

2007年5月4日

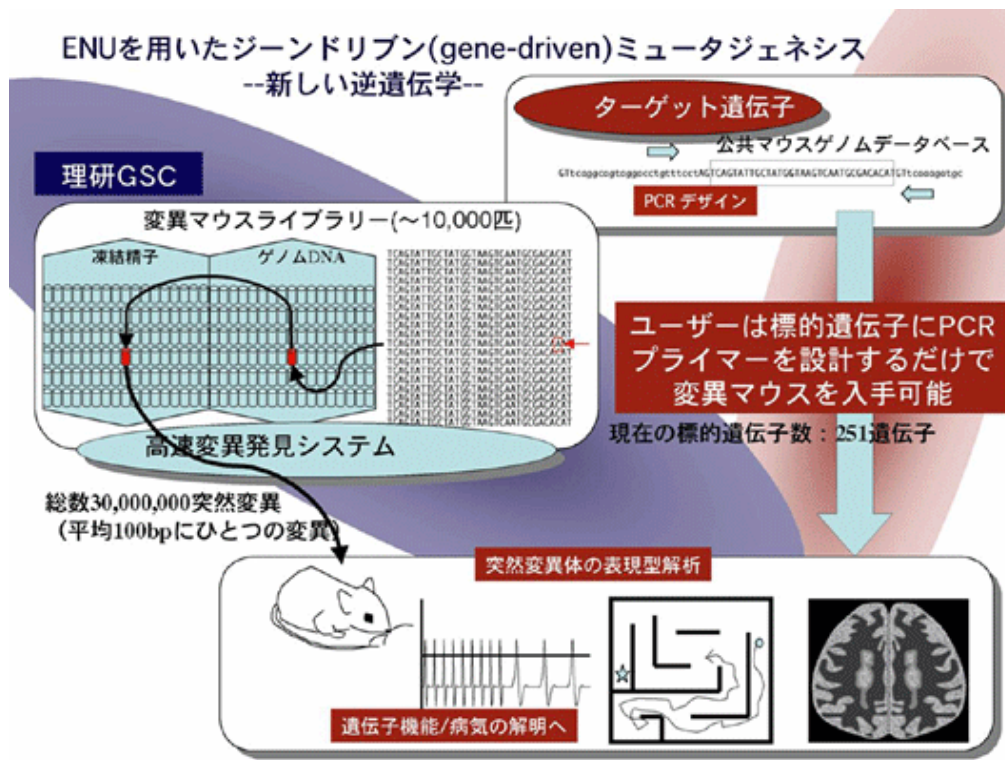
独立行政法人 理化学研究所

世界初：うつ病と統合失調症の2系統モデルマウス開発に成功

- 精神疾患の解明や治療法の開発に貢献する貴重な変異マウス系統を確立 -

ありふれた精神疾患として知られている統合失調症やうつ病ですが、その発症の原因やメカニズムはまだ良くわかっていません。統合失調症は国を問わず人口の1%ほどの割合で発症しているといわれています。うつ病の発症率も10%とされ、いずれも原因・メカニズムの解明と予防・治療法の開発が待ち望まれています。これらの精神疾患の研究が進むにつれ、環境要因に加え遺伝的な要因も関係していることなどが明らかとなってきました。原因となる遺伝子群と複雑に絡み合う環境要因群をさらに明らかにするために、モデル動物を使った実験が欠かせません。ところが、これらの疾患を発病するモデルマウスの開発が十分に進んでいませんでした。

理研ゲノム科学総合研究センター個体遺伝情報研究チームは、カナダのマウントシナイ病院研究所、英国エジンバラ大学と共同で、統合失調症に関与するといわれてきた遺伝子のひとつ「Disc1」にアミノ酸置換変異をもつ、統合失調症とうつ病の2系統のモデルマウスの開発に成功しました。同じ遺伝子上の点突然変異で統合失調症とうつ病という異なる精神疾患を発症するモデルマウスを開発したのはこれまで世界に例のないことです。二つの精神疾患の解明や治療法の開発に大きく貢献していくとともに、人の精神構造の成り立ちを基礎研究の面から解明することが出来るツールを得たことになりました。



理研 ENU マウスミュータジェネシスシステム

2007年5月4日
独立行政法人 理化学研究所

世界初：うつ病と統合失調症の2系統モデルマウス開発に成功

- 精神疾患の解明や治療法の開発に貢献する貴重な変異マウス系統を確立 -

◇ポイント◇

- ・ 統合失調症に関与する遺伝子にアミノ酸置換変異をもつモデルマウスを開発
- ・ 同じ遺伝子上の異なる変異がうつ病と統合失調症を発症することを発見
- ・ 狙った遺伝子上の点突然変異を高速に発見するシステムを活用して探索

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、Disc1（ディスク 1）という従来、統合失調症に関与するといわれていた遺伝子にアミノ酸置換変異をもつマウス 2 系統を開発し、カナダマウントシナイ病院研究所（ジョゼフ・マパ理事長）、英国エジンバラ大学（ティモシー・オシェ学長）との共同研究により、この系統が統合失調症だけでなく、うつ病のモデルマウスになることを明らかにしました。これは理研ゲノム科学総合研究センター（榎佳之センター長）個体遺伝情報研究チームの権藤洋一プロジェクト副ディレクター・チームリーダーによる研究成果です。

統合失調症は思春期以降に世界人口の 1%ほどの人が発症するといわれています。また、うつ病の発症率は 10%とされ、特に働き盛りの日本人において増加傾向にあるといわれています。ともに、環境要因に加え、近年、遺伝要因も複雑に絡み合って発症するとされながら、原因やメカニズムがよくわかっておらず、その解明と、予防・治療法の開発が待ち望まれています。これらの精神疾患を発症するモデルマウスの開発は、遺伝的要因を明らかにするだけでなく、環境の影響や投薬効果などとの因果関係を調べるうえでも必須なものとして期待されていました。統合失調症は、家系解析・遺伝子多型の解析などが進み、関連する遺伝子として 100 以上の報告例があります。Disc1 遺伝子は、そのなかでも主要な役割を果たしている遺伝子として着目されていました。今回、研究チームが開発したマウスは、Disc1 遺伝子に点突然変異^{*1}をもつ 2 系統で、それぞれ異なったアミノ酸置換を起こしていました。Disc1 タンパク質の 31 番目のグルタミンがロイシンにアミノ酸置換した変異マウス系統でうつ病を発症し、100 番目のロイシンがプロリンに突然変異を起こしたもう 1 系統は統合失調症を示すモデルマウスとなることが明らかとなりました。同じ遺伝子上の点突然変異が、うつ病と統合失調症という異なる精神疾患モデルマウスとなる例はこれまでありません。それぞれの精神疾患の解明や治療法の開発に大きく貢献するばかりでなく、ヒトの精神構造の成り立ちそのものを基礎研究の面から解明して行くうえでも貴重なモデル系として期待されます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*NEURON*(ニューロン)』（5月3日号）に掲載されるに先立ち、オンライン版（5月3日付け：日本時間5月4日）に掲載されます。

1. 背景

近年、マウスの特定の遺伝子を丸ごと標的破壊するノックアウトマウス法を駆使

して疾患モデルを開発するプロジェクトがEU連合、米国、カナダの3拠点において始まりました。一方、理研では、理研変異マウスライブラリー^{*2}を構築し、さらに、解析対象の遺伝子上に点突然変異を持つ系統を高速にスクリーン発見する高速変異発見システム^{*3}も独自に整備して、ライブラリーから変異モデルマウスを開発する研究を進めてきました。この変異マウスライブラリーと高速変異発見システムによってはじめて、遺伝子組換え技術を用いなくともゲノム上のどの遺伝子についてもアミノ酸置換変異を持つマウスを開発することが可能になりました。理研では、この手法を総称して「理研ENUジーンドリブン (gene-driven ; 遺伝子主導) マウスミュタジェネシスシステム」(図1)と名づけ、このシステムを一般研究者に広く公開しています。理研は、解析依頼に応じて、解析対象の遺伝子に点突然変異を探索し、見つければ必要に応じてモデルマウスとして提供しています。

2004年、カナダのマウントシナイ病院研究所の研究グループ(ジョン・ローダー博士)から、「理研ENUジーンドリブンマウスミュタジェネシスシステム」の利用申込があり、ライブラリーのスクリーンを依頼されました。その遺伝子の1つ、Disc1遺伝子に理研が変異を発見し、そのうち2系統をカナダ側研究者に提供しました。この変異マウス2系統の疾患モデルとしての解析には、イギリスのエジンバラ大学の研究グループ(デイヴィッド・ポータス博士)も加わり、今回の成果となりました。

2. 研究手法・成果

研究チームは、「理研ENUジーンドリブンマウスミュタジェネシスシステム」を用いて、Disc1タンパク質の特定のアミノ酸が別のアミノ酸に置換を起こした、L系統およびP系統の異なる2系統の変異マウスを開発し、マウントシナイ病院研究所にモデルマウスを提供して解析を進めました。英国エジンバラ大学の研究者も加わり、詳細に解析したところ、Disc1タンパク質の31番目のグルタミンがロイシンにアミノ酸置換したL系統はうつ病モデルマウス、また、100番目のロイシンがプロリンに突然変異を起こしたP系統は統合失調症モデルマウスであることを明らかにしました(図2)。疾患症状の実験解析は、行動学的診断、解剖学的診断、生化学的解析、薬理的解析の4種類を行いました。

(1) 行動学的診断

行動学的解析は、聴覚、視覚、嗅覚、味覚など感覚器官には異常がないことを確認した上で行いました。うつ症状は、強制水泳試験^{*4}、社会行動学的解析^{*5}、報酬反応^{*6}によって診断しました。その結果、L系統が劣性のうつ形質を示すことがわかりました。統合失調症は、プレパルス抑制実験^{*7}、潜在抑制実験^{*8}によって診断しました。その結果、P系統が優性の統合失調症形質を示すことが明らかとなりました。

この2つの疾患では、ともにまだ明確なモデル動物系が確立されていないなかで、1つの遺伝子の異なった2ヶ所のアミノ酸置換がそれぞれうつ病と統合失調症を起しうるという発見をしたこととなります。

(2) 解剖学的診断

うつ病、統合失調症、双極性障害といった主たる精神疾患罹患群では、脳に萎縮が見られるケースがあります。そこで、L、Pの両系統の脳を、遺伝子型ごとに、核磁気共鳴画像法（Magnetic Resonance Imaging : MRI）を用いて解剖学的解析を行いました。その結果、P系統には13%の脳容積減少が優性形質として現れ、L系統も6%の脳容積減少を優性形質として示すことが認められました。この脳容積の減少は、ともに、統合失調症罹患群で観られることのある脳内の特徴的な萎縮領域と一致していました。とくにこの中で共通してみられている小脳の萎縮は、うつ病と統合失調症を伴う罹患群の所見の一部と一致しています。

(3) 生化学的解析

L、Pの両系統で、DISC1 変異タンパク質や、DISC1 タンパク質に直接結合してシグナル伝達を司っているとされるPDE4 タンパク質の発現量に差がないにもかかわらず、L系統をホモ接合にもつマウスの脳では、PDE4 活性が1/2に減少していました。この所見は、L系統がもつDISC1 タンパク質のアミノ酸置換そのものが、正常なPDE4 タンパク質活性を下げていることを強く示しています。

(4) 薬理的解析

L、Pの両系統に、それぞれ人のうつ病に使用される抗うつ剤と統合失調症に使用される抗精神薬を投与したところ、特徴的な反応^{*9}を示しました。これにより、薬理的な面からもモデルマウスとして有用であることが示されました。また、うつ病も統合失調症も関連する要因によっていくつかのサブグループに分類されており、さらに複合的に両方の疾患症状を示す罹患群もあります。今回、同じ遺伝子上のアミノ酸置換の違いによって異なった症状を示すモデルマウスが確立できたことで、より明確な診断と適切な薬理療法の開発が可能となります。

なお、L系統とP系統のマウスを交配することによって、L/Pというヘテロ接合体の遺伝子型をもつ複合変異体を産出することができます。この複合変異体は、優性効果をもつP変異の表現型である統合失調症を示し、劣性形質であるL変異のうつ症状は示しませんでした。

今回の変異マウス系統の確立は、理研が独自に開発した「理研 ENU ジーンドリブンマウスメタジェネシスシステム」の活用によって可能となったもので、さらに、うつ病や統合失調症といった精神疾患研究の専門家からの提案とその解析システムの活用によって、実際の遺伝子機能解明へとつながりました。分野を越えたそれぞれの専門家の連携によってはじめて可能となった融合的研究です。

3. 今後の期待

うつ病、統合失調症などの精神疾患は、生活習慣病などと同様、多因子疾患とも呼ばれ、環境要因と遺伝要因が複雑に絡み合って発症するとされています。また、遺伝要因にも多数の遺伝子および変異がかかわっていると示唆されています。精神疾患に限らず様々な環境に複雑に対応しているゲノム機能の詳細な解析が、今後待ち望まれており、モデル生物系に大きな期待が寄せられています。今回発見した Disc1 遺伝子

の変異マウス 2 系統は、それぞれうつ病、統合失調症、さらには、その 2 疾患の遺伝的要因と環境要因、投薬治療などの研究開発に大きく寄与することが期待されます。

「理研 ENU ジーンドリブンマウスミュタジェネシスシステム」は、点突然変異をどの遺伝子にも提供できることから、精神疾患に限らずさまざまなヒト疾患の遺伝子機能研究に広く貢献できるものです。また、モデルシステムを提供することにより、ヒト疾患解明や臨床応用面でもさらに利用が広がって行くものと考えています。とくに、欧米加では 2006 年からノックアウトマウスプロジェクトがはじまり、大規模なヒト疾患モデルマウス開発に着手しました。理研のシステムは、ノックアウトマウスを補完するシステムとしても注目されています。2007 年 3 月ベルギー・ブリュッセルにおいて第 1 回国際ノックアウトマウス会議が開催され、理研もメンバーとして、点突然変異マウス開発全般の状況と今後の計画について報告しました。その直後に今回の成果となりました。欧州連合、米国、カナダのプロジェクトがこれから目指している大規模ヒト疾患モデル開発計画を、日本が一步先んじて成功したことになります。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

ゲノム科学総合研究センター

個体遺伝情報研究チーム

プロジェクト副ディレクター

チームリーダー 権藤 洋一

Tel : 045-503-9184 / Fax : 045-503-9190

横浜研究推進部 企画課

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 点突然変異

化学物質などを使って、ゲノム遺伝子上にランダムに誘発される 1 塩基の変異。理研ではアルキル化剤であるエチルニトロソウレア (ENU) を用いているので、ENU マウスミュタジェネシスとも呼ばれる。

※2 理研変異マウスライブラリー

3,000 万の点突然変異をマウス凍結精子として蓄積したリソース。様々なヒト疾患の遺伝的要因やメカニズムを明らかにするゲノム機能研究のために、一般研究者に

も公開されており、さまざまな専門分野の研究者との融合的共同研究を進めて、モデルマウスの開発に利用している。

※3 高速変異発見システム

理研変異マウスライブラリーに蓄積した多数のマウスゲノムサンプルから、解析対象遺伝子上に点突然変異を持つサンプルを、二重鎖 DNA 中の 1 塩基ミスマッチを高精度に検出する方法を使って高速に探索同定する。約 100bp のマウスゲノム配列に平均 1 つの変異を見つけることが可能で、今回の *Disc1* 遺伝子の例のように 1 つの遺伝子に複数の異なった変異を探索できる。

※4 強制水泳試験(Forced Swim Test; FST)

掴まることも這い上がることもできないプールで水泳をさせ、泳ぎ回る時間と脱力したまま浮いた状態（無動状態）にある時間を比較観察する。うつ状態にあると無動時間が長いとされる。2 日に分けておこなう場合には、うつ状態にあるととくに 2 日目の無動時間が長くなる。

※5 社会行動学的解析(Social Interaction)

うつ状態にあるとなるべく知らない人との接触をさけるようになるといわれる。この傾向を測定するには、マウスがふたつのチャンバーを自由に行き来できる状態にしておき、片方にだけ未知マウスを小さなチューブにいれておく。うつ症状を示すマウスは未知マウスがいないチャンバーに長く留まる。また、片方に未知のマウスを、もう片方には以前接触した経験のあるマウスを入れておいた場合には、接触経験のあるマウスがいる方のチャンバーに長く留まる。

※6 報酬反応(Reward Responsiveness)

うつ状態では報酬反応も低減するとされる。水と 10%ショ糖液のどちらも飲める状態にしておき、3~4 日間におけるショ糖液の消費量を野生型マウスと比較することでショ糖という報酬にどれだけ反応するかで比較した。

※7 プレパルス抑制実験(Prepulse Inhibition; PPI)

急な音刺激などでびっくりする音響驚愕反応（acoustic startle response）などが、その刺激を与える直前に驚愕反応を起こさない程度の小さな事前刺激を与えておくと、通常生じるはずの驚愕反応が抑制される現象をいう。統合失調症患者では直前に軽い刺激を与えてもその抑制があまりおこらないといわれる。

※8 潜在抑制実験(Latent Inhibition; LI)

潜在抑制とは、経験的に不必要な刺激を無意識にシャットアウトする現象。統合失調症においては、この潜在抑制がおこりにくくなるといわれる。

※9 特徴的な反応

統合失調症を優性形質として示す P 系統マウスに、抗精神薬ハロペリドールやクロザピンを投与したところ、統合失調症の特徴的な症状である PPI の減少が期待どお

りに緩和された。一方、うつ症状を示すL系統マウスには、PPIの薬効は何ら認められなかった。人を対象とした薬剤が効果を示したことから、P系統がヒト疾患と同等の統合失調症を示すモデル系として有用であることが確認された。抗うつ剤として用いられるブプロピオンおよびロリプラムを野生型マウスに投与すると強制水泳試験において無動時間が減少した。同じく、うつ症状を示すL系統マウスに投与したところ、ブプロピオンは期待通りに無動時間が短縮したものの、ロリプラムは薬効を示さなかった。ロリプラムは、PDE4タンパク質に特異的な阻害剤であるため、すでにPDE4活性が1/2に減じているL系統マウスでは、PDE4阻害剤を投与してもそれ以上阻害できず薬効がなかったと考えられる。したがって、うつ病に効果があるとされるこの2つの薬剤の違いから、L系統がうつ病のモデルマウスとして有効であるばかりでなく、うつ病の複雑なメカニズムを経路ごとに解きほぐしていく新しいモデル解析系となりうることが示唆された。

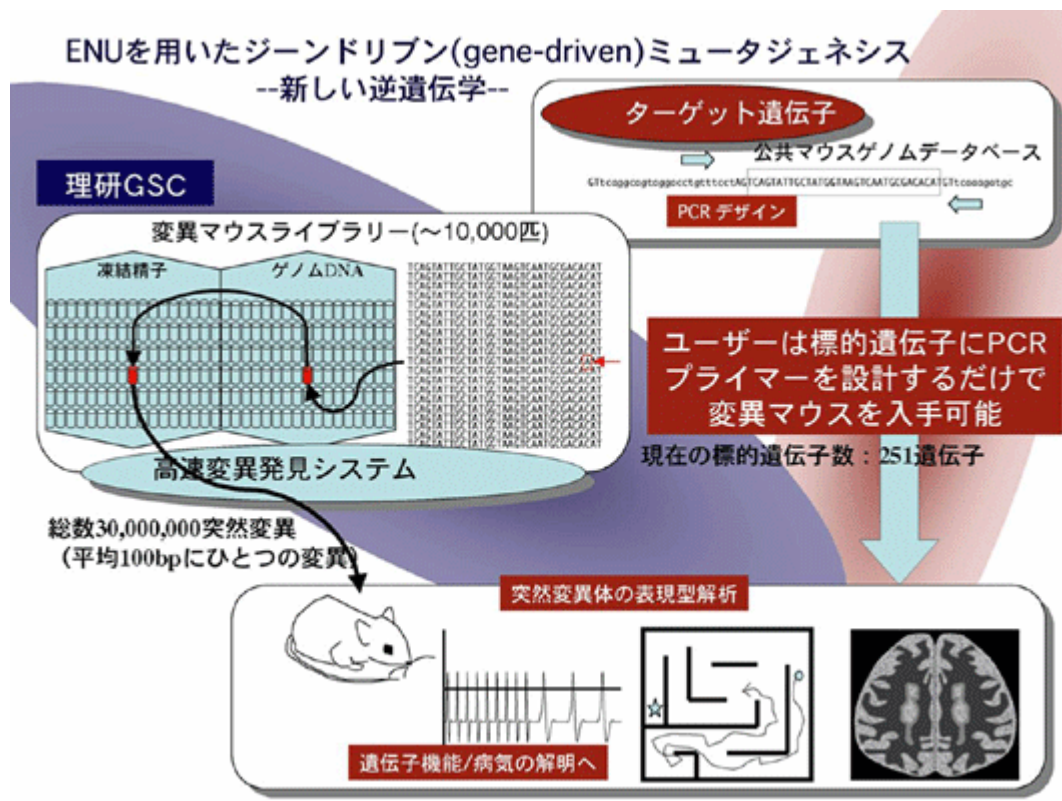


図1 理研 ENU マウスミュータジェネシスシステム

利用希望者が、機能解析を行いたい遺伝子を理研に申し込むだけで、その遺伝子上にアミノ酸置換変異などの点突然変異をもつ変異マウス系統を複数入手できるシステム。遺伝子組換え技術を全く用いない新しいシステムである。利用希望者から依頼のあった遺伝子について、独自に構築した「変異マウスライブラリー」のどのマウスの凍結精子サンプルが変異を持っているかを理研において高速変異発見システムでスクリーンする。利用希望者は、理研が発見した変異のなかから、重要な機能変化をもたらすと思われる変異に着目し、生きたマウス系統としてそれぞれの専門性を活かして、生物学的解析を行うことができる。

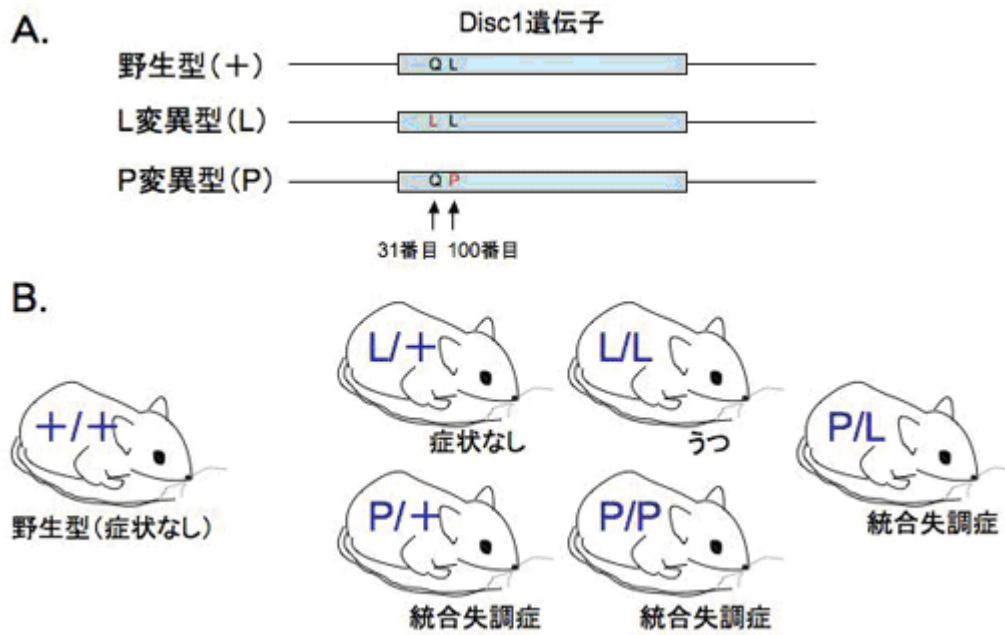


図2 開発した2つのDisc1変異とモデルマウスとしての症状

A. 理研変異マウスライブラリーから、Disc1 遺伝子の 31 番目のアミノ酸がグルタミン (Q) からロイシン (L) に置換した L 変異と 100 番目のアミノ酸がロイシンからプロリンに置換した P 変異の 2 系統を検出確立した。B. 野生型、L 変異、P 変異をもつそれぞれの遺伝子型の症状を解析したところ、マウス実験室環境下において、L 変異は劣性のうつ病モデルとして、また、P 変異は優性の統合失調症モデルとしてヒト疾患モデル系となることが明らかになった。