

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	精神・神経疾患に関連する新規機能分子の生理機能解明と臨床応用への探求
研究機関・部局・職名	富山大学・大学院医学薬学研究部 (薬学)・教授
氏名	新田 淳美

【研究目的】

うつ病、統合失調症、自閉症などの精神科領域の疾患は患者数が多いにもかかわらず、原因解明が不十分で、治療薬も開発途中である。これらの疾患は、病状を反映した動物モデルの作成が困難であることも研究の遅延につながっている。我々は、薬物依存の研究の過程で、覚醒剤であるメタンフェタミン（ヒロポン）を投与されたマウスでは、これら精神疾患で生じる行動学的変化が観察されることを見出している。そこで、我が国で原因や治療法が確立していない精神疾患の原因となる可能性の高い新しい関連遺伝子の同定・生理機能評価・臨床での応用を本事業の最終ゴールとする。

覚せい剤を連続投与したマウスとコントロールマウスの側坐核から抽出した mRNA をもとに cDNA サブトラクションで発現量が著しく増加している 3 つを単離した。

全塩基配列を明らかにし、タンパク質へ翻訳されていることも確認している。そこで、以下の研究を行い 3 つの分子 (Shati/Nat81、Piccolo および TMEM168) の生理機能を解明し、精神疾患との関連および臨床への応用への可能性を明らかにすることを計画した。

1. 最初に 3 つの新規分子の生体内分布や脳の発達過程への関与を明らかにするために、特異抗体を作成し、免疫染色法の確立を行う。3 つの遺伝子クローニングを行い発現ベクターの構築をして、タンパク質の精製をする。これら抗体を用いて生体内の臓器ごとの発現分布だけでなく、脳内分布や細胞内分布を検討する。
2. 3 つの分子の遺伝子組み換えマウスを作成し、行動薬理的に検討をおこない、いずれの神経・精神疾患と類似しているかを検討する。類似性のあった疾病を中心に神経伝達物質の遊離量の変化や生化学的検討を行う。遺伝子組み換えマウスは、遺伝子欠損型、過剰発現およびコンディショナルな過剰発現マウスの 3 種類を準備する予定である。
3. 2 で作成した遺伝子組み換えマウスについては、統合失調症、うつ病、自閉症様の病態を発症するか否かを検討したい。他のマウスとのコミュニケーション障害なども検討する。
4. 2 の研究で脳内での発現分布が明らかになれば、即ち、神経細胞かグリア細胞のいずれか、または、両方の細胞がそれぞれの遺伝子を発現しているかがわかれば、その該当細胞の初代培養を行い、発現ベクターを導入し、神経分化やグリアの増殖・活性化などの機能への変化を検討し、脳内での働きを明らかにする。

5. 数年来にわたって共同研究を行ってきた自治医科大学村松慎一准教授を研究協力者として加担願った。同博士は本邦で唯一、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターにグリア細胞株由来神経栄養因子を組み込みパーキンソン病患者脳に注入し、奏効結果を示した神経内科医である。分子それぞれについて患者治療に使用したものと同一ベクターへの組み込みを依頼する。分子の過不足によっておこる疾病が明確になれば、局所的に恒久的に3つの分子を過剰発現させて精神病への遺伝子治療への足がかりとなる。
6. 3つの分子を精神疾患の診断に用いるために、本学附属病院の神経内科や精神科医師と連携をとり、患者の血液や尿中の新規分子の濃度を測定する。このことによって、本測定系が精神疾患の診断に結びつく可能性を探る。遺伝子多型について、各精神疾患バンクのDNAから検討する。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
○	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は、メタンフェタミンを投与されたマウスにおいて発現が著しく増加した3種類の新規分子 (shati/nat81、piccolo、TMEM168) を軸として、うつ、統合失調症、自閉症などの精神神経領域の疾患の発症の分子機構の解明と疾患の診断、治療への展開を目指したものである。研究の推進に関し、遺伝子のクローニング、アデノウイルス随伴ベクターを用いたマウス脳内での発現調節の影響の解析などに見るべき進捗がみられたが、当初の研究計画の柱であった遺伝子組み換えマウスを用いた解析は実施され、コンデンシヨナル型のもは期間内で作成されているが、解析は実施されていないことから予定より遅れたままで終了した。また、患者の血液を用いる臨床研究は、統合失調症患者 (数の記載なし) で、Shati/Nat81 のプロモーター領域でのメチル化が促進していることを見出した。また、産褥期うつ病妊婦 (正常 23 例、うつ病 6 例) の血液で Shati/Nat81 含有量が減少したことを見出したが例数が少なすぎることから十分な症例数で実施する必要があった。

中間評価で「本研究課題で取り上げられている3種類の新規分子 (shati/nat81、piccolo、TMEM168) についても、すでに他のグループから精神疾患との関連性が報告され、本研究課題のオリジナリティーが見えにくい。研究発表の雑誌論文のリストを見ても、本研究課題とは直接関連しないと思われるものが多く、平成 24 年度の実施状況報告書に書いているように“早急な論文化”、“国際的な学術雑誌への公表”が望まれる。」と指摘されたが、あまり改善されていないように思われる (shati/nat81 に関する論文は見つけられたが、他の piccolo、TMEM168 に関する論文は見つけられな

かった)。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

3つの分子の遺伝子組換えマウスを作成し、それらの行動薬理的検討の最中である。抗体(市販されているがそれでは選択性が悪いため自作したとあるがどの程度選択性が改善されたかの記述はない)を用いて shati/Nat81 はグリア細胞ではなく神経細胞で発現・機能していることを見つけた。3つの蛋白発現を脳内で増減させると、統合失調症、うつ病または社会性障害と関連するであろうことを明らかにした。3つの分子の発現ベクターを作成し、培養神経細胞や株化細胞に導入し、shati/Nat81 の増加で軸索伸長が促進され、Piccolo のイントロン部位での変異(詳細不明)はドパミン、セロトニンの取込み量に影響を与えることを見出した。これらのように基礎的な知見がいくつか得られているが論文化されていないので客観的な評価ができない。一方、疾患の診断、治療への展開に関しては上述したように例数が少なく本当にこれだけの結果から治療法の開発に繋がるかどうかは全く不明である。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

いくつかのうつ病モデルマウスや精神病モデルマウスの脳内で、3分子(shati/nat81, piccolo, TMEM168)の発現量が mRNA レベルで変化し精神機能と関連すること、3分子がストレスに呼応していること、またうつ症状の発現に関連していることを明らかにした。3分子の過剰発現および発現抑制させるためのウイルスベクターを作成し、マウス脳内の特定部位での遺伝子発現を増減させて、行動薬理学的実験を行い、うつ症状や社会性行動に異常が観察されることを明らかにした。また、発現量を変化させることで統合失調症様の症状を示す分子があることも明らかにした。3分子について、その遺伝子上での変異と精神疾患との関連について検討し、いくつかの遺伝子部位が大うつ病や依存性薬物への要求性と関係していることを明らかにした。以上のことから、新しい知見も得られており先進性がある。しかし、他の多くのグループと研究上競合関係にあり、本プロジェクトが領域に特にブレークスルーをもたらしたかについては、明確ではない。また、いくつかの当初計画にはなかった新しい知見が得られているが、特記すべきとは言い切れない。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

多くの研究グループが取り組んでいる領域であり、研究成果は研究分野の進展に相応に寄与するものと思われる。また、社会的視点より研究課題の重要性は認められ、研究成果は相応の貢献をするものと思われる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

人事異動にも臨機応変に対応されており、一塩基多型の神経機能への関与を検証する新たな研究を展開するため学内・学外との共同研究を速やかに実施するなど、研究目的を達成するための体制作りとマネジメントが適切に行われたように見える。また今後の研究推進・助成金の執行状況に問題になる点は見あたらない。しかし、本研究課題の成果の論文発表については、早急に実施することが必要である。