

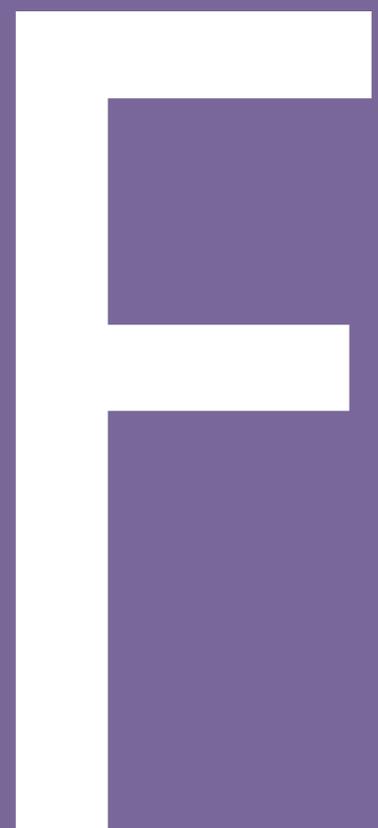
成果報告書

脳PRO 脳科学研究戦略推進プログラム

課題

生命倫理課題

2011-2015



はじめに

「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」は、社会への応用を明確に見据えた脳科学研究を推進し、その成果を社会に還元することを目的に平成20年度より文部科学省においてスタートし、平成27年度より日本医療研究開発機構(AMED)に移管されました。脳プロでは、特に重点的に推進すべき政策課題を選定し、その課題解決に向けた研究組織を構成し、戦略的に研究を推進しております。このうち、課題F「精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究」生命倫理課題「脳科学研究における倫理的問題の解決に関する研究」は、平成23年度より研究を実施していましたが、平成27年度で5年間の事業が終了しました。ここに本事業の成果を御報告させていただきます。本プログラムの成果を更に発展させ、今後も社会に貢献する脳科学の実現を目指し、一層努力してまいりたいと思います。

平成28年3月

脳と心の健康大国プロジェクト
プログラムディレクター

津本 忠治

目次

課題Fを進めるにあたって	1
生命倫理課題を進めるにあたって	2
脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)	3
課題Fの概要	5
生命倫理課題の概要	7
<課題F 発達障害研究チーム>	
自閉スペクトラム症(ASD)と統合失調症(SCZ)のゲノム解析を起点として、発症因に基づく両疾患の診断体系再編と診断法開発を目指した研究：多面発現的効果を有するゲノムコピー数変異(CNV)に着目して 尾崎 紀夫	10
神経内分泌仮説に基づく知能障害を有する自閉スペクトラム症(ASD)の診断と治療の展開研究 東田 陽博	11
オキシトシン(OXT)脳内作用機序の分子研究	12
西森 克彦	
プロトコール策定及び評価指標検討による次段階のオキシトシン(OXT)臨床試験の計画・実施 山末 英典	13
自閉スペクトラム症(ASD)の病態研究と新たな診療技法(診断・予防・治療)の開発 森 則夫	14
自閉スペクトラム症(ASD)脳内セロトニン・トランスポーター発現異常の原因解明と診断応用 片山 泰一	15
自閉スペクトラム症(ASD)の発症基盤の解明と診断・治療への展開 佐藤 真	16
発達障害に至る分子基盤の解明	17
松本 直通	
てんかんに合併する発達障害分子基盤の解明	18
山川 和弘	
<課題F うつ病等研究チーム>	
うつ病の神経回路—分子病態解明とそれに基づく診断・治療法の開発 山脇 成人	19
うつ病症候の脳内責任領域の特定とその分子メカニズムの解明 須原 哲也	20
機械学習と行動学習モデルによるうつ病サブタイプと発症機構の理解と治療・予防手法の導出 銅谷 賢治	21

遺伝環境統計学的相互作用大規模解析による気分障害の病態メカニズムの解明	22
岩田 伸生	
大規模ゲノムタイピングと情報解析による気分障害の病態メカニズムの解明	23
鎌谷 洋一郎	
うつ病の異種性に対応したストレス脆弱性バイオマーカーの同定と分子病態生理の解明	24
福田 正人	
中高年発症うつ病モデルとしてのエンドセリン誘発白質虚血ラットの解析	25
齊藤 延人	
うつ病異種性の診断・病態解明に向けたバイオマーカー分子の探索	26
山形弘隆	
ドパミン神経系に着目した難治性気分障害の統合的研究	27
吉岡 充弘	
 <課題F 脳老化研究チーム>	
革新的技術を活用し、加齢による脳機能低下と異常蛋白蓄積につながる病理過程の上流を追求・解明し、認知症(AD)の血液診断マーカーと治療薬を開発する	28
武田 雅俊	
アミロイド蓄積に先行する膜脂質の変動を標的とするアルツハイマー病先制治療薬の開発	29
柳澤 勝彦	
加齢による脳機能低下関連分子の定量	30
朝長 毅	
ヒトGWASとモデル動物トランスクリプトームの統合的解析による新規アルツハイマー病関連遺伝子の同定	31
角田 達彦	
抗タウオパチー薬の創出	32
井原 康夫	
動物モデルを用いた化合物スクリーニング、および神経機能障害機構解明	33
高島 明彦	
前頭側頭葉変性症(FTLD)の病態解明に基づくdisease-modifying therapyの開発	34
祖父江 元	
前頭側頭葉変性症(FTLD)ショウジョウバエモデルの開発と病態解明・治療法開発	35
永井 義隆	
 <生命倫理課題 生命倫理等に関する課題の解決に関する研究>	
脳科学研究における倫理的問題の解決に関する研究	36
瀧本 禎之	

課題Fを進めるにあたって

現代社会において、認知症介護のための離職、うつ病による長期休職、発達障害や統合失調症による就労困難など、精神・神経疾患による社会的損失は大きく、日本ではこれら精神・神経疾患が全ての疾患群の中で最も大きな社会的損失をもたらしているとの統計もあります。

このように甚大な社会的影響を与えている精神・神経疾患ですが、現在の診断法、治療法は十分なものとはいえません。脳についてまだ十分にわかっていなかったことが、その理由の一つでしたが、過去20年の脳科学研究の推進により、脳の理解がかなり進み、いよいよこうした困難な精神・神経疾患に取り組める土壌が整ってきました。

こうした背景から、平成20年に開始された「脳科学研究戦略推進プログラム」の一環として、平成23年度より、精神・神経疾患の中でも特に社会負担が大きな疾患群の発症のメカニズムを明らかにし、診断法・治療法を開発することを目指して、課題F「精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究」が始まりました。

課題Fは発達障害等（自閉スペクトラム症、統合失調症等）、うつ病等（うつ病、双極性障害等）、脳老化（アルツハイマー病、前頭側頭型認知症等）の3つのグループに分かれ、グループ内外での密接な連携を進めながら、研究を進めました。本課題では、脳画像・生理学的解析、ゲノム解析、モデル動物、バイオマーカー探索など、最新技術を用いた多方面からの研究が行われました。特に、この課題Fにより初めて、オールジャパンの精神疾患のゲノムコンソーシアムが形成され、世界レベルでの精神疾患のゲノム研究が行われたことは、特筆すべきことでした。本課題を通して、これら3つの疾患群全てにおいて、診断法・治療法開発において大きな進歩があり、5年の間に医師主導臨床試験に至ったプロジェクトもあるなど、大きな成果を上げつつあります。

動物実験について

動物の福祉に十分に配慮した研究を進めるために、本プログラムの開始と同時に、動物実験小委員会を設置しました。最新研究に対応しながら、適切な動物実験の遂行に努力しています。

課題F プログラムスーパーバイザー

津本 忠治

課題F プログラムオフィサー

加藤 忠史

課題F プログラムオフィサー

柚崎 通介

「生命倫理課題」を進めるにあたって

平成20年度に文部科学省の事業として「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」が開始された当初より、脳プロは倫理的・法的・社会的課題を重要な問題と捉え、倫理グループ部会を立ち上げ、課題内及び課題間での情報交換を行いながら対応してまいりました。さらに平成22年6月からは、倫理相談窓口を開設し、研究中に生じる倫理的な問題に迅速な対応が取れるよう、体制を整備しました。これらの実績をもとに、倫理審査に基づいた被験者保護等への対応といった従来の体制に加え、今後新たに生じることが予想される脳科学特有の倫理的・法的・社会的問題(ELSI)にも対応することを目指し、脳神経倫理の研究および倫理支援を行う新たな事業として、「生命倫理課題」を平成23年度より開始しました。

本プログラムには、精神・神経疾患の診断・治療・予防法の開発や、ブレイン・マシン・インターフェイス(BMI)の人への応用などの形で、脳科学の研究成果を社会に還元することが期待されています。そのためには、人を対象とする脳科学研究が必要不可欠です。現在、こうした研究の実施に際しては、各研究機関における倫理審査委員会において、審議が行われています。しかし、研究機関ごとに倫理支援や倫理審査の質にばらつきがあるのが現状です。

そこで、「生命倫理課題」は、倫理支援、倫理教育、倫理研究の3つの側面から、脳科学研究の推進を支える体制を構築することを目指して開始されました。

この5年間、「生命倫理課題」では、日々の研究で直面する倫理的な問題に対する適切なアドバイスを行う支援、国内研究機関における標準化された審査体制を担うための人材育成・教育、さらには、将来起こり得る脳科学特有の倫理的問題に対する事前の十分な検討を進めるための調査・研究を、脳プロ課題のみならず「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の臨床研究グループとも連携しながら、推進して参りました。

本取組により、脳科学研究が社会と調和した形で適切に行われ、研究成果の社会への還元が加速されることを期待しています。

生命倫理課題 プログラムスーパーバイザー

津本 忠治

生命倫理課題 プログラムオフィサー

加藤 忠史

生命倫理課題 プログラムオフィサー

丸山 めぐみ



脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)

脳科学の二つの意義

科学的意義

脳科学研究の成果は多くの自然科学に波及効果をもたらし、また人文・社会科学と融合した新しい人間の科学を創出するなど、これまでの科学の枠組みを変える可能性を秘めています。

社会的意義

現代社会は高齢化、生活様式の多様化・複雑化が進み、心身ともに様々な問題を抱える人が著しく増えてきています。

一方、脳科学研究は近年めざましい発展を遂げており、医療・福祉の向上に最も貢献できる研究分野の一つです。将来的には教育等における活用も期待されています。

脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)発足の経緯

このような二つの意義を背景に、**脳科学委員会**における議論を踏まえ、文部科学省は平成20年度より「脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)」を開始し、その後、平成27年度より、日本医療研究開発機構(AMED)へ移管されました。

脳プロは、「社会に貢献する脳科学」の実現を目指して、特に重点的に推進すべき政策課題を選定し、その課題解決に向けて、社

会への応用を見据えた脳科学研究を戦略的に推進するプログラムです。

脳プロでは、それぞれの課題を担当するプログラムスーパーバイザー、プログラムオフィサーの指導・助言の下、研究を進めています。

脳科学委員会

平成19年10月、文部科学大臣が科学技術・学術審議会に対し、「長期的展望に立つ脳科学研究の基本的構想及び推進方策について」を諮問しました。

これを受け、同審議会の下に「脳科学委員会」が設置され、我が国における脳科学研究を戦略的に推進するため、その体制整備の在り方、人文・社会科学との融合、さらには大学等における研

究体制等を議論し、平成21年6月に第1次答申「長期的展望に立つ脳科学研究の基本的構想及び推進方策について」を取りまとめました。

この答申では、**重点的に推進すべき研究領域等**が設定され、社会への明確な応用を見据えた対応が急務とされる課題について、戦略的に研究を推進することが提言されています。

重点的に推進すべき研究領域等

現在進められている実施課題

本書

脳と心身の健康

(健やかな人生を支える脳科学)

睡眠障害の予防、ストレスの適切な処理、生活習慣病等及び精神・神経疾患の発症予防・早期診断などに資する研究

脳関係の生命倫理

(社会と調和した脳科学の発展を目指して)

脳科学研究を円滑に実施するために、倫理的問題などに迅速かつ適切に対応できる体制を整備

脳と情報・産業

(安全・安心・快適に役立つ脳科学)

脳型情報処理システムや脳型コンピュータの実現、脳内情報機序の解明を通じた技術開発により社会へ貢献

基盤技術開発

他の研究分野にも革新をもたらす基盤技術開発により、我が国における科学技術全体の共通財産を構築



課題F

精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究



生命倫理課題

生命倫理に関する課題の解決に関する研究



BMI技術

BMI技術を用いた自立支援、精神・神経疾患等の克服に向けた研究開発



霊長類モデル

霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備



課題G

脳科学研究を支える集約的・体系的な情報基盤の構築



実施課題について

BMI技術 BMI技術を用いた自立支援、精神・神経疾患等の克服に向けた研究開発

BMI技術を用いて、身体機能の回復、代替・補完や精神・神経疾患の革新的な診断・治療・予防につながる研究開発を実施

BMI:ブレイン・マシン・インターフェース
Brain(脳)とMachine(機械)を相互につなぐ技術です。

霊長類モデル 霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備

脳科学研究や創薬を推進する基盤強化のため、利用者のニーズの高い精神・神経疾患に対するモデルマウスの遺伝子改変等による創出及び低コストでの供給を可能とする普及体制の整備

神経情報基盤 脳科学研究を支える集約的・体系的な情報基盤の構築

複雑かつ多層な脳機能を解明するため、様々なモデル動物から発生する多層情報を集約化・体系化した情報基盤の構築を目指した研究を実施



生命倫理 生命倫理等に関する課題の解決に関する研究

精神・神経疾患の発症のメカニズムを解明する研究を含む本事業全体の研究を促進するに当たり、倫理的・法的・社会的課題に対する注意深い検討が不可欠であり、新たな問題等を解決するための研究を実施

健康脳 精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究

精神・神経疾患(発達障害、うつ病等、認知症)の発症のメカニズムを明らかにし、早期診断、治療、予防法の開発につなげるための研究開発を実施



脳プロの歩み

H20年度 H21年度 H22年度 H23年度 H24年度 H25年度 H26年度 H27年度 H28年度 H29年度～

課題A ブレイン・マシン・インターフェース(BMI)の開発
◎ 川人 光男(国際電気通信基礎技術研究所(ATR))

課題B ブレイン・マシン・インターフェース(BMI)の開発(個別研究)

課題C 独創性の高いモデル動物の開発
◎ 伊佐 正(自然科学研究機構)

課題D 社会的行動を支える脳基盤の計測・支援技術の開発
◎ 狩野 方伸(東京大学)

課題E 心身の健康を維持する脳の分子基盤と環境因子
◎ 水澤 英洋(東京医科歯科大学)

本書
課題F 精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究
発達障害研究チーム ◎ 尾崎 紀夫(名古屋大学)
うつ病等研究チーム ◎ 山脇 成人(広島大学)
脳老化研究チーム ◎ 武田 雅俊(大阪大学)
生命倫理課題 生命倫理等に関する課題の解決に関する研究
◎ 瀧本 禎之(東京大学)

課題G 脳科学研究を支える集約的・体系的な情報基盤の構築
◎ 貝淵 弘三(名古屋大学)

BMI技術 BMI技術を用いた自立支援、精神・神経疾患等の克服に向けた研究開発
◎ 里宇 明元(慶應義塾大学)

霊長類モデル 霊長類モデル動物の創出・普及体制の整備
◎ 佐々木 えりか(実験動物中央研究所)

◎:拠点長

社会に貢献する脳科学の実現を目指す



全体総論

概要

課題Fは、精神・神経疾患(発達障害、うつ病等、脳老化など)の発症メカニズムを明らかにし、早期診断、治療、予防法の開発につなげるための研究を推進するため、以下の3領域について研究チームを構成した。

目的

発達障害に関する研究

乳児期から幼児期にかけて生じる発達障害に関わる生物学的要因、発症メカニズムを解明

- 自閉スペクトラム症その他の広汎性発達障害、学習障害、注意欠陥／多動性障害等の発達障害の発症・進行と神経回路・神経認知機能・遺伝子(エピジェネティック変化も含む)・行動・環境などの各要因を統合的に解明した。
- 上記疾患の診断、治療、予防法の開発につなげた。

うつ病等に関する研究

うつ病・双極性障害(躁うつ病)を含む気分障害などの病因を分子・細胞・システムレベルで解明

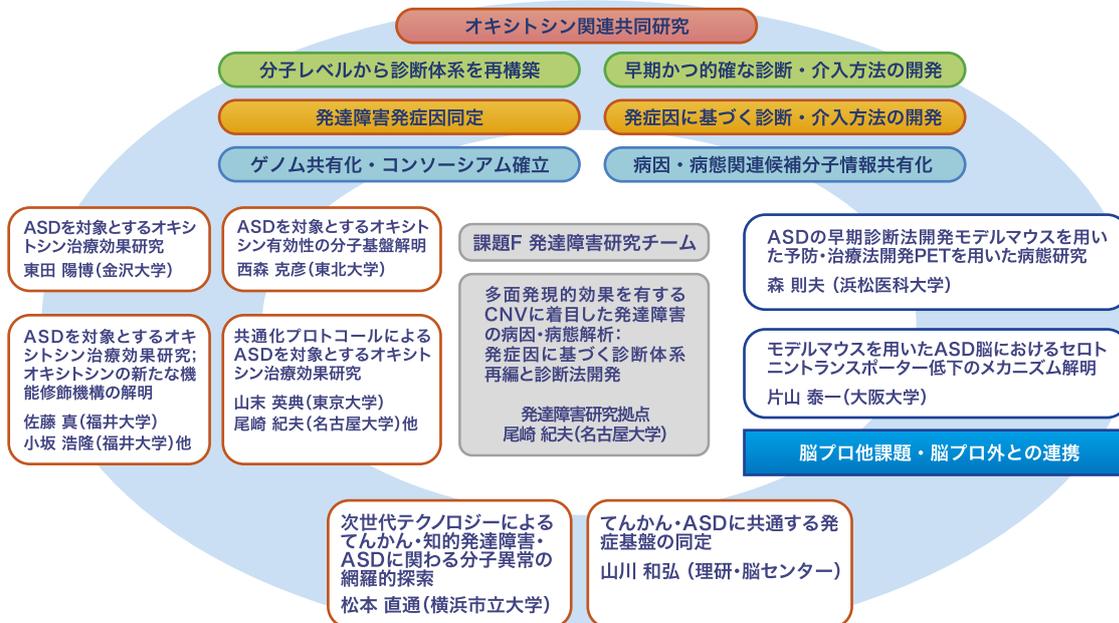
- うつ病・双極性障害を含む気分障害などの発症・進行と神経回路・遺伝子(エピジェネティック変化も含む)・脳内生理・環境等の各要因を統合的に解明した。
- 上記疾患の脳内メカニズムを解明した。
- 上記疾患の診断、治療、予防法の開発につなげた。

脳老化に関する研究

遺伝的要因による脳の健康逸脱機構や異常な脳老化のメカニズムを解明

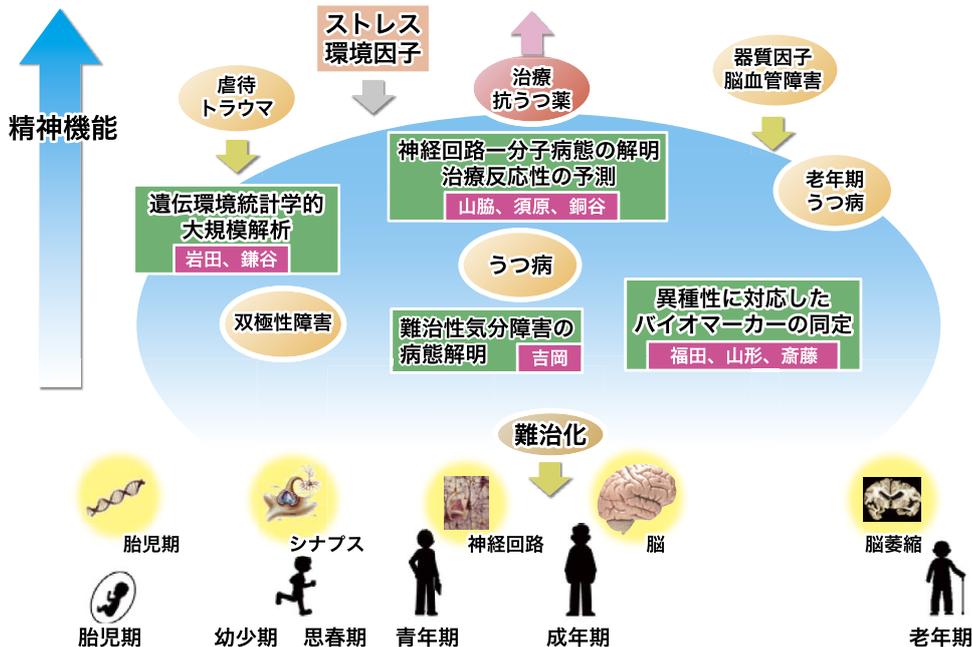
- 加齢に伴う認知症などの発症・進行と神経回路・遺伝子(エピジェネティック変化も含む)・分子病理学・環境等の各要因を統合的に解明した。
- 加齢に伴う認知症等の脳内メカニズムを解明した。
- 上記疾患の診断、治療、予防法の開発につなげた。

発達障害研究チーム 総論



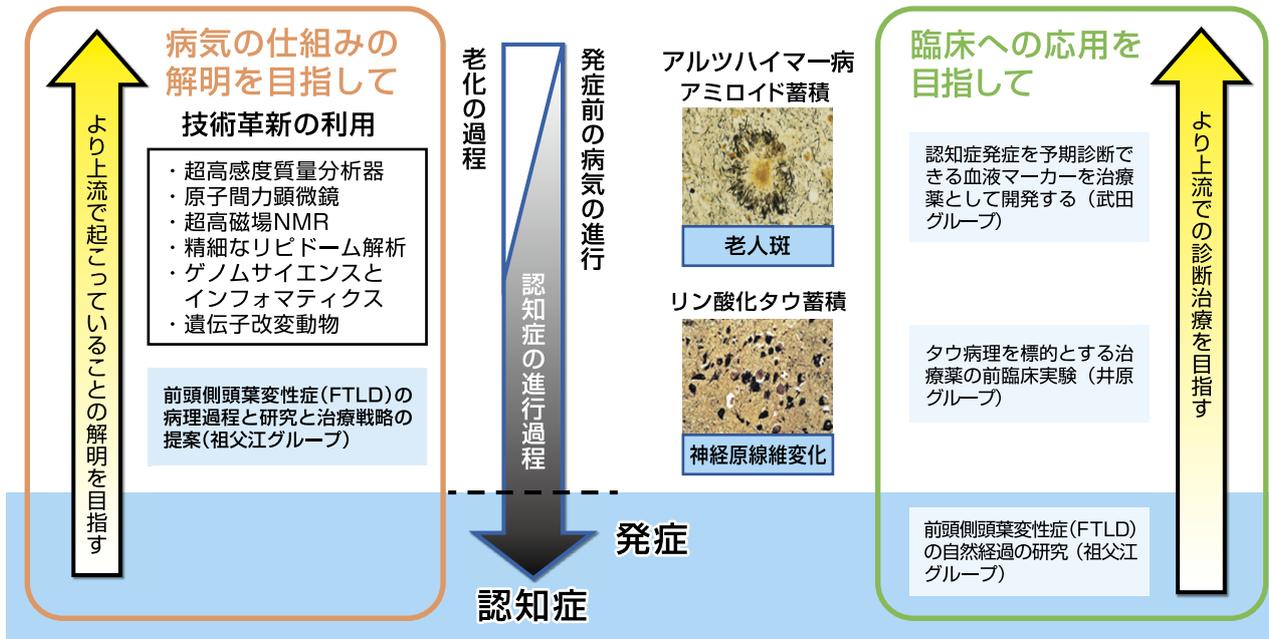
統合失調症(SCZ)や自閉スペクトラム症(ASD)のような精神疾患や発達障害は、遺伝的要因と環境的要因の両方が複雑に絡み合って発症し、疾患メカニズムは多様です。そのため、発症早期での客観的診断及び個々の患者に適した治療法の選択(個別化医療)の実現が必要です。本研究課題では、1.ゲノム解析を起点として、疾患の発症リスクを高めるゲノム変異の同定からモデル生物を利用した発症メカニズムの解明、2.バイオマーカーの開発、3.脳画像解析、4.オキシトシン(OXT)の臨床治験などを実施してきました。これらの成果により、客観的で正確な診断・治療法の体系化に一歩近づき、患者の生活の質が高まることが期待されます。

うつ病等研究チーム 総論



うつ病・双極性障害(躁うつ病)の克服を目指して研究を行いました。未治療のうつ病を対象に症候の神経回路と分子病態を明らかにし、機械学習を用いて抗うつ薬治療反応性と関連する指標を明らかにしました(山脇、須原、銅谷)。中高齢者のうつ病を対象に若年初発群と中高年初発群の補助診断マーカーを同定しました(福田、山形、斎藤)。また、様々な動物モデルを用いて、双極性障害(躁うつ病)の行動リズム障害や難治化に関連する要因を明らかにするとともに(吉岡)、双極性障害(躁うつ病)の新規リスク遺伝子及びうつ状態と関連する遺伝子環境相互作用を同定しました(岩田、鎌谷)。これらの成果を踏まえ、各病態に応じた新規診断・治療法の展開が期待できます。

脳老化研究チーム 総論



早期診断治療による高齢者の認知症(AD)予防は喫緊の課題です。本研究は早期に病気を発見し、できるだけ早い将来にそれに有効に介入する方法を実現することを目標として進めました。武田グループでは早期診断のためのバイオマーカーを血液で測定することに取り組みました。井原グループでは早期に上市の可能性のある抗タウオパチー薬の開発を前臨床まで行いました。祖父江グループでは前頭側頭葉変性症(FTLD)の自然経過について臨床的に明らかにし、同時にそのモデル動物の解析から病気が起こる仕組みを明らかにし、新たな治療標的を発見しました。

生命倫理課題研究チーム 総論

1. 脳プロに参画する研究者や研究機関、施設の倫理委員会等に対して、**具体的な倫理支援を提供**
2. 調査研究・倫理研究から成る学際的な研究グループが、精神・神経疾患分野を含む**脳科学研究の倫理的・法的・社会的課題(ELSI)を包括的に検討**

脳科学研究における被験者保護と倫理審査の体制を確立
脳科学研究にまつわるELSIへの対応

代表機関

国立大学法人 東京大学

(平成23年度より平成27年度まで)

代表 瀧本 禎之

分担機関

国立大学法人 東京医科歯科大学

(平成23年度より平成25年度まで)

代表 藍 真澄

社会と調和した脳科学の発展のためには倫理への配慮が欠かせません。人を対象とした脳科学研究を適切に審査する倫理委員会の体制づくりや、研究の現場で生じる倫理的課題に迅速に対処できる専門家による研究者への倫理コンサルテーションが求められています。脳プロ生命倫理課題では、倫理支援・倫理教育・倫理研究の3つの柱で社会と共にある脳科学研究をサポートしてきました。研究者が気軽に利用できる相談窓口の開設、倫理審査委員の技能向上を目指したセミナーの開催、新規の脳科学技術に関する事前の倫理的検討、こうした活動を通して研究者にも研究参加者にも安心を提供いたしました。

<課題F 精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究>

●発達障害研究チーム

名古屋大学大学院 医学系研究科 教授	尾崎 紀夫 (拠点長)	自閉スペクトラム症(ASD)と統合失調症(SCZ)のゲノム解析を起点として、発症因に基づく両疾患の診断体系再編と診断法開発を目指した研究:多面発現的効果を有するゲノムコピー数変異(CNV)に着目して
金沢大学 子どものこころの発達研究センター 特任教授	東田 陽博	神経内分泌仮説に基づく知能障害を有する自閉スペクトラム症(ASD)の診断と治療の展開研究
東北大学大学院 農学研究科 教授	西森 克彦	オキシトシン(OXT)脳内作用機序の分子研究
東京大学大学院 医学系研究科 准教授	山末 英典	プロトコール及び評価指標検討による次段階のオキシトシン(OXT)臨床試験の計画・実施
浜松医科大学 医学部 精神医学講座 教授	森 則夫	自閉スペクトラム症(ASD)の病態研究と新たな診療技法(診断・予防・治療)の開発
大阪大学大学院 連合小児発達学研究所 教授	片山 泰一	自閉スペクトラム症(ASD)脳内セロトニン・トランスポーター発現異常の原因解明と診断応用
福井大学 子どものこころの発達研究センター 特任教授	佐藤 真	自閉スペクトラム症(ASD)の発症基盤の解明と診断・治療への展開
横浜市立大学 医学研究科 教授	松本 直通	発達障害に至る分子基盤の解明
理化学研究所 脳科学総合研究センター チームリーダー	山川 和弘	てんかんに合併する発達障害分子基盤の解明

●うつ病等研究チーム

広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 教授	山脇 成人 (拠点長)	うつ病の神経回路—分子病態解明とそれに基づく診断・治療法の開発
放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター プログラムリーダー	須原 哲也	うつ病発症候の脳内責任領域の特定とその分子メカニズムの解明
沖縄科学技術大学院大学学園 神経計算ユニット 教授	銅谷 賢治	機械学習と行動学習モデルによるうつ病サブタイプと発症機構の理解と治療・予防手法の導出
藤田保健衛生大学 医学部 精神神経科学 教授	岩田 仲生	遺伝環境統計学的相互作用大規模解析による気分障害の病態メカニズムの解明
理化学研究所 統合生命医科学研究センター 副チームリーダー	鎌谷 洋一郎	大規模ゲノムタイピングと情報解析による気分障害の病態メカニズムの解明
群馬大学大学院 医学系研究科 教授	福田 正人	うつ病の異種性に対応したストレス脆弱性バイオマーカーの同定と分子病態生理の解明
東京大学 医学部附属病院 脳神経外科 教授	齊藤 延人	中高年発症うつ病モデルとしてのエンドセリン誘発白質虚血ラットの解析
山口大学 医学部附属病院 精神科神経科 講師	山形 弘隆	うつ病異種性の診断・病態解明に向けたバイオマーカー分子の探索
北海道大学大学院 医学研究科 教授	吉岡 充弘	ドバミン神経系に着目した難治性気分障害の統合的研究

<課題F 精神・神経疾患の克服を目指す脳科学研究>

●脳老化研究チーム

大阪大学 保健センター 特任教授	武田 雅俊 (拠点長)	革新的技術を活用し、加齢による脳機能低下と異常蛋白蓄積につながる病理過程の上流を追求・解明し、認知症(AD)の血液診断マーカーと治療薬を開発する
国立長寿医療研究センター 研究所長	柳澤 勝彦	アミロイド蓄積に先行する膜脂質の変動を標的とするアルツハイマー病先制治療薬の開発
医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬基盤研究部 プロジェクトリーダー	朝長 毅	加齢による脳機能低下関連分子の定量
理化学研究所 統合生命医科学研究センター グループディレクター	角田 達彦	ヒトGWASとモデル動物トランスクリプトームの統合的解析による新規アルツハイマー病関連遺伝子の同定
同志社大学 神経疾患研究センター 客員教授	井原 康夫	抗タウオパチー薬の創出
国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部長	高島 明彦	動物モデルを用いた化合物スクリーニング、および神経機能障害機構解明
名古屋大学大学院 医学系研究科 特任教授	祖父江 元	前頭側頭葉変性症(FTLD)の病態解明に基づくdisease-modifying therapyの開発
国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 室長 ※平成28年1月より、大阪大学大学院 医学系研究科 教授	永井 義隆	前頭側頭葉変性症(FTLD)ショウジョウバエモデルの開発と病態解明・治療法開発

<生命倫理課題 生命倫理等に関する課題の解決に関する研究>

東京大学大学院 医学系研究科 准教授	瀧本 禎之 (拠点長)	脳科学研究における倫理的問題の解決に関する研究
-----------------------	----------------	-------------------------

目的

- 自閉スペクトラム症(ASD)及び統合失調症(SCZ)のゲノム解析に基づく新規診断法の開発
- ゲノム変異に基づくモデル生物(マウス・iPS細胞)の開発及び分子病態の解明

成果

- 自閉スペクトラム症(ASD)と統合失調症(SCZ)の発症に関与するゲノム変異を患者の約9%で同定した。
- 患者型ゲノム変異を有するモデルマウスの作出とiPS細胞の樹立に成功した。

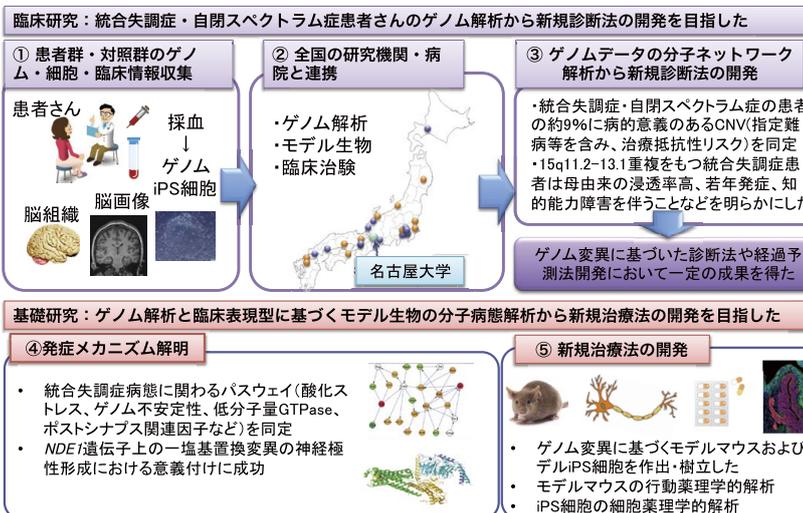
自閉スペクトラム症(ASD)と統合失調症(SCZ)は、脳の発達の何らかの問題によって起こる疾患で、有病率はともに約1%と報告されています。しかし発症のメカニズムは十分に分かっておらず、診断は行動特性や精神症状の組み合わせに基づいてなされており、未だ客観的な診断法は存在しません。その結果、適切な時期に適切な治療の介入が為されず、予後が悪くなっている場合があります。

疫学研究から、自閉スペクトラム症、統合失調症の発症には遺伝要因が強く関与していることが報告されてきました。そこで我々は、これら2疾患の発症メカニズムの解明と、その発症メカニズムを反映した客観的な診断法の開発を目的として、発症に強く影響するゲノム変異、特にゲノムコピー数変異(copy number variation: CNV)を探索しました。遺伝子は通常2コピーずつ存在しますが、CNVはコピー数が増えたり、減ったりすることで、遺伝子の機能に影響を与えます。脳の正常な発達には多数の遺伝子が関わっており、CNVによって重要な遺伝子の機能に影響がもたらされると、脳の発達がうまくいかず、最終的には精神疾患の発症に繋がると考えられています。我々のCNV解析から、両疾患の患者約9%に、発症に関与する多様なCNVが見つかり、発症に重要な遺伝子が多数見つかりました。そのうちの1つ、染色体15q11.2-13.3領域のCNVをもつ統合失調症患者は若年発症で知的能力障害を伴うことが多いことも分かりました。

次に、上記で見つけた発症に強く影響するゲノム変異の生物学的な意義を明らかにするために、患者のゲノム変異を模倣するモデル生物(遺伝子改変マウスおよび患者由来iPS細胞)を作製しました。ヒトの脳そのものをを用いた解析には制限が

あるからです。作製したモデルで神経細胞を顕微鏡で解析したところ、本研究で見つけたゲノム変異は、神経細胞に悪影響(成熟の遅れや遊走異常)を及ぼすことが分かりました。

ゲノム変異と精神疾患発症の因果関係を理解し、新しい診断法や治療法の開発に結びつけるためには、ゲノム変異により影響を受ける遺伝子から疾患の発症メカニズムを解明することが必要です。モデル動物では神経病理・神経化学的解析や行動薬理学的解析を実施することが可能で、発症メカニズムの理解に繋がります。また、患者由来iPS細胞は、ヒトの生きた神経細胞における遺伝子発現や薬剤感受性を調べることができます。モデル動物とiPS細胞のデータを相互比較することにより、ゲノム変異に基づいて発症メカニズムを解明し、客観的な診断法と効果的治療法の開発に繋がる知見が得られます。



研究成果のご紹介

- ・ Niwa M, et al. "Adolescent stress-induced epigenetic control of dopaminergic neurons via glucocorticoids." Science, 339:335-339, 2013.
- ・ Aleksic B, et al. "Analysis of the VAV3 as Candidate Gene for Schizophrenia: Evidences From Voxel-Based Morphometry and Mutation Screening." Schizophr Bull. 39:720-728, 2013.
- ・ Kimura H, et al. "Identification of Rare, Single-Nucleotide Mutations in NDE1 and Their Contributions to Schizophrenia Susceptibility." Schizophr Bull, 41:744-53, 2015.
- ・ Isles A.R, et al. "Parental Origin of Interstitial Duplications at 15q11.2-q13.3 in Schizophrenia and Neurodevelopmental Disorders." PLoS Genet, 12:e1005993, 2016.
- ・ Kushima I, et al. "High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan." Mol Psychiatry, in press.

目的

- 知的障害を伴う自閉スペクトラム症(ASD)患者を対象とするオキシトシン(OXT)の治療効果の臨床研究
- 脳磁計(MEG)による健常及び自閉スペクトラム症(ASD)の小児の脳発達の研究

自閉スペクトラム症(ASD)は、100人に1人の有病率で、国内に100万人以上と見積もられていますが、現在、有効な治療薬はありません。ASDは、社会性障害(コミュニケーション障害)と反復的活動を主症状とします。社会性障害が中核症状です。ところで、下垂体後葉ホルモンであるオキシトシン(OXT)は、他者への愛情や親近感をもたせる中枢作用があると言われていて、そこで15歳以上の男性30名の知的障害を伴うASDの方に対するOXTによる症状改善を目指した長期投与の臨床試験を行いました。何故このサブクラスの人を対象にしたかという、ASDの56%は知的障害を伴うことから、有意義な試験になると思い研究を実施しました。

両方の鼻に1回ずつ朝夕噴霧する(16国際単位)という方法で、治療を受ける本人、家族、治療者もOXTを使っているか、偽薬使用中か分からない(Randomized Control Test)状態で8週間投与後直ぐに薬をスイッチし、更に8週間投与しました。従来から知られていた5つのASD評価法の結果では、OXTと偽薬投与中に差を見出せませんでした。しかし、家族や医師の観察記録の中から、患者の家庭内での対人交流の頻度は、OXT投与中に多いという結果を得られました。今後は、対人交流をより良く評価する方法でOXTの効果を判定する必要が出てきました。

ASDは早期介入により予後が改善することから、早期診断のための医学的要請が年々高くなってきています。そのため、幼児において脳機能評価を行うことが必要です。我々は、幼児にストレスが殆どかからない状態で、簡単に脳機能評価を行える方法として、小児の頭の大きさに合わせた(カスタマイズした)小児用脳磁計(MEG)を開発しました。それを使うと、簡

成果

- 知的障害を伴う自閉スペクトラム症(ASD)の方に対して初めてオキシトシン経鼻投与の臨床試験を行った。
- 脳磁計(MEG)による脳機能イメージング測定により自閉スペクトラム症(ASD)児の脳発達の特徴を捉えた。

便に6分程度で測定することができます。将来は集団検診にも応用が可能な計測装置とするつもりです。MEG測定により、5~7歳のASDの小児における言語能力と聴覚誘発領域との関係についても明らかにしました。また、シラブルの音調を変えた言語に対する脳活動の空間・時間的变化と、健常人の中にあるASD傾向との関係も明らかにしました。加えて、ASDの幼児の脳機能結合について、脳の側性化に焦点を置くことで、定型発達幼児の違いを明らかにしました。最後に、幼児のこころの発達の心理的データとMEGの生理学的データの関係性から、より精密な診断が可能になってきています。



研究成果のご紹介

- Kikuchi M, et al. "Altered brain connectivity in 3-to-7-year-old children with autism spectrum disorder." *Neuroimage Clin.* 2: 394-401, 2013.
- Liu HX, et al. "Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates." *Nat Commun.* 4: 1346, 2013.
- Mizuno A, et al. "Lipo-oxytocin-1, a Novel Oxytocin Analog Conjugated with Two Palmitoyl Groups, Has Long-Lasting Effects on Anxiety-Related Behavior and Social Avoidance in CD157 Knockout Mice." *Brain Sci.* 5(1): 3-13, 2015.
- Yoshimura Y, et al. "Atypical development of the central auditory system in young children with Autism spectrum disorder." *Autism Res.* [Epub ahead of print], 2016.
- Munesue T, et al. "Oxytocin for Male Subjects with Autism Spectrum Disorder and Comorbid Intellectual Disabilities: A Randomized Pilot Study." *Front Psychiatry.* 7: 2, 2016.

発達
障害

オキシトシン(OXT)脳内作用 機序の分子研究

目的

- 社会行動に関与するオキシトシン受容体発現ニューロンの性質と分布の解明
- オキシトシン受容体発現ニューロンの生理学的機能解析のための新たなツール開発

下垂体後葉から血中に分泌されるホルモン、オキシトシン(OXT)は、私がOXT研究を始めた1994年頃には、哺乳類の生物学に詳しい人か産婦人科医が、分娩や乳汁の射出に必要なことを知っていた以外は、その役割について知る人はほとんどいませんでした。それ以来20余の年がたち、今やオキシトシンブームともいえるような状況となっています。何が世間をOXTに注目させたのでしょうか？今ではOXTは、ホルモンというよりも脳内の新たな神経伝達物質・神経修飾因子とみなされ、様々な脳内物質の中でも親子関係の成立維持や、カップル・夫婦間の関係維持・強化、あるいはイヌと飼い主の様に異種動物間の社会的な関係すらも含む、様々な社会的な関係に関わり、それらを仲立ちしていると考えられるに至っています。OXTは哺乳動物の個体同士間の社会的な関係を支え、彼らが互いにより良い関係を樹立し維持するために、つまり家族や仲間、異性ペア間などでの絆を強化するための大変重要な働きをしていることが、多くの研究により示されるに至っています。何より重要なことは、このOXTの投与が精神疾患の一つでもある自閉スペクトラム症(ASD)の方の症状改善に効果のある初めての医薬として注目されていることです。ASDの方は人間関係を形成したり維持することが苦手であるという典型的な症状を示し、OXTを投与すると症状が改善されるという多くの報告があります。しかしASDは、実は決して単一の病因(病気の原因)からなる疾患ではなく、発達期のASDの児童に見られるその特徴的な症状(1)コミュニケーション障害、(2)社会性の障害、(3)固執行動(繰り返し行動)、などを基に分類される、自閉症様症候群の総称です。その原因も遺伝的なものを含め、環境要因など多くの因子が推定されてはいるものの、全貌は未だ確かではありません。しか

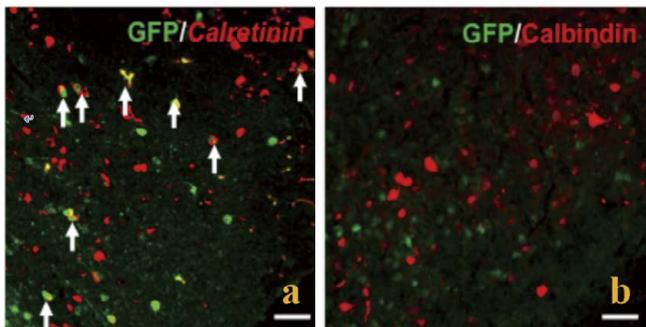
成果

- MeA(扁桃体内側核)、及びLS(外側中隔)に分布するオキシトシン受容体発現ニューロンの多くはGABA作動性であり、カルレチニン(+)の介在ニューロンである。
- オキシトシン受容体発現ニューロンの生理学的機能解析のための新たなツール、遺伝子改変マウスの開発

しその発症率は増大し、最近では人口100人当たり1人以上の率でASDが発症するともいわれるなど、頻度の高い精神疾患と考えられています。ASDの児童を携える家庭の負担も、これをサポートする公的システムの社会的・金銭的負担は決して無視出来るものではありません。このASDの方に対するOXTの投与がその症状改善に効果を示す事が、現在大変注目されているわけですが、何故ASDにOXTの投与が効くのか、あるいはASD患者で共通して損なわれている脳機能は何なのか等、ASDの基本的な発症メカニズムやそれとOXTとの関係については未だほとんど分かっていません。

我々は、以前からOXTとその受け手の分子である受容体(OXTR)が持つ魅力的な生物機能に惹かれ研究を続け、この5年間はこれまで構築してきた多くのOXT・OXTR遺伝子改変マウスを使い、自閉症の脳内メカニズム解明と、OXT投与がASDになぜ効果を示すのか、その機構解明に絞って研究を続けてきました。これまで我々の研究では、OXTの受け手分子のOXTRは、脳内に広く分布するものの、特に扁桃体内側核と外側中隔という、情動などと密接な関係を持つ脳内領域でOXTRが不足したマウスでは自閉症的な症状を示すこと、これらの領域ではGABAという、神経の作用を抑制するような脳内伝達物質を供給する神経にOXTRが多く発現していること、などが分かってきました。こうした新しい知識は、ASDをより良く理解し、今後OXTやOXTを上回るASD治療薬と治療法を開発していく上でも、大変重要な基礎知識と考えています。精神疾患研究は、動物で実験するほかに強力な手段が無いなど大変困難で、一歩一歩進めていくしかありませんが、着実に前進していることは間違いありません。

社会記憶制御に関連したマウス脳の神経核(MeA及びlateral septum)ではOXTR発現性のニューロンの多くがCalretinin陽性の介在神経(図のa内↑で示した箇所)であった。図a,b共にOXTR発現ニューロンはGFP(緑)で、またaではCalretininが、bではCalbindinが赤で表示されている。



研究成果のご紹介

- Guzmán YF, et al. "Fear-enhancing effects of septal oxytocin receptors." *Nat Neurosci.* 16: 1185-1187, 2013.
- Kasahara Y, et al. "Oxytocin Receptor in the Hypothalamus Is Sufficient to Rescue Normal Thermoregulatory Function in Male Oxytocin Receptor Knockout Mice." *Endocrinology*, 154: 4305-4315, 2013.
- Mesic I, et al. "Double Dissociation of the Roles of Metabotropic Glutamate Receptor 5 and Oxytocin Receptor in Discrete Social Behaviors." *Neuropsychopharmacology*, 40:2337-46, 2015.
- Maejima Y, et al. "Nasal Oxytocin Administration Reduces Food Intake without Affecting Locomotor Activity and Glycemia with c-Fos Induction in Limited Brain Areas." *Neuroendocrinology*, 101:35-44, 2015.
- Hidema S, et al. "Generation of Oxt^r cDNA(HA)-IRES-Cre Mice for Gene Expression in an Oxytocin Receptor Specific Manner." *J Cell Biochem*, 2015.

発達障害

プロトコル策定及び評価指標検討による次段階のオキシトシン(OXT)臨床試験の計画・実施

目的

- オキシトシン(OXT)点鼻剤による自閉スペクトラム症(ASD)の症状への効果を検証する臨床試験のプロトコルの作成
- 作成したプロトコルに従って、臨床試験を実施

成果

- オキシトシン(OXT)点鼻剤による自閉スペクトラム症(ASD)の症状への効果を検証する世界初の臨床試験となるプロトコルを作成した。
- プロトコルに従って臨床試験を行ない症例の登録を完了した。

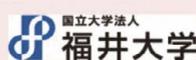
国立大学法人東京大学では、オキシトシン(OXT)の点鼻剤が、自閉スペクトラム症(ASD)の中核症状に対する初の治療薬候補として、効果があるかどうかや安全かどうかを検討するために、単施設の医師主導臨床試験を行なって、まずは1回の投与の場合に効果があり安全であることを示す結果を見出してきました。そして、OXT点鼻剤の臨床的な効果を検討するための、連続して投与した場合についての小規模で予備的な臨床試験によって、対人場面で評価される対人相互作用の中核症状そのものが改善し、その中核症状の改善が内側前頭前野などの脳機能の改善を伴うことを見いだしました。そして、20名の方に協力していただいて検討したこの予備的な検討結果を確かめる目的で、平成26年度に「自閉スペクトラム症を対象としたオキシトシン経鼻剤の多施設・並行群間比較・プラセボ対照・二重盲検・検証的試験」(Japanese Oxytocin Independent Trial: JOIN-Trial)を国立大学法人名古屋大学、国立大学法人金沢大学および国立大学法人福井大学と共同して計画しました。この計画した臨床試験について、平成26年11月に開始しました。

試験開始後、日本全国から450名を超える大変多くの方に臨床試験参加の応募をいただきました。そして、応募して下さった方が、本臨床試験に参加していただく条件や参加していただけない条件に該当するかどうかを確かめて臨床試験を進めていきました。その結果、平成28年1月中で参加者の方の募集を締め切り、同年3月中旬に最後の参加者の方の臨床試験登録を完了しました。これまで治療方法が確立されていなかったASD中核症状に対して、初めて治療薬を供給することが期待されるという点で、OXT点鼻剤のプロジェクトはとても画期的なものです。

そのため、現在は北米などでもOXT点鼻剤によるASDの症状への効果を検証する臨床試験が行われています。そうした中で、我が国発の本臨床試験は、世界で初の検証結果を見いだせるペースで登録完了まで進めることができました。検証結果の公表は、データのチェックや解析、そして結果公表論文の投稿準備と投稿後の論文審査を経て、平成28年の秋以降になる見通しです。その検証結果を踏まえて、平成28年度以降は更に実用に向けた開発を進めていく計画を立てています。

少人数の予備的試験で効果と安全性を示唆:2012-13年

本研究:オキシトシン(OXT)点鼻薬剤連続投与の検証的臨床試験
による効果と安全性の確認:2014-2016年
Japanese Oxytocin Independent Trial (JOIN-Trial)
多施設・並行群間比較・プラセボ対照・二重盲検



研究成果のご紹介

- ・ Watanabe T, et al. "Mitigation of Sociocommunicational Deficits of Autism Through Oxytocin-Induced Recovery of Medial Prefrontal Activity: A Randomized Trial." JAMA psychiatry 71:166-75, 2014.
- ・ Aoki Y, et al. "Oxytocin improves behavioural and neural deficits in inferring others' social emotions in autism." Brain 137:3073-86, 2014.
- ・ Watanabe T, et al. "Clinical and neural effects of six-week administration of oxytocin on core symptoms of autism." Brain 138:3400-12, 2015.
- ・ Aoki Y, et al. "Reply: Does imitation act as an oxytocin nebulizer in autism spectrum disorder?" Brain 138:e361, 2015.
- ・ Aoki Y, et al. "Oxytocin's neurochemical effects in the medial prefrontal cortex underlie recovery of task-specific brain activity in autism: a randomized controlled trial." Molecular Psychiatry 20:447-53, 2015.

革新的な自閉スペクトラム症(ASD)中核症状治療法の開発へ

発達障害

自閉スペクトラム症(ASD)の病態研究と新たな診療技法(診断・予防・治療)の開発

目的

- 注視点計測技術を活用した自閉スペクトラム症(ASD)診断補助装置の開発
- PET(ポジトロン断層撮影法)による自閉スペクトラム症(ASD)における脳内炎症のメカニズムの解明

成果

- 注視点検出装置(GazeFinder)を開発した。乳幼児において感度78%で自閉スペクトラム症(ASD)の診断ができることを示した。
- 自閉スペクトラム症(ASD)脳における炎症とセロトニントランスポーターの異常の関連を突き止めた。

自閉スペクトラム症(ASD)という小児期発症の精神神経疾患は、社会的コミュニケーションの不得手さや、感覚の鋭敏さ・反復的行動などが特徴として知られており、多くの場合、社会生活が障害されます。近年、乳幼児期に教育的介入を開始することで社会適応力が向上することが分かってきましたが、自閉症を乳幼児期に正しく診断することが難しいことが専門家から繰り返し指摘されてきました。さらに、ASDの原因が明らかになれば教育的介入以外に薬物の開発も可能になるはずですが、これまでASDの原因はほとんど分かっていません。

今回、私たちの研究グループは、2つの目的に沿って研究開発を行いました。

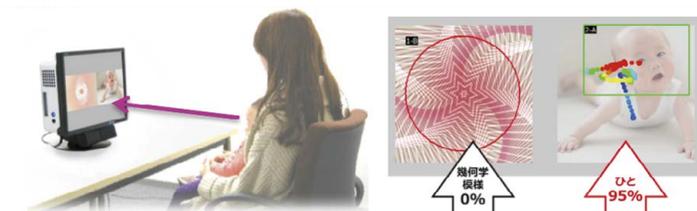
①注視点計測技術を活用したASD診断補助装置の開発

ASDの子どもたちは、視線を使ったコミュニケーションが少ないことが指摘されています。私たちは、子どもの視線を見つけ、それがどこを捉えているかを調べることでできる装置、注視点検出装置(GazeFinder,ゲイズファインダー)を(株)JVCケンウッド社と共同開発しました。そして、この機器を用いてたくさんの子どもの計測を行い、ASDに特徴的な視線の使い方があることを見いだしました(ヒトをあまり注視しない)。さらに、診断のついていない1歳6ヶ月~2歳児(446名)を対象にGazeFinderによる計測を行って、ASDに特徴的な視線の使い方があるかどうかを検討したところ、感度78%で正しく診断を予測できることが分かりました。

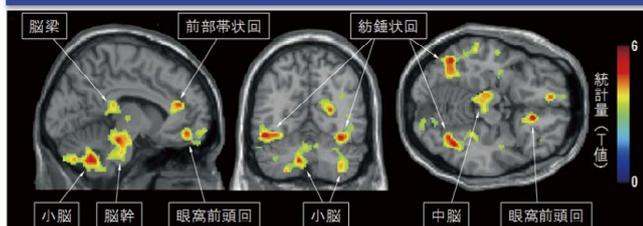
②ASDにおける脳内炎症のメカニズムのPET(ポジトロン断層撮影法)による解明

ヒトの脳内における神経伝達のありようを<見える化>するPETは、ASDの原因を探る研究において大きな武器となり

ます。私たちはすでに、PETを用いて、成人したASDの方においてセロトニントランスポーターの密度が低下していることを示しました。この発見は、ASDの方に「こだわり行動」がよく見られるということと、「こだわり行動」がセロトニントランスポーターの機能を調整する薬剤(SSRI)によって軽減することと深い関係があります。一方、セロトニントランスポーター密度の低下の背景は不明でしたが、私たちの研究グループは、さまざまな知見を勘案したうえで、脳内に炎症があるとの仮説を立て、再びPETを用いた計測を行いました。その結果、成人したASDの方(20名)では、定型発達の方(20名)と比較して「活性化ミクログリア」が有意に増加していることを突き止めました。「活性化ミクログリア」は脳内炎症を示唆する細胞であり、また活性度が高いほどASDの重症度が高いことも分かりました。さらに「活性化ミクログリア」の活性度とセロトニントランスポーター密度が逆相関していたことから、脳内炎症はASDのなりたちを説明する重要なプロセスであることが明らかとなりました。



Gazefinder による計測の様子(左)と、実際の注視点計測の結果の一例(右)。



活性化ミクログリアが増加している脳部位。

研究成果のご紹介

(特許)

- ・Mori N, et al. "Method, system and device for assisting diagnosis of autism" US14/342760.
- ・森 則夫ほか, "自閉症診断支援方法およびシステム並びに自閉症診断支援装置" 特願 2012-063237.
- ・森 則夫ほか, "自閉症診断支援方法およびシステム並びに自閉症診断支援装置" 特願 2013-030686.

(原著論文)

- ・Suzuki K, et al. "Reduced acetylcholinesterase activity in the fusiform gyrus in adults with autism spectrum disorders." Arch Gen Psychiatry 68(3): 306-313, 2011.
- ・Suzuki K, et al. "Microglial activation in young adults with autism spectrum disorder." JAMA Psychiatry 70: 49-58, 2013.

目的

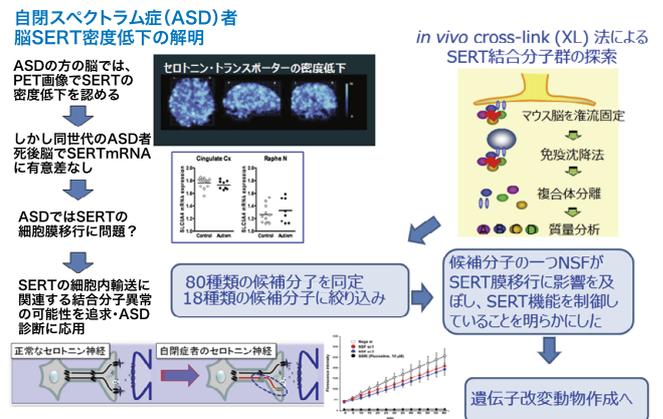
- 自閉スペクトラム症(ASD)の方の脳内セロトニン・トランスポーター(SERT)発現異常に至る分子メカニズムの解明
- SERT結合分子の取得と同分子を用いた自閉スペクトラム症(ASD)診断への応用

成果

- SERT結合分子を網羅的に探索し、SERT機能異常に至る分子メカニズムを解明した。
- 得られたSERT結合分子を用いて自閉スペクトラム症(ASD)診断応用が可能になることを明らかにした。

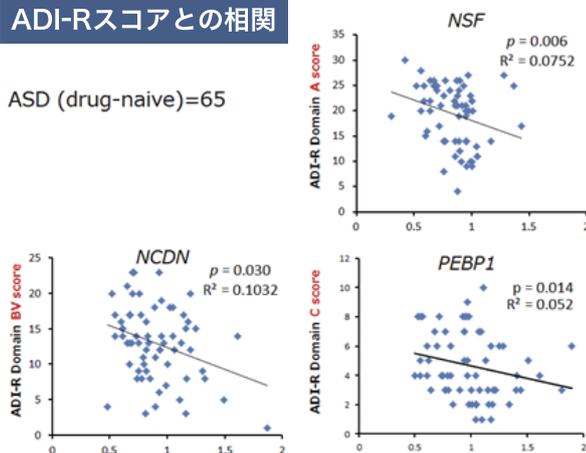
自閉スペクトラム症(ASD)は、内的外的コミュニケーションに困難があり、限局した興味と行動を特徴とする発達障害の一つです。現在、ASDに対する医学的治療はなく、療育がもっとも有効な治療と考えられていますが、療育は、早期に開始するほど効果が高いと言われていています。従って、ASDを早期に且つ科学的に診断する方法が切望されています。しかしながら、現在、ASDの正確な確定診断には、一部の専門家による長時間の面接や行動観察を通して行う方法しか存在しないため、少しでも客観的で簡便で正確に診断のできる方法が必要とされています。そこで、私達は、「ポジトロン断層撮影法(PET)を用いて撮影されたASDの方の脳においてセロトニン・トランスポーター(SERT)密度が低下しているが実際のSERT発現量には変化がない」という浜松医科大学チームの研究成果に着眼し、SERTを細胞表面に輸送する分子の異常ではないかという仮説をたて、脳におけるSERT結合分子群を同定すること、ASDの方の脳におけるSERT発現異常の原因解明と診断応用を目指しました。すなわち、in vivoクロスリンク法という脳内で実際にSERTと結合している分子を直接取得する方法でマウス脳内SERT結合分子を網羅的に探索し、18種類のSERT結合分子の同定に成功しました。その結果、そのうちの多くの分子が、SERTの細胞膜輸送に関連、あるいは安定性に関する分子であること、この分子群の発現異常がSERTの機能に影響を及ぼし、ASD発症に関わる可能性が明らかになりました。また、これら同定されたSERT結合分子群がASDの診断マーカーとして使用できるか否かをリンパ球・リンパ芽球において検討した結果、これら分子の少なくとも3種類(NSF、PEBP1、NCDN)の発現が、ASDの方のリンパ球において自閉

症診断面接改訂版(ADI-R)(現在ASDの確定診断の最も信頼されている診断ツールの一つ)のスコアと相関がみられることを明らかにしました。この成果は、既存のASD診断に比べて客観的で簡便かつ正確なASD診断応用への可能性につながるものと期待されます。現在は、上記ADI-Rのスコアとの相関がみられた分子を中心に遺伝子改変動物の作成を行っており、今後は、ASD様行動を示すかどうかなど、行動解析を行う予定です。



ADI-Rスコアとの相関

ASD (drug-naive)=65



ADI_domain A score : 社会性の欠如の指標 (点数が高いほど重症)
ADI_domain BV score : コミュニケーションの障害の指標 (点数が高いほど重症)
ADI_domain C score : 興味・活動の限定された反復的常同的な行動様式の指標 (点数が高いほど重症)
ADI_domain D score : 発症した年齢

研究成果のご紹介

・ Iwata K, et al. "N-ethylmaleimide-sensitive factor interacts with the serotonin transporter and modulates its trafficking: implications for pathophysiology in autism." *Mol. Autism* 5:33. doi: 10.1186/2040-2392-5-3, 2014.

目的

- 脳画像と視線計測を用いた神経基盤の解明とオキシトシン(OXT)継続投与による自閉スペクトラム症(ASD)の方の治療法の確立
- 早期診断指標としてのASDの方の末梢血中脂質濃度の検討

成果

- 社会性障害の脳部位を同定、視線計測によるASD者の判別に成功。オキシトシン(OXT)効果の用量依存性を確認、多施設臨床試験を実施した。
- 血中VLDL中性脂肪濃度測定によるASDの方の判別に成功した。

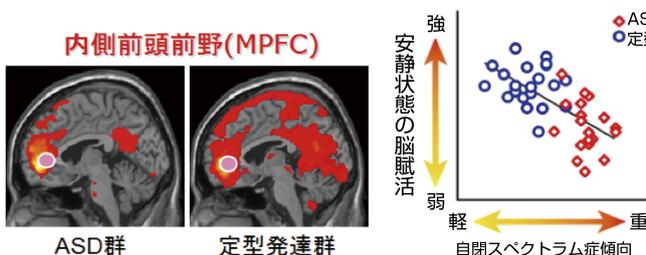
視線が合わない、人付き合いが苦手などの社会性に困難を示す自閉スペクトラム症(ASD)は、比較的新しい概念で、十分に病態が解明されていません。我々は、安静時にMRIを撮影した脳画像にて、社会性に関与するデフォルトモードネットワークの連結の強さがASDの症状と関連していることを発見し、ASDのバイオマーカーになる可能性を示しました。また注視点検出装置(GazeFinder)により、思春期・青年期にASDを持つ方の社会的情報に対する特有の注視パターンを発見し、ASDであるかどうかの判別が80%(感度、特異度)にて可能でした。これら簡便で客観的な手法が日常の臨床場面に応用できることが期待されています。

社会性に困難があるASDの方々には治療薬が未だに存在していません。一方で、動物実験から、ヒトは誰でも分泌している脳内ホルモンの一つであるオキシトシンが社会性を改善するという結果が立証され、我々もASDを持つ少女に6か月間のOXT経鼻スプレー継続投与を行い社会性が改善された経過を報告しました。次に、臨床試験として、青年期にASDを持つ方60名(男性47名、女性13名、平均年齢24.2歳、平均知能指数100.0)を対象に、OXTスプレー継続投与の治療効果を福井大学にて確認しました。男性群においては、用量依存的な効果を認め、GazeFinderによる効果や遺伝学的背景による効果の個人差を確認しました。現在、東京大学、金沢大学、名古屋大学とともに、大規模な多施設臨床試験を行っています。

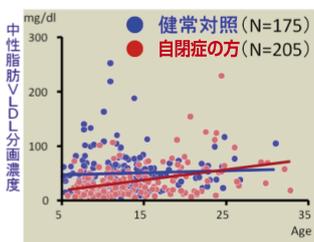
このように、ASDでは生物学的根拠のある診療手段が確立されていません。とくに診療・支援の現場で求められているのは、誰がどこで行っても同じ結果が得られる客観的な早期診断法の確立です。そこで我々は、ASDの早期診断に役立つ末梢

血中バイオマーカーを見いだす目的で、これまで200人以上ものASDの方から採血し、小学生以上では末梢血中の中性脂肪濃度が、同年齢の定型発達者と比べて有意に低いことを見いだしました。末梢血中脂質には中性脂肪のほかコレステロール等があり、リポタンパク質と呼ばれる球体に含まれる形で血中に存在し、その密度でHDL、LDL、VLDLに分類されます。上記のASD血中脂質所見の原因を明らかにするためリポタンパク質分画を調べたところ、小学生以上のASDの方では血中の中性脂肪VLDL分画が特異的に少ないことが分かりました。この所見はASDのバイオマーカーになる可能性があり、新たなASD判別法として特許を取得しました。

今後は、なぜASDで末梢血中のVLDL減少が起きるかのメカニズム解明が重要になります。そこで発達障害のモデルとされるマウスの血中脂質濃度をいくつか調べ、金沢大学で検証しているCD38ノックアウトマウスに同じような血中脂質低下を認めました。そこで、このマウスに出生時から脂質を補充する餌を数種類与えたところ、一部に社会行動異常の修復を認めました。現在、この所見とマウスに認められる脳内の形態学的異常の関連を調べています。



安静時の脳活動にて、ASD傾向が予測できる



ASDの方は中性脂肪VLDL分画が特異的に少ない

研究成果のご紹介

- ・ Kosaka H, et al. "Long-term oxytocin administration improves social behaviors in a girl with autistic disorder." BMC Psychiatry, 12:110, 2012.
- ・ US PATENT #8518659 B2 "Method for determination of degree of risk of onset of high-functioning autism."
- 発明者：森則夫、中村和彦、鈴木勝昭、土屋賢治、岩田圭子、松崎秀夫 特許承認日：2013年8月27日
- ・ Jung M, et al. "Default mode network in young male adults with autism spectrum disorder: relationship with autism spectrum traits." Mol Autism, 5:35, 2014.
- ・ Fujioka T, et al. "Gazefinder as a clinical supplementary tool for discriminating between autism spectrum disorder and typical development in male adolescents and adults." Mol Autism, 7:19, 2016.

目的

- 発達障害を引き起こす遺伝子異常の同定 (発達障害の中で、レット様症候群と自閉スペクトラム症の2疾患を対象に、症例とその両親を含めたトリオ検体を用いて全遺伝子シーケンス解析を行う)

成果

- レット様症候群47家系の解析で18家系において12種類の遺伝子異常を同定した。ASD250家系におけるトリオ解析では、2家系以上で*de novo*変異を認めた共通遺伝子を20個同定した。

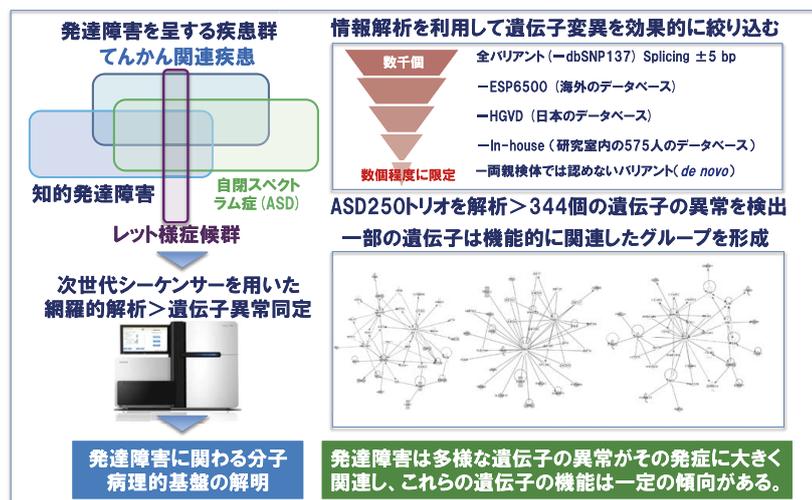
レット様症候群の症状(知的障害、てんかん、運動退行等)を示し、既知の原因遺伝子(*MECP2*, *CDKL5*, *FOXG1*)に変異を認めない47家系50名を集積しました。レット症候群は、既知の3遺伝子で、95%程度は説明可能なため、50例の既知遺伝子異常のない症例の集積は、およそその20倍程度(1000例)の患者さん方の集団由来であることが推定されます。全エクソーム解析をすべての家系で施行し、うち20家系では、両親と患者さんを合わせたトリオ解析を実施しました。過去にてんかんや発達障害を呈する関連疾患の原因遺伝子であると認識されている12遺伝子に異常を認める症例が18家系ありました。トリオ解析を行うことができた20家系では、30個の遺伝子突然変異を同定することができました。最終的に47家系中、既知の疾患遺伝子13個と疾患と関連の深い4遺伝子の異常が22家系で同定されました(46.8%)。

この事実は、発達障害の一部を形成するレット様症候群の遺伝的背景が極めて多様性に富むことを示唆しています。

ASDでも同様に250トリオで全エクソーム解析を行いました。遺伝子の中でタンパク質をコードする領域を中心に、全ての遺伝子における詳細な解析の結果、665個の遺伝子の稀なバリエーション(塩基の変化)が浮かび上がってきました。この中で特に機能的に変化が大きく病的可能性の高いナンセンス変異(タンパク質が短くなる変化)・ミスセンス変異(アミノ酸が変化)・塩基の欠失重複(アミノ酸に過不足やタンパク質が短くなる変化)等に注目して344個を抽出し、遺伝子産物同士の機能的結びつきを調べるパスウェイ解析を行いました。すると344個中124個の遺伝子は、機能的に相互に結びついておりました。さらに遺伝子の機能を細かく解析すると、一定数の類似

の機能を有する遺伝子群グループが複数存在しておりました。また2家系以上で共通にバリエーションを認めた遺伝子は計20個検出されました。これらの結果から、ASDの遺伝的背景の多様性ととも、少数ながら共通の遺伝子異常が存在すること、機能的に同じグループに属する遺伝子群が異常をきたしていることが明らかになりました。

本研究を通じて、トリオベースの全遺伝子解析により発達障害の原因となる遺伝子異常が同定可能であること、発達障害発症に多様な遺伝子異常が絡んでいることが明らかになり、これらの遺伝子異常のデータを出発点とした治療・予防法の開発が可能となると考えられます。



研究成果のご紹介

- ・ Saitsu H, et al. "De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood". *Nat Genet* 45(4): 445-449, 2013.
- ・ Miyatake S, et al. "Clinical exome sequencing in neurology practice". *Nat Rev Neurol*, 10(12):676-678, 2014.
- ・ Tsurusaki Y, et al. "De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome". *Nat Commun* 5:4011, 2014.
- ・ Ohba C, et al. "De novo WDR45 mutation in a patient showing clinically Rett syndrome with childhood iron deposition in brain". *J Hum Genet*, 59(5):292-295, 2014
- ・ Nakajima J, et al. "De novo EEF1A2 mutations in patients with characteristic facial features, intellectual disability and, autistic behaviors and epilepsy". *Clin Genet*, in press.

発達
障害

てんかんに合併する発達障害 分子基盤の解明

目的

- てんかんと自閉スペクトラム症(ASD)を合併する患者さんのDNA解析による原因遺伝子同定
- てんかん・自閉スペクトラム症(ASD)マウスモデルを用いた発症メカニズムの解明

てんかんと自閉スペクトラム症(ASD)はどちらもおよそ100人に1人の割合で発症するとされる、非常に頻度の高い疾患です。さらに、一卵性双生児での一致率の高さ(70~90%)などから、遺伝的背景の寄与が大きい事も予想されています。我々は、それぞれの疾患を有する方の約3割が両疾患を合併することから一部に共通の発症基盤を想定し、その分子遺伝学的背景や発症メカニズムについて全ゲノムエクソーム解析などの全ゲノムDNA配列を対象とした解析やマウスモデル解析を行いました。

全ゲノムエクソーム解析は2万余りの全ての遺伝子のエクソン(タンパクをコードする遺伝子領域)の配列を超高速度の次世代DNAシーケンサーで解読するものです。これらの方法でてんかんと合併するASDの方及びご両親の血液DNAを解読・解析することにより、発症原因/関連遺伝子を同定しました。父母に見られず患者さんのみに見られる新生(*de novo*)変異を有する遺伝子は原因/関連遺伝子の有力な候補です。我々はこのような新生変異を有する新規遺伝子を10数個、見いだしました。現在、これらの新しく同定した遺伝子についてマウスモデルを作成し、解析をさらに進めています。

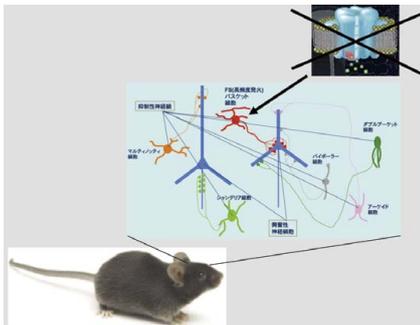
また我々は、ASD/知能障害を伴うドラベ症候群の原因遺伝子であり電位依存性ナトリウムチャンネルNav1.1をコードするSCN1A遺伝子のマウスモデルについても解析を進めました。本研究では、ナンセンス変異導入マウスや特定の抑制性神経細胞などの限られた細胞群でのみ遺伝子を欠落させたマウスを利用して、ASD行動をもたらす細胞種、神経回路の解明を行いました。その結果、特定の(パルブアルブミン陽性)の抑制性神経細胞においてのみNav1.1を半減させたマウスは、てんか

成果

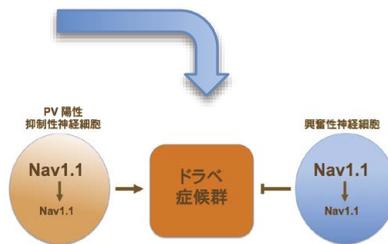
- 複数のてんかん・自閉スペクトラム症(ASD)の原因遺伝子候補を同定した。
- てんかん・自閉スペクトラム症(ASD)症の発症カスケードを明らかにし、分子・細胞・回路レベルで治療ターゲットを同定した。

んを起こし、突然死も一部に見られました。これらは、パルブアルブミン陽性細胞のてんかん・突然死における重要な役割を示しています。さらに、興奮性神経細胞のみで特異的に欠失させたマウスは一見正常でてんかん発作や突然死などは示しませんが、抑制性神経細胞のみで欠失させたマウスで見られた非常に重篤な(通常の全身ノックアウトマウスよりも激しい)症状が興奮性神経細胞特異的欠失マウスと掛け合わせるにより緩和され、ほとんど通常ノックアウトマウスの程度まで戻すことを明らかにしました。これらの結果は、SCN1Aの半減が、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞で相反する効果を有することを示しています。将来、遺伝子導入などによるドラベ症候群の治療を考える場合には抑制性神経細胞特異的なアプローチを考えるべきことをこれらの結果は示していると言えます。

ASDの真に有効な治療法は未だありません。本研究による新規なASD原因・関連遺伝子の同定はASDの優れた遺伝子診断法の開発に役立つでしょうし、今後、私たちはこれら発症責任細胞・回路の同定などの知見をASD・てんかんの真に有効な治療法の開発につなげてまいります。



マウスの脳の特定の神経細胞で自閉スペクトラム症・てんかん原因遺伝子(ナトリウムチャンネル遺伝子)を欠失させることにより、病気における役割を探った



分子・細胞・回路レベルで治療ターゲットを同定し、治療法開発につながる重要な知見を得た

研究成果のご紹介

- ・ Ogiwara I, et al. "Nav1.1 haploinsufficiency in excitatory neurons ameliorates sseizure-associated sudden death in a mouse model of Dravet syndrome." *Hum Mol Genet*, 22: 4784-4804, 2013.
- ・ Ito S, et al. "Mouse with Nav1.1 haploinsufficiency, a model for Dravet syndrome, exhibits lowered sociability and learning impairment." *Neurobiol Dis*, 49: 29-40, 2013.

うつ病
等

うつ病の神経回路—分子病態解明と
それに基づく診断・治療法の開発

目的

- 抑うつ気分や意欲低下などのうつ病の症候と関連する神経回路、その分子病態の解明
- うつ病の客観的診断・治療反応性予測法を開発及び、新規治療法開発の基盤構築

うつ病は自殺や長期休職と密接に関係し、社会的に大きな問題となっています。抑うつ気分(憂うつや落ち込み)や意欲の低下などの精神症状と食欲不振、睡眠障害などの身体症状が2週間以上毎日続くことで診断されますが、これらの症候が発現し持続するメカニズムはいまだ明らかになっていません。また、治療の基本は休養と適切な薬物療法ですが、最初の抗うつ薬が効かない患者さんが40~50%存在し、10~20%程度の方が複数の異なる抗うつ薬によっても改善しない治療抵抗性うつ病であることが知られています。私たちは、うつ病の症候の神経回路の特定と関連する分子病態の解明、病態に基づくうつ病の客観的診断・治療反応性予測法の確立と新たな治療法の開発を目指して研究を行いました。

<うつ病症候の神経回路の同定>

機能的磁気共鳴画像(fMRI)を用いた脳機能画像解析の結果、うつ病患者さんでは抑うつ気分と関連して①ネガティブな単語を覚える時に右海馬が強く賦活すること、②悲しみ表情を見ると扁桃体が過剰に賦活すること、③自己のネガティブな側面について考える際の内側前頭前野及び膝前部前帯状回の賦活が亢進しており認知行動療法後に是正されることなどが明らかになりました。一方で意欲低下に関連して、④金銭報酬課題を遂行時の線条体の賦活が低下していること、⑤ルールに沿って言葉を思い浮かべる課題(言語流暢性課題)の遂行時に左背外側前頭前野の賦活が低下し後帯状回の賦活が亢進していることなどが明らかになりました。また、基礎研究の結果から⑥意欲低下モデルラットで縫線核のセロトニンニューロンの発火が起こりにくいことなどが分かりました。

成果

- 抑うつ気分と意欲低下の神経回路を同定しモノアミン神経伝達の関与を明らかにした。
- 抗うつ薬治療反応性を予測する客観的手法を開発し、新規治療法の標的となる神経回路を同定した。

<客観的診断法の開発>

沖縄科学技術大学院大学と共同でうつ病患者さんと健常ボランティアの方の脳画像および血液マーカーを機械学習の手法で解析した結果、言語流暢性課題遂行時の脳活動、金銭報酬課題遂行時の脳活動、安静時のfMRIデータから解析した脳領域間の連携(脳機能的結合)、およびBDNF遺伝子のメチル化データによりうつ病患者さんと健常ボランティアの方を80%以上の確率で判別でき、これらの測定項目が客観的診断法の開発に有用であることが示唆されました。

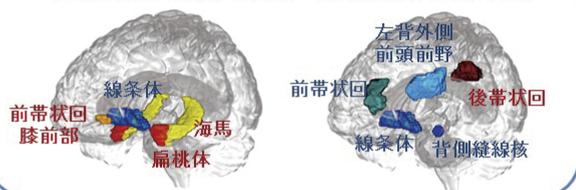
<客観的診断法の開発>

うつ病患者さんから得られた脳画像と治療反応性を含む詳細な臨床データを、沖縄科学技術大学院大学と共同で統合的に解析することでうつ病のサブタイプを抽出し、抗うつ薬治療反応性と関連するサブタイプ分類に有用な測定項目を明らかにしました。具体的には、幼少期のストレスの程度と安静時fMRIにおける脳機能的結合を測定することで抗うつ薬に反応しないうつ病患者さんを予測できることが明らかになりました。

これらの成果は、うつ病の客観的診断や治療反応性予測に役立つバイオマーカーの実用化や、うつ病症候の神経回路異常を調整する革新的なニューロフィードバック治療法の開発に役立ちます。

うつ病症候の神経回路を同定

抑うつ気分の神経回路 意欲低下の神経回路



客観的診断法開発

課題遂行時及び安静時のfMRIおよびBDNF遺伝子Exon1メチル化がうつ病の客観的判別に有用

治療反応性予測法開発

安静時fMRIと幼少期ストレス体験の評価により、抗うつ薬に反応しないうつ病群の予測が可能

新規治療法開発

症候の神経回路をターゲットしたニューロフィードバック治療法開発の基盤を構築

研究成果のご紹介

- ・ Toki S, et al. "Hippocampal activation during associative encoding of word pairs and its relation to symptomatic improvement in depression: a functional and volumetric MRI study." *Journal of Affective Disorders*, 152-154; 462-467, 2014.
- ・ Yoshimura S, et al. "Cognitive behavioral therapy for depression changes medial prefrontal and ventral anterior cingulate cortex activity associated with self-referential processing." *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 9; 487-493, 2014.
- ・ Shimizu Y, et al. "Toward Probabilistic Diagnosis and Understanding of Depression Based on Functional MRI Data Analysis with Logistic Group LASSO." *PLOS ONE*, 10; e0123524, 2015.
- ・ Yamamura T, et al. "Association of thalamic hyperactivity with treatment-resistant depression and poor response in early treatment for major depression: a resting-state fMRI study using fractional amplitude of low-frequency fluctuations." *Translational Psychiatry*, in press, 2016.
- ・ Kaichi Y, et al. "Changes in the regional cerebral blood flow detected by arterial spin labeling after 6-week escitalopram treatment for major depressive disorder." *Journal of Affective Disorders*, 194; 135-143, 2016.

うつ病
等

うつ病症候の脳内責任領域の
特定とその分子メカニズムの解明

目的

- 脳機能解析手法と認知心理学的手法を用いた、うつ病症候の原因となる脳機能ネットワークの解明
- PET研究やうつ症候モデル動物研究による、臨床症候に関わる脳領域の同定と神経伝達異常の解明

うつ病は様々な世代で急増している心の病で、今や大きな社会問題となっています。その症候は多岐に渡り、抑うつ気分、自己否定、意欲低下などが挙げられます。うつ病発症は特定の脳領域の異常に起因するだけではなく、多様な脳機能ネットワークの異常も原因であると考えられます。私たちは、最新の脳機能解析手法を用いた臨床研究とうつ病モデル動物を用いた研究によって、うつ病症候の原因となる脳機能ネットワークの異常とその原因となる神経伝達の異常を解明することを目指しました。

<臨床研究>

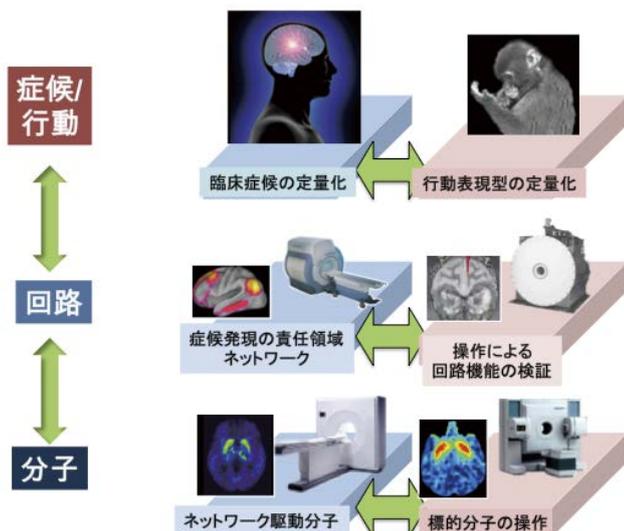
心理学研究により、多くの人が「自分は平均よりも上」と考える傾向があることが報告されています。これは、「優越の錯覚」と呼ばれ、こころの健康にとって重要な要素であることが分かっています。一方、うつ病のように気分が沈んだ状態になると、優越の錯覚は弱まり、自己否定感が強くなると考えられています。私たちは、機能的磁気共鳴画像 (fMRI) による安静時脳活動の計測と、ポジトロン断層法 (PET) による脳内ドーパミン受容体密度の測定を行い、優越の錯覚の脳内メカニズムを明らかにしました。抑うつの指標である絶望感が高いほど優越の錯覚が弱まることが判明し、その背景に、ドーパミン神経伝達機能の低下による前部帯状回と線条体間の機能的結合の強化が関わっていることが判明しました。この発見により、将来的に抑うつ症状の診断指標の創出や、客観的指標に基づいた治療マーカーの開発につながることを期待できます。

成果

- 自己否定感に関わる脳機能ネットワークとドーパミン神経伝達機能が明らかとなった。
- 意欲低下はドーパミンとセロトニンの異なる神経回路を通じて発現していることが明らかとなった。

<モデル動物研究>

うつ病の意欲低下には意欲や安心感と関係する神経伝達物質のドーパミンとセロトニンの関与が示唆されています。意欲低下の霊長類モデルを用いたイメージングや薬剤投与実験により、前部帯状回でのドーパミン神経伝達の低下によって報酬を得るための行動の意欲低下が生じることが示されました。また、セロトニン神経伝達の低下によって報酬とは関係なく意欲低下が生じ、それには意欲に関わる前部帯状皮質と安心感と関係する海馬-扁桃体回路の機能低下が関わっていました。このように意欲低下の背景となる局所のドーパミンやセロトニン神経伝達の低下と、それに伴う特定の神経回路異常を特定することができました。



研究成果のご紹介

- Yamada M, et al. "Happiness is a matter of social comparison." *Psychologia*, 54; 252-260, 2011.
- Ito H, et al. "Relation between Presynaptic and Post-synaptic Dopaminergic Functions Measured by Positron Emission Tomography: Implication of Dopaminergic Tone." *The Journal of Neuroscience*, 31; 7886-7890, 2011.
- Takano H, et al. "Serotonergic neurotransmission in the living human brain: A positron emission tomography study using [11C]DASB and [11C]WAY100635 in young healthy men." *Synapse*, 65; 624-633, 2011.
- Kobayashi K, et al. "Chronic fluoxetine selectively upregulates dopamine D1-like receptors in the hippocampus." *Neuropsychopharmacology*, 37; 1500-1508, 2012.
- Yamada M, et al. "Superiority illusion arises from resting-state brain networks modulated by dopamine." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110; 4363-4367, 2013.

うつ病
等

機械学習と行動学習モデルによるうつ病 サブタイプと発症機構の理解と治療・ 予防手法の導出

目的

- 脳画像、血液分析などのデータに機械学習アルゴリズムを適用、うつ病の客観的な診断手法を開発
- 将来の報酬への意欲の制御機構について、脳内物質セロトニンの計測と制御による解明

「機械学習」とは、与えられたデータの背後にある構造を捉えて、新たな入力データや状況に対して適切な出力を与えるための数学的な手法です。機械学習には大きく分けて、「教師あり学習」、「教師なし学習」、「強化学習」の3つの枠組みがありますが、我々はそれらをうつ病の診断とうつ病をひき起こす脳のしくみの理解のために応用してきました。

「教師あり学習」とは、入力データに対する正しい出力の例からその関係を学習し、新しく与えられた入力データに対して適切な出力を予測するものです。これを広島大学のグループが収集した、脳の構造と活動のMRIデータ、遺伝子多型、血中物質、性格傾向やストレス経験などのデータを入力とし、うつ病であるかないかという分類、あるいはうつ病の重症度を出力として適用しました。これまでもっとも良い性能が得られたのは、「言語流暢性課題」と呼ばれ、「家具」に対して「イス、机、タンス、…」などの言葉を連想している時の脳活動を入力としたもので、患者を約90%の精度で識別することが可能でした。学習アルゴリズムとして「グループL1正則化」と呼ばれる手法を用いることで、識別に関わる脳の領域を特定することが可能になりました(図A)。その他、安静時の脳活動や、遺伝子の発現を調整するメチル化などのデータからも診断に有用な情報が得られることが分かり、これらを統合してより確実な診断を行う手法の開発を進めています。

一方「教師なし学習」は、正しい出力は何かという教師信号は特に与えられなくても、入力データの統計的な分布から、その背後にある構造を抽出する手法です。これを上記のうつ病患者のデータに対して適用した結果、幼少時のストレス体験と安静時の脳活動をもとに、抗うつ薬への応答性に関連する

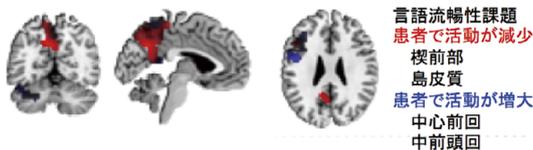
成果

- MRIデータに機械学習アルゴリズムを適用して、うつ病患者を約90%の精度で識別できることを示した。
- マウスのセロトニン細胞を刺激すると、将来の報酬を待つ行動が促進されることを発見した。

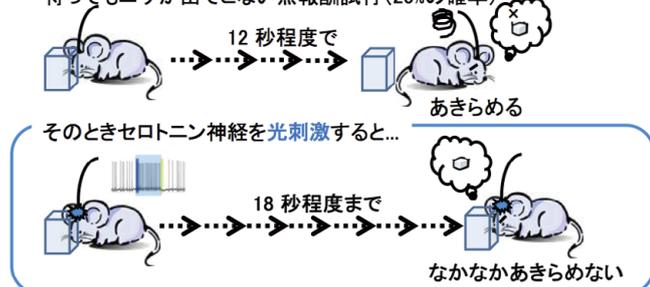
サブタイプが検出可能なことが示唆されています。

「強化学習」は、報酬や罰の信号を基により良い行動出力を学習するための手法で、そこでは将来得られる報酬の予測が重要な要素です。我々は神経伝達物質のセロトニンが、目先の報酬と将来の報酬のどちらを重視するかというバランスの制御に関わるという仮説のもと、大脳全域にセロトニン性の投射を送る「背側縫線核」の活動記録と制御実験を行いました。遺伝子工学により青色の光に応答して細胞を興奮させる分子をセロトニン細胞で発現させたマウスに、穴に鼻先を入れて待っているとエサが出てくるという遅延報酬課題の実験を行いました。エサを待っている間に背側縫線核を光刺激すると、エサを諦めてしまうエラーが減少するとともに、いつまで待ってもエサが出てこないという場合に、待ち続ける時間が数十%延長するという結果が得られました(図B)。これらの結果は、脳内のセロトニンの働きを高める抗うつ薬が、意欲の低下をとともなううつ病症状の改善につながる仕組みの理解につながることを期待されています。

A: うつ病の診断に関する脳部位



B: 遅延報酬課題(穴に鼻先を入れて待つと75%の確率でエサが出る) 待ってもエサが出てこない無報酬試行(25%の確率)



研究成果のご紹介

- ・ Miyazaki K. W. et al. "Activation of dorsal raphe serotonin neurons is necessary for waiting for delayed rewards". *Journal of Neuroscience*, 32:10451-10457, 2012.
- ・ Miyazaki K. W. et al. "Optogenetic activation of dorsal raphe serotonin neurons enhances patience for future rewards". *Current Biology*, 24:2033-2040, 2014.
- ・ Shimizu Y. et al. "Toward probabilistic diagnosis and understanding of depression based on functional MRI data analysis with logistic group LASSO". *PLoS One*, 10:e0123524, 2015.

目的

- 遺伝要因である気分障害の新規リスク分子・システムとそれと交互作用をもつ環境要因の同定
- 気分障害の診断法・予防介入法の開発・新規治療薬開発のシーズを提供

気分障害(うつ病・双極性障害)による社会的損失は莫大ですが、現時点でその発症メカニズムを説明できる分子システムは発見されていません。実際、現状の治療薬は経験則から得られたモノアミン(神経伝達物質であるセロトニンなど)再取り込み阻害薬などであり、効果は充分とは言えるものではありません。したがって、発症の予防と有効な治療法の開発は急務です。そのため、病態生理に基づく診断治療法、予防法を速やかに同定し、より有効性の高い方法を新規開発することが必要不可欠であると言えます。

本研究では、ヒト由来試料に特化した方法論を用い、気分障害の発症メカニズムに関連する分子システムを、新規に同定することを目指しました。

<うつ状態の遺伝環境相互作用の探索>

うつ病は、遺伝要因のみではそのリスクを同定することが難しいとされています。その理由は、ストレスを感じるような出来事(ストレスフルライフイベントと呼びます。たとえば、近親者の死や、暴行を受けるなどがそれにあたります)、つまり環境要因がうつ病の発症に強く関連することが分かっているからです。しかし、同じようなストレスフルライフイベントを経験しても、ある人はうつ病を発症し、ある人は発症しないことも分かっています。この部分が遺伝要因、あるいは遺伝と環境の相互作用に基づくものと解釈されています。本研究では、病院の看護師さんの協力を得て、経時的にうつ状態とストレスフルライフイベントの有無をアンケート調査し、その情

成果

- うつ状態と関連する遺伝環境相互作用をBMP2遺伝子近傍に見出した。
- 双極性障害(躁うつ病)のサンプルを収集し(約3000名)、90個の遺伝子多型で関連性を検討した。

報を基に遺伝的多型・ストレスフルライフイベントとうつ状態が関連するかを検討しました。その結果、BMP2遺伝子近傍に、うつ状態と強く関連する遺伝環境相互作用を同定しました。この遺伝子の機能はまだ良く分かっていませんが、今後うつ病にどのように関係していくかを研究していくことで、新規の治療法開発の足がかりとなりえます。

<双極性障害(躁うつ病)の遺伝要因の探索>

日本全国にわたる大学・研究所・病院に研究の参加を依頼し、双極性障害患者さんに研究の説明を行い、同意を頂いた上でご協力いただき、遺伝情報のもとであるDNAを抽出させていただきました。最終的に、おおよそ3000名の双極性障害患者さんからご協力を得ることができました。

ヒトゲノムのうち99.9%以上の領域はだれでも同じゲノム配列を持っていますが、人によって違う配列を持つ箇所が一人当たり約300万箇所あって、これらを遺伝的変異と呼びます。そのうち集団において異なる配列の中で稀な方の頻度が1%以上となるものを遺伝的多型と呼びます。本研究では、データベースでカタログ化されている約90万個の一塩基だけ異なる多型(SNPといいます)を用いて、変異型の有無を個人毎に決定、SNPの頻度が双極性障害と対照者で差があるかを検討しました。結果の詳細は、理化学研究所の項目に記載しますが、本サンプル数は、日本における双極性障害の遺伝子解析では、最多のものとなります。

うつ病の遺伝環境相互作用

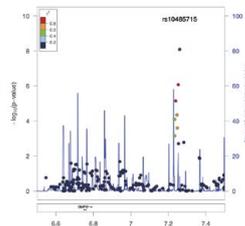
背景:うつ病発症:遺伝要因よりも、環境要因が強い
→遺伝と環境双方を加味した解析が必要

対象:病院勤務の看護師さん

- うつ状態
- ストレスフルライフイベント(環境要因)の計測
- + SNP(遺伝要因)を用いた解析

● 結果:BMP2遺伝子近傍に、うつ状態と関連する遺伝環境相互作用を同定

● 今後の展開:BMP2の機能を明確化
新しい治療法の開発へ



研究成果のご紹介

- ・ Ikeda M, et al. "Genetic evidence for association between NOTCH4 and schizophrenia supported by a GWAS follow-up study in a Japanese population." *Mol Psychiatry*, 18(6): 636-8, 2013.
- ・ Shimasaki A, et al. "A genetic variant in 12q13, a possible risk factor for bipolar disorder, is associated with depressive state, accounting for stressful life events." *PLoS One*, 9, 12:e115135, 2014.
- ・ Ikeda M, et al. "Genetic overlap between antipsychotic response and susceptibility to schizophrenia." *J Clin Psychopharmacol*, 35(1): 85-8, 2015.
- ・ Ikeda M, et al. "Genome-wide environment interaction between depressive state and stressful life events." *J Clin Psychiatry*, 77: e29-30, 2016.
- ・ Saito S, et al. "Pharmacogenomic Study of Clozapine-Induced Agranulocytosis/Granulocytopenia in a Japanese Population." *Biol Psychiatry*, in press, 2016.

目的

- 双極性障害(躁うつ病)と遺伝的多型の関連性について、多数の遺伝的多型を用いて解明
- 同定した関連遺伝子の機能的意義を解明

双極性障害(躁うつ病)の発症には遺伝要因が関与していることが双生児研究などから判明しています。しかし、一つか数個の遺伝的変異によって発症が決まるようなメンデル型の遺伝様式をとらず、遺伝要因と環境要因が複合的に関わりあって発症に至ると考えられています。そのような遺伝様式の場合、一つ一つの効果は小さい遺伝的多型が多数組み合わせられて遺伝的要因を構成すると考えられています。遺伝的要因を明らかにすると、これまで知られていない遺伝子の関与を発見することで、新たな疾患発症メカニズムの解明に結び付くと考えられます。

このような背景のもと、全世界で、遺伝的多型(ゲノム配列が一塩基だけ異なるものを一塩基多型:SNPといいます)を用いて、疾患との関連性を検討するゲノム解析が行われています。特に、事前に双極性障害と関連するであろう遺伝子(候補遺伝子:たとえば、気分安定薬の作用機序と機能的に関連することが想定されている分子など)を対象とした関連解析がなされてきましたが、現在までの所、確定的な関連は得られていません。むしろこのような事前候補をおかずに、ヒトゲノム上にある多数のSNPを一挙に大規模に用いて関連を検討する全ゲノム関連解析が近年盛んに行われており、成果が得られています。

本研究では、日本人の双極性障害を対象に、全ゲノム関連解析を行い、日本人における双極性障害のリスクを同定することを目的として行われました。

<双極性障害(躁うつ病)の全ゲノム関連解析>
全国の躁うつ病の患者さんにご協力を頂き、藤田保健衛生大

成果

- 藤田保健衛生大学で収集した双極性障害のサンプル約3000名において、90万個の遺伝的多型で関連性を検討した。
- 特定の遺伝的多型と日本人双極性障害が強く関連することを示した。

学に集約されたDNAを用いて、全ゲノム関連解析を行いました。対象としては、すでに他の疾患で研究された約5万人のサンプルを用いました。それらサンプルで90万個のSNPを確定したのち、遺伝統計学的手法を駆使して700万箇所以上の遺伝的変異データを推定し、疾患発症へのリスク効果の推定を行いました。その結果、双極性障害と関連する遺伝子Aを同定しました。この遺伝子Aは過去の同様の研究では報告されておらず、世界初の発見と言えます。また、統計学的手法を介して、この遺伝子と関連する環境因子Bが、双極性障害発症と統計学的因果関係にある可能性を示す結果も得られました。

欧米の双極性障害ゲノム解析と合わせた解析(人種横断的解析)を行うと、さらに一つ新規の双極性障害関連遺伝子Cが同定され、また、既に有意と報告されている3個の遺伝子のリスク効果をサポートする結果も得られました。

本結果は、日本人を対象とした双極性障害の遺伝子解析で最もサンプル数が多い解析であり、また日本人において、初めて統計学的に有意に関連のある遺伝子を同定した研究です。このような方法論を今後も進めていくことにより、新規の双極性障害関連遺伝子が同定され、ひいてはその遺伝子の機能を解明することで新規の治療法が開発されることが期待されます。

双極性障害(躁うつ病)の遺伝子研究

背景 双極性障害(躁うつ病)発症に遺伝要因が影響多数の遺伝的多型が関与する

対象: 双極性障害患者さん

- 全ゲノム関連解析: 約 700 万個の一塩基多型の疾患発症リスク効果の推定

結果: 新規遺伝子を同定

- 日本人のみのサンプル→1 個の新規遺伝子 A
リスク因子 B が躁うつ病に因果関係がある可能性
- 日本人+欧米サンプル→1 個のさらなる新規遺伝子 c + 3 個の既報のリスク遺伝子

- 今後の展開: さらなるサンプル数→より多くの関連遺伝子同定→創薬への足がかり

研究成果のご紹介

- ・ Saito S, et al. "Pharmacogenomic Study of Clozapine-Induced Agranulocytosis/Granulocytopenia in a Japanese Population." *Biol Psychiatry*, in press, 2016.
- ・ Ikeda M, et al. "Genome-wide environment interaction between depressive state and stressful life events." *J Clin Psychiatry*, 77; e29-30, 2016.

うつ病
等

うつ病の異種性に対応したストレス脆弱性バイオマーカーの同定と分子病態生理の解明

目的

- 中高年齢のうつ病の病態や病状を反映する客観的な指標(バイオマーカー)の確立
- 中高年齢のうつ病に多い脳白質病変を改善できる新しい治療法の開発

日本は世界で類を見ないほどの速さで高齢化社会を迎えています。今後さらに増加する高齢者の健康寿命を増進する取り組みが重要で、健康寿命の精神的な側面に注目した取り組みが求められています。

我々は、中高年齢の精神的な健康寿命に影響を与えるうつ病に着目し、初発年齢の違いにより病態が異なるという臨床的な経験に基づいて、中高年齢のうつ病を50歳を区切りに中高年初発うつ病と若年初発うつ病に分け、それぞれでバイオマーカーを検討しました。その結果、白血球に発現している遺伝子(メッセンジャーRNA)の中に、中高年初発うつ病の病状と並行して発現量が変化する遺伝子(CIDEC、RNASE1、SLC36A1、STYXL1)があることが明らかになりました。うつ病の病状と並行したこれら4遺伝子の発現量変化は共同研究機関である山口大学精神科でも再現でき、バイオマーカーとして有用であることが確認できました。うつ病は目に見えない心の疾患ですが、このバイオマーカーを測定することで病状を客観的に捉えることが可能になると考えられ、うつ病の病状の新たな補助診断法になると期待できます。

うつ病の治療には抗うつ薬が使用されますが、中高年齢で治療効果が十分ではない場合には、それが脳の白質病変と関連することが知られています。そこでこの病変を修復できる治療法の開発に取り組みました。東京大学脳神経外科と連携し、ラットの脳白質病変に健康なラットから採取した脳微小血管内皮細胞を移植すると、白質病変が回復することを明らかにしました。さらに、その改善作用には内皮細胞が分泌するエクソソームが重要であることを見いだしました。脳白質病変の修復のメカニズムについて検討を進めていますが、将来

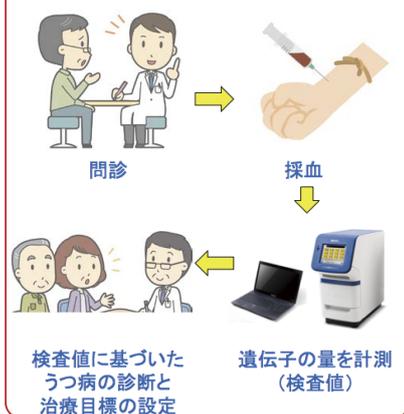
成果

- うつ病の病状が白血球の発現遺伝子に反映されていることを明らかにした。
- 脳白質病変に脳微小血管由来内皮細胞を移植すると神経損傷が修復されることをラットで明らかにした。

的にヒトへ適用できるようになれば中高年齢のうつ病に適した治療薬の開発に繋がると期待されます。

中高年初発のうつ病には、若年初発のうつ病と共通する病態とともに独自の病態がありますので、そうした病態の特徴に即した研究を行うことが求められます。我々が見いだしたバイオマーカーが広く確認できれば、医師が中高年齢者のうつ病重症度を客観的に把握する指標となるだけでなく、患者本人が自らの病状をデータとして知り納得できるようになります。さらに、脳白質病変を回復できる手段が明らかになれば、現在の抗うつ薬とは異なる作用メカニズムの新たな抗うつ薬の開発に繋がると考えられます。現在、中高年齢のうつ病に特有の病態を培養神経細胞などを用いて解明する研究にも取り組んでいます。今後加速する高齢社会に向けて、健康寿命の増進へ大きく貢献できる成果です。

中高年齢のうつ病の病状が血液検査で分かるように



中高年齢のうつ病の特徴に合わせた画期的治療法へ



研究成果のご紹介

- Ishizuka Y, et al. "Histone deacetylase mediates the decrease in drebrin cluster density induced by amyloid beta oligomers." *Neurochem Int.* Oct;76:114-21, 2014.
- Iijima K, et al. "Transplanted microvascular endothelial cells promote oligodendrocyte precursor cell survival in ischemic demyelinating lesions." *J Neurochem.* Nov;135(3):539-50, 2015.
- Shimizu H, et al. "Allopregnanolone increases mature excitatory synapses along dendrites via protein kinase A signaling." *Neuroscience.* Oct 1;305:139-45, 2015.
- Miyata S, et al. "Blood Transcriptomic Markers in Patients with Late-Onset Major Depressive Disorder." *PLoS One.* Feb 29;11(2):e0150262, 2016.

目的

- 中高年発症うつ病モデルラットの作製
- 中高年発症うつ病の診断に役立つバイオマーカー（生物学的指標）の開発

21世紀に入り社会構造の変化と共に、うつ病は身近で多大なる社会的損失をもたらす病気となりました。未曾有の高齢化社会を迎えている我が国において、中高年発症うつ病の一層の増加が予想されます。我々は、この中高年発症うつ病の診断に役立つバイオマーカー（生物学的指標）を探索することを目標とし研究を行いました。

中高年発症うつ病患者のMRI画像に白質変化を伴うことが多いことに着目し、この大脳白質病変がうつ病を誘発する、つまりストレス脆弱性と関連しているのではないかという仮説を立てました。これを検証するために、中高年発症うつ病を模倣するラットモデルを作製することを試みました。ラットに大脳白質病変を作製し、これにストレスを加えることによりうつ病となるかどうかを判定することとしました。

ラットに対し脳外科的手術を行い、定量的に両側大脳白質にエンドセリン（血管収縮物質）を注入し病変を作製しました。手術を行ったラット、行っていないラットそれぞれに対し、手術2週間後から毎日2時間、ラットが動けないように拘束することによりストレスを2週間にわたり与えました。これに対して、ストレスホルモンであるコルチコステロンの測定、連日の体重測定、行動試験によりうつ様症状の評価を行いました。

その結果、大脳白質病変のあるラットの方が体重の増加が鈍化し、ストレスにより上昇したコルチコステロンが低下しにくいということが明らかとなりました。また行動試験では、強制水泳試験における無動時間の延長が確認できました。

これらの結果から、今回作製したラット大脳白質病変モデルは、拘束ストレスを加えることによりうつ様症状の一面を呈していると考えられました。

成果

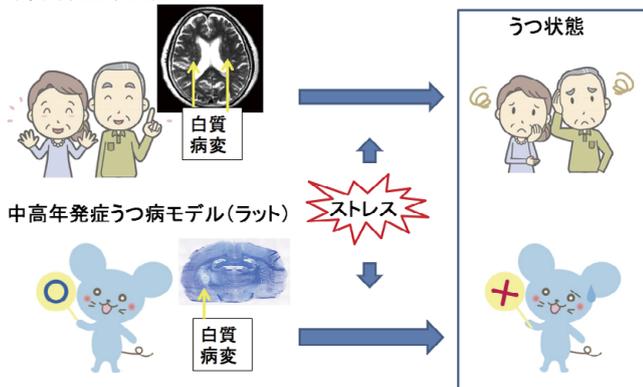
- 中高年発症うつ病の一面を呈するラットを作製した。
- 中高年発症うつ病のバイオマーカー遺伝子候補を見出した。

また、抗うつ薬である選択的セロトニン再取り込阻害薬を用いたところ、体重増加の鈍化は改善されましたが、強制水泳試験における無動時間は短縮しませんでした。この結果からは、大脳白質病変に起因するうつ病には、抗うつ薬に反応する既存の内因性うつ病とは違った機序が存在することを示唆する結果と考えられました。

続いて、このうつ様症状を示すラットの血液を採取し、mRNAの発現を調べました。この発現変化を共同研究機関である群馬大学の患者から得られたうつ症状依存的因子の遺伝子と比較したところ、36個の遺伝子が同様に変化していました。これらは群馬大学の卵巣除去モデルにより得られたものとは異なっており、大脳白質病変に起因するうつ病に特徴のあるバイオマーカー遺伝子候補と考えられました。さらに、山口大学の患者から得られた遺伝子変化との比較検討を行っているところです。

今後さらに、バイオマーカー候補遺伝子の絞り込みを行います。これらの結果は、高齢化社会において、大脳白質変化が原因となるうつ病の診断治療に応用できると考えられます。

中高年発症うつ病



中高年うつ病の診断に貢献

人とラットで共通する
バイオマーカー遺伝子探索

中高年発症うつ病の病態解明

研究成果のご紹介

- ・ Ono H, Imai H, "Rat white matter injury model induced by endothelin-1 injection: technical modification and pathological evaluation." Acta Neurobiol Exp (Wars). In press.

目的

- 若年発症うつ病と高齢発症うつ病を区別できるバイオマーカーの同定
- モデルマウスを用いた若年発症うつ病の病態解明

うつ病は高齢者の健康に重大な影響を与えることが分かっていますが、高齢者うつ病の病気のメカニズムは分かっておらず、高齢者うつ病に特徴的な客観的な検査(バイオマーカー)も見つかっていません。私たちは、若年で発症し再発を繰り返すうつ病(若年発症うつ病)と、高齢になって初めて発症するうつ病(高齢発症うつ病)は異質なものであると考えました。特に、若年発症うつ病に焦点を当て、血液中の白血球にある遺伝子発現状況や頭部MRIなどの脳画像から、若年発症うつ病診断につながるバイオマーカーを同定すること、うつ病に似た行動をするマウス(モデルマウス)を用いて若年発症うつ病の病気のメカニズムの解明を行うことを目的としました。

若年発症うつ病患者における白血球内の遺伝子発現が健常者と比較して大きく変化している遺伝子を網羅的に検索しました。その探索から得られた候補遺伝子のうち、うつ病モデルマウスの血液でも同じように変化している遺伝子を選び出し、診断・病態解明につながる遺伝子を複数発見しました。また、群馬大学との共同研究では、同様の方法で、高齢発症うつ病の診断につながる遺伝子のバイオマーカーを発見しました。

頭部MRIを用いた脳画像研究では、若年発症うつ病患者の右海馬が、健常者と比べて小さいことが分かりました。この海馬は、記憶機能や情動調節に関係していると言われています。その他、高齢者うつ病患者全体と健常者を比較し、うつ病で脳の構造が変化している部位を複数見つけました。

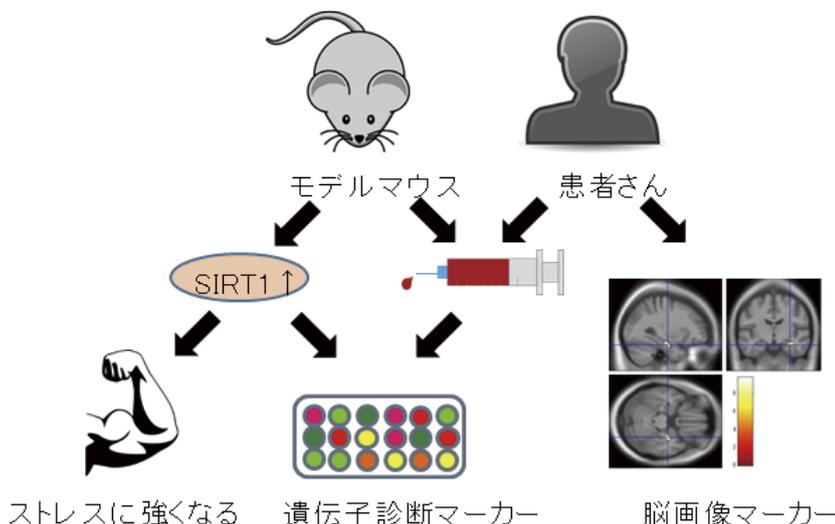
以上の結果から、若年発症うつ病に特徴的な遺伝子発現変化や脳構造変化が起こっていることが分かりました。しかし、これらの変化をうつ病診断の指標として臨床応用するためには、まだまだ症例数が少なく、他の精神疾患との鑑別が正しく

成果

- 若年発症うつ病と高齢発症うつ病で遺伝子発現や脳構造が異なることを発見した。
- サーチュイン(SIRT1)をマウス脳で活性化させるとうつ行動が減ることを発見した。

できるかどうか今後の課題です。

うつ病モデルマウスの研究では、長寿遺伝子とも呼ばれるSIRT1(サーチュイン)遺伝子に着目して研究を行いました。ストレスが多い環境に適応することができないマウス(ストレスに弱いマウス)と適応することができたマウス(ストレスに強いマウス)で、脳内のSIRT1の発現を比較しました。その結果、ストレスに弱いマウスでは、海馬でSIRT1の量が減っていましたが、ストレスに強いマウスでは変化はしていませんでした。そこで、遺伝子操作やSIRT1の機能を高める薬剤を用いてストレスに弱いマウスの海馬でSIRT1を活性化させたところ、ストレスに強いマウスになりました。以上の結果から、ストレスに強い脳と弱い脳の分子機構にSIRT1が重要な役割を果たしていることが分かりました。ヒトでもSIRT1遺伝子とうつ病との関連が示唆されていることから、今後はこのSIRT1がうつ病のバイオマーカーとして妥当性があるかどうかをさらに検証する必要があります。



研究成果のご紹介

- ・ Nakano M, et al. "Gray matter volume and rapid decision-making in major depressive disorder." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 48: 51-6, 2014.
- ・ Abe-Higuchi N, et al. "Hippocampal SIRT1 signaling mediates depression-like behavior." *Biol Psychiatry*, In Press 2016.
- ・ Miyata S, et al. "Blood Transcriptomic Markers in Patients with Late-Onset Major Depressive Disorder." *PLoS One*, 11: e0150262, 2016.
- ・ Martel G, et al. "Genetic Demonstration of a Role for Stathmin in Adult Hippocampal Neurogenesis, Spinogenesis, and NMDA Receptor-Dependent Memory." *J Neurosci*, 36: 1185-202, 2016.

目的

- 従来の治療薬及び治療法で解決できない難治性気分障害の診断・治療法の開発
- ヒトのデータに基づいた難治性気分障害モデル動物の開発

成果

- 幼少期ストレスと感情気質が相互作用してうつ症状に影響を与え、難治化させることを明らかにした。
- 幼若期と成熟期にストレスを負荷することで難治性気分障害モデル動物の作製に成功した。

最近の臨床研究から、精神疾患においては「遺伝要因あるいは幼若期ストレス」と「成人期ストレス」の2つが原因となり発症するとする「2-ヒット仮説」が有力です。本研究では、一般成人とうつ病患者において気質、幼少期虐待、最近1年間の否定的なライフイベント、現在のうつ症状を質問紙により調査し、それらの関連性を共分散構造解析、階層的重回帰分析などを用いて検討しました。その結果、一般成人、うつ病患者ともに幼少期のストレス(特にネグレクト体験)が不安、抑うつ、循環、焦燥の感情気質を増強し、間接的に抑うつ症状の重症度を増強することを明らかにしました。

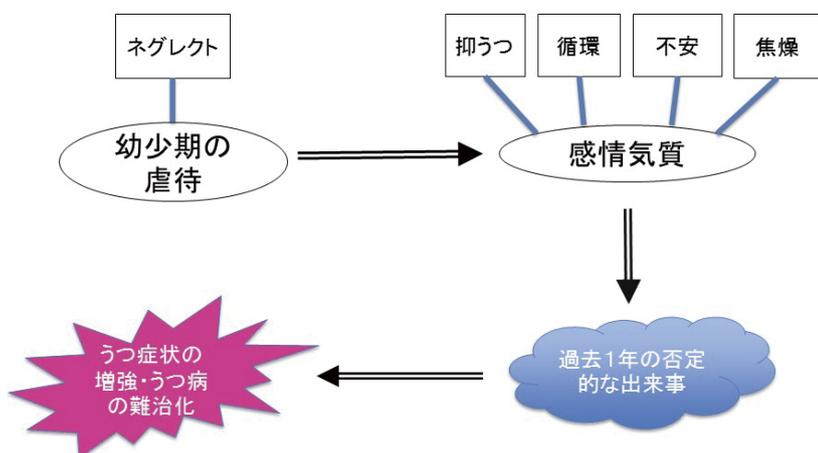
これらのヒトのデータを基にモデル動物作製を試みました。健常ラットでは、報酬(砂糖水)を与えることにより側坐核と呼ばれる脳部位でのドパミン遊離量が増加します。成長後のラットに慢性ストレスを負荷して作製したうつ病モデル動物と、慢性ストレスに加えヒトでの幼少期ネグレクトに相当する母子分離ストレスを負荷して作製したモデル動物では、いずれにおいても、報酬によるドパミン遊離増加が観察されなくなっていました。抗うつ薬による治療により、慢性ストレスのみにより作製したモデル動物では報酬によるドパミン遊離増加が回復しましたが、母子分離ストレスと慢性ストレスの負荷により作製したモデル動物では、抗うつ薬治療によるドパミン遊離回復は観察されませんでした。抗うつ薬に反応しない難治性うつ病に幼少期のネグレクトが関与している可能性が示唆されるとともに、母子分離ストレスと慢性ストレスの負荷により作製したモデル動物が難治性うつ病のメカニズム解明や治療薬開発に有用である可能性が示されました。

双極性障害患者を用いた研究では、アクチウォッチとよば

れる腕時計型活動量測定装置と独自に作成した睡眠リズム日誌を使用し、1年以上の長期間にわたって睡眠覚醒リズムと気分症状を記録しました。双極性障害患者の睡眠覚醒リズムには、就寝・起床時刻が周期的に不安定になるパターンや睡眠時間の長さが変化するパターンがあることが分かりました。また、一部の双極性障害患者では睡眠時に分泌が高まるメラトニンが覚醒時に高くなる生体リズムの内的脱同調(体内時計と睡眠覚醒リズムのずれ)が見られることも分かりました。

これらのデータから双極性障害患者のリズム障害に一致するモデルマウスを3種類作製しました。ドパミン放出が上昇するメタンフェタミン慢性投与モデル、季節性うつ病様モデル、ある種のリン酸化酵素活性消失により輪回し行動が周期的に停止するモデルです。いずれも、脳内時計遺伝子発現リズムに特徴ある変化があること、12時間明、12時間暗の明暗サイクルが、行動リズム障害の予防効果があることも分かりました。

以上のことから、双極性障害の診断、治療に生体リズムの測定は極めて有用であることが示唆されました。



子供の時の虐待のうち、特にネグレクト体験が抑うつ、循環、不安、焦燥の感情気質を増強し、間接的にうつ症状を増強・うつ病の難治化を引き起こす。

研究成果のご紹介

- ・ Nakai Y, et al. "The influence of childhood abuse, adult stressful life events and temperaments on depressive symptoms in the nonclinical general adult population." *J Affect Disord*, 158: 101-7, 2014.
- ・ Natsubori A, et al. "Dual regulation of clock gene Per2 expressions in discrete brain areas by the circadian pacemaker and methamphetamine-induced oscillator in rats." *Eur. J. Neurosci*, 39: 229-240, 2014.
- ・ Nakai Y, et al. "The moderator effects of affective temperaments, childhood abuse and adult stressful life events on depressive symptoms in the nonclinical general adult population." *Affect Disord*, 187: 203-210, 2015.
- ・ Toda H, et al. "The structural equation analysis of childhood abuse, adult stressful life events, and temperaments in major depressive disorders and their influence on refractoriness." *Neuropsychiatr Dis Treat*, 11: 2079-90, 2015.
- ・ Toda H, et al. "Affective temperaments play an important role in the relationship between childhood abuse and depressive symptoms in major depressive disorder." *Psychiatry Res*, 236: 142-127, 2016.

目的

- アルツハイマー病を発症前に診断する血液バイオマーカーの開発
- アルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβ42(Aβ42)の産生機構の解明

成果

- Aβ42と同じ仕組みで産生される脳内サロゲートマーカーを血液中で測定することに成功した。
- Aβ42が実は最終産物ではなく、それを産生する酵素によってさらなる切断を受け無害な物質になることを解明した。

アルツハイマー病脳内にはアミロイドベータ42(Aβ42)という42アミノ酸からなる物質が大量に蓄積しています。最近のアミロイドPET画像診断技術の発展などにより、Aβ42の脳内蓄積は認知症を発症する10年以上も前から起こっていることが分かってきました。私達はこのAβ42が作られるメカニズムを解明することが、新しい薬の開発に大いに役立つと考え今回の研究を進めました。さらに脳内Aβ42が正常よりも多く作られていたり、その分解が遅くなっていたりすることが分かれば、アルツハイマー病を発症する前に診断できるのではないかと考えました。

Aβ42の産生や分解の変化は、それが脳内に蓄積するより産生の変化を確実に捉えることの出来る血液バイオマーカーの開発を目指しました。血液中のAβ42は測定できますが、この中には脳だけではなく体の他の組織でできたものも多く含まれます。ですので、血液中のAβ42量から脳内で作られる量を推測することができません。私達は、Aβ42が作られるのと全く同じ酵素で作られる脳内Aβ様物質(APL1β28)をまず脳脊髄液中で発見しました。Aβ42が作られる量とAPL1β28が作られる量の間には相関関係があります。大切なことに、アルツハイマー病の患者さんの脳脊髄液中では、非認知症の人に比べてこのAPL1β28の割合が上昇していました。このことは、アルツハイマー病患者さんの脳内ではAβ42が作られる割合が増えている可能性を示しています。このバイオマーカーの実用化には血液を使ったスクリーニングが必要です。そこで今回の研究で、私達は血液中去く微量に存在する脳内APL1β28物質を同定して正確に定量する試みを行いました。数年をかけてついに正確に定量すること

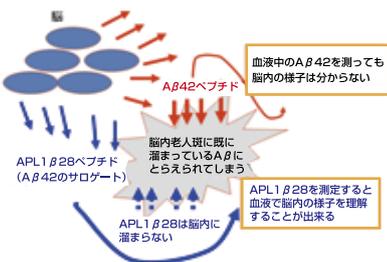
に成功しました。現在、共同研究施設の協力を得て、多くのアルツハイマー病患者さん、非認知症の方々の血液サンプル中の脳内APL1β28物質を測定して解析を進めています。

またヒトの個人差の代わりにマウスの系統差を、ゲノムクスの代わりにトランスクリプトミクスを用いてアルツハイマー病の修飾遺伝子産物KLC1vEを効率的に同定することに成功しました。Klc1vEと脳内Aβの蓄積量には強い相関があり、ヒト脳および末梢血でKLC1vEのmRNAはアルツハイマー病で高値であることを発見しました。

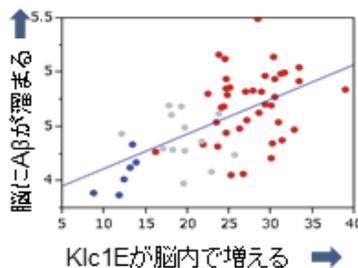
研究成果のご紹介

- Okochi M, et al. "γ-secretase modulators and presenilin 1 mutants act differently on presenilin 1 function to cleave Aβ42 and Aβ43." Cell Rep. Jan 31;3:42-51, 2013."
- Tagami S, et al. "Relative ratio and level of amyloid-β 42 surrogate in cerebrospinal fluid of familial Alzheimer disease patients with presenilin 1 mutations." Neurodegener Dis, 13:166-70, 2014.
- Sano S, et al. "Absolute quantitation of low abundance plasma APL1β peptides at sub-fmol/mL level by SRM/MRM without immunoaffinity enrichment." J Proteome Res, Feb 7;13:1012-20, 2014.
- Morihara T, et al. "Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid-β accumulation modifier." Proc Natl Acad Sci U S A. Feb 18;111:2638-43, 2014.

血液中のAβのサロゲートを測定する



脳内でのAβの蓄積をKLC1vEの量で推測する



目的

- アルツハイマー病の最初期の病理変化であるアミロイド蓄積の開始機構の解明
- アミロイド蓄積を抑止しうる低分子化合物の開発

成果

- ヒト剖検脳のアミロイド蓄積好発部位と同回避部位よりシナプス膜を調製し解析した結果、アミロイド蓄積好発部位には特異な脂質組成の変化があることを確認した。
- アミロイド蓄積に働く内因性シード(ガングリオシド結合型アミロイドβ蛋白:GAβ)を標的とする低分子化合物の探索を進め、アミロイド形成阻害活性や代謝安定性等が優れた化合物が獲得された。

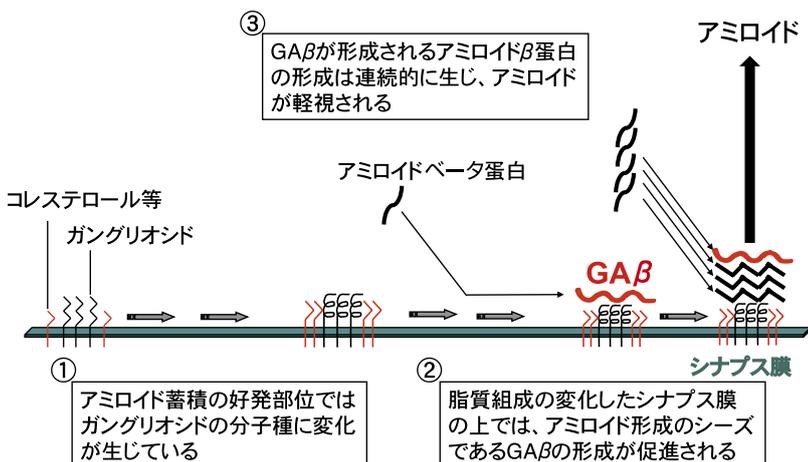
アルツハイマー病の脳内で最も早期に生じる変化はアミロイドβ蛋白(Aβ)の異常な重合によるアミロイドの形成と蓄積であり、これがその後の全ての病的過程の起点であると一般に考えられています。これまでのアルツハイマー病の根本的な治療薬や発症予防薬も、このアミロイドを主な標的としています。しかしながら、どのような細胞レベル、分子レベルの機序により本来は可溶性を保っているAβが重合を開始するのか、また何故アミロイドの蓄積が老化や脳領域特異的に生じるのかは明らかでありませんでした。私たちはこの問題を解決するべく、ヒト剖検脳を対象に、アミロイド蓄積が好発する部位(頭頂葉内側面の楔前部を代表としました)とアミロイド蓄積が回避される部位(後頭葉内側面の鳥距溝を代表としました)よりシナプス膜を単離し、その脂質組成を質量分析等を駆使して詳細に解析しました。その結果、アミロイドの蓄積が開始している楔前部のシナプス膜には脂肪酸鎖の長いガングリオシドの割合が増していることを確認しました。この脂質組成の変化がAβ重合を誘導する効果を発揮するか否かを検討するために、シナプス膜より慎重に抽出した脂質から再構成膜を調製し、その上に可溶性Aβを作用させ重合動態を原子間力顕微鏡で観察しました。その結果、興味深いことに、脂肪酸鎖の長いガングリオシドを含む再構成膜上ではAβ重合が著しく促進されること、さらにそのAβ重合は脳内アミロイド形成の内因性シードであるGAβに対する抗体により有意に抑制されることを確認しました。以上より、脳内における領域特異的Aβ重合の一部は、神経細胞膜脂質組成変化によるGAβ形成誘導に関わる可能性が示唆されました。

次に、アルツハイマー病の根本的な治療・予防薬の開発を目

指し、GAβに特異的に結合し、そのAβ重合促進作用(シード作用)を抑止しうる低分子化合物の探索を進めました。探索においては、既に柳澤により開発されたGAβ特異抗体の抗原認識部位(complementary determining region, CDR)のアミノ酸配列情報等を活用し、GAβとCDRとの結合モデルをもとに、構造情報が明らかにされているライブラリーよりin silicoで類似した低分子化合物を抽出し、これらをもとに構造活性相関等を創薬化学的に検討し、合成と評価を繰り返しました。その結果、Aβ重合阻害活性、溶解度等の物性ならびに代謝安定性の優れた化合物が複数得られました。

この研究により、アルツハイマー病の主要病変であるアミロイド蓄積の分子機序に新たな知見が得られました。また、アミロイド蓄積を効率良く抑止しうる可能性のある低分子化合物が得られました。今後、さらに最適化を進め、非臨床試験、臨床試験への展開を図りたいと考えます。

脳内におけるアミロイド形成の開始機序



研究成果のご紹介

- Oikawa N, et al. "Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer pathology on synaptic membrane lipids of human brains." J Neurosci Res, 92: 641-650, 2014.
- Oikawa N, et al. "Imbalance in fatty-acid-chain-length of gangliosides trigger Alzheimer amyloid deposition in the precuneus." PLoS ONE, 10: e0121356, 2015.

脳老化

加齢による脳機能低下関連分子の定量

目的

- アルツハイマー病認知症の血液診断マーカー候補 APL1β の定量法の開発
- APL1β がアルツハイマー病認知症の早期診断に有用かどうかの検討

成果

- 数pg/ml (血糖値の10億分の1) という超微量な血中 APL1β ペプチドの定量に成功した。
- 血中 APL1β 28 ペプチドはアルツハイマー病認知症患者において有意に高値を示した。

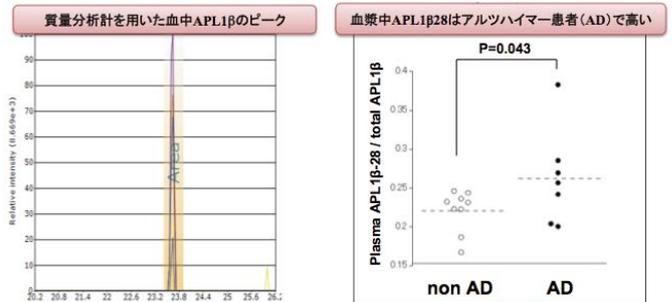
老化脳やアルツハイマー病認知症ではアミロイドベータ42 (Aβ42) ペプチドの脳内への蓄積が原因です。この脳内蓄積を早期に発見できれば、アルツハイマー病認知症の早期発見および治療に有用ですが、Aβ42は血液中にはほとんど存在しないため、その存在量を血液検査で測定することは困難です。それに代わるアルツハイマー病認知症の診断マーカーとして Aβ42 と同じ機序で産生される Aβ 様ペプチド APL1β 28 が有用ではないかと私たちは考えました。そこで本研究では、血液中の APL1β の測定が早期アルツハイマー病認知症の診断に有用かどうか調べることを目的としました。

近年のプロテオミクスの進歩、特に定量プロテオミクス技術の向上は凄まじく、従来の方法では検出できなかった臨床検体中の微量タンパク質の検出・定量が可能になりました。そこで我々は、その定量プロテオミクス技術を用いて血中 APL1β ペプチドの定量を試みました。血中の APL1β は非常に微量なため、従来使われている ELISA 法では検出できません。そこで我々は、抗体を用いた免疫沈降法と質量分析計を組み合わせることによって、約数pg/ml (血糖値の10億分の1) という超微量な APL1β ペプチドを検出することに成功しました。この世界最高レベルの検出系を用いてアルツハイマー病認知症の早期診断を目指しました。

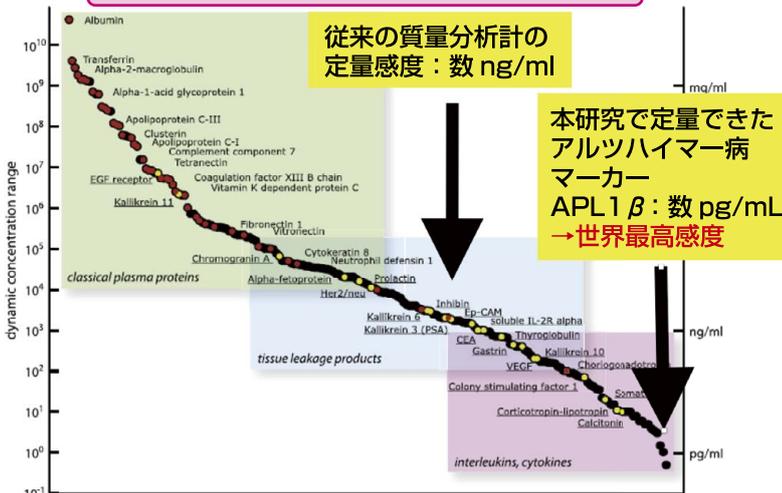
大阪大学精神科で採取されたアルツハイマー病認知症患者群血漿19例と健常者群血漿10例の APL1β ペプチドを定量したところ、認知症患者群では健常者群に比べて高いことが分かりました。また、認知症患者群の中で、アルツハイマー病認知症群9例と非アルツハイマー病認知症群7例とを比較したところ、アルツハイマー病認知症群で有意に高値を示しました。

以上の検討により、血液中の APL1β ペプチド量がアルツハイマー病認知症の発症の診断マーカーとして有望であることが分かりました。現在さらに症例数を増やして検討中です。

現在人間の寿命はどんどん長くなってきていますが、5歳寿命が延長すると認知症を発症する人の割合は50%くらいになるだろうと言われています。従って、認知症の発症を予測し、早期に予防的措置をとる必要がありますが、血液中の APL1β ペプチド定量法はその認知症の発症予測に有用な診断法になる可能性があると思われます。また、本研究成果は、これまでタンパク質の定量で用いられてきた ELISA 法では検出できないレベルの超微量タンパク質が質量分析計で定量できることを示した世界初の例であり、今後、質量分析計が種々の疾病診断へ応用されることが期待されます。



血液中タンパク質の濃度



研究成果のご紹介

- ・朝長 毅他 "アルツハイマー病血中サロゲートマーカー APL1β の定量系の確立" 日本認知症学会誌, 27:271-276, 2013.
- ・Sano S, et al. "Absolute Quantitation of Low Abundance Plasma APL1beta peptides at Sub-fmol/mL Level by SRM/MRM without Immunoaffinity Enrichment." J Proteome Res, 13:1012-20, 2014.
- ・朝長 毅他 "定量的プロテオミクス技術の疾病診断への応用" 医学のあゆみ, 251:970-4, 2014.

目的

- 加齢による脳機能低下や認知症(AD)の分子基盤として異常蛋白蓄積過程の上流を追求・解明
- 認知症(AD)関連遺伝子の同定(マウストランスクリプトーム解析とヒトゲノムワイド関連解析を融合)

成果

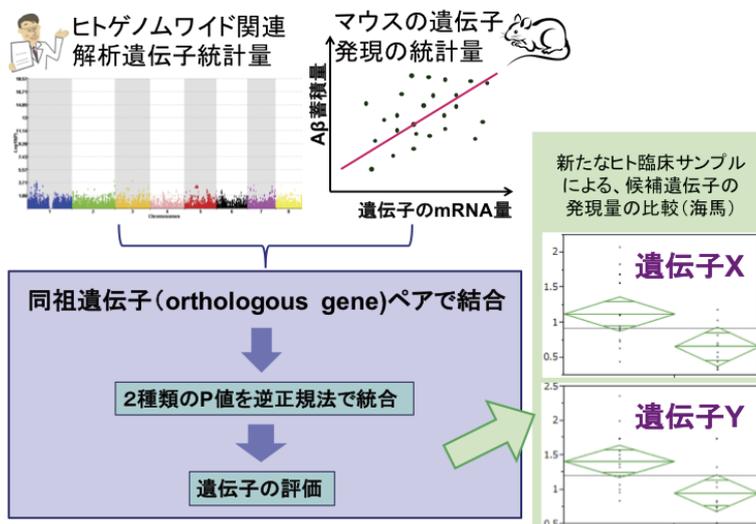
- ヒトゲノムワイド関連解析とマウスのトランスクリプトーム解析を統合する方法論を開発した。
- マウス遺伝子発現とヒトゲノムワイド関連解析のデータに適用、認知症(AD)関連遺伝子を発見した。

認知症(AD)の多くの患者のゲノムDNAを用いたヒトのゲノムワイド関連解析での遺伝子あたりの統計量と、動物モデルとしてのマウスのトランスクリプトーム(全遺伝子の発現)解析から得られた統計量を統合するための、統合的解析の方法論を開発しました。まず、ヒトのゲノムワイド関連解析での一塩基多型(SNP)の遺伝子への割り付けの条件を複数検討して、遺伝子領域の範囲の決め方と連鎖不平衡の活用の仕方を決めました。SNPを遺伝子ごとにまとめ、遺伝子単位の統計量を得る手法については、シミュレーションが要らず効率的な計算を行うことができるLiら(2011)の手法を用いました。次に、ヒトとマウスの遺伝子の相同関係を用いて、各々の遺伝子ごとに、ヒト関連解析から得られる統計量とマウストランスクリプトームから得られる統計量を、逆正規法により統合し、遺伝子ごとのP値を得る方法を開発しました。

そのようにして開発された、マウスのトランスクリプトームデータとヒトのゲノムワイド関連解析データを統合的に解析する手法を、共同研究先である大阪大学からのマウスのトランスクリプトームデータと、理化学研究所の、AD患者約800名および対照群約8,000例からなるヒトのゲノムワイド関連解析データに適用しました。その結果、複数の遺伝子が、統計的な有意性を満たし、有力な候補として見いだされました。統合解析方法の結果あがった上位候補遺伝子について、新たなヒト臨床のサンプルを用い、アルツハイマー病患者10症例での脳の海馬と、アルツハイマー病でない人達13例での脳の海馬とで発現量の比較を行いました。その検証実験の解析の結果

から有意でかつ妥当性の得られた遺伝子の機能を、公共のデータベースで検証し直し、大阪大学との共同研究の成果として論文を執筆しました。

まとめますと、ヒトゲノムワイド関連解析での遺伝子あたりの統計量とマウスのトランスクリプトーム解析から得られた統計量を統合する方法論を開発し、実際の成果が得られたことから、当初目標をほぼ達成したといえます。成果の活用に関して、ヒトゲノムワイド関連解析とマウストランスクリプトーム解析の統合的解析は、普遍的手法ですので、多くの研究者に提供できるものです。そしてヒトゲノムワイド関連解析とマウストランスクリプトーム解析の統合的解析から得られた複数の遺伝子に対し、機能解析によるモデル化や病気のメカニズムの解明、創薬シーズへと連携することが期待できます。



研究成果のご紹介

- ・ Morihara T, et al. "Transcriptome analysis of distinct mouse strains reveals kinesin light chain-1 splicing as an amyloid- β accumulation modifier." *Proceedings of National Academy Science U S A*, 111; 2638-2643, 2014.

脳老化 抗タウオパチー薬の創出

目的

- 抗認知症薬として効果が期待される化合物を探索・改良、臨床試験へのステップアップ
- タウの新規生理機能を詳細に検討、異なる創薬ターゲット分子の同定

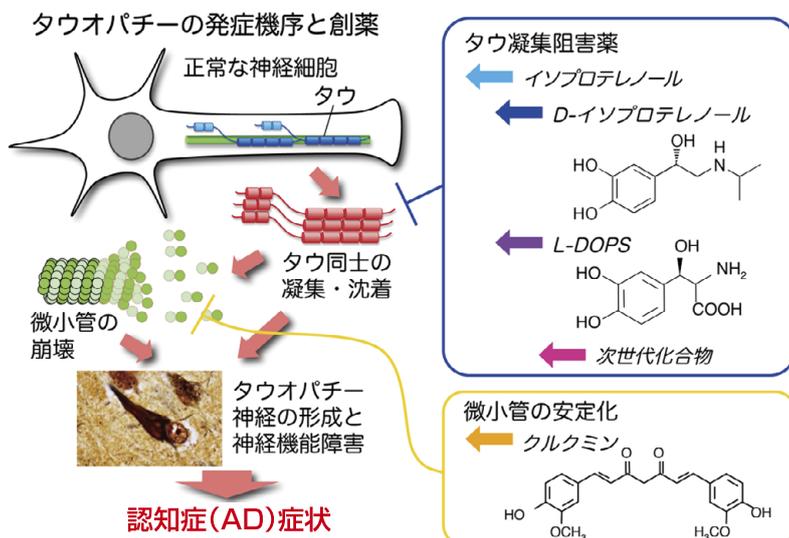
成果

- 複数の抗タウオパチー有効化合物を同定し、臨床試験へ上程する2件の化合物を決定した。
- 抗タウオパチー創薬ターゲットを明らかとした。

アルツハイマー病では、障害を受けた神経細胞内にタウとよばれるタンパク質が凝集・蓄積します。このような病理像を呈する疾患はタウオパチーとよばれ、タウによる神経障害を抑える事で、アルツハイマー病の進行を阻止できると考えられています。タウオパチーの詳細なメカニズムは分かっていますが、タウ同士が凝集・蓄積することが重要と考えられています。本研究ではアルツハイマー病の治療薬開発を目指し、2つの戦略によりタウオパチーの進行を抑える薬の開発に挑みました。

1つ目の戦略は、タウの凝集を創薬ターゲットと定めて有効化合物を開発することです。我々は試験管内でタウの凝集を起こさせ、その反応を阻害する化合物を探索しました。その過程でイソプロテレノールとよばれる化合物を同定し、タウオパチーモデルマウスでの有効性も確認できました。しかし認知症(AD)のお薬として用いるにはさらに高い安全性と有効性が求められます。そこで我々はイソプロテレノールを基により優れた化合物の開発を進め、安全性を向上させた D-イソプロテレノール、体内動態に優れた L-DOPS、さらには有効性を大幅に向上させた複数の化合物を開発しました。特に L-DOPSはパーキンソン病や起立性低血圧などに用いられている承認薬で、高齢者への長期投与実績や高い安全性が保証されています。このように既存薬の適用拡大による創薬はドラッグリポジショニングとよばれ、開発期間を大幅に短縮させて速やかに臨床効果の検証が可能となります。いち早くADの患者・家族の方々の手元にお薬を届けるという点で、もっとも期待される化合物と言えます。

一方、特定のターゲットにこだわらず、とにかくタウによる神経障害を改善させる化合物を探し出すという戦略もあります。民間薬や漢方などが長い人類の歴史の中で確立されてきた経緯がまさにこれにあたります。この戦略には莫大な費用と時間を要するのですが、我々は実験動物として線虫を用いることで、開発の高速化に成功しました。線虫は約3日で成熟するため、ヒトの数千倍の速度で化合物を絞り込むことができます。タウオパチーモデル線虫を作成し解析した結果、いくつかの天然物由来の化合物がその神経障害を軽減する事が分かりました。その代表としてクルクミンが挙げられます。クルクミンはウコンから得られる黄色色素で、スパイスの一つであるターメリックとしても有名です。さらにクルクミンの作用を調べた結果、神経細胞の骨格である微小管を安定化させていることが分かりました。タウオパチー神経ではこの微小管が減っていることが知られておりますので、このクルクミン作用は実に理にかなっていると言えます。クルクミンには他にも多彩な作用が知られており、その高い安全性のため健康食品やサプリメントとして多くの製品化がされております。クルクミンを補助食品として日常的に摂取する事で、ADの予防につながるのではと考えております。



研究成果のご紹介

- ・ Soeda Y, et al. "Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2-dihydroxybenzene groups." *Nature Communications*, 6: 10216, 2015.
- ・ Miyasaka T, et al. "Curcumin improves tau-induced neuronal dysfunction of nematodes." *Neurobiol Aging*, 39: 69-81, 2016.

目的

- タウ蛋白質凝集に注目した神経細胞脱落を阻害する認知症(AD)治療薬の開発

家族性アルツハイマー病の研究から β アミロイドが原因であるとする β アミロイド仮説が発表され1990年代以降は β アミロイド研究に主眼が置かれました。 β アミロイド抗体投与により老人斑を除去する治療法では老人斑は除去されたのですが認知機能低下の進行を抑制できないことが2008年のLancet誌に報告されました。この結果からアルツハイマー病の治療標的として微小管に結合しているタウ蛋白質と呼ばれるものが神経細胞内に不溶性となって蓄積した神経原線維変化が注目されています。神経原線維変化の数は神経細胞脱落や認知機能低下とよく相関するからです。我々は神経原線維変化の前駆体である顆粒状タウオリゴマーが神経脱落と相関することを見いだしました。そして、この研究では、突然変異を持つヒトタウを発現したモデルマウスを用いた実験によって、「タウ蛋白質の凝集」を阻害し顆粒状タウオリゴマーを作れなくする薬剤が、神経細胞脱落の抑制にきわめて高い効果があることを突き止めました。理研の天然化合物ライブラリーから低分子化合物マイクロアレイによってタウ蛋白質と結合する化合物スクリーニングを行い、認知症の原因物質とされるタウ蛋白質が体内で凝集することを抑制する化合物を見いだしました。この凝集阻害剤のうち、ドーパミンやアドレナリンといったカテコール核をもつ薬剤が、酸化されキノン体となることでタウ蛋白質と化合物が結合し、タウ蛋白質同士の結合を阻害することでタウ蛋白質の凝集を阻害することを明らかにしました。

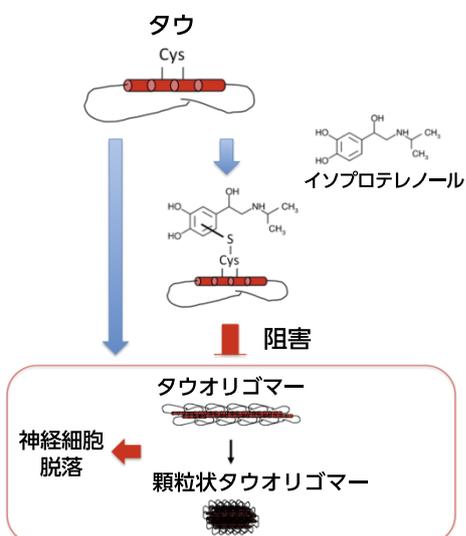
具体的には、カテコール核を持つ化合物のうち、D/L-イソブ

成果

- 神経細胞死に関する顆粒状タウオリゴマー形成を阻害する化合物を見出し、化合物投与によりモデル動物における神経脱落阻害とともに行動異常の抑制に成功した。

ロテレノール(徐脈や気管支喘息に用いられる医薬品)を、モデルマウスに3か月間経口投与したところ、タウ凝集の阻害と、それに伴う神経細胞脱落の抑制が観察されました。さらに、神経活動の低下や異常行動の改善も示しました。

この結果は、タウ蛋白質凝集を阻害すると神経細胞死の抑制とそれに伴う脳機能低下を阻害することを示しています。すなわちタウ蛋白質凝集がアルツハイマー型認知症に直接関与することを初めて明らかにした報告です。D/L-イソブロテレノールはすでに薬剤として使用されており、サルなどの大型動物においても安全性と臨床用量の投与で十分なタウ凝集阻害濃度に達することが確認され、認知症(AD)の早期治療薬開発に新たな道を切り開くものとして期待されています。



研究成果のご紹介

- ・ Kimura T, et al. "Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369: 20130144, 2013.
- ・ Maruyama M, et al. "Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls." *Neuron*, 79: 1094-1108, 2013.
- ・ Soeda Y, et al. "Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2-dihydroxybenzene groups." *Nat Commun*, 6: 10216, 2015.
- ・ Yagishita S, et al. "Glycogen Synthase Kinase-3 β -mediated Phosphorylation in the Most C-terminal Region of Protein Interacting with C Kinase 1 (PICK1) Regulates the Binding of PICK1 to Glutamate Receptor Subunit GluA2." *J Biol Chem*, 290: 29438-29448, 2015.
- ・ Sotiropoulos I, et al. "Female Hippocampus Vulnerability to Environmental Stress as Precipitating Factor in Tau Aggregation Pathology." *J Alzheimers Dis*, 43: 763-774, 2015.

目的

- 前頭側頭葉変性症 (FTLD) のマウスモデルを作成、なぜ疾患が生じるのかについてメカニズムの解明
- FTLD の脳画像解析による、早期診断のためのバイオマーカーを解明

前頭側頭葉変性症 (FTLD) のモデルマウスとして、関連遺伝子である TDP-43 及び FUS の発現を海馬で低下させたマウスを作成しました。アデノ関連ウイルス (AAV) に TDP-43 及び FUS を抑制する機能を持った shRNA を発現させ、この AAV を成体マウスの両側海馬に注入することで行いました。これらのモデルは高次機能解析の結果から、不安、情動などに異常を呈することが分かり、実際の FTLD 患者に認められる情動障害や性格変化に相当する症状を反映しているものと考えられました。

また疾患関連分子候補として FUS の下流因子としてタウ isoform、GluA1、TDP-43 の下流因子として PSD-95 などを見いだしました。これらの候補分子の病態発現における役割を検討した結果、FUS 抑制モデルにおける疾患関連因子として得られた GluA1 の発現変化およびタウ遺伝子 Mapt exon10 の選択的スプライシング変化 (タウ isoform 4R-T/3R-T 比率の上昇) を正常状態に戻すレスキュー実験を行ったところ、マウスの情動異常の表現型が改善されることを見いだしました。以上からタウ isoform の変化と GluA1 の発現低下が病態発現に重要な分子標的であると考えられました。また海馬特異的 TDP-43 ノックダウンモデルについても PSD-95 の発現変化依存的に長期記憶障害が引き起こされることを明らかにしました。

FTLD 患者さんがどのような経過をたどるか (自然歴) についての詳細を、臨床病歴と病理の所見から検討したところ、運動神経による症状の有無が生存期間に影響を及ぼすことを見いだしました。さらに運動神経による症状が無かった FTLD 患者さんにおいても高確率に脊髄に病変が存在する FTLD と筋萎縮性側索硬化症とが臨床像は異なって見えるものの、実

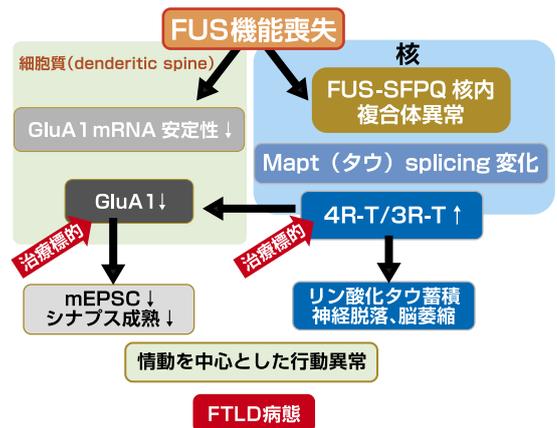
成果

- 前頭側頭葉変性症 (FTLD) のマウスモデルの作成から高次機能障害についてのメカニズムを明らかにした。
- FTLD の脳画像の解析から、尾状核の萎縮が早期診断のためのバイオマーカーになることを見出し、病理所見でも尾状核病変が早期変化であることを示した。

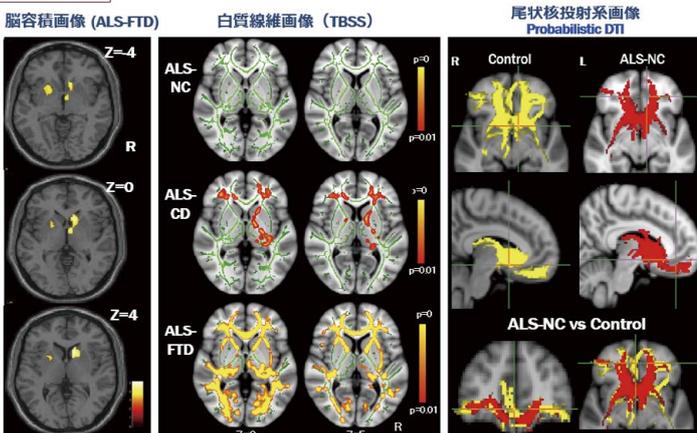
際にはその病態像がとても似通ったものであることを示しています。

FTLD 患者さんにおける頭部 MRI を用いた脳内各部位の形態測定・拡散 MRI を用いた解析、病理学的な検討から、大脳の中でも尾状核という基底核のなかの特定の部位にサイズの縮小 (萎縮) と神経細胞数の減少が特徴的であることを明らかにしました。これらの所見から基底核とくに尾状核が FTLD の重要な診断・病態マーカーになるものと考えられました。

FUS による FTLD 病態の発見機序



バイオマーカー FTLD (TDP) は早期から尾状核の萎縮、投射線維障害を認める



FTLD は早期から尾状核及びその投射線維の障害を認める

尾状核を中心とする病変画像は FTLD の早期診断マーカーとなる

研究成果のご紹介

- ・ Ishigaki S, et al. "Position-dependent FUS-RNA interactions regulate alternative splicing events and transcriptions." *Sci Rep.* 2:529, 2012.
- ・ Honda D, et al. "The ALS/FTLD-related RNA-binding proteins TDP-43 and FUS have common downstream RNA targets in cortical neurons." *FEBS OpenBio.* 4:1-10, 2013.
- ・ Fujioka Y, et al. "FUS-regulated region- and cell-type-specific transcriptome is associated with cell selectivity in ALS/FTLD." *Sci. Rep.* 3:2388, 2013.
- ・ Riku Y, et al. "Lower motor neuron involvement in TAR DNA-binding protein of 43 kDa-related frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis." *JAMA Neurol.* 71(2):172-9, 2014.
- ・ Udagawa T, et al. "FUS regulates AMPA receptor function and FTLD/ALS-associated behavior via GluA1 mRNA stabilization." *Nature Comm.* 6:7098, 2015.

前頭側頭葉変性症(FTLD)ショウ ジョウバエモデルの開発と病態 解明・治療法開発

目的

- ショウジョウバエモデルを用いた前頭側頭葉変性症(FTLD)の分子病態の解明
- ショウジョウバエモデルを用いたFTLDの治療薬の検索

成果

- 前頭側頭葉変性症(FTLD)の病態に関わる遺伝子群を全ゲノムから網羅的に同定した。
- FTLDの治療薬候補として、オートファジー活性化剤、微小管輸送活性化剤を見いだしました。

人口高齢化社会を迎えて、患者数が増え続けている認知症は、根本的な治療法に乏しい難病であり、我が国にとって深刻な社会問題になっています。神経の変性による認知症のうち、アルツハイマー病に次いで多いとも言われている前頭側頭葉変性症(FTLD)の原因分子としては、タウが知られていましたが、半数以上の患者さんではタウの異常が認められず、どのような分子が原因になっているのかさえ長らく不明でした。しかし近年になって、発症原因となるキー分子としてTDP-43およびFUSが発見され、ようやく分子レベルでの研究の幕が開けました。

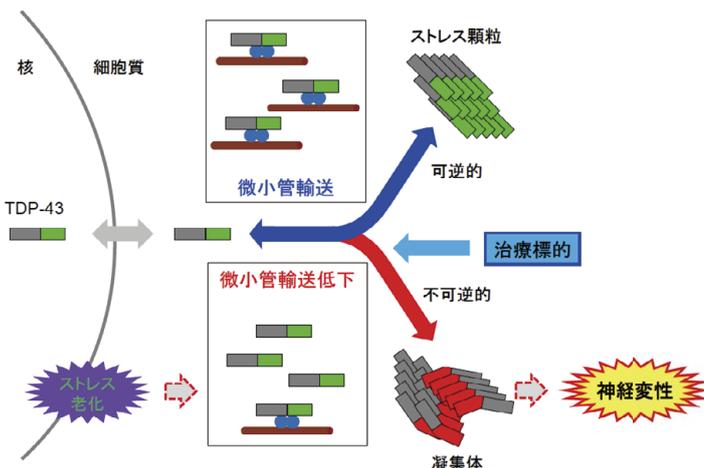
私たちは、FTLDの分子病態の解明、そして治療法の開発を目指して、疾患モデルとしての十分な実績があり、簡便で世代時間が短いため多検体の効率的な遺伝学的・薬剤スクリーニングに適しているショウジョウバエに着目して、FTLDモデルを開発し、病態・治療法研究を行いました。まず、ヒトのFTLDの原因分子であるTDP-43遺伝子あるいはFUS遺伝子を発現する遺伝子改変ショウジョウバエを作成したところ、いずれも進行性運動障害、寿命短縮、複眼変性を呈し、TDP-43発現モデルではヒトFTLD患者さんと同様に神経細胞内凝集体を認めました。続いて、これらのFTLDモデルショウジョウバエを用いて、全ゲノム領域を網羅する染色体部分欠失ショウジョウバエ変異体ライブラリーとの交配による遺伝学的スクリーニングを行った結果、TDP-43発現モデルとFUS発現モデルに共通するFTLD病態関連遺伝子9個を同定しました。さらに、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析も行い、やはりTDP-43発現モデルとFUS発現モデルに共通して発現変動を示す122遺伝子を同定しました。このうち、酸化還元反応関連

遺伝子の機能低下によりTDP-43発現モデルの複眼変性が増悪することを明らかにしました。一方、タンパク質凝集、細胞内輸送などに関わる候補遺伝子アプローチからは、オートファジー関連遺伝子や微小管輸送に関わるdynactin 1遺伝子の機能低下によりTDP-43の凝集体形成が増加し、TDP-43発現モデルの運動障害、複眼変性が増悪することを明らかにしました。

FTLDの治療薬開発へ向けては、上述の研究から明らかになった分子病態メカニズムに基づいて、オートファジー活性化剤がTDP-43発現モデルの複眼変性を抑制することを明らかにしました。また、微小管輸送活性化剤は、TDP-43の軸索輸送を促進して凝集体形成を抑制し、TDP-43発現モデルの運動障害、複眼変性を抑制することを明らかにしました。

このように、効率的な解析に適しているショウジョウバエを活用することで、原因分子の発見が遅れたFTLDの分子病態が次々と明らかになり、治療薬候補となる薬剤も見いだすことに成功するなど、病態・治療法研究が飛躍的に促進されました。

TDP-43は微小管依存的に軸索輸送され、その機能低下により凝集体形成が促進され、神経変性を引き起こす



研究成果のご紹介

- ・ Sasayama H, et al. "Knockdown of Drosophila Fused in Sarcoma (FUS) homologue causes deficient locomotive behavior and shortening of motoneuron terminal branches." PLoS One, 7(6): e39483, 2012.
- ・ Higashi S, et al. "TDP-43 associates with stalled ribosomes and contributes to cell survival during cellular stress." J. Neurochem, 126(2): 288-300, 2013.
- ・ Azuma Y, et al. "Identification of ter94, Drosophila VCP, as a strong modulator of motor neuron degeneration induced by knockdown of Caz, Drosophila FUS." Hum. Mol. Genet, 23(13): 3467-3480, 2014.
- ・ 上山盛夫, 他. "その他のFTLD—異常蛋白の視点から" Clinical Neuroscience, 33(3): 312-314, 2015.

生命倫理

脳科学研究における倫理的問題の解決に関する研究

目的

- 脳科学研究者、倫理審査委員会などへの、実践的で具体的な倫理支援や倫理教育の提供
- 将来起こりうる脳科学の倫理的・法的・社会的課題の事前検討と、対応策の提示

成果

- きめ細やかな倫理支援により研究者が直面する倫理的問題に臨機応変に対処した。
- 精神疾患研究におけるインフォームドコンセント、偶発的所見への対処法などについて倫理研究を元に提言した。

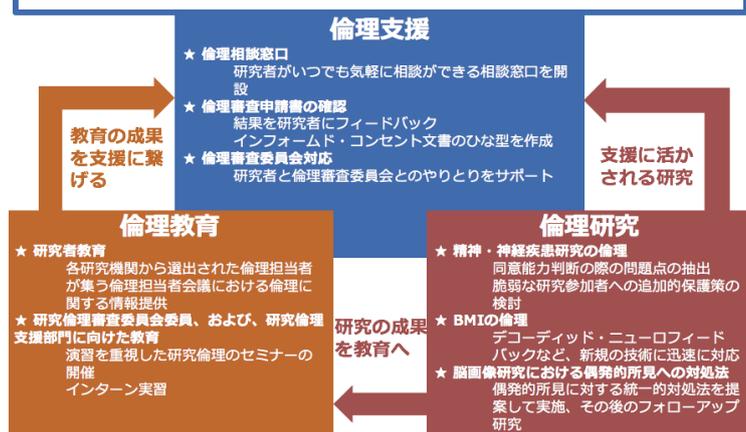
精神・神経疾患の予防・治療法の開発を初めとして、脳科学の研究成果を社会に還元するためには、人を対象とする脳科学研究が必要不可欠です。社会と調和した脳科学研究のためには、それぞれの研究機関や大学の倫理審査委員会でもって十分に研究計画が審査されること、研究参加者保護の体制をしっかりと構築することが必要です。そこで私たちは、脳科学研究に携わる研究者、研究機関や大学の倫理委員会などに、実践的で具体的な倫理支援を提供することを目標に掲げました(倫理支援)。さらに、研究機関や大学の倫理審査委員会の委員や研究倫理支援職の方々のために教育を提供すること、さらにより発展的に、脳科学研究者自身が自発的に適切な倫理的判断を行うことができるよう倫理教育の機会を提供することも目標としました(倫理教育)。また、脳科学研究に関して将来起こりうる倫理的問題には、事前の十分な検討が求められています。そこで学際的な研究グループにより、脳科学の倫理的・法的・社会的課題(ELSI)に包括的に取り組むことになりました(倫理研究)。

倫理支援の成果としては、研究者がいつでも気軽に活用できる「脳プロ倫理相談窓口」を開設し、脳科学研究者が直面する倫理的問題に臨機応変に対処しました。内容はインフォームドコンセントの方法やデータの管理方法など、多岐に渡りました。また、研究の現場にひそむ倫理的問題を事前に掘り起こして対処するために、研究室訪問を行いました。倫理教育の成果としては、倫理委員、倫理支援職の技能向上のための「研究倫理セミナー」を提供しました。毎年、40名ほどの倫理委員や倫理支援職の方に全国各地からご参加いただき、有意義なセミナーという好評をいただきました。

倫理研究の成果としては、まず、認知症などの精神・神経疾患により同意能力を喪失してしまった患者さんを対象とした研究を行う際に、患者さんに安心して研究参加していただける環境整備について研究を行いました。患者さんだけではなく、主治医や患者さんご家族、さらには倫理委員会といった患者さんを取り巻く周囲のサポートを総合的に構築する必要性について提言しました。また、最近のビッグデータを用いた研究におけるインフォームドコンセントのあり方、脳画像研究の途上で「たまたま見つかってしまった脳腫瘍」など健康情報をどのように研究参加者にお返しするとよいのか、こうしたさまざまな倫理的課題に取り組んできました。どの問題にも通底しているのは、研究参加者にリスクも含めて研究の内容を事前に十分に理解をしていただくため、研究者は常に丁寧な説明を心がけることが、社会と共にある脳科学研究の推進のためには絶対に必要だということです。

こうした倫理研究の成果はすべて、倫理支援や倫理教育にすぐに還元しました。そうすることで、支援、教育、研究の循環関係を構築することができました。

脳科学研究に関する倫理的・法的・社会的課題に適切かつ迅速に対処し、脳科学研究者を倫理面から支え、社会、市民と共にある脳科学研究の推進に寄与することが目的です



研究成果のご紹介

- ・ Nakazawa E, et al. "Ethics of Neuroscience (Practical Issues)." In Routledge Handbook of Neuroethics, in print.
- ・ Fujita M, et al. "Handling incidental findings in neuroimaging research in Japan: current state of research facilities and attitudes of investigators and the general population." Health Research Policy and Systems, 12(1): 58, 2014.

脳科学研究戦略推進プログラム 課題 F・生命倫理課題 成果報告書

■発行元

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 戦略推進部 脳と心の研究課

〒100-0004

千代田区大手町 1-7-1 読売新聞ビル 22F

TEL: 03-6870-2222 (代表) / FAX: 03-6870-2244

<http://www.amed.go.jp/>

平成28年3月発行 (9月公開)

本書を無許可で複写・複製することを禁じます



Strategic Research Program for Brain Sciences
Japan Agency for Medical Research and Development.