

統合失調症の認知機能障害に対する早期治療のための神経回路介入技術の研究開発

向井 淳

筑波大学プレジジョン・メディシン開発研究センター 神経・免疫分野

【研究の背景】

22q11.2 欠失症候群は、染色体領域 22q11.2 のヘミ接合体欠失に起因する染色体異常症の 1 つで、その約 30%が統合失調症を発症する。統合失調症を発症させる最短の欠失領域は 1.5Mb の長さに 27 遺伝子を含む。この欠失とシンテニックなマウス 16 番染色体上の 27 遺伝子をヘミ接合体欠失させたマウス *Df(16)A^{+/-}* は(図 1)、シナプス数や樹状突起、軸索の形態異常等の解剖学的接続性の異常¹⁾と、海馬-前頭前野間のシンクロニーの低下²⁾等の機能的接続性の異常により、患者と共通する認知機能障害の核である作業記憶の障害を持つ。これらの接続性の異常は、27 遺伝子の 1 つ *Zdhhc8* のコピー数減少³⁾による Gsk3 キナーゼの過剰活性化に起因し⁴⁾、Gsk3 阻害剤 SB216763 を発達早期(P7-P28)に *Df(16)A^{+/-}* マウスへ投与すると、8 週齢マウスの解剖学的機能的な接続性の増強と作業記憶の改善を示す²⁾。発達早期における介入可能な革新的治療薬・治療法の開発への展開をねらう(図 1)。

【目 的】

本研究は統合失調症と因果関係の明確な 22q11.2 欠失症候群に関して、信頼性の高い動物及び細胞モデルを使用して認知機能に関する神経回路が、発達早期にどのように制御・構築されるのかを、主に解剖学的機能的 connectivity (接続性) の解析を通じて理解し、革新的な早期治療的介入技術を研究開発することを目的とする。

【方 法】

認知行動障害に対する介入技術の開発(図 2)

- ① Gsk3 阻害剤 SB216763 を異なる発達段階で投与し、各認知機能障害の効果的な治療的介入時期を決定する。
- ② Gsk3 β specific inhibitor compound X を用いて、作業記憶への効果を調査する。

【結 果】

- ① *Df(16)A^{+/-}* マウスの作業記憶、社会記憶、恐怖条件づけの表現型に対する SB216763 の効果を調査した。SB216763 の発達早期(P7-P28)での投与は、8 週齢での作業記憶を正常に戻したが^{2,4)}、8~10 週齢での投与は、効果が無かった。また社会記憶、恐怖条件づけの障害に対する発達早期(P7-P28)での投与および 8~10 週齢での投与は、ともに robust な効果は無かった。
- ② Gsk3 阻害剤 SB216763 は、Gsk3 α と Gsk3 β の両方のアイソフォームを阻害する。Gsk3 α の阻害は発がん性を惹起するため、Gsk3 β 阻害剤の *Df(16)A^{+/-}* マウスの作業記憶に対する効果を調査した。Gsk3 β 阻害剤 compound X の発達早期(P7-P28)での投与は、部分的に作業記憶を回復した。現在 compound X の異なる濃度、投与期間について、検討中である。

【考 察】

最近の単一遺伝子(あるいは CNV)マウスモデルの研究は、精神神経疾患に関わる重要な神経回路や発達経過の異常、および早期介入の機会を明らかにしてきた^{8,9)}。回路の欠陥および動作が可逆的かどうか介入治療に重要であり、① 発達早期に異常な回路が成立すると不可逆的な病態⁴⁾を示すのか、あるいは、② 発達段階完了後の遺伝的欠陥の正常化が有効⁷⁾であるかどうかを、薬理的介入実験によって解析した。*Daf16A*^{+/−}成熟マウスに対する SB216763 の投与は、作業記憶障害に効果が無く、①の病態を示したことから、発達早期における介入治療の必要性が示唆された。また社会記憶¹⁰⁾に対する効果が無かったことから、新たな介入方法の必要性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

精神疾患領域における Precision Medicine(個別化医療、精密医療)の実現を加速する。本研究は、早期ライフステージにおける認知機能に関する神経回路形成のメカニズム解明にせまり、病的神経回路の可逆的な治療的介入のアプローチポイントを見出し、エピゲノム、遺伝子発現などの遺伝情報やマウスの神経回路に基づいた認知行動解析からより大量の疾患責任遺伝子の同定が進み、治療的介入に有用な情報を一度に解析するための遺伝子パネルの開発、全ゲノム解析(WGS)による遺伝子診断サービスや、適した治療薬の選択が可能になる。疾患遺伝子情報を蓄積し、それらの変異の臨床的意義付け(クリニカルアノテーション)のデータベースの構築を実現できる。早期ライフステージにおける発症前診断・発症前治療的介入により、認知機能や行動異常の軽減、発症阻止を実現し、患者本人及び社会的負担の軽減が期待される。

【参考・引用文献】

1. **Mukai, J.**, Dhillia, A., Drew, L. J., Stark, K. L., Cao, L., MacDermott, A.B., Karayiorgou, M., Gogos, J.A. Palmitoylation-dependent neurodevelopmental deficits in a mouse model of 22q11 microdeletion. *Nat. Neurosci.*, 11: 1302-1310, 2008.
2. Tamura, M., **Mukai, J.**, Gordon, J.A., and Gogos, J.A. Developmental inhibition of Gsk3 rescues behavioral and neurophysiological deficits in a mouse model of schizophrenia predisposition. *Neuron*, 89:1100-1109, 2016.
3. **Mukai, J.**, Liu, H., Burt, R.A., Swor, D.E., Karayiorgou, M., and Gogos, J.A. Evidence that the gene encoding ZDHHC8 contributes to the risk of schizophrenia. *Nat. Genet.*, 36: 725-731, 2004.
4. **Mukai, J.**, Tamura, M., Fénelon, K., Rosen, A.M., Spellman, T.J., Kang, R., MacDermott, A.B., Karayiorgou, M., Gordon, J.A., Gogos, J.A. Molecular substrates of altered axonal growth and brain connectivity in a mouse model of schizophrenia. *Neuron*, 86: 680-695, 2015.
5. Diamantopoulou, A., Sun, Z., **Mukai, J.**, Xu, B., Fénelon, K., Karayiorgou, M., Gogos, J.A. Loss-of-Function mutation in *Mirta22/Emc10* rescues specific schizophrenia-related phenotypes in a mouse model of the 22q11.2 deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 114 (30): E6127-E6136, 2017.
6. Hamm, J.P., Shymkiv, Y., **Mukai, J.**, Gogos, J.A., Yuste, R. Aberrant cortical ensembles and schizophrenia-like sensory phenotypes in *Setd1a* mice. *Biol. Psychiatry*, 88 (3): 215-223, 2020.
7. **Mukai, J.**, Cannavo, E., Sun, Z., Crabtree, G., Diamantopoulou, A., Thakur, P., Chang, CY., Lomvardas, S., Takata, A., Xu, B., Gogos, J.A. Recapitulation and reversal of schizophrenia-related phenotypes in *Setd1a*-deficient mice. *Neuron*. 104: 471-487, 2019.
8. Marin, O. Developmental timing and critical windows for the treatment of psychiatric disorders. *Nat. Med.* 22(11): 1229-1238, 2016.
9. Kaiser, T., Zhou, Y., Feng, G. Animal models for neuropsychiatric disorders: prospects for circuit intervention. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 45: 59-65, 2017.
10. Piscorowski, R.A., Nasrallah, K., Diamantopoulou, A., **Mukai, J.**, Siegelbaum, S.A., Gogos, J.A., Chevaleyre, V. Age-dependent specific changes in area CA2 of the hippocampus and social memory deficit in the 22q11.2 mouse model of schizophrenia. *Neuron*, 89: 163-176, 2016.

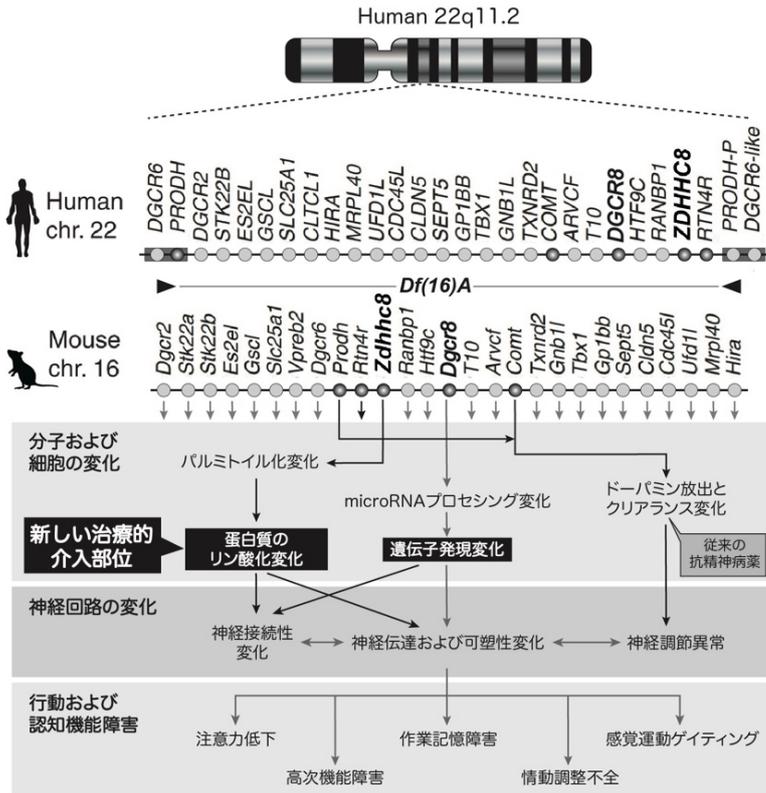


図 1. 22q11.2DS の病因と病態生理のための Framework

DR16A^{-/-} マウス

22q11.2DS は、通常 22q11.2 における 3Mb の領域の欠失であるが、さらに限定された 1.5Mb の欠失においても統合失調症を高率に発症する。この領域は 27 つの遺伝子を含んでおり、DR16A^{-/-} マウスは 16 番染色体上にヒト欠失とは配列順は異なるが同じ 27 遺伝子領域 DR16A をヘミ接合体欠失させたものである¹⁾。

新しい治療的介入部位

① DR16A^{-/-} は、シナプスの解剖学的接続性の異常と、神経回路のアンサンブルの低下等の機能的接続性の異常により、患者と共通する**認知機能障害の核である作業記憶の障害**を持つ^{2,4)}。これらの接続性の異常の少なくとも部分的には、27 遺伝子の1つ **Zdhf8** のコピー数減少³⁾による Gsk3 β キナーゼの過剰活性化に起因し、Gsk3 リン酸化阻害剤 SB216763 を**発達早期(P7-P28)に DR16A^{-/-}マウスへ投与**すると、8 週齢マウスの解剖学的機能的接続性の増強と作業記憶の改善を示した^{2,4)}。こうしたリン酸化を含む翻訳後修飾に関するシグナリング過程が、新しい治療的介入部位となる。

② 22q11.2DS は、miRNA プロセッサー **Dgcr8** と **mir185** の両方を CNV 内でヘミ接合体欠失し、その結果、**mir185** の標的遺伝子 **Mirta22** の脱転写抑制が起こり、神経成熟阻害因子 **Mirta22** の発現を増強する⁵⁾。そこで、DR16A^{-/-}マウスに **Mirta22** のヘミ接合体欠失を germ line で導入したところ、作業記憶、社会的記憶などの認知機能障害をレスキューした。この発見は、CNV 内遺伝子の下流標的遺伝子の発現異常が治療標的になる可能性や miRNA を含む転写制御ネットワークに対するエピゲノム治療薬の可能性を示し、新しい治療的介入部位となる。

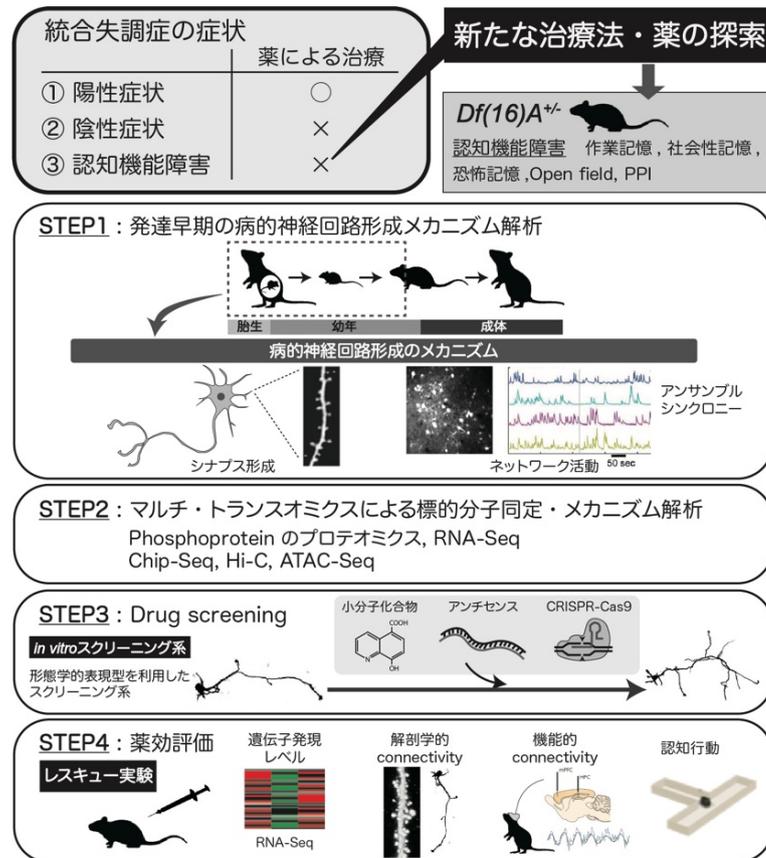


図 2. 本計画の概要

統合失調症認知機能障害に対する治療薬の研究開発

STEP1. DR16A^{-/-}マウスの作業記憶に関する病的神経回路は発達早期に異常な回路が成立すると不可逆的な病態を示す。シナプス密度の細胞型特異的な定量や、形態学的解析に加え、神経細胞の機能的接続性を追跡するための *in vivo* Ca イメージングによるアンサンブル⁶⁾の解析を行い、どのように疾患特異的な病的神経回路に逸脱していくのかを細胞レベルで理解する。

STEP2. Phosphoprotein のプロテオミクスや、miRNA による転写制御の異常を解析するための RNA-Seq やエピゲノム解析等の各階層オミクスデータを統合し、トランスオミクスによる階層横断的理解を目指す。認知機能表現型と直結する変化を時間軸に沿って解析し、その標的分子を同定し、発達早期における病的神経回路構築の分子機構を解明する。

STEP3. 神経細胞形態学的表現型を利用したドラッグスクリーニング⁷⁾を使って、表現型をレスキューする効果を持つ小分子化合物、アンチセンス、Crispr-Cas9 のターゲットを見出す。

STEP4. ドラッグスクリーニングで見出した小分子化合物、アンチセンス等をマウスに導入し、認知行動障害に対する効果を評価するとともに、遺伝子発現レベルや、解剖学的機能的接続性に対する影響を評価し、proof of concept の創出を目指す。