

特別寄稿

松大Topics:

神経特異的遺伝子ノックアウトマウスを用いて
精神疾患発症機構を解明する

松山大学薬学部 生理化学研究室 小林三和子, 松岡一郎

背景 これまでに我々のグループでは、神経細胞の分化に対する興味から、培養交感神経の分化時に発現が誘導される遺伝子ファミリー、BRINP (BMP/Retinoic Acid-Inducible Neural Specific Protein)- 1, 2, 3を見出し、その機能を研究してきた。BRINP1 欠損マウスはヒト精神疾患の症状に類似した行動異常を示すと共に、前頭前野において特定の GABA 作動性ニューロン数が減少していることから、興奮性ニューロンへの抑制的な調節の減弱が脳の高次機能に障害を与えて行動異常の発現をもたらしたと考えられた。これらを基に本稿では、遺伝子欠損マウスを用いて精神疾患発症のメカニズムを理解することの有用性について紹介する。

BRINP の神経細胞特異的な発現

ラット上頸神経節の交感神経ニューロンを骨形成因子 (BMP-2) やレチノイン酸で処理をすると、細胞生存における神経栄養因子依存性が NGF 依存性から交感神経の初期分化に対応した NT3 依存性に変化することを見出した。そこで、このような神経細胞の初期分化に対応して発現が誘導される遺伝子を探索することを目的として、ディファレンシャルディスプレイ法を適用したところ、BRINP1 遺伝子を見出すとともに、BRINP1 に相同性を持つ遺伝子、BRINP2 と BRINP3 を同定した¹⁾。BRINP のアミノ酸配列から、MAC/Perfoin (MACPF) ドメイン以外には既知のタンパク質と相同性を示さないこと、脊椎動物間で配列が高く保存されていることが明らかとなった。

マウスにおける BRINP-mRNA の発現は、中枢および末梢神経系の広範な領域において、神経細胞特異的に胎生期より見られた (図 1)¹⁾。成体脳において、BRINP1 が海馬・大脳皮質を含む広範な領域に発現するのに対し、BRINP2 と BRINP3 の発現は限局しており、かつ互いに相補的である傾向が明らかになった。海馬歯状回顆粒細胞における BRINP1 の発現は神経活動依存的に一過性に上昇した²⁾。また、*in vitro* において神経幹細胞から神経細胞への分化時にいずれの BRINP も一過性に発現が上昇するが、BRINP を神経幹細胞に強制発現させても神経細胞への分化は起こらなかった³⁾。

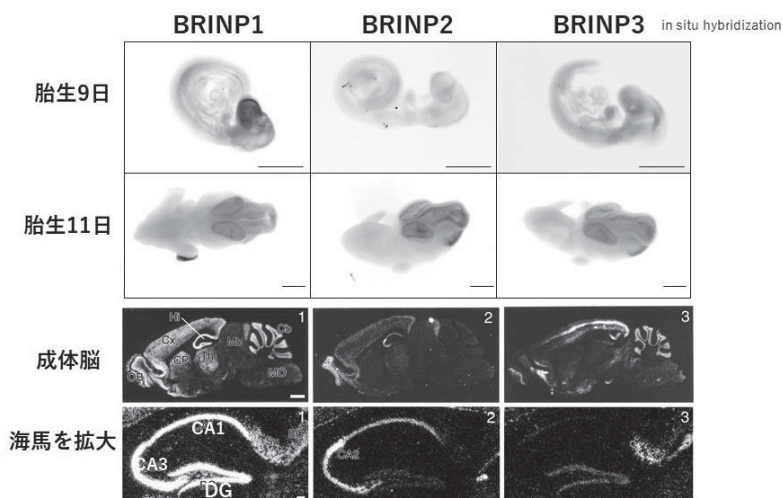


図 1 胎生マウスおよび成体マウス脳における BRINP-mRNA の神経特異的な発現

BRINP による細胞周期抑制能

BRINP は、非神経細胞¹⁾ および神経幹細胞³⁾ に強制発現させると、細胞周期を DNA 複製期への移行 (G1 → S 期) において抑制した。さらに、BRINP1 欠損マウスの海馬歯状回顆粒細胞下層で神経新生の亢進がみられた(図 2A)⁴⁾。これらのことから、生体内でも BRINP は、神経細胞の細胞周期進行を抑制していると考えられる。

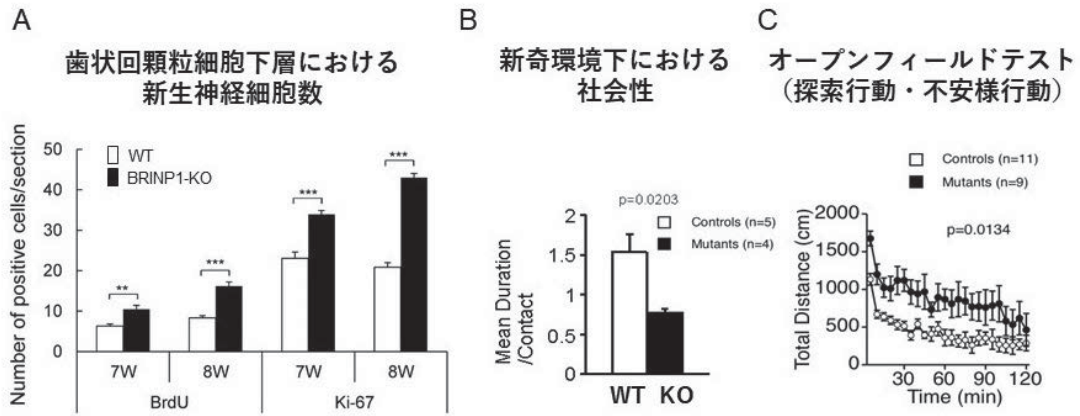


図2 BRINP1 欠損マウスの海馬における神経新生の亢進 (A) と行動解析 (B,C)

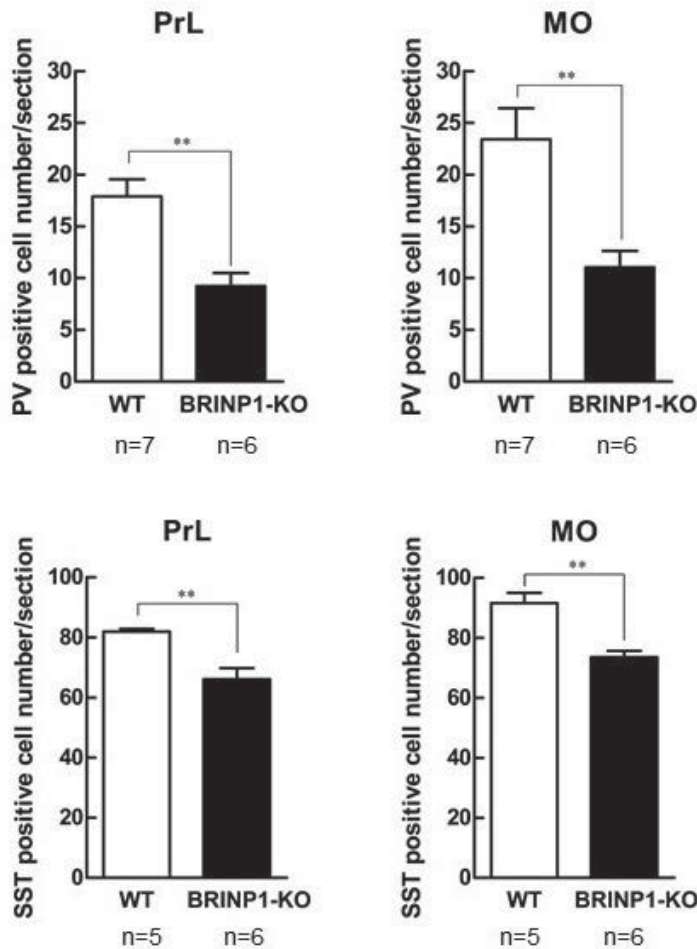


図3 BRINP1 欠損マウス前頭前野における GABA ニューロン数の減少

行動異常をもたらす抑制性神経細胞の分化と興奮性神経細胞の調節

BRINP1 欠損マウスは、多動性や社会性低下など、ヒト精神疾患（統合失調症・ADHD・ASD）の症状と類似した行動異常を示した（図 2B, C）⁴⁾。また、社会行動形成に関与することが知られる前頭前野において、統合失調症患者と同様なパルプアルブミン (PV) 陽性またはソマトスタチン (SST) 陽性の抑制性 GABA ニューロン数の減少が見られた（図 3）⁵⁾。これらの結果から、BRINP1 は大脳皮質における特定の抑制性ニューロンの形成・維持に関与する可能性が示唆された。すなわち、BRINP1 の欠損は、海馬や前頭前野における高次機能に障害を与え、ヒト精神疾患様の行動異常の発現をもたらしたと考えられる。

考察と展望 これまで、精神疾患の発症機構を解明するために国内外で数多くの遺伝子欠損・変異マウスが作製され、解析が行われてきた。ゲノムワイド研究により、統合失調症に関連する遺伝子は 100 以上存在し、その中にはシナプス機能に関わるものが多く含まれることが明らかとなった。シナプス特異的タンパク質以外の遺伝子を欠損させたマウスについても、BRINP1 欠損マウスと同様な行動異常を示すことが報告されている。BRINP1 と同様にこれらタンパク質の欠損や変異が、神経細胞の活動の中でシナプス機能の障害という点に収束する可能性が考えられる。また、前頭前野における PV ニューロン数の減少は、統合失調症および自閉スペクトラム症患者に共通して見られ、統合失調症患者ではさらに SST ニューロン数の減少も観察されている。大脳皮質の興奮性錐体ニューロンを調節する GABA ニューロンのうち、PV ニューロンは錐体ニューロン同士の同期を、SST ニューロンは錐体ニューロンへの神経入力を調節している。統合失調症の陰性症状と自閉スペクトラム症の症状には類似点が見られることから、PV ニューロン数、SST ニューロン数の減少がそれぞれどのような症状の発現に関与するかを明らかにする手掛かりとなるかもしれない。今後の課題として、BRINP タンパク質の神経細胞における機能の解明があげられる。BRINP タンパク質は小胞体に局在すること、相互作用するタンパク質の機能から小胞輸送に関与している可能性を考え研究を行っている。また精神疾患の発症機構を理解するには、モデル動物の発達段階を追った解析も必要である。精神疾患の発症には、遺伝子変異により脆弱性を持った個体が環境からのストレスを受け、神経細胞レベルまたは神経回路レベルでの興奮と抑制のバランスが乱れることが引き金となると考えられるが、有効な治療法を見出すにはさらに多くの知見の集積が必要である。欠損マウスが示す組織や細胞機能の生物学的変化である「生物学的中間表現型」から発症機構を解明し、従来の薬理学的対症療法の有効性を再検討することが望まれる。

参考文献

- 1) Kawano, H., Nakatani, T., Mori, T., Ueno, S., Fukaya, M., Abe, A., Kobayashi, M., Toda, F., Watanabe, M., & Matsuoka, I., Identification and Characterization of Novel Developmentally Regulated Neural-Specific Proteins, BRINP (BMP/RA-Inducible Neural-Specific Protein) Family. *Molecular Brain Research* 125, 60-75 (2004)
- 2) Motomiya, M., Kobayashi, M., Iwasaki, N., Minami, A., Matsuoka, I., Activity-dependent regulation of BRINP family genes. *BBRC* 352, 623-629 (2007)
- 3) Terashima, M., Kobayashi, M., Motomiya, M., Inoue, N., Yoshida, T., Okano, H., Iwasaki, N., Minami, A., Matsuoka, I., Analysis of the Expression and Function of BRINP Family Genes During Neuronal Differentiation in Mouse Embryonic Stem Cell-Derived Neural Stem Cells. *Journal of neuroscience research* 88 (7), 1387-1393 (2012)
- 4) Kobayashi, M., Nakatani, T., Koda, T., Matsumoto, K.-I., Ozaki, R., Mochida, N., Takao, K., Miyakawa, T., Matsuoka, I., Absence of BRINP1 in mice causes increase of hippocampal neurogenesis and behavioral alterations relevant to human psychiatric disorders. *Molecular Brain (BioMed Central)* 7:12 (2014)
- 5) Kobayashi, M., Hayashi, Y., Fujimoto, Y., Matsuoka, I., Decreased Parvalbumin and Somatostatin neurons in medial prefrontal cortex in BRINP1-KO mice. *Neuroscience Letters* 683, 82-88 (2017)