospirone, 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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 塩飽裕紀, 片山真吾, 高橋英彦
2. 発表標題 統合失調症の抗NCAM1自己抗体はマウスで統合失調症関連行動とシナプス変化を誘発する
3. 学会等名 第44回 日本生物学的精神医学会, BPCNP4学会合同年会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩飽裕紀, 片山真吾, 高橋英彦
2. 発表標題 統合失調症の新規自己抗体病態の発見と病態解析
3. 学会等名 第43回 日本生物学的精神医学会・第51回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塩飽 裕紀, 中野 悠里, 高橋 英彦
2. 発表標題 統合失調症における抗GABAA受容体 1抗体の検出
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塩飽 裕紀, 中野 悠里, 高橋 英彦
2. 発表標題 統合失調症における抗GABA受容体抗体および新規シナプス抗体の解析
3. 学会等名 NPBPPP2020 合同年会 (第42回日本生物学的精神医学会年会・第50回日本神経精神薬理学会年会・第4回日本精神薬学会総会)
4. 発表年 2020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 2019.12.04 Aderaide (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 脳神経疾患の検査、治療もしくは予防のための方法	発明者 塩飽裕紀 高橋英彦 岡澤均	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-161399	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------