

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	精神疾患の成因に関わる遺伝子×環境相互作用ダイナミクスの解析系の構築
研究機関・部局・職名	大阪大学・大学院薬学研究科・教授
氏名	橋本 均

【研究目的】

統合失調症は、人口の約1%の発症リスクがあり、日本の罹患者は70万人以上と推定されている。またうつ病の生涯発症リスクは、数%にも及ぶ。これら主要な精神疾患は、遺伝的要因の関与が示唆されるものの、同胞不一致例や孤発例も多く、その成因として、多数の疾患脆弱性遺伝子に、遺伝子-環境因子の相互作用などが複雑に交錯して発症に至る機序が考えられている。しかしながら、**その病態基盤や分子メカニズムはほとんど全く不明であるのが現状である**。さらに、治療薬が有効性を示さない、抵抗性の症例があるものの、この領域では、新規機序を有する治療薬の開発はほとんど成功していない。

一方、2008年以降現在までの統合失調症の全ゲノム関連研究の結果から、一塩基多型の浸透率は小さいこと、さらに最近の研究では、*de novo* 変異が発症リスクに関与する可能性などが推定されているが、その病態機序は不明である。

このように、**精神疾患のメカニズム研究は、依然として、暗中模索の状況下にある**。この領域の研究を阻害する大きな要因の一つに、**疾患発症におけるエピジェネティックな機構の関与があると考えられている**。エピジェネティクスは、脳の細胞毎に、また状況に応じて変動し得るもので、例えばゲノム情報のように、末梢血サンプルを用いて解析することは、特殊な例外を除いて不可能である。したがって、**脳組織には直接アクセスできないヒトでは、エピジェネティクス研究は一般に著しく困難である**。

一方、補助事業者らは、ニューロペプチドの一種である pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) の遺伝子欠損マウスを作製して行動薬理学・神経化学的に解析した結果、この変異マウスは、自発運動量の増加、感覚情報処理能力の障害、記憶の保持機能の低下、うつ様行動などを示し、これらが統合失調症薬リスペリドンによってほぼ完全に正常化することを明らかにしている。これらの結果は、PACAP シグナル系が精神・神経機能の調節に関与すること、PACAP 欠損マウスが、妥当性が高い精神疾患の病態モデル動物であることを示すものである。

上述のとおり、ヒト脳へのアクセスは(死後脳を除き)不可能である。したがって、精神疾患の機序を解析するための重要なアプローチとして、**まず動物の疾患モデルを用いてメカニズムを研究したのち、ヒトへの橋渡しを目指すことが必要である**。さらにこのとき、**極めて多変量である脳の神経ネットワーク機能変化の分子実体を、シ**

システムとして網羅的に補足することが必須である。

以上のような当該研究領域の現況、課題ならびにその克服へ向けた方向性を基に、**本研究**は以下の項目の達成を目指して実施した。

- (1) マウス全脳の形態計測のための顕微鏡システムの構築と 3次元形態解析
(脳神経細胞等の空間配置の網羅的検出に対応)
- (2) miRNA の局在解析に基づく精神疾患の分子機構の解析
(RNA 分子種の検出系の構築、病態動物モデルにおける RNA 分子種の発現解析に対応)
- (3) 脳細胞種に特異的な標識法ならびに遺伝子×環境相互作用に基づく精神疾患病態モデル動物の検討
(細胞種に特異的な細胞マーカートランスジェニック動物の作製、遺伝子－環境相互作用に反応性を示す精神疾患病態モデル動物に関する検討に対応)

【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

当初の研究計画で企図した成果が以下のように概ね得られた。

1) 神経疾患の原因と考えられるエピジェネティック変化に関与すると考えられる miRNA を絞り込み (miR-375, miR-137 など)、それらの脳 in situ 検出系を確立したこと、2) miRNA 発現・変動が 1) で認められた領域のどの細胞で起こっているかを検出するための細胞マーカー導入については、トランスジェニック動物作製が遅れたが、代替法 (ウイルスベクターを用いた遺伝子導入、セロトニン神経細胞を特異的にライブ標識するノックイン ES 細胞の開発、全脳サイズのまま全細胞を核染色する方法の開発、高速・高空間分解能のラマン散乱分光顕微イメージング法を用いた脳組織のイメージング、さらには、即時型遺伝子の一つ *Arc* 遺伝子のプロモーター制御下で分解促進型蛍光蛋白質 dVenus が発現するトランスジェニックマウスを共同研究で入手) の開発により神経活動マッピングを全脳で実施できるようにしたこと、3) マウス全脳の形態計測のための顕微鏡システムの構築により、サブミクロンの空間解像度で世界初の実用可能レベルのイメージング手法を確立したことである。また、派生成果として、セロトニン神経細胞について、in vivo マーキング法を開発した。また、多能性幹細胞からの分化誘導法を開発した。その中で、セロトニン神経細胞の分化・成熟促進に関与すると思われるセロトニン神経細胞特異的 miRNA を見出した。

精神機能に関わる 5-HT 神経系における miRNA とその標的遺伝子の働きを強く示唆する結果を得たので今後、有用な創薬標的の発掘に繋がり、画期的治療薬開発への途

が拓かれる可能性が大きい。

研究成果に関する一般向けの発信が不十分な感はあるが、研究成果の内容が一般人には理解しにくい方法論に関する部分があることを勘案すればやむを得ない。今後は、国民生活に直結した精神神経疾患の治療の革新的進歩に本研究がどれほど大きな貢献をするかを理解してもらおう努力をすべきである。また、せっかくすばらしい成果をあげたのだからもっとインパクトの大きな雑誌に論文発表すべきであったのではないか。

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)

ヒト脳自体を対象にする実験が倫理上許されないという制約を克服するために、本研究では先ず、妥当性の高い精神疾患モデル動物を用いて、エピジェネティックな機構にも密接に関与する miRNA の高感度検出系の構築に成功し、miRNA 毎に特徴的な *in situ* 脳内 miRNA 局在を可視化した。また、セロトニン神経細胞には特異的に高発現することを見出し、その機能についての新知見も得ている。

順次切断法と高速共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせた実用可能な全脳三次元定量的形態計測システムを構築し、疾患モデル脳と正常脳の定量的な形態学的変異の解析を行った。また、細胞種特異的な細胞マーカートランスジェニック動物の作成に関して、脳細胞での mRNA レベルの発現は達成できたが、蛍光タンパク質からのシグナルは検出できていない状況を打破するため、数種の有効な方法を検討し、解決した。

② 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)

脳内 miRNA *in situ* 検出法の感度と精度を上げることに成功し、従来 miR-124 等に限られていた状況から、解析すべき miRNA の多くを解析可能な段階に高めたことが精神疾患研究者から高く評価されている。また、世界的にも例がなかった全脳三次元定量的形態計測を、我が国の高度な技術力を有効に集結させて実施可能にした。一方、従来の概念を変えてしまうという意味のブレークスルーとまでは行かないが、研究の隘路となっていた技術レベルを種々の先端的手法を統合して高め、研究推進を可能にした本研究課題の成果は高く評価できる。

さらに、セロトニン神経細胞について、*in vivo* マーキング法を開発した。また、多能性幹細胞からの分化誘導法を開発したことなどが当初の目的の他に得られた成果である。

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)

本研究課題において構築された miRNA 脳 in situ 検出システムや全脳定量的形態計測システムは、基礎及び臨床の脳研究者に多大の勇気・やる気を起こさせるもので、「関連する研究分野の進展」に大きく寄与すると考えられる。また、日本においても高齢化とともに今後益々大きな社会負担となる精神神経疾患の診断・治療（特に薬物療法）の革新に必須な基礎的・基本的研究成果として活用され、貢献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)

研究実施マネジメントは適切に行なわれ、専門誌における原著論文は一応順調に発表されており、専門家向けの会議での発表も適切に行なわれている。しかし、もっと competitive な雑誌に論文発表を試みても良かったのではないかと。研究成果に関する一般向けの発信が不十分な感はあるが、研究成果の内容が一般人には理解しにくい方法論に関する部分があることを勘案すればやむを得ない。今後は、国民生活に直結した精神神経疾患の治療の革新的進歩に本研究がどれほど大きな貢献をするかを理解してもらう努力をすべきである。