

統合失調症患者由来神経細胞－グリア間代謝的相互作用の解析

堀内泰江¹⁾，鳥海和也¹⁾，糸川昌成¹⁾，岡野栄之²⁾，新井 誠¹⁾

1) 東京都医学総合研究所 精神行動医学研究分野統合失調症プロジェクト

2) 慶應義塾大学医学部 生理学教室

【研究の背景】

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。

【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。

【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 細胞からニューロスフェア法を用いて TUJ1 陽性神経細胞、アストロサイトへの分化を誘導した。

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、①Glo1 阻害剤及び②Glo1 silencing-siRNA によるカルボニルストレス誘発時の Glo 代謝、dicarbonyls 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。

【結 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

扱した。患者由来 iPS 細胞樹立効率は健常対照者由来のものと違い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。iPS 細胞から神経幹細胞塊であるニューロスフェアへ誘導し、高効率で GFAP 陽性細胞が得られた。

【考 察】

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。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまでの解析で、統合失調症発症や症状の変化に対して、さまざまなストレスが関与することが知られており、遺伝、環境因子の接点としての疾患に内在する「ストレス脆弱性」は、病態機構の解明、治療法の開発の両面において大変重要であると考えられる。疫学的な研究で、統合失調症患者では一般人口に比べて耐糖能異常の頻度、糖尿病発症リスクが有意に高いことが明らかになっている。本研究のシステムを用いて恒常性維持の破綻が引き起こす全身疾患と精神疾患の関連を理解し、新たな創薬への手がかりが得られると考える。