

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791362

研究課題名（和文）

オリゴデンドロサイト前駆細胞に注目した統合失調症の病因・病態解明

研究課題名（英文）

Etiology elucidation of schizophrenia that focus on oligodendrocyte progenitor cells

研究代表者

豊島 学 (TOYOSHIMA MANABU)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・基礎科学特別研究員

研究者番号：90582750

研究成果の概要（和文）：

本研究では、統合失調症の発症メカニズムやその病態に対して NG2(+)細胞がどのように関与しているかを明らかにするため、統合失調症薬理モデルマウス、精神疾患治療薬投与マウスを作製し、NG2(+)細胞数の変化やNG2(+)細胞特異的な遺伝子発現変化を解析した。その結果、Lithium を投与した NG2DsRed マウスにおいて、NG2(+)細胞数の減少と *Rbpj* 遺伝子の発現増加が認められた。*Rbpj* は、Notch シグナルの主要な伝達因子であることから、Lithium は Notch シグナルを介して NG2(+)細胞の分化や増殖を制御する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We analyzed change of gene expression and cell counts in NG2 (+) cell by using therapeutic drug-treated NG2DsRed mice and schizophrenia-model NG2DsRed mice. We observed that NG2 (+) cell counts and expression of *Rbpj* gene changed in the lithium-treated NG2DsRed mice. These results suggest that Lithium controls the proliferation and differentiation of NG2 (+) cells via Notch signaling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：統合失調症、NG2(+)細胞

1. 研究開始当初の背景

(1) 統合失調症感受性遺伝子としての

FABP7

我々は、統合失調症のエンドフェノタイプの一つであるプレパルス抑制 (prepulse inhibition: PPI) に注目し、マウスの PPI の制御に関与する遺伝子を探索 (QTL 解析) した結果、*Fabp7* (Fatty acid binding protein 7) を責任遺伝子の一つとして同定した。実際 *Fabp7* 遺伝子欠損マウスには PPI の顕著な障害が認められた。さらに、ヒトにおいても、FABP7 遺伝子が統合失調症の感受性遺

伝子であることを明らかにした (Watanabe et al., PLoS Biology 2007)。

(2) NG2(+)細胞と統合失調症

マウス脳における *Fabp7* の発現解析を行った結果、前頭葉において *Fabp7* はその 90% 以上が NG2(+)細胞に一致して発現しており、このことは *Fabp7* の質的・量的な異常は、NG2(+)細胞の機能に反映される可能性を意味している。NG2(+)細胞は第 4 のグリアとも呼ばれ、成体脳で分裂している細胞の中では最大の集団を構成しており、その数は脳細胞の約 5% を占めている (Dawson et al.,

2000)。この NG2(+)細胞は、オリゴデンドロサイトの前駆細胞(多分化能と自己複製能を持つ)である以外に、近年では、NG2(+)細胞自身が GABA 入力を受けて BDNF を分泌する(Tanaka et al., 2009)、という 2 つの特徴をもつ特殊な細胞であることが知られており、脳におけるその生理的な役割に注目が集まっている。(図 1)

これまで NG2(+)細胞の研究は、主にオリゴデンドロサイトへの分化や、その後のミエリン形成に注目した生物学的研究が行われており、精神疾患に注目した研究は少なかった。ところが、近年統合失調症の死後脳を用いた cDNA マイクロアレイ解析によって、統合失調症の死後脳ではオリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現低下が起こることが明らかにされたことから(Aberg et al., 2006; Georgieva et al., 2006)、オリゴデンドロサイトと統合失調症の関連が注目されることとなった。また死後脳の解析では、オリゴデンドロサイト関連遺伝子だけではなく、GABA 系関連遺伝子群の発現低下も報告されている。(Sequeria and Turecki, 2006)。NG2(+)細胞は、(1)オリゴデンドロサイトに分化しうる細胞であること、(2)GABA 入力を受けていること、という 2 つの事実は、NG2(+)細胞の統合失調症の病態あるいは病因との関連を示唆するものとして極めて興味深い。

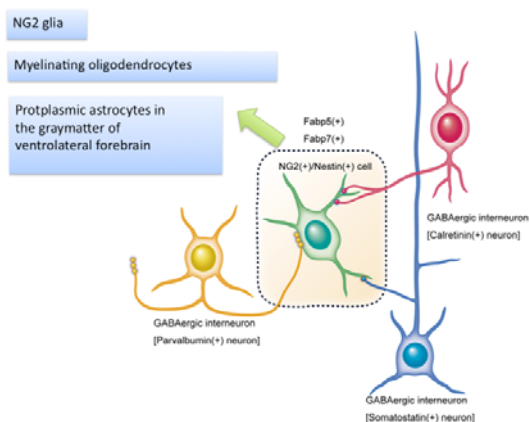


図 1 : NG2(+)細胞は、GABA 含有ニューロンから投射を受けている。

2. 研究の目的

上述の背景から、我々は、多能性を有する NG2(+)細胞の異常(細胞数の減少や機能低下)が統合失調症の病因や病態に関わっているのではないかと考えるに至った。そこで本研究では、統合失調症やその治療において、NG2(+)細胞に何が起きているのかという観点から研究を進め、統合失調症と NG2(+)

細胞との関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)統合失調症薬理モデルマウスの作製及び解析

統合失調症の病態における NG2(+)細胞数の変化を解析する目的で Poly(I:C) (抗ウイルス免疫反応活性化を賦活する薬剤) 投与による統合失調症薬理モデルマウスを作製した。妊娠 12 日目の NG2DsRed マウスに、Poly(I:C)を投与し出生した仔マウスを成体(10 週齢)まで飼育した後、大脳皮質前頭前野における NG2(+)細胞数を計数した。

(2)精神疾患治療薬投与マウスの作製及び解析

精神疾患治療薬に対する NG2(+)細胞の反応性を調べる目的で、NG2DsRed マウスに対して抗うつ薬 (Imipramine 10 mg/kg i.p., Fluoxetine 10 mg/kg i.p.)、気分調整薬 (Lithium 2.4 g/kg food, Valproic acid 0.5 g/L drinking water)、抗不安薬 (Diazepam 3 mg/kg i.p.)、抗精神病薬 (Haloperidol 16.6 mg/L drinking water) を 3 週間投与した。その後、大脳皮質前頭前野を切り出し、Papain Dissociation system を用いてシングルセルにした後 FACS を用いて NG2(+)細胞の細胞数の計数と分集を行った。その後、分集した NG2(+)細胞から total RNA を回収し、qRT-PCR による NG2(+)細胞特異的な遺伝子発現変化を解析した。

4. 研究成果

(1)統合失調症薬理モデルマウスにおける NG2(+)細胞数の変化

統合失調症において NG2 細胞に何が起きているのかという観点から統合失調症モデルマウスにおける NG2(+)細胞数の解析をおこなった。統合失調症モデルマウスには、NG2(+)細胞の可視化のため、DsRed を発現する NG2DsRed マウスを用いた。poly I:C の投与時期及び投与量は、文献によって異なっているため、本研究で用いる NG2DsRed マウスに最適な投与時期、投与量の検討を行った。その結果、胎生 12 日目に poly I:C を 40mg/kg 投与した物で統合失調症の中間表現型の 1 つであるプレパルス抑制(prepulse inhibition: PPI)の低下が見られ、この条件で統合失調症モデルマウスを作製した。(図 2) 作製した統合失調症モデルマウスを用いて前頭葉における NG2(+)細胞数を解析した結果、有意な変化は見られなかった。

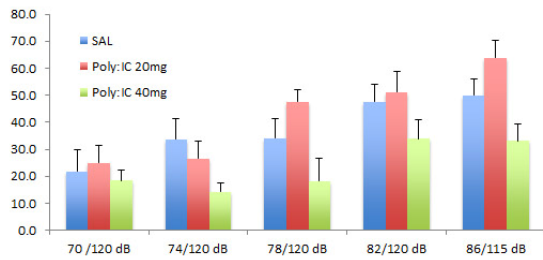


図 2: 胎生 12 日目の poly I:C 投与による統合失調症モデルマウスの作製

(2) 精神疾患治療薬投与マウスの NG2(+)細胞における遺伝子発現変化

NG2DsRed マウスから、NG2(+)細胞を FACS により単離した結果、細胞の大きさが異なる 2 種類の細胞が得られることが分かった。大きい NG2(+)細胞は小さい NG2(+)細胞に対して、20 倍の細胞数があった。NG2DsRed マウスに精神疾患治療薬を慢性投与したところ、Lithium 投与群においてのみ大きな NG2(+)細胞数の減少が認められた。(図 3)

Lithium 投与によって NG2(+)細胞の増殖能および分化能に変化がもたらされる可能性が示唆されたことから、そのメカニズムを検討するために NG2(+)細胞関連遺伝子 (*Sox10*, *Mbp*, *Cspg4*, *Pdgfra*, *Galc*, *Olig2*) や Lithium に影響を受ける分子で、尚かつ神経系の幹細胞の分化や増殖に影響を与える分子の遺伝子解析 (*Hes1*, *Hes5*, *Jag1*, *Id4*, *Tcf7l2*, *Rbpj*) を行った。その結果、Lithium 投与を行った NG2(+)細胞群では、*Rbpj* 遺伝

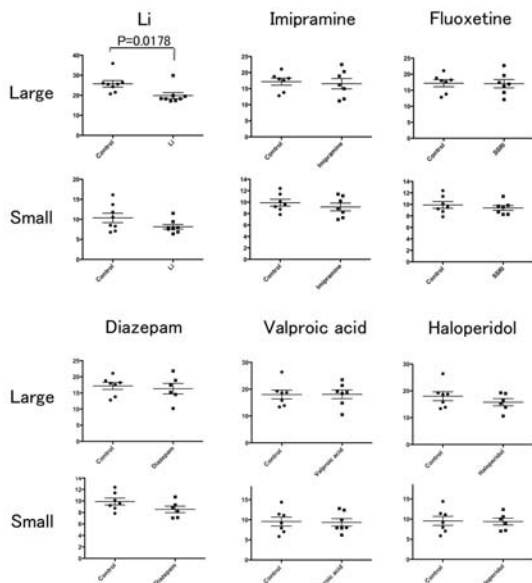


図 3: Lithium 投与 NG2DsRed マウスにおける NG2(+)細胞数の変化

子の発現増加が認められた。*Rbpj*は、細胞の運命決定に重要な役割を果たす Notch シグナルの主要な伝達因子として知られている。これらの結果と考え合わせると、NG2(+)細胞に対する Lithium の影響は、Notch/*Rbpj* シグナルの経路を介していることが示唆された。(図 4)

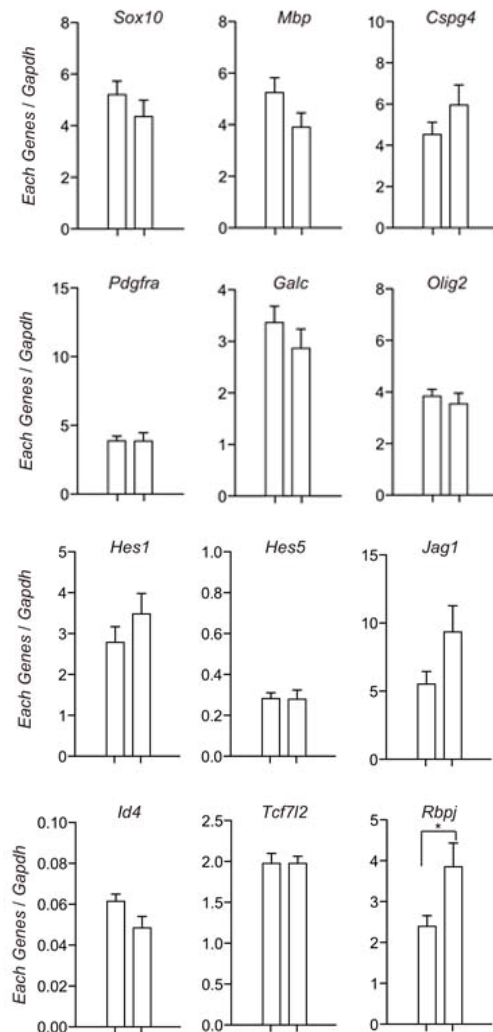


図 4: Lithium 投与 NG2DsRed マウスの NG2(+)細胞における遺伝子発現変化

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 4 件)

- ① Takata A, Iwayama Y, Fukuo Y, Ikeda M, Okochi T, Maekawa M, Toyota T, Yamada K, Hattori E, Ohnishi T, Toyoshima M, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Nanko S,

Nakamura K, Mori N, Kanba S, Iwata N, Kato T, Yoshikawa T. "A population-specific uncommon variant in GRIN3A associated with schizophrenia." 73, Biological Psychiatry, 532-539, 2013. (査読有)

- ② Shimoda Y, Koseki F, Itoh M, Toyoshima M, Watanabe K. "A cis-complex of NB-2/contactin-5 with amyloid precursor-like protein 1 is localized on the presynaptic membrane." 510, Neurosci Lett. 148-153, 2012. (査読有)
- ③ Toyoshima M, Maekawa M, Toyota T, Iwayama Y, Arai M, Ichikawa T, Miyashita M, Arinami T, Itokawa M, Yoshikawa T. "Schizophrenia with the 22q11.2 deletion and additional genetic defects: case history." 199, Br J Psychiatry. 245-246, 2011. (査読有)
- ④ 前川素子, 豊島学, 吉川武男, "現代社会とうつ病 遺伝子発現からみたうつ病の神経科学" 66, 最新医学, 2400-2405, 2011. (査読無)

[学会発表] (計5件)

- ① 前川素子、渡邊 明子、大西 哲生、豊島学、吉川武男、精神疾患治療薬に対するオリゴデンドロサイト前駆細胞の挙動、第45回精神神経系薬物治療研究報告会、2012年12月15日、大阪
- ② 豊島学、市川智恵、赤松和土、糸川昌成、岡野栄之、吉川武男、iPS細胞を用いたカルボニルストレス性統合失調症の病因解析、日本人類遺伝学会第57回大会、2012年10月25日-27日、東京
- ③ 豊島学、市川智恵、赤松和土、糸川昌成、岡野栄之、吉川武男、カルボニルストレスが神経分化・発達に及ぼす影響、第39回日本脳科学会、2012年10月6日-7日、福岡
- ④ Toyosima M, Akamatsu W, Okano H, Yoshikawa T. "Establishment of human induced pluripotent stem cells from a DiGeorge syndrome patient with schizophrenia." The 32nd Naito Conference, 2011 October 18-19, Yamanashi.
- ⑤ 豊島学、赤松和土、岡野栄之、吉川武男、統合失調症特殊例(22q11.2欠失症候群)

のiPS細胞の樹立、第38回日本脳科学会、2011年10月8日-9日、沖縄

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

豊島学 (TOYOSHIMA MANABU)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・基礎科学特別研究員

研究者番号：90582750

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし