

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：14501
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2021～2022
課題番号：21K19351
研究課題名（和文）レジリエンスの新基礎医学的理解への挑戦

研究課題名（英文）Basic medicine of resilience

研究代表者

内匠 透（Takumi, Toru）

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：00222092

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：時計タンパク質PER2のリン酸化変異により、睡眠・覚醒リズム変異、気分の状態変異（うつ、レジリエンス）を表出するマウスモデルを作製した。リン酸化酵素の阻害剤としては、リチウム（気分安定薬）が知られているが、リン酸化酵素タンパク質の網羅的スクリーニングより、PER2リン酸化の上流として、CMGCリン酸化酵素を同定した。さらに、PER2リン酸化の下流として、PPAR gammaを同定し、PER2リン酸化が睡眠・気分のみならず代謝とも関連することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在気分障害のマウスモデルとしては、社会的敗北ストレスによるセセプタブルもしくはレジリエンスモデルが知られているが、その分子の基盤は不明である。本レジリエンスモデルマウスは、分子のメカニズムが明らかなモデルマウスで、これまでのモデルとは一線を画する新規マウスモデルである。

研究成果の概要（英文）：A mouse model was created in which phosphorylation mutations in the clock protein PER2 express sleep-wake rhythm mutations and mood state mutations (depression, resilience). Although lithium (mood stabilizer) is a known kinase inhibitor, we identified CMGC protein kinase as upstream kinases of PER2 phosphorylation based on a comprehensive screening of kinase proteins. Furthermore, we identified PPAR gamma as a downstream molecule of PER2 phosphorylation, suggesting that PER2 phosphorylation is related not only to sleep and mood but also to metabolism.

研究分野：病態医化学

キーワード：レジリエンス リン酸化 時計タンパク質

1. 研究開始当初の背景

レジリエンス (resilience) とは「攪乱を吸収し、基本的な機能と構造を保持続けるシステムの能力」を意味し、元々は物性科学で「弾性」の意味で、60年代には生態学で「適応能力」「回復力」の意味で、80年代には心理学で、そして昨今精神医学の分野でも使われ、社会においても「レジリエンスな社会」を耳にするようになった。実臨床においては、同じストレスを受けてもうつになる人、ならない人がいる事はよく知られた事実であり、近年では、ストレスに対して抵抗力と回復力の二側面をもたらす気分調節機能として、レジリエンス、すなわち内因性の「何らかのもの」の重要性が示唆されている。より強いレジリエンスを発揮する事がうつ発症に対する予防・緩衝要因になるという考えである。

2. 研究の目的

本研究では、概日リズムとうつの関連研究から偶発的に生まれたレジリエンスモデルをもとに、レジリエンスの分子的基盤である時計タンパク質の新規リン酸化酵素 (キナーゼ) を同定し、その阻害剤の開発とともに、これまでにない全く新しい作用機序の気分安定薬、抗うつ薬の開発の基盤を提供する。またレジリエンスの分子カスケードを明らかにする。さらにレジリエンスの標的脳部位を探索する事を目的とする。本研究の成果は、ストレスに対する内因性の「何らかのもの」という物質的根拠のないレジリエンスに対して分子的基盤を与えるものであり、これまで生物学的理解がなかなか進まなかったうつ病研究領域に新たな概念を提唱するものである。また生理学・薬理的なストレス研究の方向性を大きく変革・転換させる潜在性を有している。

3. 研究の方法

これまでの概日リズムと気分障害 (うつ) との分子相関に関する応募者 (内匠) の一連の研究の結果、時計タンパク質 PER2 のリン酸化変異ノックイン (KI) マウスをレジリエンスモデルとして確立した。本部位に相当するアミノ酸残基は生物種を超えて保存されており、この部位のリン酸化シグナルが進化的・生理的に重要な意義を持つ事を示唆している。リン酸化変異の周辺アミノ酸配列はキナーゼである GSK3 β の典型的なリン酸化モチーフ「S-X-X-X-S-P」に対応しており、このとき一般に GSK3 β による N 末端側のセリンのリン酸化には C 末端側のセリンがあらかじめ別のプライミングキナーゼによってリン酸化される必要がある。さらにリン酸化部位はプロリンと隣接しているため、このプライミングキナーゼの正体は MAPK ファミリーや CDK5 などのプロリン指向性キナーゼである可能性が高い。本研究ではプライミングキナーゼの探索とともに、レジリエンスの分子カスケードを明らかにするためにシグナル分子の網羅的探索、さらにレジリエンスの神経回路を明らかにするために標的脳部位の探索を行う。

(A) プライミングキナーゼの探索

(a) 候補阻害剤によるスクリーニング: プライミングキナーゼの探索は、周辺アミノ酸配列から責任キナーゼを予測した上で、各種キナーゼ阻害剤と PER2 のリン酸化状態を特異的に認識するリン酸化抗体を用いる。具体的には、各種キナーゼ阻害剤を投与した培養細胞よりタンパク質を抽出してウェスタンブロット解析に供し、PER2 リン酸化抗体のシグナルを指標に阻害剤の効果をスクリーニングする実験系を構築する。十分な感度・特異性を持った

PER2 リン酸化抗体の作出および性状解析は既に完了済みである。

(b) siRNA ライブラリーを用いたスクリーニング：キナーゼを中心とした（網羅的遺伝子ノックダウンのための）siRNA ライブラリーを用いて、培養細胞に導入し、上記同様 PER2 リン酸化抗体のシグナルを指標にその効果をスクリーニングする。

(c) リン酸化酵素ライブラリーによる網羅的検索

(B) レジリエンスの分子シグナルの探索

PER2 リン酸化変異 KI マウスに社会的敗北ストレス（social defeat stress）を与えて、概日時計中枢である視床下部の視交差上核（SCN, suprachiasmatic nucleus）及びうつとの関連が示唆されている前頭前皮質（PFC, prefrontal cortex）を摘出し、それぞれ対照群と共に RNA-seq 解析に供する。バイオインフォマティクス解析により、レジリエンスに関わるシグナル分子及びその病態パスウェイを明らかにする。

(C) レジリエンスの神経回路の探索

PER2 リン酸化変異 KI マウスおよび対照群に社会的敗北ストレスを与えた際の反応領域を調べる。

4. 研究成果

時計タンパク質 PER2 のリン酸化変異により、睡眠・覚醒リズム変異、気分の状態変異（うつ、レジリエンス）を表出するマウスモデルを作製した。リン酸化酵素の阻害剤としては、リチウム（気分安定薬）が知られているが、リン酸化酵素タンパク質の網羅的スクリーニングより、PER2 リン酸化の上流として、CMGC リン酸化酵素を同定した。さらに、PER2 リン酸化の下流として、PPAR γ を同定し、PER2 リン酸化が睡眠・気分のみならず代謝とも関連することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Awasthi JR, Tamada K, Overton ETN, Takumi T	4. 巻 529
2. 論文標題 Comprehensive topographical map of the serotonergic fibers in the male mouse brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Comp Neurol	6. 最初と最後の頁 1391-1429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25027	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 Tamada K, Fukumoto K, Toya T, Nakai N, Awasthi JR, Tanaka S, Okabe S, Spitz F, Saitow F, Suzuki H, Takumi T	4. 巻 12
2. 論文標題 Genetic dissection identifies Necdin as a driver gene in a mouse model of paternal 15q duplications.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 4056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24359-3	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 該当する
1. 著者名 Nomura J, Mardo M, Takumi T	4. 巻 159
2. 論文標題 Molecular signatures from multi-omics of autism spectrum disorders and schizophrenia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 647-659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15514.	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 該当する
1. 著者名 Ono D, Honma KI, Schmal C, Takumi T, Kawamoto T, Fujimoto K, Kato Y, Honma S	4. 巻 11
2. 論文標題 CHRONO and DEC1/DEC2 compensate for lack of CRY1/CRY2 in expression of coherent circadian rhythm but not in generation of circadian oscillation in the neonatal mouse SCN	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 19240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98532-5	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 Yoshitane H, Imamura K, Okubo T, Otobe Y, Kawakami S, Ito S, Takumi T, Hattori K, Naguro I, Ichijo H, Fukada Y	4. 巻 37
2. 論文標題 mTOR-AKT Signaling in Cellular Clock Resetting Triggered by Osmotic Stress.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxid Redox Signal	6. 最初と最後の頁 631-646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2021.0059.	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 Lin C-W, Septyaningtrias DE, Chao H-W, Konda M, Atarashi K, Takeshita K, Tamada K, Nomura J, Sassa-gawa Y, Tanaka K, Nikaido I, Honda K, McHugh TL, Takumi T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 A common pathologic mechanism across cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol 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/s41380-022-01566-y	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 該当する

1. 著者名 内匠 透	4. 巻 9
2. 論文標題 レジリエンスの生物学的基盤	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 DEPRESSION JOURNAL	6. 最初と最後の頁 20-21
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 無
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 早田敦子、内匠 透	4. 巻 32
2. 論文標題 概日リズムのクロノタイプと気分障害に関わるストレスレジリエンス	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 174-178
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 無
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 Lin Chia-Wen, Septyaningtrias Dian E., Chao Hsu-Wen, Konda Mikiko, Atarashi Koji, Takeshita Kozue, Tamada Kota, Nomura Jun, Sasagawa Yohei, Tanaka Kaori, Nikaido Itoshi, Honda Kenya, McHugh Thomas J., Takumi Toru	4. 巻 27
2. 論文標題 A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Psychiatry	6. 最初と最後の頁 3343 ~ 3354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41380-022-01566-y	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 該当する

1. 著者名 Imamura Kiyomichi, Takumi Toru	4. 巻 13
2. 論文標題 Mood phenotypes in rodent models with circadian disturbances	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms	6. 最初と最後の頁 100083 ~ 100083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbscr.2022.100083	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 Lin Chia-Wen, Ellegood Jacob, Tamada Kota, Miura Ikuo, Konda Mikiko, Takeshita Kozue, Atarashi Koji, Lerch Jason P., Wakana Shigeharu, McHugh Thomas J., Takumi Toru	4. 巻 in press
2. 論文標題 An old model with new insights: endogenous retroviruses drive the evolvement toward ASD susceptibility and hijack transcription machinery during development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Psychiatry	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41380-023-01999-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 該当する

1. 著者名 Nakai Nobuhiro, Sato Masaaki, Yamashita Okito, Sekine Yukiko, Fu Xiaochen, Nakai Junichi, Zalesky Andrew, Takumi Toru	4. 巻 42
2. 論文標題 Virtual reality-based real-time imaging reveals abnormal cortical dynamics during behavioral transitions in a mouse model of autism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 112258 ~ 112258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112258	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 該当する

1. 著者名 内匠 透	4. 巻 41
2. 論文標題 睡眠・覚醒リズムを規定する遺伝子：朝方・夜型クロノタイプ	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PROGRESS IN MEDICINE	6. 最初と最後の頁 1191-10194
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 無
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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Resilience model with a sleep rhythm variant of PER2
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高野 (早田) 敦子、山脇洋輔、今村聖路、内匠透
2. 発表標題 時計遺伝子PER2のリン酸化と精神的ストレス応答との関連
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村聖路、早田 (高野) 敦子、山脇洋輔、内匠透
2. 発表標題 ASPSおよびストレスレジリエンスを引き起こす新規PER2変異
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内匠透
2. 発表標題 神経発達症の脳科学
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 藤村 昭夫	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 252
3. 書名 適正使用のための臨床時間治療学	

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

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