

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670545

研究課題名(和文)統合失調症患者由来神経-グリア間代謝的相互作用の解析

研究課題名(英文)Analysis of neuron-glia interaction using patient derived neural cells

## 研究代表者

堀内 泰江 (HORIUCHI, Yasue)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・主席研究員

研究者番号：00548985

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに我々は、終末糖化産物の一つであるペントシジンが蓄積するカルボニルストレスが統合失調症症例の2割にあることを報告した。しかし、カルボニル化合物が脳神経系細胞においてどのように影響を及ぼすのかその分子機構はまだ明らかになっていない。本研究では、カルボニルストレスがヒト由来神経系細胞に与える影響について検討した。神経系細胞株、グリア細胞系細胞株を用いた解析で、脳内での神経細胞やアストロサイトなど細胞種によりカルボニルストレスへの脆弱性が異なる可能性、カルボニルストレスがastrocyte-neuron 相互の各種代謝バランスに影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Previous study from our laboratory reported that the carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia (SZ) patients, leading to a failure of metabolic systems with plasma pentosidine accumulation and serum pyridoxal depletion. However the molecular mechanisms of the relationship between carbonyl stress and SZ are still unknown. We hypothesize that astrocytes may have a deficit in energy metabolism resulting in neuronal damage in SZ, which might be involved in SZ pathology in carbonyl stress context. As a first step of the study, we examined how pentosidine accumulation affects to neuron and astrocyte using human neuronal cells. Our strategy will provide important clues for understanding of SZ.

研究分野：Biological psychiatry, Medical genetics

キーワード：Schizophrenia Neuron Astrocyte Carbonyl stress

### 1. 研究開始当初の背景

これまでに我々は、終末糖化産物 (AGEs、Advanced glycation end products) のひとつであるペントシジンが蓄積するカルボニルストレスが統合失調症例の2割にあること発見し報告した (Arai et al., Arch Gen Psychiatry 2010)。しかし、カルボニル化合物およびそのカルボニルストレスが脳神経系細胞においてどのように影響を及ぼすのか、その分子機構はまだ明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、神経系細胞株、統合失調症患者由来人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から分化誘導した神経細胞、グリア細胞を用い、神経-グリア間の代謝系の異常が引き起こす障害のメカニズムに焦点を当て、統合失調症患者由来細胞はカルボニルストレス代謝関連の脆弱性を持っているという仮説の検証を行い、調節因子の鍵となる分子を検出することを目的とした。

### 3. 研究の方法

iPS 細胞を用いた解析：本研究の対象は、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-Forth Edition (DSM-IV) による診断基準に該当する統合失調症患者と健常対照者とした。本計画に用いた生体試料は本研究に協力することについて書面によるインフォームドコンセントが得られたものであり、東京都医学総合研究所、慶應義塾大学の倫理委員会の承認を得ている。

iPS 細胞の樹立：患者または健常対照者由来末梢血より単離した T 細胞を用いて iPS 細胞を樹立した。樹立の方法は、初期化因子が

ゲノムへ挿入されないエピソーマルベクターを用いた。樹立した iPS 細胞から神経幹細胞塊 (Neurosphere)、神経細胞を誘導した。

細胞株を用いた解析：神経系細胞株 (neuroblastoma) を用いた予備検討を実施した。主として、カルボニルストレス解毒酵素のひとつであるグリオキサラーゼ (Glo) 代謝に焦点を絞り、Glo1 阻害剤及び Glo1 silencing-siRNA によるカルボニルストレス誘発時の Glo 代謝、dicarbonyl 代謝、AGEs 代謝の変動を ELISA、Western blot、qPCR、質量分析等により解析した。

### 4. 研究成果

(1) まず基礎的検討として、神経系細胞株 (neuroblastoma)、グリア細胞系細胞株 (astrocytoma) を用いた解析を実施した。Glo1 阻害剤 (in-house compound) によるカルボニルストレス誘発は細胞増殖を濃度依存的に抑制すると共に、カルボニルストレスに対する感受性が細胞種により異なった。Glo1 阻害剤に対する細胞障害性の検討では、astrocytoma が neuroblastoma と比較してより脆弱であった。カルボニルストレスに脆弱である astrocytoma に対し、Glo1 siRNA を用いて Glo1 蛋白質発現と酵素活性の抑制を誘導したところ、細胞培養上清及び細胞内において幾つかの dicarbonyls、AGEs 代謝マーカーの上昇が確認された。

(2) iPS 細胞を用いた解析：統合失調症患者2名より iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞特性評価により解析に用いるクローンを選択した。患者由来 iPS 細胞樹立効率は健常対照者由来のものとは認められなかった。健常対照

者由来 iPS 細胞を用いて神経系細胞への分化誘導を行った。

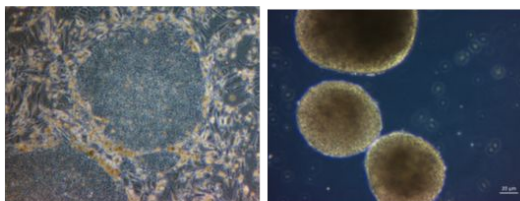


図1 樹立したiPS細胞(左)と神経幹細胞塊(右)

細胞株を用いた基礎的検討より、脳内での神経細胞やアストロサイトなど細胞種によりカルボニルストレスへの脆弱性が異なる可能性、カルボニルストレスに伴う astrocyte-neuron 相互のグルコース、乳酸、dicarbonyls、AGEs 代謝といった各種代謝バランスに影響が示唆された。今後は患者由来神経系細胞等を用いて詳細な解析を行い、統合失調症病態とカルボニルストレス代謝異常のメカニズムを解明する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

- 1.堀内泰江、新井誠、糸川昌成. 臨床応用を目指した基礎研究: 疾患モデル細胞、iPS 細胞を用いた毒性評価と製薬研究 iPS 細胞を用いた精神疾患の病態解析. 日本臨床増刊号「再生医療」、査読無 73(5):406-410, 2015
- 2.新井誠、小堀晶子、宮下光弘、鳥海和也、堀内泰江、畠山幸子、内田美樹、井上智子、糸川昌成. カルボニルストレス代謝障害と統合失調症. 査読無 日本生物学的精神医学会誌 26(1):27-33,2015
3. Koike S, Kayama T, Arai M, Horiuchi Y, Kobori A, Miyashita M, Itokawa M, Ogasawara Y. Characterization of modified proteins in plasma from a subtype of schizophrenia based on carbonyl stress: Protein carbonyl is a possible biomarker

of psychiatric disorders. Biochem Biophys Res Commun. 2015 Nov 13;467(2):361-6.

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1.M Arai, Y Horiuchi, A Kobori, M Miyashita, K Toriumi, S Hatakeyama, H Hashimoto, M Itokawa. Pentosidine accumulation in the pathophysiology of Schizophrenia. Society for Neuroscience 45th Annual Meeting, Chicago, US[2015/10/21](ポスター発表)
2. A Kobori, S Hatakeyama, Y Horiuchi, K Toriumi, M Miyashita, M Itokawa, H Arai, M Arai. Study for the effect of carbonyl stress makers on cognitive impairment of schizophrenia. Society for Neuroscience 45th Annual Meeting, Chicago, US[19/10/2015](ポスター発表)
3. 新井誠、堀内泰江、小堀晶子、鳥海和弘、畠山幸子、宮下光弘、糸川昌成. シンポジウム 1: 神経炎症・酸化ストレスをキーワードにした精神疾患の理解: 糖化・酸化ストレスと関連する統合失調症の病態研究. 第 45 回日本神経精神薬理学会・第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会. タワーホール船堀、東京、江戸川区[2015/09/24](口頭発表)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ  
<http://www.igakuken.or.jp/schizo-dep/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

堀内泰江 (HORIUCHI, Yasue)

公益財団法人東京都医学総合研究所、精神行動医学研究分野

主席研究員

研究者番号: 00548985

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者

新井 誠 (ARAI, Makoto)

公益財団法人東京都医学総合研究所、精神行動医学研究分野

プロジェクトリーダー

研究者番号：80356253