

特集 1 神経発達障害による精神疾患の発症・病態に関わる因子

4. 神経発達障害統合失調症様モデル動物における
キヌレニン代謝の関与毛利 彰宏^{1,4)}, 新島 萌¹⁾, 國澤 和生¹⁾, 齋藤 邦明^{2,4)}, 鍋島 俊隆^{3,4)}

抄録: 統合失調症は幻覚や妄想, 意欲の低下, 認知障害などを主訴とする精神疾患である。多くの患者では抗精神病薬に対する治療抵抗性を有することから新しい作用機序をもつ予防・治療薬の開発が急務となっている。統合失調症の発症・病態仮説には, 炎症による神経発達障害仮説やグルタミン酸仮説などが提唱されている。キヌレニン代謝経路は炎症により活性化され, その代謝産物には神経毒性, およびグルタミン酸神経機能に影響を与えるものがある。本稿では, 母親が妊娠中にインフルエンザに感染すると胎児に統合失調症に対する発症脆弱性が形成されるという疫学仮説に基づき, 作成したウイルス RNA 様の作用を示す合成二本鎖 RNA ポリイノシン-ポリシチジン (poly I:C) を胎生期に曝露させた統合失調症様モデル動物についての概説とこのモデル動物におけるキヌレニン代謝経路の関与について紹介する。

日本生物学的精神医学会誌 32 (3) : 129-134, 2021

Key words : schizophrenia, animal model, neurodevelopmental hypothesis, polyriboinosinic-polyribocytidilic acid, kynurenine metabolism, autism

はじめに

精神疾患は普遍性の高い疾患であり, 厚生労働省が医療計画に記載すべきと指定した 5 大疾病の一つである。その中でも, 統合失調症は主に思春期以降に発症する慢性・進行性の精神疾患であり, 陽性症状(幻覚や妄想), 陰性症状(社会性や意欲の低下), および認知機能障害(注意力の低下や作業記憶の障害)を主訴とする。約 3 割の患者が治療抵抗性であり⁶⁾, 新たな治療戦略を考えるためには, 適切な病態モデル動物を用いた病態時の神経機能の解明や

新規治療薬の有効性の評価を行うための基礎研究が重要と考えられる。

1. 統合失調症モデル動物

集積されてきた臨床知見に基づいて, 統合失調症モデル動物が作製されている¹⁸⁾。ヒトゲノムの全塩基配列の解読から始まり, 全ゲノム関連解析(genome-wide association study : GWAS), 一塩基多型による連鎖解析およびコピー数変異(copy number variations : CNV), 次世代シーケンサー

Involvement of kynurenine metabolism in the schizophrenia-like animal model with neurodevelopmental impairment

1) 藤田医科大学大学院保健学研究科 レギュラトリーサイエンス (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98) Akihiro Mouri, Moe Nijima, Kazuo Kunisawa : Department of Regulatory Science for Evaluation & Development of Pharmaceuticals & Devices, Fujita Health University Graduate School of Health Science. 1-98, Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan

2) 藤田医科大学大学院保健学研究科 病態制御解析学 (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98) Kuniaki Saito : Department of Disease Control and Prevention, Fujita Health University Graduate School of Health Science. 1-98, Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan

3) 藤田医科大学大学院保健学研究科 先進診断システム探索研究部門 (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98) Toshitaka Nabeshima : Advanced Diagnostic System Research Laboratory, Fujita Health University Graduate School of Health Science. 1-98, Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan

4) 特定非営利活動法人 医薬品適正使用推進機構 (J-DO) (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98) Akihiro Mouri, Kuniaki Saito, Toshitaka Nabeshima : Japanese Drug Organization of Appropriate Use and Research. 1-98, Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan

【毛利 彰宏 E-mail : mouri@fujita-hu.ac.jp】

などの研究の進展とともに、統合失調症に関連した多くの候補遺伝子が見いだされている¹⁰⁾。例えば、スコットランドの精神疾患多発家系で神経発達期において神経突起の伸長やその細胞移動なども重要な役割を担う Disrupted-in-schizophrenia-1 (DISC1) の C 末端が第 1 染色体と第 11 染色体の相互転座により、欠失していることが見いだされた¹⁶⁾。また、22q11.21 が欠失すると先天性心疾患などさまざまな症状とともに統合失調症や自閉症スペクトラム障害などを主とした精神疾患が頻発する²¹⁾、GWAS による CNV 解析においても 22q11.21 の欠失による非常に高い罹患率が確認されている¹³⁾。これら遺伝子変異を再現したマウスを作製し、行動学および神経化学的な解析をした結果から、これら遺伝子変異の統合失調症の病態への関与が明らかにされている^{18, 25)}。また N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体に対して拮抗作用を示すフェンサイクリジン (phencyclidine : PCP) の乱用者でみられる精神症状は統合失調症の症状に酷似することから、統合失調症の病態にグルタミン酸作動性神経系の機能低下が関与しているという「グルタミン酸仮説」が提唱されている¹⁴⁾。また、クロルプロマジンなどの第一世代抗精神病薬はドパミン D₂ 受容体拮抗作用を有すること、メタンフェタミンなどの覚せい剤乱用者の精神症状は統合失調症の陽性症状に類似することから、陽性症状の病態に中脳辺縁系ドパミン作動性神経系の機能亢進が関与しているという「ドパミン仮説」が提唱されている²⁴⁾。これら仮説に基づき、PCP やメタンフェタミンを投与することで統合失調症モデル動物が作製されている^{18, 19)}。また、統合失調症患者において海馬の体積減少、側脳室の拡大が認められるが、死後脳においてグリオシスが認められないこと、ほとんどが思春期以降に発症することから、「神経発達障害仮説」が提唱されている。実際に疫学調査において、胎生中期における母親のインフルエンザウイルス感染は出生後の児の統合失調症を中心とする精神疾患の発症リスクを上昇させることが報告されている⁴⁾。ウイルスなどの病原体を非自己として認識・排除する免疫機構は、自然免疫と獲得免疫に大きく分類される。自然免疫は生体に元来備わっている仕組みであり、パターン認識受容体を介して病原体共通の分子構造を認識することにより、マクロファージ、樹状細胞および好中球などの免疫細胞が侵入してきた病原体およびそれに感染した細胞を認識・貪食する¹⁵⁾。toll-like receptor (TLR) はパターン認識受容体の一つであり、さまざまな病原体の特徴的な構造を認識して自然免

疫応答を誘導する⁷⁾。ウイルス由来 RNA の認識に関与するのは TLR3, TLR7, および TLR8 である。ウイルス RNA を模倣した合成二本鎖 RNA アナログであるポリイノシン-ポリシチジン (polyinosinic: polycytidylic acid : poly I : C) は TLR3 を介してウイルス感染様の免疫反応を引き起こす。胎生期に poly I : C を曝露されると成熟期以降に統合失調症様の行動変容を示すことから、「神経発達障害仮説」の統合失調症モデル動物として作製されている¹⁸⁾。

2. 胎生期 poly I : C 曝露マウスの神経発達障害統合失調症モデルマウスとしての妥当性

統合失調症モデル動物は、モデルとしての科学的妥当性を検証するため、統合失調症の主訴である陽性症状、陰性症状、認知機能障害に類似した表現型 (phenotype) が認められるかどうかの行動学的評価が行われる¹⁹⁾。患者の陽性症状である幻覚・妄想は中枢刺激薬の摂取により憎悪することが知られていることから、統合失調症モデル動物への中枢刺激薬の投与による運動量増加の亢進は陽性症状の中間表現型として用いられている。胎生期 poly I : C 曝露により NMDA 受容体拮抗薬であるジゾシルピン (dizocilpine : MK-801) や覚せい剤の急性投与による成熟マウスの運動量増加の亢進が認められる¹⁸⁾。また、患者の陰性症状の一つに他人への関心の消失や自閉などの社会性の低下が認められる。実験動物において社会性行動試験による社会性低下は対人不安の中間表現型として用いられている。また、統合失調症モデル動物で認められる社会性低下に対する抗精神病薬の効果は患者の陰性症状に対するそれと類似しているため、社会性低下は陰性症状の中間表現型として用いられている。胎生期 poly I : C 曝露により、成熟マウスの社会性行動時間の短縮が認められる¹⁸⁾。患者の認知機能障害として、作業記憶障害や注意力の低下とともに、過去の記憶と比較して照合する比較照合能力の低下が認められる。新奇物体認知試験は訓練試行の物体が新奇物体に置換されたことを見分けることができるかどうか視覚的認知記憶を評価するものであり、多くの統合失調症モデル動物およびそれを用いた抗精神病薬の評価に用いられている。正常マウスでみられる新奇物体に対する嗜好性が胎生期 poly I : C 曝露により低下し、視覚的物体認知記憶が障害される。ほかに胎生期 poly I : C 曝露により成熟マウスのプレパルス・インヒビション (prepulse inhibition : PPI) 試験での情

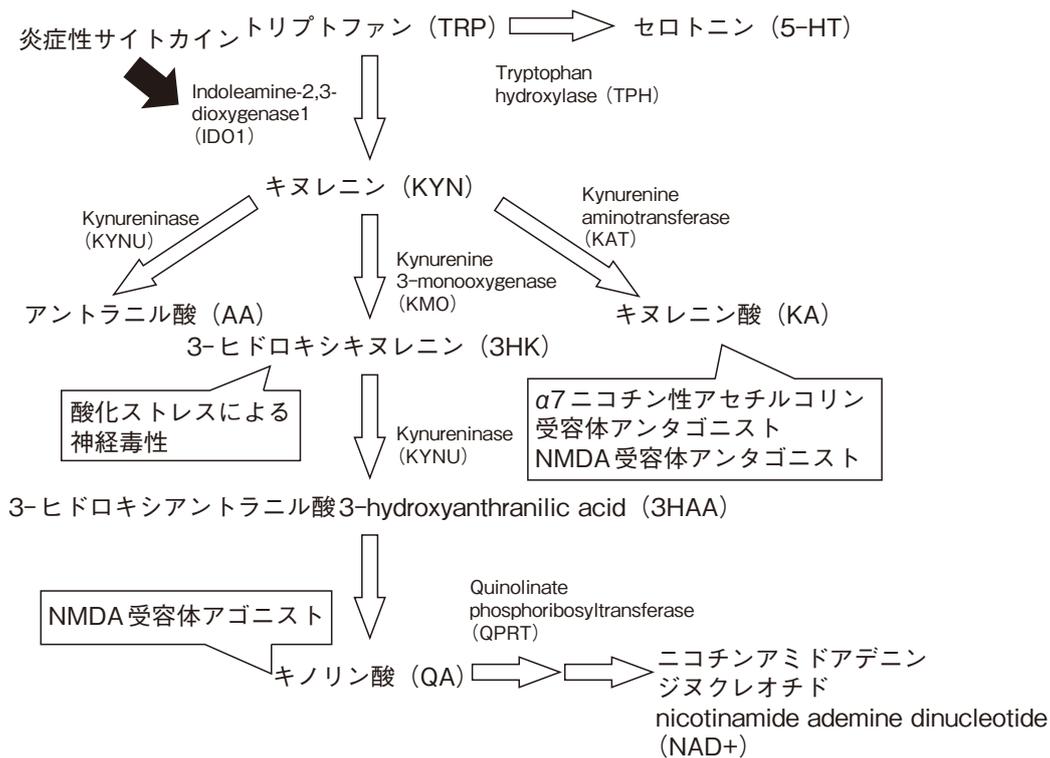


図1 キヌレニン代謝経路

報処理障害, レイテント・インヒビション試験での注意力の低下, モリス水迷路試験での作業記憶障害などの認知障害の中間表現型となる行動変容が認められる¹³⁾。

大脳皮質は形態や機能が異なる神経細胞群により区分され, 6層構造が形成されている¹⁷⁾。この大脳皮質層構造の解剖学のおよび機能的異常が統合失調症患者において報告されている¹¹⁾。胎生期は大脳皮質の層構造形成に重要な時期であり, 神経前駆細胞から神経細胞が産生され, 脳室側から脳表面側へ放射状に移動し, 早期に産生された神経細胞は深い層に, 遅くに産生された神経細胞ほど脳表面近くの浅い層に配置される。大脳皮質の神経細胞の配置が逆転するリーラーマウスの原因遺伝子として Reelin が同定されており, その欠損は滑脳症を惹起する¹²⁾。Reelin 遺伝子変異が認められた統合失調症患者由来の iPS 細胞を神経細胞に分化させるとその移動方向性に異常が認められること¹⁾ から, 統合失調症における大脳皮質層構造形成異常において Reelin が注目されている。さらに, Reelin のヘテロ欠損マウスでは PPI 試験での情報処理障害が認められている³⁾。胎生期のストレスや化学物質曝露などは層構造形成に影響を及ぼす²⁾。胎生期 poly I : C 曝露により惹起される層構造の形成異常は大脳皮質全体ではなく, cortical patches として局所的に認められ, そ

こでの異常神経興奮が行動変容に関与している⁵⁾。

3. 胎生期 poly I : C 曝露による神経発達障害統合失調症様モデル動物におけるキヌレニン代謝の関与

中枢神経系において, トリプトファン (tryptophan : TRP) はトリプトファンヒドロキシラーゼ (tryptophan hydroxylase : TPH) を律速酵素とするセロトニン合成経路の重要な前駆体である (図 1)。一方, TRP を基質としてキヌレニン (kynurenine : KYN) を合成する酵素インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase-1 : IDO1) は肺, 胎盤とともに樹状細胞やマクロファージ等の抗原提示細胞に発現している。IDO1 はインターフェロン (interferon : IFN) γ などの種々の炎症性サイトカインにより誘導される免疫関連分子である⁹⁾。さらに, KYN はキヌレニン-3-モノオキシゲナーゼ (kynurenine 3-monooxygenase : KMO) により, 酸化ストレス作用により神経毒性を示す 3-ヒドロキシキヌレニン (3-hydroxykynurenine : 3HK) に代謝される。その下流のキノリン酸 (quinolinic acid : QA) は NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニスト作用を有し, 高用量 (EC_{50} : 2.3 mM) では興奮毒性を示す^{8, 9)}。一方,

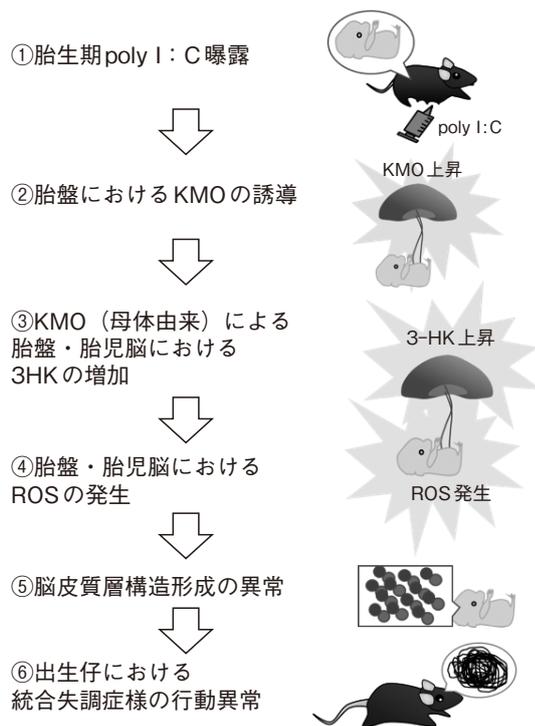


図2 胎生期 poly I:C 曝露による神経発達障害統合失調症様モデルにおけるキヌレニン代謝の関与

キヌレニン アミノトランスフェラーゼ (kynurenine amino transferase : KAT) による KYN の代謝産物であるキヌレン酸 (kynurenic acid : KA) は $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニスト作用を有する (IC_{50} : 1–8 μ M)。また, KA はより高濃度 (IC_{50} : 10–30 μ M) で NMDA 型グルタミン酸受容体アンタゴニスト作用を示し, QA による興奮毒性に拮抗するので, これら代謝産物のバランスと精神神経疾患の病態との関連が着目されている^{8, 9)}。筆者らは, ストレスや炎症による精神機能の変化にトリプトファン代謝経路の基軸の変動が関与することを明らかにしてきた。拘束水浸ストレス負荷により, 血清中の炎症性サイトカインの濃度の上昇, 肝臓での IDO1 の発現誘導とともに, 脳および末梢組織での KYN の増加が認められる²²⁾。IFN を高発現させた慢性炎症モデル動物において, IDO1 による前頭皮質での KYN および 3-HK の増加とともにうつ様行動が認められる²⁰⁾。また, リポ多糖類 (lipopolysaccharide : LPS) により認められるうつ様行動において, 前頭皮質における IDO1 のエピジェネティックな発現上昇が関与する²⁶⁾。

poly I:C により TLR3 が活性化されると, アダプター分子 (toll-interleukin-1 receptor domain-containing adaptor inducing interferon- β : TRIF) を介し, nuclear factor- κ B (NF κ B) を転写因子として炎症

性サイトカインの産生が誘導される¹⁵⁾。胎生期 poly I:C 曝露モデルにおいて, 母獣に poly I:C を投与すると炎症性サイトカインであるインターロイキン (interleukin : IL) -6 が母獣の血清において増加し, IL-6 により胎仔の神経発達が障害され, 成熟マウスの PPI 試験における情報処理障害や社会性行動の障害が認められる²³⁾。母獣に poly I:C を投与した2日後に, 血清や胎盤において, サイトカインカスケードの IL-6 の下流の IL-17a などの上昇が持続的に認められ, それが神経発達時の層構造形成障害や行動変容に関与することが知られている⁵⁾。KMO は炎症により誘導され, 神経毒性を有する 3HK の産生, さらにその下流の興奮毒性を有する QA の産生につながる一方, その活性の低下は神経保護作用を有する KA の産生につながる⁹⁾。アルツハイマー病やハンチントン病などの神経変性疾患において, KMO 阻害薬の開発が行われている²⁷⁾。筆者らは胎生期 poly I:C 曝露による成熟マウスの行動変容の形成機序の一つに母体の TRP-KYN 経路の変容が関与するか KMO を中心に検討を行った (図2)。胎生期 poly I:C 曝露により胎盤において KMO が誘導され, 母体の胎盤と胎仔脳にて 3HK が増加することが認められた。3HK は酸化ストレス作用を示すことから, 胎盤と胎仔脳中の活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) を測定したところ, 胎生期 poly I:C 投与により胎盤・胎仔脳ともに ROS の増加が認められた。そこで, 母獣に KMO 阻害薬を poly I:C と併用投与したところ, ROS の増加は KMO 阻害薬によって抑制された。さらに, 胎生期 poly I:C 曝露により cortical patches として局所的に認められる大脳皮質の層構造の乱れも, KMO 阻害薬により認められなくなった。興味深いことに, KMO 阻害薬は, 胎生期 poly I:C 曝露後により惹起される統合失調症の表現型である MK-801 投与における自発運動量の増加, 社会性行動時間の短縮, 新奇物体に対する視覚的認知記憶の低下を抑制した。すなわち, KMO を阻害すれば, 胎生期の母体免疫活性化による出生子の統合失調症様表現型の発症リスクを軽減することが示唆された。本知見が統合失調症発症の原因解明や新規予防薬・治療薬の開発へと貢献できることを願っている。

本論文に記載した筆者らの研究に関し, 所属する施設の動物実験委員会において承認され, すべて倫理的配慮を行っている。

開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Arioka Y, Shishido E, Kubo H, et al (2018) Single-cell trajectory analysis of human homogenous neurons carrying a rare RELN variant. *Transl Psychiatry*, 8 : 129.
- 2) Bale TL, Baram TZ, Brown AS, et al (2010) Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biol Psychiatry*, 68 : 314-319.
- 3) Barr AM, Fish KN, Markou A, et al (2008) Heterozygous reeler mice exhibit alterations in sensorimotor gating but not presynaptic proteins. *Eur J Neurosci*, 27 : 2568-2574.
- 4) Brown AS, Begg MD, Gravenstein S, et al (2004) Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 61 : 774-780.
- 5) Choi GB, Yim YS, Wong H, et al (2016) The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science*, 351 : 933-939.
- 6) Correll CU, Brevig T and Brain C (2019) Patient characteristics, burden and pharmacotherapy of treatment-resistant schizophrenia : results from a survey of 204 US psychiatrists. *BMC Psychiatry*, 19 : 362.
- 7) Fitzgerald KA and Kagan JC (2020) Toll-like receptors and the control of immunity. *Cell*, 180 : 1044-1066.
- 8) Fujigaki H, Mouri A, Yamamoto Y, et al (2019) Linking phencyclidine intoxication to the tryptophan-kynurenine pathway : Therapeutic implications for schizophrenia. *Neurochem Int*, 125 : 1-6.
- 9) Fujigaki H, Yamamoto Y and Saito K (2017) L-tryptophan-kynurenine pathway enzymes are therapeutic target for neuropsychiatric diseases : Focus on cell type differences. *Neuropharmacology*, 112 : 264-274.
- 10) Gratten J (2016) Rare variants are common in schizophrenia. *Nat Neurosci*, 19 : 1426-1428.
- 11) Hoftman GD, Datta D and Lewis DA (2017) Layer 3 excitatory and inhibitory circuitry in the prefrontal cortex : developmental trajectories and alterations in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 81 : 862-873.
- 12) Hong SE, Shugart YY, Huang DT, et al (2000) Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nat Genet*, 26 : 93-96.
- 13) International Schizophrenia Consortium (2008) Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature*, 455 : 237-241.
- 14) Javitt DC and Zukin SR (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 148 : 1301-1308.
- 15) Kawai T and Akira S (2010) The role of pattern-recognition receptors in innate immunity : update on toll-like receptors. *Nat Immunol*, 11 : 373-384.
- 16) Millar JK, Wilson-Annan JC, Anderson S, et al (2000) Disruption of two novel genes by a translocation cosegregating with schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 9 : 1415-1423.
- 17) Molyneaux BJ, Arlotta P, Menezes JRL, et al (2007) Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci*, 8 : 427-437.
- 18) Mouri A, Nagai T, Ibi D, et al (2013) Animal models of schizophrenia for molecular and pharmacological intervention and potential candidate molecules. *Neurobiol Dis*, 53 : 61-74.
- 19) Mouri A, Noda Y, Enomoto T, et al (2007) Phencyclidine animal models of schizophrenia : approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem Int*, 51 : 173-184.
- 20) Murakami Y, Ishibashi T, Tomita E, et al (2016) Depressive symptoms as a side effect of interferon- α therapy induced by induction of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1. *Sci Rep*, 6 : 29920.
- 21) Murphy KC (2002) Schizophrenia and velo-cardio-facial syndrome. *Lancet*, 359 : 426-430.
- 22) Ohta Y, Kubo H, Yashiro K, et al (2017) Effect of water-immersion restraint stress on tryptophan catabolism through the kynurenine pathway in rat tissues. *J Physiol Sci*, 67 : 361-372.
- 23) Smith SEP, Li J, Garbett K, et al (2007) Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. *J Neurosci*, 27 : 10695-10702.
- 24) Snyder SH (1981) Dopamine receptors, neuroleptics, and schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 138 : 460-464.
- 25) Stark KL, Xu B, Bagchi A, et al (2008) Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model. *Nat Genet*, 40 : 751-760.
- 26) Suento WJ, Kunisawa K, Wulaer B, et al (2020) Prefrontal cortex miR-874-3p prevents lipopolysaccha-

ride-induced depression-like behavior through inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 expression in mice. *J Neurochem*, (in press). doi:10.1111/jnc.15222.

27) Zhang S, Sakuma M, Deora GS, et al (2019) A brain

-permeable inhibitor of the neurodegenerative disease target kynurenine 3-monooxygenase prevents accumulation of neurotoxic metabolites. *Commun Biol*, 2 : 271.

■ ABSTRACT

Involvement of kynurenine metabolism in the schizophrenia-like animal model with neurodevelopmental impairment

Akihiro Mouri^{1,4)}, Moe Nijjima¹⁾, Kazuo Kunisawa¹⁾, Kuniaki Saito^{2,4)}, Toshitaka Nabeshima^{3,4)}

- 1) *Department of Regulatory Science for Evaluation & Development of Pharmaceuticals & Devices, Fujita Health University Graduate School of Health Science*
- 2) *Department of Disease Control and Prevention, Fujita Health University Graduate School of Health Science*
- 3) *Advanced Diagnostic System Research Laboratory, Fujita Health University Graduate School of Health Science*
- 4) *Japanese Drug Organization of Appropriate Use and Research*

Schizophrenia is a severe and common psychiatric disease characterized by hallucinations, delusions, deficit in motivation and cognitive dysfunction. Because many patients show poor or partial response to antipsychotic treatment, it is important to develop novel therapeutic interventions with greater efficacy through new mechanism of action. The hypothesis of inflammation-induced neurodevelopmental impairment and glutamatergic hypofunction have been proposed as the etiology/pathophysiology of schizophrenia. Kynurenine metabolism is activated by inflammation and there are some metabolites which induce neurotoxicity and affect glutamatergic transmission. Based on the epidemiological hypothesis that maternal gestational exposure to human influenza virus induces vulnerability for the onset of the schizophrenia, embryos of mice are exposed the viral mimic polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (poly I : C) during prenatal period to develop the schizophrenia-like animal model. In this review, we summarize schizophrenia-like animal model with neurodevelopmental impairment induced by the prenatal poly I : C exposure and an involvement of kynurenine metabolism in the animal model induced by the prenatal poly I : C exposure. No potential conflicts of interest were disclosed.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (3) : 129-134, 2021)
