

- 2551-2565, 2008.
- 6) Sun, X. et al. : *J. Psychiatry Neurosci.*, **31** : 189-196, 2006.
 - 7) Kato, T. et al. : *Can. J. Psychiatry*, **52** : 763-771, 2007.
 - 8) Vawter, M. P. et al. : *Mol. Psychiatry*, **11** : 615, 663-679, 2006.
 - 9) Iwamoto, K. et al. : *Mol. Psychiatry*, **9** : 406-416, 2004.
 - 10) Ryan, M. M. et al. : *Mol. Psychiatry*, **11** : 965-978, 2006.
 - 11) Bezchlibnyk, Y. B. et al. : *Brain Res.*, **1147** : 213-217, 2007.
 - 12) Elashoff, M. et al. : *J. Mol. Neurosci.*, **31** : 221-243, 2007.
 - 13) Kim, S. et al. : *BMC Genomics*, **8** : 413, 2007.
 - 14) Kim, S. and Webster, M. J. : Correlation analysis between genome-wide expression profiles and cytoarchitectural abnormalities in the prefrontal cortex of psychiatric disorders. *Mol. Psychiatry*, 2008, Sep 2. [Epub ahead of print]
 - 15) Choudary, P. V. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102** : 15653-15658, 2005.
 - 16) Sequeira, A. et al. : *Mol. Psychiatry*, **12** : 640-655, 2007.
 - 17) Evans, S. J. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101** : 15506-15511, 2004.
 - 18) Aston, C. et al. : *Mol. Psychiatry*, **10** : 309-322, 2005.
 - 19) Klempan, T. A. et al. : Profiling brain expression of the spermidine/spermine N(1)-acetyltransferase 1 (SAT1) gene in suicide. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, 2009, Jan 16. [Epub ahead of print]
 - 20) Sequeira, A. et al. : *Arch. Gen. Psychiatry*, **63** : 35-48, 2006.
 - 21) Tochigi, M. et al. : *Neurosci. Res.*, **60** : 184-191, 2008.
 - 22) Kang, H. J. et al. : *J. Neurosci.*, **27** : 13329-13340, 2007.
 - 23) Tomita, H. et al. : *Biol. Psychiatry*, **55** : 346-352, 2004.
 - 24) 富田博秋 : 分子精神医学, **6** : 243-250, 2006.
 - 25) Tsuang, M. T. et al. : *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **133B** : 1-5, 2005.
 - 26) Begemann, M. et al. : *Mol. Med.*, **14** : 546-552, 2008.
 - 27) Naydenov, A. V. et al. : *Arch. Gen. Psychiatry*, **64** : 555-564, 2007.
 - 28) Kakiuchi, C. et al. : *Nat. Genet.*, **35** : 171-175, 2003.
 - 29) Kakiuchi, C. et al. : *J. Neurochem.*, **97** : 545-555, 2006.
 - 30) Hayashi, A. et al. : *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **12** : 33-43, 2009.
 - 31) Cichon, S. et al. : *Nat. Genet.*, **36** : 783-784, author reply 784-785, 2004.
 - 32) Chen, W. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **319** : 866-870, 2004.
 - 33) Matigian, N. et al. : *Mol. Psychiatry*, **12** : 815-825, 2007.
 - 34) Washizuka, S. et al. : *Bipolar Disord.*, **7** : 146-152, 2005.
 - 35) McCurdy, R. D. et al. : *Schizophr. Res.*, **82** : 163-173, 2006.
 - 36) Kalman, J. et al. : *Neurochem. Res.*, **30** : 1429-1438, 2005.
 - 37) Ohmori, T. et al. : *J. Med. Invest.*, **52**(Suppl.) : 266-271, 2005.

* * *

気分安定薬奏功機序解明のための包括的遺伝子発現解析

Comprehensive gene expression study for elucidating the mechanism of action of mood stabilizers

富田 博秋*¹ 田中 千晶*² 俞 志前*³ 小松 浩*⁴ 木村 好*⁵ 曾良 一郎*⁶
ヘレンB. キム*⁷ ウィリアム E. バニー*⁸

Key words : 気分安定薬, 双極性障害, 遺伝子発現, マイクロアレイ, リチウム

はじめに

双極性障害は躁状態とうつ状態を呈する疾患で、病状が再燃、再発しやすく、生涯に渡って罹患者や家族の社会生活に大きな影響を及ぼすことが多い。生涯罹患率は顕著な躁状態を呈する双極Ⅰ型障害だけでも全人口の0.8%前後、軽度の躁状態の程度の軽い双極Ⅱ型障害を含めるとその2~3倍にのぼると見積もられる。1949年以降のCade, Stromgren, Schou, Baastrop等の功績によって、リチウムイオンが抗躁作用および再燃予防作用を持つことが確認され、双極性障害の治療薬として普及した¹⁾。一方、1980年代以降、抗てんかん剤のうちバルプロ酸、カルバマゼピンにも同様に抗躁作用および再燃予防作用が確認され、リチウムとあわせて気分安定薬 (Mood Stabilizer) の総称で現在に至るまで、双極性障害治療の中心的な薬剤として広く用いられてきている。その後、新規の抗てんかん剤が開発されるたびに、気分安定薬としての有効性についても臨床治験がなされてきており、なかでもラモトリジンは気分安定薬として有用性が確認され、欧米各国で広く使用されるに至っている。しかし、これまでの気分安定薬は抗躁作用、抗うつ作用の発現に時間がかかり、効

果が不十分であるために、抗精神病薬、抗うつ剤なしに治療を行うことは困難なことが多い。さらに再燃予防作用が不十分であったり、副作用等によるコンプライアンス低下のために、症状の再燃、再発を繰り返し、社会機能の低下を余儀なくされることも多い。より有効な双極性障害治療薬の開発が待たれるが、双極性障害の病態にも、従来の気分安定薬の奏功機序にも不明な点が多く、新規薬剤の開発を困難にしている。

これまでの気分安定薬の奏効機序に関する研究としては米国のKlein等、Jope等がリチウムのGSK3ベータ活性抑制、バルプロ酸のヒストン修飾やリチウムの日内変動に関連/関係する転写因子への関与など重要な研究を行っている²⁻⁴⁾。米国のManji等は動物実験などを通して気分安定薬のBCL2, BAG1, AMPA遺伝子発現への影響や細胞可塑性への役割を提唱するなど活発な研究を行っている⁵⁻⁷⁾。また、イスラエルのAgam, Belmaker等や英国のHarwood等はイノシトールリン酸系の、米国のRapoport等はアラキドン酸カスケードの気分安定薬の奏効機序における重要性を報告している⁸⁻¹⁰⁾。しかし、これまでに気分安定薬の奏効機序への関与が示唆されている分子がどのように奏功機序に関わっているのか、気分安

*¹TOMITA HIROAKI 東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野
*²TANAKA CHIAKI 同 上
*³YU, ZHIQIAN 同 上
*⁴KOMATSU HIROSHI 同 上
*⁵KIMURA KONOMI 同 上
*⁶SORA ICHIRO 同 上
*⁷KIM, HELEN B カリフォルニア大学アーバイン校医学部 精神医学講座
*⁸BUNNEY, WILLIAM E 同 上

定薬の奏効機序に関わるはずの多数の分子群の中でどの程度の重要性を担っているのかは不明で、今後マイクロアレイを始めとする包括的な分子遺伝学的な研究が進むことでより重要で治療法開発に有効な分子が同定されることが期待される。

マイクロアレイ法等を用いた気分安定薬による遺伝子発現変化の検討として、米国のBosetti等、Niculescu等、Scolnick等、カナダのYoung等、オーストラリアのSchofield等のグループが、気分安定薬を投与したラットやマウスの脳組織における発現を解析している¹¹⁻¹⁴⁾が、(1)げっ歯類とヒトでは遺伝子発現の調節機構に大きな違いがある。(2)解析に用いられる組織ブロックは神経細胞、各種グリア細胞の多細胞種からなるため、個体差や組織を切り出す過程で生じるブロックに含まれる細胞種の比率のばらつきが偽陽性を引き起こす。(3)気分安定薬は脳内に多種存在する神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの各々で細胞種特異的な影響を及ぼすことが示唆されているが組織ブロックを用いた研究では細胞種特異的な影響が打ち消されて検出されない、などの問題が残されている。

現在、用いられている複数の気分安定薬のヒト脳の神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおける遺伝子発現調節への影響を包括的に評価して、各薬剤、各細胞種に特異的な現象や、薬剤間、細胞種間に共通の現象を特定することは、気分安定薬の奏功機序を解明する上で有用と考えられる。本研究では、現在広く使用されている気分安定薬であるリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、およびラモトリジンの4剤をヒト脳の神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトに由来する培養細胞に投与し、遺伝子発現プロファイルへの影響をマイクロアレイ解析により検討した。

対象および方法

ヒトの神経細胞由来の培養細胞SK-N-SH細胞、ヒト・アストロサイト由来のU-87 MG細胞は

American Type Culture Collection (ATCC) から購入した。ヒト・オリゴデンドロサイト由来の培養細胞OL細胞はScripps研究所のJuan Carlos De La Torre先生のご厚意により提供を受けた。SK-N-SH細胞およびU-87 MG細胞は10%ウシ胎児血清を添加したEagle's Minimum Essential Medium (EMEM)、OL細胞は10%ウシ胎児血清を添加したDulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) を用いて37℃、5%CO₂濃度のCO₂インキュベータ内で培養した。塩化リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジン¹⁵⁾を各々の治療域濃度(0.75mM, 0.5mM, 50μM, 5μM)で混入した培養液を準備した。この際、カルバマゼピンとラモトリジンは難溶性のため一旦Dimethyl sulfoxide (DMSO) 溶媒に溶解した上で各培養液に添加した。この際、培養液中のDMSOの最終濃度は0.15%であったので、カルバマゼピンとラモトリジン混入溶液の対照として、溶媒であるDMSOを0.15%濃度に混入した培養液を準備した。上記、3種の培養細胞を①塩化リチウム、②バルプロ酸、③カルバマゼピン、④ラモトリジン、⑤DMSO、⑥薬剤非添加の6種類の培養液中で5日間培養を行った。18種(3細胞種×6条件の薬剤投与)の細胞の各々から総RNAをRNeasy Mini Kit (Qiagen社, Valencia) およびRNase-free DNase I (Qiagen社, Valencia) を用いて抽出・精製し、2100 BioAnalyzer (Agilent社, Palo Alto) にてRNAのクオリティーを確認した。500 ngの総RNAからIllumina社が提供するプロトコルに従ってビオチン化したcRNAを合成し、Human-6 V2 microarray (Illumina社, San Diego) に16時間ハイブリダイズした後、非特異的な結合を洗浄除去し、専用のスキャナーで各アレイの信号強度を測定した。各アレイのプローブの信号強度をBeadStudio 3.1ソフトウェアで算出し、各薬剤、各細胞種に特異的に発現変化を示す遺伝子群や、薬剤間、細胞種間に共通に発現変化を示す遺伝子群を特定した。GeneSpring GX version 8.0 (Agilent社, Palo Alto) 等のソフトウェアを用い

て、投与薬剤間や遺伝子間の発現プロファイルの階層クラスター等の検討を行った。また、Expression Analysis Systematic Explorer (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) を用いて、気分安定薬投与により顕著に発現変化を起こす遺伝子カテゴリの検討を行った。

結 果

ヒト神経細胞由来のSK-N-SH細胞にリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンを投与したところ、各々853個、2661個、1669個、2570個の遺伝子が20%以上発現誘導され、1701個、2868個、2822個、3675個の遺伝子が20%以上発現を抑制された。SK-N-SH細胞において各投与薬剤間で共通して発現が誘導（上段）または抑制（下段）される遺伝子の数を図1上に示す。リチウムとバルプロ酸との間に共通して180個の遺伝子が

誘導され、398個の遺伝子が抑制され、カルバマゼピンとラモトリジンとの間に共通して810個の遺伝子が誘導され、1436個の遺伝子が抑制された。これらの薬剤間の共通性は期待値よりも有意に高く、他の薬剤間の組み合わせではこのような高い共通性は認められなかった。4剤に共通して52個の遺伝子が誘導され、174個の遺伝子が抑制された。

ヒト・アストロサイト由来のU-87 MG細胞にリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンを投与したところ、各々1092個、2718個、1659個、2583個の遺伝子が20%以上発現誘導され、1332個、2657個、793個、3216個の遺伝子が20%以上発現を抑制された。U-87 MG細胞において各投与薬剤間で共通して発現が誘導（上段）または抑制（下段）される遺伝子の数を図1左下に示す。リチウムとバルプロ酸との間に共通して366個の

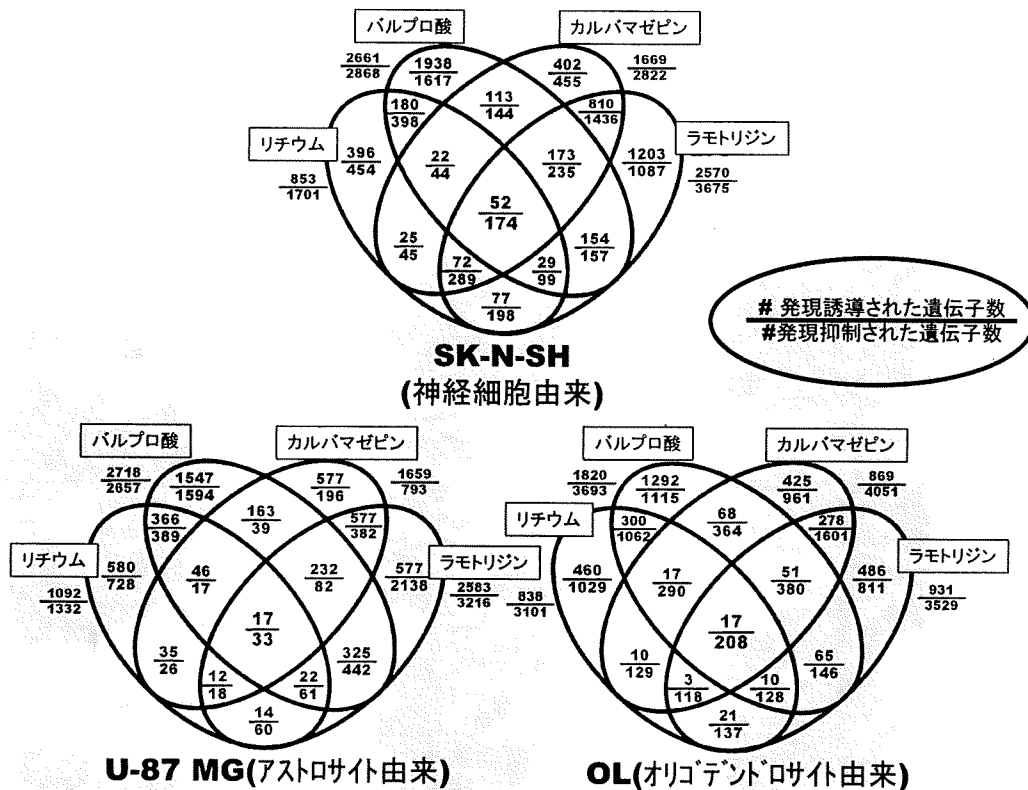


図1 各ヒト脳由来細胞において4剤の気分安定薬により共通に発現が誘導または抑制された遺伝子数

遺伝子が誘導, 389個の遺伝子が抑制され, カルバマゼピンとラモトリジンとの間に共通して577個の遺伝子が誘導され, 382個の遺伝子が抑制された。これらの薬剤間の共通性は期待値よりも有意に高く, 他の薬剤間の組み合わせではこのような高い共通性は認められなかった。4剤に共通して17個の遺伝子が誘導され, 33個の遺伝子が抑制された。

ヒト・オリゴデンドロサイト由来のOL細胞にリチウム, パルプロ酸, カルバマゼピン, ラモトリジンを投与した結果, 各々838個, 1820個, 869個, 931個の遺伝子が20%以上発現誘導され, 3101個, 3693個, 4051個, 3529個の遺伝子が20%以上発現を抑制された。SK-N-SH細胞において各投与薬剤間で共通して発現が誘導 (上段) または

抑制 (下段) される遺伝子の数を図1右下に示す。リチウムとパルプロ酸との間に共通して300個の遺伝子が誘導され, 1062個の遺伝子が抑制され, カルバマゼピンとラモトリジンとの間に共通して278個の遺伝子が誘導され, 1601個の遺伝子が抑制された。これらの薬剤間の共通性は期待値よりも有意に高く, 他の薬剤間の組み合わせではこのような高い共通性は認められなかった。4剤に共通して17個の遺伝子が誘導され, 208個の遺伝子が抑制された。

3種の細胞種に見られるリチウムとパルプロ酸との間の高い共通性とカルバマゼピンとラモトリジンとの間の高い共通性は完全連結法による階層的クラスタリング解析によっても確認された (図2)。図2のクラスタリング解析の結果は各薬剤投与に

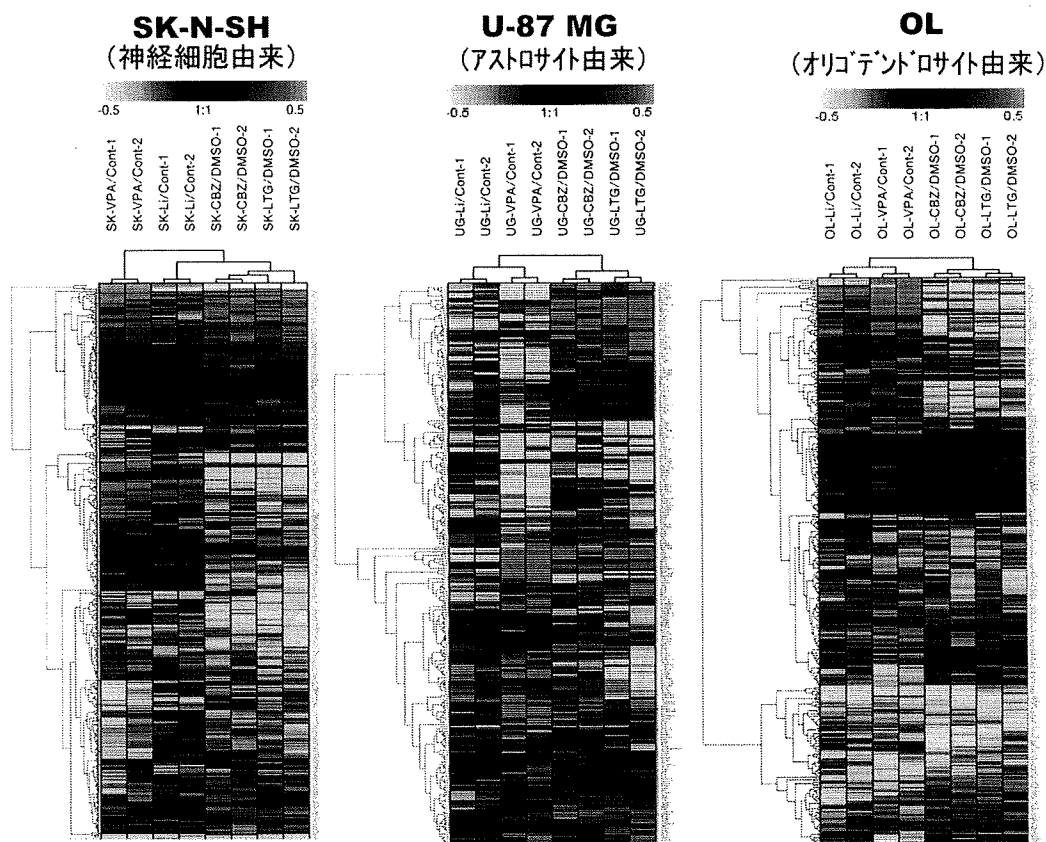


図2 4剤の気分安定薬投与による遺伝子発現変化パターンの完全連結法による階層的クラスタリング解析

つき2回の培養・アレイ実験を行った繰り返し実験間で緊密な類似プロファイルを示し、その次に、リチウム投与によるプロファイル変化とバルプロ酸投与によるプロファイル変化との間と、カルバマゼピン投与によるプロファイル変化とラモトリジン投与によるプロファイル変化との間の類似性が高いことを示している。

一方、各薬剤投与により神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト間に共通して発現が誘導、または抑制される遺伝子数を図3に示す。リチウム投与によってヒトの神経細胞由来のSK-N-SH細胞、ヒト・アストロサイト由来のU-87 MG細胞、ヒト・オリゴデンドロサイト由来のOL細胞に共通して3個の遺伝子が誘導され、41個の遺伝子が抑制された。バルプロ酸投与では3種の細胞種共通に208個の遺伝子が誘導され、301個の遺伝子が抑制された。カルバマゼピン投与によ

うは3種の細胞種共通に7個の遺伝子が誘導され、89個の遺伝子が抑制された。ラモトリジン投与によ

っては3種の細胞種共通に7個の遺伝子が誘導され、89個の遺伝子が抑制された。バルプロ酸は他の気分安定薬に比べて、細胞種間に共通して遺伝子発現に顕著に大きな影響を持っていた。
各気分安定薬投与により発現変化を受ける遺伝子群がどのような機能カテゴリ、細胞分画に属するかをExpression Analysis Systematic Explorer (EASE) で解析した結果を表に示す。ヒトの神経細胞由来SK-N-SH細胞、ヒト・アストロサイト由来U-87 MG細胞、ヒト・オリゴデンドロサイト由来OL細胞の全てにおいて、リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンの4剤に共通して、発現変化を受ける遺伝子群が有意に高頻度に属する遺伝子機能カテゴリ・細胞分画カテゴリにつき、各細胞、各薬剤投与により発現変化する遺伝子数の観測値の発生確率 (EASE値) を示している。表のEASE値の右側に*印を付して

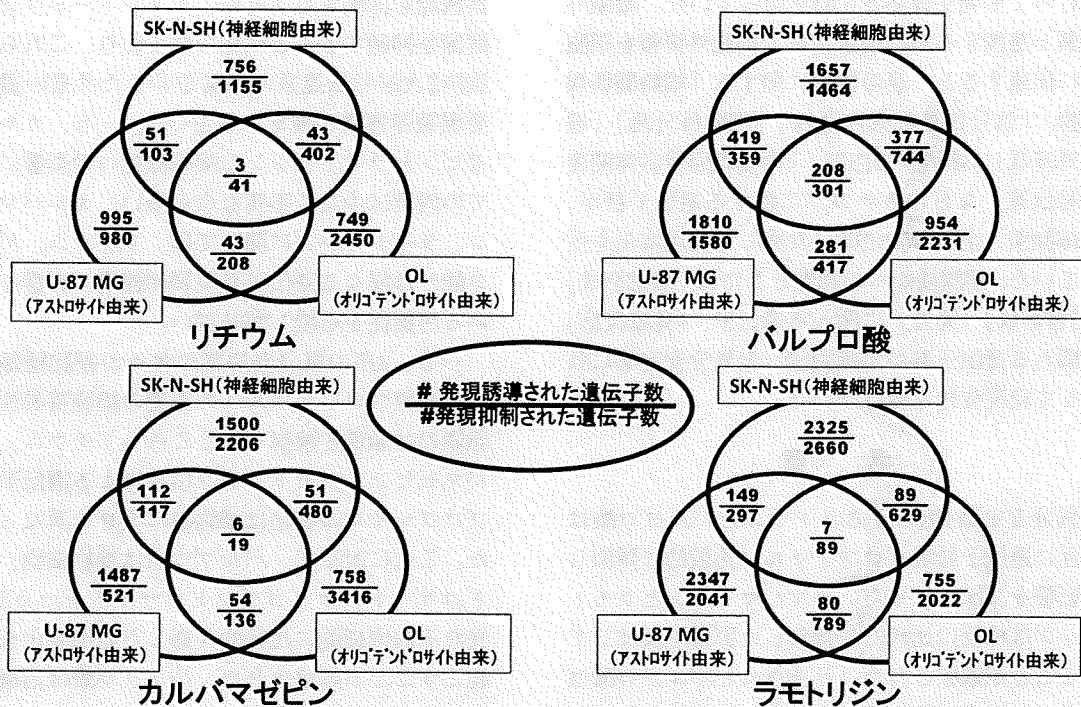


図3 各気分安定薬投与に対してヒト脳由来細胞間で共通に発現が誘導または抑制された遺伝子数

表 気分安定薬4剤に共通して発現変化を受ける遺伝子カテゴリの各細胞, 各薬剤投与により発現変化する遺伝子数の観測値の発生確率

遺伝子カテゴリ	SK-N-SH(神経細胞由来)				U-87 MG(アストロサイト由来)				OL(オリゴデンドロサイト由来)			
	Li	VPA	CBZ	LTG	Li	VPA	CBZ	LTG	Li	VPA	CBZ	LTG
細胞間情報交換	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01 *	<0.05	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *
信号伝達機構の活性	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.001 *	<0.01
細胞外分画	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *
細胞外基質	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *
細胞膜蛋白	<0.001 *	<0.001 *	<0.05	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.01	<0.001 *	<0.05	<0.01	<0.001 *	<0.05
細胞表面受容体関連信号伝達	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.01	<0.05	<0.001 *	<0.01
形体形成	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.05	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.01	<0.01
器官形成	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.05	<0.001 *	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
発達	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *
免疫反応	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.001 *	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01

Li: リチウム, VPA: バルプロ酸, CBZ: カルバマゼピン, LTG: ラモトリジン

いるカテゴリは多重比較のボンフェローニ補正法を行っても発生確率が0.05を切っていた。細胞外基質と連携する細胞膜蛋白質で細胞外情報を細胞内に伝達すると一連の機能に関する「細胞間情報交換」「信号伝達機構の活性」「細胞外分画」「細胞外基質」「細胞膜蛋白質」「細胞表面受容体関連信号伝達」などのカテゴリに属する遺伝子群が、全細胞種、全気分安定薬に共通して発現変化を受けていた。細胞機能への影響としては「形態形成」「器官形成」「発達」に関わる遺伝子、「免疫反応」に関わる遺伝子群が全細胞種、全気分安定薬に共通して発現変化を受けていた。

考 察

気分安定薬4剤のうちリチウムとバルプロ酸は相互に遺伝子発現プロファイルに比較的類似した影響を及ぼし、また、カルバマゼピンとラモトリジンは相互に比較的類似した影響を及ぼしていることが観察された。リチウムとバルプロ酸は従来から脳内細胞に及ぼす影響への解明が試みられてきた。これまでにグリコーゲン合成酵素リ

ン酸化酵素3のリン酸化部位の調節を介して、酵素機能を抑制することや、イノシトールリン酸化酵素を抑制することが知られており、これらの細胞内2次信号伝達系の抑制を介した共通の遺伝子発現調節機構が推定される^{2,3,8)}。一方、カルバマゼピンとラモトリジンの細胞機能への影響についての研究は少なく不明な点が多い。カルバマゼピン、ラモトリジンに関しては、リチウム、バルプロ酸とは異なる遺伝子発現調節機構に影響をしている可能性を示唆し興味深い。

一方、4剤の気分安定薬の各々の細胞種毎の遺伝子発現プロファイルへの影響の細胞特異性と細胞間の共通性を検討したところ、リチウム、カルバマゼピン、ラモトリジン投与による遺伝子発現プロファイルの変化は細胞毎に大きく異なっていた。これに対して、バルプロ酸は神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトという3種の異なる脳内細胞に比較的共通した発現変化を引き起こすことが観察された。バルプロ酸は治療域濃度で中枢神経系組織においてのみならず、心血管系組織や骨組織においてもヒストン脱アセチル化

酵素を抑制する効果があり、このエピジェネティックな調節機構を介した遺伝子発現調節は、妊娠中にバルプロ酸を服用した際に高頻度に認められる先天奇形に関連することが想定されている¹⁵⁾。バルプロ酸が細胞種間で比較的共通の遺伝子発現変化を引き起こすことはむしろ催奇形性に関連する現象である可能性があり、気分安定薬の奏功機序に関わる遺伝子発現変化はリチウム、カルバマゼピン、ラモトリジン投与による影響として観察されたように細胞種特異的なものと推測される。

4種気分安定剤投与により共通に遺伝子発現変化を受ける遺伝子群が属するカテゴリには細胞外基質と連携する細胞膜蛋白質で細胞外情報を細胞内に伝達する機能に関するものと、形態・器官の形成、発達に関するものが多く、気分安定薬が細胞外から細胞内に伝わる情報伝達系に関わる遺伝子群の発現調節を調節することで、脳内細胞の構造・機能のフォーメーションを変化させることが、気分安定薬の奏功機序に関わる可能性を示している。また、免疫反応に関わる遺伝子群も全細

胞種、全気分安定薬に共通して発現変化を受けていた。従来の研究から気分安定薬はモノサイト系細胞やミクログリアに影響し、サイトカイン放出能を調節することが知られ、免疫系を介した奏功機序が示唆されているが、今回の研究で神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおいても免疫反応に関連する遺伝子発現が大きく変化を受けることは興味深い。

今後、本研究により観察された複数の気分安定薬に共通してみられる神経細胞や各種グリア細胞に特異的に起きる発現変化を受ける遺伝子群の機能を解析し、また、発現変化を引き起こす機序を解明することで、気分安定薬の奏功機序が明らかになり、これらの分子機構を標的とするより合理的な薬剤開発が可能になることが期待される。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究費の助成を頂きました財団法人臨床薬理研究振興財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Schou M. The early European lithium studies. *Aust NZ J Psychiatry* 1999; **33** Suppl: S39-47.
- 2) Jope RS. Lithium and GSK-3: one inhibitor, two inhibitory actions, multiple outcomes. *Trends Pharmacol Sci* 2003; **24**: 441-443.
- 3) Klein PS, Melton DA. A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; **93**: 8455-8459.
- 4) Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, Guenther MG, Lazar MA, Klein PS. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem* 2001; **276**: 36734-36741.
- 5) Chen G, Zeng WZ, Yuan PX, Huang LD, Jiang YM, Zhao ZH, Manji HK. The mood-stabilizing agents lithium and valproate robustly increase the levels of the neuroprotective protein bcl-2 in the CNS. *J Neurochem* 1999; **72**: 879-882.
- 6) Manji HK, Moore GJ, Chen G. Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanisms of action of mood stabilizers. *Br J Psychiatry Suppl* 2001; **41**: s107-119.
- 7) Zarate CA, Jr., Singh J, Manji HK. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2006; **59**: 1006-1020.
- 8) Agam G, Livne A. Inositol-1-phosphatase of human erythrocytes is inhibited by therapeutic lithium concentrations. *Psychiatry Res* 1989; **27**: 217-224.
- 9) Harwood AJ. Lithium and bipolar mood disorder: the inositol-depletion hypothesis revisited. *Mol Psychiatry* 2005; **10**: 117-126.
- 10) Rapoport SI, Bosetti F. Do lithium and anticonvulsants target the brain arachidonic acid cascade in bipolar disorder? *Arch Gen Psychiatry* 2002; **59**: 592-596.
- 11) Bosetti F, Seemann R, Bell JM, Zahorchak R, Friedman E, Rapoport SI, Manickam P. Analysis of gene expression with cDNA microarrays in rat brain after 7 and 42 days of oral lithium administration. *Brain Res Bull* 2002; **57**: 205-209.
- 12) Niculescu AB, 3rd, Kelsoe JR. Convergent functional genomics: application to bipolar disorder. *Ann Med* 2001; **33**: 263-271.
- 13) Chetcuti A, Adams LJ, Mitchell PB, Schofield PR. Microarray gene expression profiling of mouse brain mRNA in a model of lithium treatment. *Psychiatr Genet* 2008; **18**: 64-72.
- 14) Wang JF, Bown CD, Chen B, Young LT. Identification of mood stabilizer-regulated genes by differential-display PCR. *Int J Neuropsychopharmacol* 2001; **4**: 65-74.
- 15) Gurvich N, Berman MG, Wittner BS, Gentleman RC, Klein PS, Green JB. Association of valproate-induced teratogenesis with histone deacetylase inhibition in vivo. *FASEB J* 2005; **19**: 1166-1168.

III. 肥満症の疫学・病態・診断学の進歩

症候性肥満—病因, 病態, 管理法—
遺伝性肥満

Bardet-Biedl 症候群

Molecular mechanisms of obesity and Bardet-Biedl syndrome

富田博秋

Key words : Bardet-Biedl 症候群, 肥満, 一次繊毛, BBSome, レプチン

はじめに

Bardet-Biedl 症候群 (Bardet-Biedl syndrome: BBS) は肥満・耐糖能障害のほか高血圧, 網膜変性, 認知・学習の障害などの年齢とともに進行する病態と, 多指, 腎奇形, 心奇形, 性腺機能低下などの先天奇形を特徴とする常染色体劣性または二遺伝子性の遺伝性疾患で, これまでに 14 の責任遺伝子が特定されている。有病率は欧米で 15 万人に 1 人前後 (中近東ではより高頻度) と推定され, 比較的まれな疾患である。一般に希少な遺伝性疾患の病因・病態の解明が肥満・糖尿病・高血圧など, 多くの人に関係のある健康要因の成因を解明する有用な足がかりになることがあるが, BBS の分子遺伝学的成因の解明の試みも一般的肥満の成因解明とも関連しながら着実に成果を上げてきている好例の一つといえる。

本稿では BBS にみられる肥満の特徴, 本症候群の責任遺伝子の本症候群および一般的肥満の病因・病態にかかわる分子遺伝学的メカニズムに関してのこれまでに集積されている知見について概説する。

1. Bardet-Biedl 症候群の分子遺伝学的病態

a. Bardet-Biedl 症候群の責任遺伝子の同定と繊毛疾患としての認識の確立

BBS は常染色体劣性遺伝または二遺伝子性の遺伝形式で家族性にみられる先天奇形 (多指, 腎奇形, 心奇形, 性腺機能不全) と, 生後進行する肥満, 網膜変性, 精神発達遅滞を特徴とするが, 奇形, 症状の表出の程度は症例ごとに大きく異なる。連鎖解析などにより少なくとも 14 の責任遺伝子がポジショナルクローニングやその相同遺伝子の解析から同定され¹⁾, *BBS1* 遺伝子から *BBS14* 遺伝子まで命名がなされている。これらの遺伝子は微小管 (microtubule) が形成され細胞内の各領域に向けて伸長する元になっている中心体 (centrosome) や繊毛 (cilium) の土台となる基底小体 (basal body) の構成タンパク質をコードしており, 繊毛の機能や細胞内や繊毛の微小管に沿ったタンパク質や小胞の輸送に重要な役割を有し, BBS は遺伝性繊毛疾患として認識されるに至った。近年, *BBS1*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS5*, *BBS7*, *BBS8* と *BBS9* の 7 つの遺伝子から翻訳される BBS タンパク質は安定した複合体を形成することがわかり, BBSome

Hiroaki Tomita: Department of Biological Psychiatry, Graduate School of Medicine, Tohoku University 東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野

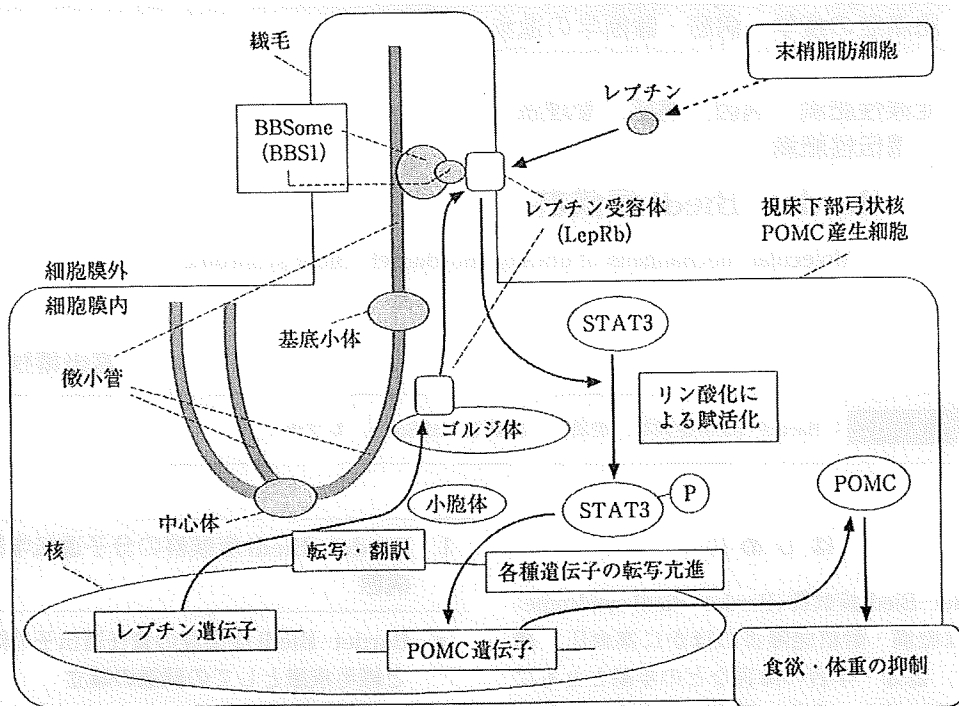


図1 視床下部弓状核 POMC 産生細胞における BBSome 複合体とレプチン信号伝達

視床下部弓状核 POMC (proopiomelanocortin) 産生細胞において Bardet-Biedl 症候群 (BBS) 責任遺伝子から翻訳される BBS タンパク質の複合体である BBSome はその構成タンパクの一つである BBS1 がレプチン受容体 LepRb と結合してゴルジ体から細胞表面、繊毛まで輸送を行う。末梢脂肪細胞から分泌されるレプチンは受容体を刺激することで STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) をリン酸化して賦活化し、POMC の転写、産生を活性化することで食欲を抑制する。BBS 遺伝子の変異はレプチン受容体などのタンパク質の細胞表面への輸送の障害とそれに伴うレプチン信号伝達などの障害を引き起こすことで肥満など BBS の症状を発現させる。

と命名された。BBSome は繊毛へのタンパク質や小胞の輸送を調整すると推定される (図 1)²⁾。

b. 一次繊毛と食欲・体重の調節

繊毛とは細胞体から突き出した尾のような構造物で、一方向に高速の波動運動を行う運動性繊毛 (motile cilium) とアンテナ様の感覚小器官として働く非運動性繊毛 (non-motile cilium)、別名一次繊毛 (primary cilium) とに分けられる。運動性繊毛は外周を囲む 9 本の微小管と中央を通る 2 本の微小管からなりモータータンパク質であるダイニン (dynein) を有するのに対し、一次繊毛は外周 9 本の微小管を有するが中央 2 本の微小管とダイニンを欠いている³⁾。脊椎動物では神経細胞を含むほとんどの細胞が一次繊毛

を有することが知られているがその機能には不明の点が多い^{4,5)}。一次繊毛の基底部から先端部との双方向的なタンパク質輸送をつかさどる *Ift88* (intraflagellar transport 88, 別名 *Tg737*) 遺伝子や、*Kif3a* (kinesin family member 3A) 遺伝子を欠失させた遺伝子改変マウスは、胎生期のうちに嚢胞腎病変を伴い死亡するが、成獣に達した後でこの 2 つの遺伝子を欠失させると全身の細胞から一次繊毛が消失した状態で生存するため、一次繊毛を欠くことが生体に及ぼす影響を評価できる。一次繊毛を欠いたマウスでは嚢胞腎のほかにも摂食量の亢進、肥満が認められることから、一次繊毛は全身の細胞の中でも腎臓の尿管の水の流れのセンサーとして働いているほ

か、食欲・体重の調節に重要な働きを有することが示唆された。更に食欲・体重の調節を行う視床下部弓状核(arcuate nucleus)のプロオピオメラノコルチン(proopiomelanocortin: POMC)産生神経細胞において、同様の方法で特異的に一次繊毛を消失させたマウスにおいても同様に、摂食亢進、肥満を呈し、POMC産生細胞における一次繊毛が食欲・体重調節に重要な役割を有することが示された⁶⁾。BBSのほかにもAlström症候群などの肥満を呈する疾患の責任遺伝子も繊毛に発現することも繊毛は摂食・体重の調節に関連することを示唆している⁷⁾。

c. Bardet-Biedl 症候群責任遺伝子と食欲・体重の制御機構

前項で取り上げたとおりポジショナルクローニングの成果によりBBSは遺伝性繊毛疾患として認識されるに至り、一次繊毛の障害が肥満を引き起こすことがわかったが、更に近年、BBSタンパク質が視床下部のレプチン(leptin)受容体信号伝達を介して食欲・体重の調節に重要な役割をもつことがわかってきた^{8,9)}。2008年、BBS2遺伝子、BBS4遺伝子、BBS6遺伝子を完全に欠失する遺伝子改変マウスは肥満となり、肥満は摂食量の亢進、活動量の減少、血中レプチン濃度の上昇に伴うことが報告された。レプチンは末梢の脂肪細胞(adipocyte)から分泌されるホルモンで、体内を循環して視床下部の弓状核に発現するレプチン受容体に作用することで、脳に末梢の脂肪貯蔵の状態を知らせる働きをもつ⁹⁾。レプチンは弓状核のPOMC産生神経細胞のレプチン受容体を賦活化し、細胞内信号伝達下流の転写因子STAT3(signal transducer and activator of transcription 3)をリン酸化して活性化するなど、POMC産生細胞の活動を促進することで食欲を抑制に導く。レプチンは神経ペプチドY(neuropeptide Y: NPY)産生神経細胞にも作用するが、NPY産生細胞においてはNPY産生や細胞活動を抑制する方向に働く^{10,11)}。POMC産生細胞におけるレプチン受容体を選択的に欠失させたマウスは、摂食が亢進し肥満することが報告されている¹²⁾。また、BBSタンパク質を産生

しない遺伝子改変マウスでは、視床下部のNPY発現には変化がないのに対してPOMC産生が顕著に減少していることから、BBSタンパク質はPOMC産生細胞におけるレプチン信号伝達の方に重要な働きをもっていることが示唆された⁹⁾(図1)。

一般にレプチンは体脂肪量の増加に比例して分泌されて血中濃度が上昇し、摂食量や体重を減少させる負のフィードバック効果をもたらす。肥満の結果として血中レプチン値が持続性に高値となることによりレプチンに反応して食欲の抑制や体重減少が起こらなくなる現象が知られており、レプチン抵抗性(leptin resistance)と呼ばれる。先述のBBSタンパク質を完全に欠失した遺伝子改変マウスにも血中レプチン高値とレプチン抵抗性が認められたが、これらが単に肥満による2次的な現象であるのかどうかを検討するために、BBS遺伝子欠失マウスにカロリー制限を行うことで体重を正常レベルに抑える研究が行われた。カロリー制限により正常体重を示すBBS遺伝子欠失マウスは正常の血中レプチン濃度を示すことから、BBS遺伝子欠失マウスの高レプチン血症は肥満に対して2次的に起こったものと考えられた。一方、興味深い発見として、カロリー制限を行い正常の体重を示すBBS遺伝子欠失マウスにレプチン投与を行っても、BBSタンパク質を発現する野生型マウスに対するレプチン投与でみられる摂食量や体重の減少が起こらず、このことはBBS遺伝子欠失マウスのレプチン耐性は肥満に対する2次的なものではなく、レプチン耐性こそがBBS遺伝子欠失マウスの肥満の原因であることが示された。更に、カロリー制限したBBS遺伝子欠失マウスでは、通常レプチン投与により視床下部のレプチン受容体活性化により細胞内で賦活されるSTAT3の活性も減少していることから、BBS遺伝子欠失マウスのレプチン耐性はレプチン受容体による細胞内へのシグナル伝達が障害されていることに起因することが示された⁸⁾。

更にタンパク質や小胞の輸送にかかわることが想定されるBBSome複合体を構成するBBSタンパク質のうち、BBS1タンパク質のみが6種

のレプチン受容体のうち唯一細胞内へのシグナル伝達ドメインを有する LepRb (leptin receptor, isoform b) タンパク質の細胞内ドメインに結合することが示された。本症の遺伝子変異として最も高頻度に見られる *BBS1* 遺伝子の M390R 変異 (390 番目のアミノ酸残基がメチオニンからアルギニンに置換するミスセンス変異) は *BBS1* タンパク質の LepRb タンパク質への結合を大きく減弱させる。*BBS1* タンパク質は LepRb のほかにも Rabin8 (rab8-specific guanine nucleotide exchange factor) などのタンパク質にも結合することが知られ²⁾、BBSome 複合体により輸送されるタンパク質と結合するサブユニットの役割を果たしていると考えられる。また、BBSome 複合体のうち少なくとも *BBS1* もしくは *BBS2* のタンパク質発現が消失すると、細胞内で構成された LepRb タンパク質のゴルジ体から細胞膜および繊毛への輸送が障害されることも確認された⁹⁾。以上のことから、*BBS* 遺伝子の変異により、レプチン受容体が合成された後ゴルジ体から微小管に沿って細胞表面、繊毛に輸送される機構が障害され、視床下部 POMC 産生細胞においてレプチン受容体による STAT3 などの細胞内シグナル伝達が低下することで POMC 産生や細胞機能が低下することにより、本症の肥満が引き起こされていると考えられる (図 1)。

2. 一般的肥満への関与

一般的肥満 (common obesity) は多くの遺伝子と環境の相互作用によって起こるもので、一般的肥満の成因にかかわる遺伝子の探索が行われてきている。*BBS* 遺伝子は前項のとおり、繊毛機能やレプチン受容体をはじめとするタンパク質輸送への役割から一般的肥満の成因にも何らかの関係をしている可能性が想定されるが、*BBS* 遺伝子が一般的肥満に関与することを示唆する *BBS* 家系を対象とした興味深い研究が行われた。*BBS* 遺伝子変異を両アレルともにホモ接合に有することで *BBS* を発症する罹患者では発

達早期から肥満を認めることは前述のとおりである。*BBS* 遺伝子変異を片アレルにのみヘテロ接合に有する家族構成員は、*BBS* 罹患者に特徴的にみられる先天奇形や多岐にわたる臨床症状を示さずキャリアとなるが、これらの *BBS* 遺伝子変異アレルをヘテロ接合にもつキャリアの家族構成員は、*BBS* 遺伝子変異アレルを全くもたない家族構成員よりも肥満を呈することが報告されている¹⁰⁾。

BBS 遺伝子の多型が一般的肥満の成因に関与しているかどうかを検討するための相関研究が幾つか行われている^{11,12)}。2006 年の Benzinou らのフランス系白人を対象とした相関研究によれば、*BBS1* 遺伝子の多型は肥満との相関を示さなかったが、*BBS4* 遺伝子と *BBS6* 遺伝子の多型は小児肥満、成人肥満ともに有意な相関を示した。*BBS2* 遺伝子は小児肥満とは相関を示さなかったが成人肥満と有意な相関を示した¹¹⁾。一方、2005 年の Andersen らのデンマーク系白人を対象とした、*BBS6* 多型と一般的肥満との相関研究では、*BBS6* 多型が一般的肥満の主要な成因となっている根拠は見いだせなかった¹²⁾。*BBS* 遺伝子群の一般的肥満への関与に関しては、今後、更に対象を広げた相関研究などにより検討していく必要があると考えられる。

おわりに—Bardet-Biedl 症候群と肥満の病態解明の展望—

今後、各 *BBS* 遺伝子機能の更なる解明が進み、各 *BBS* タンパク質間の相互作用や他の繊毛の構造・機能や微小管輸送機能にかかわるタンパク質との相互作用が解明されることで、*BBS* にみられる肥満などの症状の発現機序の解明が進むものと思われる。また、*BBS* 遺伝子群の分子遺伝学的機序の解明や *BBS* 遺伝子群多型と一般的肥満との相関研究などが進むことで、体重調節における繊毛機能の役割や一般的肥満への *BBS* 遺伝子群の関与の実態や機序の解明が進むことが期待される。

III

■ 文 献

- 1) Leitch CC, et al: Hypomorphic mutations in syndromic encephalocele genes are associated with Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet* 40: 443-448, 2008.
- 2) Nachury MV, et al: A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell* 129: 1201-1213, 2007.
- 3) Eggenschwiler JT, Anderson KV: Cilia and developmental signaling. *Annu Rev Cell Dev Biol* 23: 345-373, 2007.
- 4) Veland IR, et al: Primary cilia and signaling pathways in mammalian development, health and disease. *Nephron Physiol* 111: 39-53, 2009.
- 5) Satir P: Cilia biology: stop overeating now! *Curr Biol* 17: R963-965, 2007.
- 6) Davenport JR, et al: Disruption of intraflagellar transport in adult mice leads to obesity and slow-onset cystic kidney disease. *Curr Biol* 17: 1586-1594, 2007.
- 7) Hearn T, et al: Subcellular localization of ALMS1 supports involvement of centrosome and basal body dysfunction in the pathogenesis of obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes. *Diabetes* 54: 1581-1587, 2005.
- 8) Seo S, et al: Requirement of Bardet-Biedl syndrome proteins for leptin receptor signaling. *Hum Mol Genet* 18: 1323-1331, 2009.
- 9) Rahmouni K, et al: Leptin resistance contributes to obesity and hypertension in mouse models of Bardet-Biedl syndrome. *J Clin Invest* 118: 1458-1467, 2008.
- 10) Morton GJ, et al: Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443: 289-295, 2006.
- 11) Coll AP, et al: The hormonal control of food intake. *Cell* 129: 251-262, 2007.
- 12) Balthasar N, et al: Leptin receptor signaling in POMC neurons is required for normal body weight homeostasis. *Neuron* 42: 983-991, 2004.
- 13) Croft JB, et al: Obesity in heterozygous carriers of the gene for the Bardet-Biedl syndrome. *Am J Med Genet* 55: 12-15, 1995.
- 14) Benzinou M, et al: Bardet-Biedl syndrome gene variants are associated with both childhood and adult common obesity in French Caucasians. *Diabetes* 55: 2876-2882, 2006.
- 15) Andersen KL, et al: Variation of the McKusick-Kaufman gene and studies of relationships with common forms of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 225-230, 2005.

231 卷 10 号(2009 年 12 月 5 日) 精神医学 UPDATE-最新研究動向
第 1 土曜特集 008770

欧文タイトル: Advance in Postmortem Brain Studies for Elucidating Molecular Pathophysiology of Psychiatric Disorders

欧文著者名: HIROAKI TOMITA

和文所属名: 東北大学大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野

タイトル: 死後脳研究の現在と今後

著書名: 富田 博秋

キーワード: 死後脳、ブレインバンク、

著者氏名: 富田 博秋

所属: 〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1

東北大学 大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野

TEL: 022-717-7808

FAX: 022-717-7809

E-MAIL: htomita@mail.tains.tohoku.ac.jp

[サマリー]

統合失調症や気分障害などの内因性精神疾患の成因を解明する上で、臨床・画像・生理機能研究による精神活動や脳機能の解析、末梢血液ゲノム DNA から得られる情報とともに、脳の組織・細胞で特異的に分子レベル～細胞・組織レベルでおこる疾患病態を解明するためには死後脳研究の推進が必須である。近年の死後脳研究により各精神疾患の病態との関連が示唆される神経細胞やグリア細胞の密度や形態の変化についての知見が集積され、また、これらの変化の基盤となる遺伝子転写物やタンパク発現の変化が捉えられている。また、更にこれらの遺伝子発現変化を引き起こしている機序としてエピジェネティクス現象の解析もなされている。しかし、死後脳研究には今後解決されるべき課題は多く、精神疾患の死後脳研究はようやく端緒についたところといえる。特に本邦において遅れている精神疾患ブレインバンクの整備を進めることは重要な課題である。

[精神医学における死後脳研究の意義]

アルツハイマー型認知症や神経変性疾患などの顕著かつ特異的な神経病理学変化を来す器質性脳疾患は20世紀初頭からの神経病理学的研究手法の発展に伴って病態の解明が行われた。更に、客観的に評価し得る臨床症状を示す単一遺伝性家系を対象とする分子遺伝学的研究によって疾患の責任遺伝子の同定や分子遺伝学的病態の解明が飛躍的に進んでいる。これらの疾患は“脳疾患”という社会的コンセンサスが確立しており、長年に渡って病理解剖、病理診断や死後脳組織を対象とする研究が活発に行われ、研究のための死後脳集積の体制は国内外ともに整備されている。一方、統合失調症や気分障害などの内因性精神疾患を含むいわゆる機能性脳疾患は器質性疾患に比べて顕著な神経病理学的変化に乏しいことから、古典的神経病理学的手法により特異的な病態変化を捉えることはできなかった。このため、特に日本では病理解剖や死後脳を対象とする研究は限定的なもので、精神疾患が“脳疾患”であるという社会的コンセンサスにも乏しく、死後脳を対象として精神疾患の分子遺伝学的研究を進めるに必要な死後脳組織を集積する制度は不十分なものがある。

近年、欧米では精神疾患の脳内の病態を解明するべく精神疾患罹患者や健常者の死後脳組織を集積するブレインバンク制度の整備が進んできており、死後脳を対照として組織・細胞レベル、あるいは分子レベルでの解析により、病態に関連すると考えられる知見が集積されてきている。組織、細胞レベルの形態的な変化を捉えることは病態解明の基本であるが、さらに近年、精神疾患罹患者と対照者の死後脳組織の転写物発現を全ゲノムレベルで網羅的に解析するマイクロアレイや転写制御のメカニズムの一つであるエピジェネティックな現象を解析する分子遺伝学的研究手法は、病態への新しい理解をもたらしてきている。

近年画像研究により精神疾患の脳の構造・機能の異常が検出されてきている一方で、血液などから抽出したジェノミックDNA (gDNA) を対象とする相関研究などにより、脳内で何らかの疾患特異的な役割を果たしている可能性のある候補遺伝子が特定されてきている。遺伝子はgDNAの塩基配列情報が一旦メッセンジャーRNA (mRNA) に転写され、その転写物(すなわちmRNA)が蛋白に翻訳され、翻訳後修飾を受け、他の分子と相互作用することで細胞・組織の機能・形態を形作り、生体内でさまざまな生理機能を発現するもので、死後脳研究は臨床・画像・生理研究や遺伝子相関研究から得られる情報の間をつなぎ、死後脳研究によってしか得られない脳の組織・細胞特異的な分子レベル～細胞・組織の形態レベルの疾患病態を解明する上で必須なアプローチである(図1)。

本稿では、主要な内因性疾患である統合失調症、双極性障害、大うつ病性障害について、組織・細胞の形態レベル、転写・タンパク質発現・シグナリングのレベル、エピジェネティックスのレベルでこれまでに集積されてきた知見を概説し、今後の課題について検討を行う。

[死後脳研究で分かってきたこと]

1. 統合失調症

A. 組織・細胞の形態レベル

統合失調症の臨床・画像・生理研究などにより、脳容積の減少や認知機能障害と認知機能課題施行時の脳血流賦活の障害などが示唆されてきているが、組織・細胞の形態レベルでどのような変化が起きているのであろうか。統合失調症の死後脳研究により、脳内各領域において神経細胞やグリア細胞の密度や形態の変化を示唆する報告がなされて来ている。特に背外側前頭前野背外側部の GABA 神経細胞の減少は複数の研究グループにより確認されており、統合失調症に見られる認知機能障害の少なくとも原因の一部となっていると考えられる¹⁾。GABA 神経細胞は形態や発現するタンパク（パルブアルブミン、カルレチニン、ソマトスタチン、コレストキニンなど）によっていくつかのサブタイプに分けられるが、このうち統合失調症の病態に関連して障害されていると考えているのは、パルブアルブミン、ソマトスタチン、コレストキニンを発現する GABA 細胞であり、カルレチニン発現細胞の変化は少ないようである¹⁾。この他、情動や社会行動の制御に重要な扁桃核外側基底部からの投射を受ける帯状回第 II 層における錐体細胞や GABA 神経細胞の減少、海馬 CA2/CA3 領域の GABA 神経細胞の障害を示す報告がなされている²⁾。また、神経細胞の形態上も、神経網(neuropil: ニューロン突起とグリアが混み合った網状組織)の減少、樹状突起の長さや樹状突起棘 Dendritic Spine の減少などが報告されている³⁾。

統合失調症死後脳においては神経細胞とともにグリア細胞の変化も報告されている。アストロサイト、ミクログリアの異常を指摘する報告もなされているが⁴⁾、近年、統合失調症のオリゴデンドロサイトおよびミエリンの障害に注目が集まったのは死後脳のマイクロアレイ研究の大きな成果のひとつといえるであろう。多くのデータが共通してオリゴデンドロサイト特異的な遺伝子発現の現象を一致して報告したことに並行して、近年、改めてオリゴデンドロサイトの形態の研究がなされている。これまでに統合失調症罹患者の前頭前野や帯状回でオリゴデンドロサイトの密度の低下が報告され、また、電子顕微鏡によりオリゴデンドロサイトのミトコンドリアの形態変化やミエリンの障害が観察されている⁵⁾。

また、統合失調症罹患者の一群では前頭葉皮質や帯状回皮質の白質層に異所性の神経細胞が多く分布することが知られ、発生過程の神経細胞の遊走の障害、もしくは、異所性細胞に本来おこるはずのアポトーシスの障害と考えられている。これらの異所性細胞所見は統合失調症の脳内神経細胞や回路の発達への障害を示唆し、また、異所性細胞自体も皮質や視床と回路を形成していることが知られており、病態との関連で興味深い⁶⁾。

B. 転写物・タンパク質・シグナリングのレベル

統合失調症の臨床症状そのもの、あるいはその基盤となると考えられる上記の神経細胞、グリア細胞の密度や形態の変化を説明するメカニズムとして、ミトコンドリア機能障害や酸化ストレス亢進^{7) 8)}、炎症・免疫系システムの機能変化⁹⁾、神経栄養因子シグナリング

など中枢神経発達に関わるシステムの機能低下⁹⁾、アポトーシス関連のシステム⁹⁾、シナプス形成・維持に関わるシステム^{7,10)}、グルタミン酸、GABA 神経伝達に関わるシステム^{1,11)} やオリゴデンドロサイト¹²⁾ の形成、維持の障害が想定されるが、これらに関わる遺伝子やタンパクの発現変化は、マイクロアレイ解析による網羅的遺伝子発現解析や定量 PCR や免疫組織化学などを用いての個別の分子を標的にした解析で明らかになってきている。

例えば、統合失調症にみられる神経細胞密度の減少には酸化ストレス亢進による細胞死がそのメカニズムとして想定されているが、統合失調症の死後脳では抗酸化酵素であるグルタチオンが減少しているという報告や、酸化ストレス亢進による脂質過酸化産物 4-hydroxynonenal (HNE) の増加が認められる⁸⁾。

統合失調症死後脳組織において GABA 神経細胞やオリゴデンドロサイトに特異的な遺伝子発現が低下しているのは前述の通りであるが、GABA 細胞に発現する脳由来神経栄養因子 BDNF の受容体である trkB ニューロトロフィンの受容体の発現が低下していることが報告され、GABA 神経細胞の減少を引き起こしている原因のひとつとして示唆されている¹⁾。統合失調症の前頭葉で顕著に変化がみられる GABA 神経細胞や神経細胞周囲のオリゴデンドロサイトの数と有意に相関して死後脳組織の前頭葉で発現量を示す遺伝子をマイクロアレイでスクリーニングする試みもなされ、分泌小胞に関わる遺伝子、中枢神経発達、アポトーシスに関わる遺伝子が検出されている¹³⁾。

C. エピジェネティクスのレベル

前節のような遺伝子発現変化に関わるプライマリーな変化を捉える試みの一つとして遺伝子発現の調節機構であるゲノム DNA のメチル化とヒストンの修飾などのエピジェネティックな現象が上記の遺伝子発現に影響していることを想定した死後脳研究も行われてきており、今後、益々活発に行われると思われる。DNA メチル化に関しては、これまでに、Reelin 遺伝子、COMT 遺伝子、SOX10 遺伝子など限られた数の遺伝子の転写調節領域の DNA メチル化の状態が解析されているが、少なくとも Reelin と COMT についてなされた複数の研究で結果は一致しておらず、このような研究は端緒についたところといえる。統合失調症死後脳の DNA メチル化の状態を全ゲノムレベルで解析した研究では、全般にメチル化の変化は少なく全か無かというような大きな変化は期待できないようである。最も大きな変化を示していた WDR18 遺伝子の領域で健常者 25% に対し罹患者 17% という程度の変化であった。これは脳の細胞種の多様性によるもので病態に関連する細胞の割合が少ない可能性を示唆する¹⁴⁾。

ヒストン修飾に関しては、統合失調症の前頭前野から抽出したクロマチンをまとめて解析したところ、4 種のコアとなるヒストンタンパク質のうちヒストン H3 タンパク質の 17 番目のアルギニン残基のメチル化が顕著に現象していたという報告がなされている。また、ヒストン H3 の 4 番目のリジン残基の 3 重メチル化はその領域に局在する遺伝子の発現を促進するが、女性統合失調症罹患者の前頭前野では先述の GABA 合成酵素 GAD67 の発現

が減少すると相関して、GAD67 領域のヒストン H3 の 4 番目のリジン残基の 3 重メチル化も減少していることが観察されている¹⁴⁾。

2. 双極性障害

A. 組織・細胞レベル

双極性障害では情動や認知を司る神経回路を構成している脳領域の神経細胞とグリア細胞の脱落と萎縮が認められることから、これらの形態変化が疾患病態の基盤となっているものが想定される。背外側前頭前野においては、第 III 層と第 V 層のグルタミン酸作動性錐体細胞の細胞密度の減少、第 V 層と第 VI 層における神経細胞の大きさの減少が報告されている。前頭葉ではグリア細胞の密度の減少とそれとともにグリア細胞の核の大きさが増加していることが観察され、また、この傾向は遺伝負因の大きい症例に顕著である。双極性障害の前頭葉では GFAP 陽性のアストロサイトのみならず、オリゴデンドロサイトの数の減少も観察されている。帯状回においては第 III～VI 層における神経細胞密度の減少と第 V 層における神経細胞の大きさの増加、帯状回の第 II 層における非錐体細胞の密度の減少と大きさの増加、また、帯状回の GABA 作動性介在神経細胞のサブタイプの解析から、カルビンディン陽性細胞とパルブアルブミン陽性細胞が減少していることが報告されている。海馬 CA1 領域の錐体細胞の大きさの減少などが報告されている。扁桃体のうち外側扁桃核などで神経細胞の大きさの減少が認められている¹⁵⁾。

B. 転写物・タンパク質発現レベル

気分障害の病態に神経の可塑性の障害が関与している証拠が蓄積されてきている。樹状突起やシナプス終末に豊富で、酸素消費、活性酸素種の産生、酸化ストレスなどに関係するミトコンドリアの機能障害の関与も示唆されてきている。マイクロアレイ解析によりミトコンドリア電子伝達系複合体をコードする遺伝子発現変化や一酸化窒素活性の増加、Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)、脂質過酸化産物 4-hydroxynonenal (HNE) の増加、すなわち酸化ストレス亢進などが認められる¹⁶⁾。

双極性障害でも統合失調症と同様にミエリンを形成するオリゴデンドロサイトに関連する遺伝子発現の低下が観察されている¹⁷⁾。また、双極性障害ではミトコンドリア機能¹⁸⁻²¹⁾、受容体・チャネル^{22, 23)}、ストレス・免疫反応^{22, 23)}、シャペロン機能²²⁾、ユビキチン系²³⁾、糖代謝^{24, 25)}に関連する遺伝子発現変化や、ドコサヘキサエン酸、アラキドン酸の低下など脂質代謝の障害も報告されている。これまでのところ双極性障害の死後脳研究はスタンレー脳バンクが世界の研究施設に供給している死後脳を対象とした研究が多いが、スタンレー脳バンクの脳に基づく 12 の双極性障害死後脳マイクロアレイ研究の生データを統合したメタ解析が行われ、酸化的リン酸化、ユビキチン-プロテアソームシステム、メッセンジャー RNA スプライシング、細胞内タンパク輸送、熱ショックタンパク質、主要組織適合遺伝子複合体クラス II 受容体活性、メタロチオネインなどの遺伝子カテゴリが最

も大きく発現調節を受けていることが報告された²⁶⁾。

C. エピジェネティクスレベル

双極性障害の病態へのエピジェネティックな機序は遺伝研究や治療薬であるバルプロ酸が HDAC 抑制効果を持つことなどから推測され、双極性障害罹患者の死後脳におけるエピジェネティック研究は COMT 遺伝子の転写調節領域のメチル化の状態についての研究が報告されているなど限られた研究しかなされておらず、今後の課題として残されている²⁷⁾。

3. 大うつ病障害

A. 組織・細胞レベル

大うつ病性障害において神経細胞は帯状回膝上領域と背外側前頭前野では大きさの減少、眼窩前頭野では密度と大きさの減少、海馬では密度の増加と大きさの減少の報告がある。GABA 作動性神経に関しては背外側前頭前野、眼窩前頭野、上側頭回、海馬における密度の増加を認める報告がなされている。GABA 神経のサブクラスでみるとカルビンディン陽性の GABA 作動性神経細胞が背外側前頭前野を含む前頭前野、眼窩前頭野で密度、大きさともに減少している。グリア細胞は帯状回、背外側前頭前野、眼窩前頭野、扁桃核で密度の減少、海馬で密度の増加が報告されている。オリゴデンドロサイトの密度は他の内因性精神疾患と同様、背外側前頭前野で減少しているという報告がある^{28, 29)}。

B. 転写物・タンパク質発現レベル

大うつ病性障害死後脳を対象としたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現研究はスタンレー財団の他、カリフォルニア大学アーバイン校、エール大学、コロンビア大学、カナダのマギル大学等の複数の脳バンクで集積された死後脳を対象として行われている。これまでに GABA 神経伝達^{30, 31)}、グルタミン酸神経伝達³⁰⁾、繊維芽細胞成長因子システム³²⁾、ミエリン関連遺伝子の減少³³⁾、ポリアミン代謝^{34, 35)}、細胞増殖^{13, 32, 36)}、細胞代謝^{13, 31)}、ストレス反応³⁷⁾、転写^{31, 37)}に関する遺伝子群が大うつ病性障害、または、大うつ病性障害に伴う自殺の影響により発現変化を受ける遺伝子群として報告されている。大うつ病性障害の病態特異的な発現変化として報告される遺伝子群が双極性障害以上に論文毎に異なる傾向にあるのは、本質的に大うつ病性障害の成因の異質性が高いと考えられること、実質的に準拠する脳バンクの数が多いことなども要因として考えられ、今後、各地検の妥当性や各システム相互間の影響についてなどの検討を行う必要がある。

C. エピジェネティクスレベル

大うつ病性障害は統合失調症や双極性障害に比べてより環境因子の占める割合が高く、動物実験によりストレスへの脆弱性や抗うつ剤の奏功機序へのエピジェネティックな機序の関与が示されており²⁷⁾、大うつ病性障害罹患者の死後脳にも何らかのエピジェネティックな変化があると予想されるが、今までの所、解析はなされておらず今後取り組む