

50. 統合失調症における PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系の関与

野田 幸裕

名城大学 大学院薬学研究科 病態解析学 I

Key words : 統合失調症, 神経発達障害, 新生仔期, PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系

緒言

統合失調症は、思春期以降に発症し、人口の約 1 % に認められる慢性・進行性の精神疾患である。陽性症状、陰性症状や認知機能障害など多彩な精神症状を呈するが、その発症機序は未だ不明である。新たな治療戦略を考えるためには臨床研究に加え、基礎研究において病因・病態生理に基づく統合失調症モデル動物を作製し、分子機序の解明および、診断、予防や治療法の開発に繋げる必要がある。

これまでの研究において、統合失調症と関連性が報告¹⁾されているプロスタグランジン E₂ (PGE₂) は、新生仔期マウスに様々な環境的要因、例えば①ウイルス感染、②低酸素、あるいは③隔離飼育を暴露すると、共通的に脳内 PGE₂ の発現量が増加することを見出している。また、新生仔期マウスに PGE₂ を投与すると、成体期において精神行動学的異常が惹起されること、その精神行動学的異常や新生仔期ウイルス感染により惹起される成体期の精神行動学的異常が PGE₂-EP1 受容体拮抗薬によって緩解されることを明らかにしている。これらの知見から、PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系は、様々な発症要因の共通因子となりうる可能性や、発症脆弱性に関与している可能性を提唱している。

本研究では、①新生仔期マウスの神経発達過程および海馬神経初代培養での神経細胞に対する PGE₂ の影響、②新生仔期 PGE₂ と他の要因を複合的に負荷した場合の精神行動への影響、③汎用されている薬理的統合失調症様モデル動物における PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系の関与について検討し、④統合失調症患者を対象としたゲノム解析を行った。これらの検討により、PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系が統合失調症の発症や病態に関与する重要な脆弱因子となり、さらには PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系を阻害する PGE₂-EP1 受容体拮抗薬が新たな統合失調症の治療ターゲットとなる可能性を見出す。

方法、結果および考察

1. 新生仔期 PGE₂ 連続投与マウスにおける神経化学的解析および PGE₂ 処置海馬神経初代培養における細胞生物学的解析

新生仔期 (生後 2 日齢) のマウスに PGE₂ (10 mg/kg s.c.) を 5 日間連続投与 (PGE₂ 投与群) し、成体期 (10 週齢) の脳内モノアミン含量およびそれらの代謝物含量を電気化学検出器付 - 高速液体クロマトグラフィーにて測定した。対応するモノアミン代謝物含量 / モノアミン含量比を算出し、モノアミン放出の生化学的指標とされるモノアミン代謝回転にて各神経機能の評価を行った。その結果、PGE₂ 投与群の前頭前皮質におけるドパミン代謝回転は、対照群と比較して有意に低下していたが、セロトニンやノルアドレナリンの代謝回転には影響は認められなかった。海馬、側坐核や線条体ではモノアミン代謝回転に変化は認められなかった (図 1A)。

神経細胞の機能構築には軸索の形成と複数の樹状突起の伸長が深く関与している。そこで、海馬神経初代培養法を用いて、神経の軸索伸長に対する PGE₂ 処置の影響について検討した。胎生期 (妊娠 17.5 日目) の神経細胞の培養液中に PGE₂ (10 μM) を添加すると、神経細胞の軸索伸長は阻害され、この阻害作用は、PGE₂-EP1 受容体拮抗薬 (10 μM) の併用によって抑制された (図 1B)。

以上の結果から、新生仔期マウスへの PGE₂ 暴露は、PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系を介して神経細胞の発達を障害し、成体期の前頭前皮質のドパミン作動性神経機能の異常を惹起したものと示唆される。

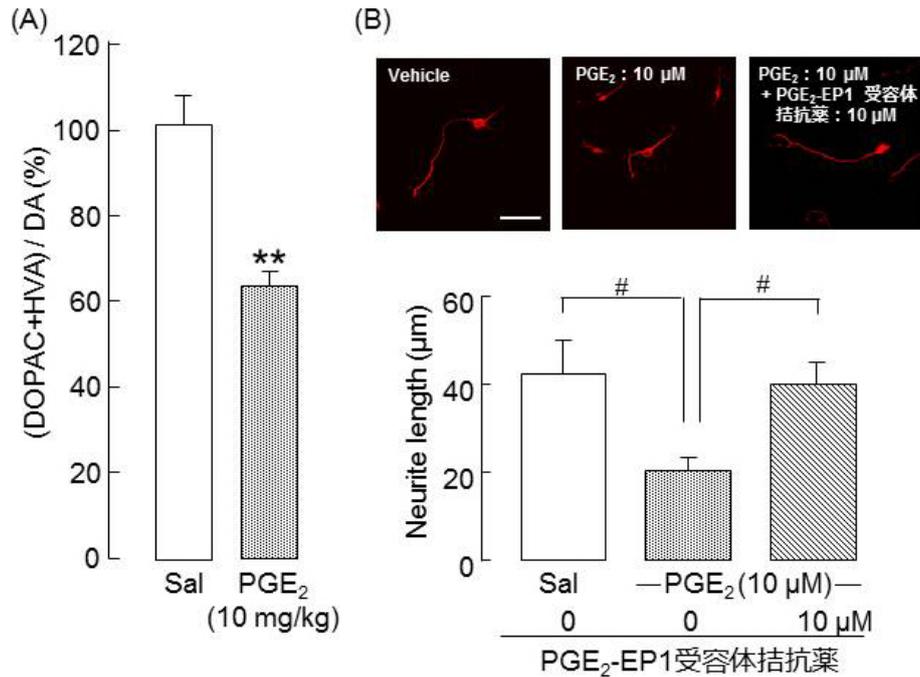


図1. 新生仔期プロスタグランジン E₂ (PGE₂) 連続投与マウスにおける神経化学的解析および PGE₂ 処置海馬神経初代培養における細胞生物学的解析

(A) 前頭前皮質におけるドパミン作動性神経機能 (ドパミン代謝回転) は低下していた。(B) 海馬神経初代培養における神経細胞の軸索伸長は PGE₂ によって阻害され、この阻害作用は、PGE₂-EP1 受容体拮抗薬によって抑制された。scale bar: 50 μm。DOPAC: 3,4-dihydroxyphenylacetic acid、HVA: homovanillic acid、DA: dopamine、Sal: saline。**p < 0.01 vs Sal group (Student の t 検定)、#p < 0.05 vs PGE₂ (10 μM) group (Bonferroni の多重比較検定)。

2. 新生仔期 PGE₂ と他の要因 (乱用薬物や精神疾患発症脆弱遺伝子) の複合的負荷による精神行動への影響

乱用薬物である非競合的 N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体拮抗薬のフェンシクリジン (PCP) が統合失調症と類似した症状を惹起させること²⁾ や Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1) が精神疾患の発症に関与する脆弱遺伝子であること³⁾ が明らかにされている。そこで、PGE₂ を連続投与した新生仔期マウスにこれら要因の複合的な負荷による精神行動への影響について検討した。新生仔期 (生後 2 日齢) マウスに PGE₂ (10 mg/kg s.c.) を 5 日間、あるいは若齢期 (4 週齢) マウスに PCP (10 mg/kg s.c.) を 7 日間連続投与しても、若齢期 (5 週齢) では社会性行動試験における社会性行動および新奇物体認知試験における物体認知機能には影響はなかった。しかし、新生仔期に PGE₂ を連続投与したマウスに若齢期 (4 週齢) から PCP (10 mg/kg s.c.) を 7 日間連続投与するといずれの行動も障害された (図 2A、B)。行動障害を示したマウスの前頭前皮質におけるグルタミン酸作動性神経に関連する機能タンパク質の発現を解析したところ、glial-aspartate glutamine transporter (GLAST) タンパク質の発現が対照群のそれと比較して有意に低下していた (図 2C)。新生仔期 (生後 2 日齢) の DISC1 変異遺伝子過剰発現マウスに PGE₂ (10 mg/kg s.c.) を 5 日間連続投与すると、若齢期 (5 週齢) の雌性マウスにおいて物体認知機能の障害が認められた (図 2D)。

以上の結果から、新生仔期マウスへの PGE₂ 暴露は、精神疾患の発症に関与する乱用薬物 (PCP 投与: 環境的要因) や脆弱遺伝子 (DISC1 遺伝子変異: 遺伝的要因) と複合的に負荷することにより精神行動異常を早期に惹起させ、複合的な負荷は精神疾患の発症要因に対する脆弱性を形成することが示唆される。

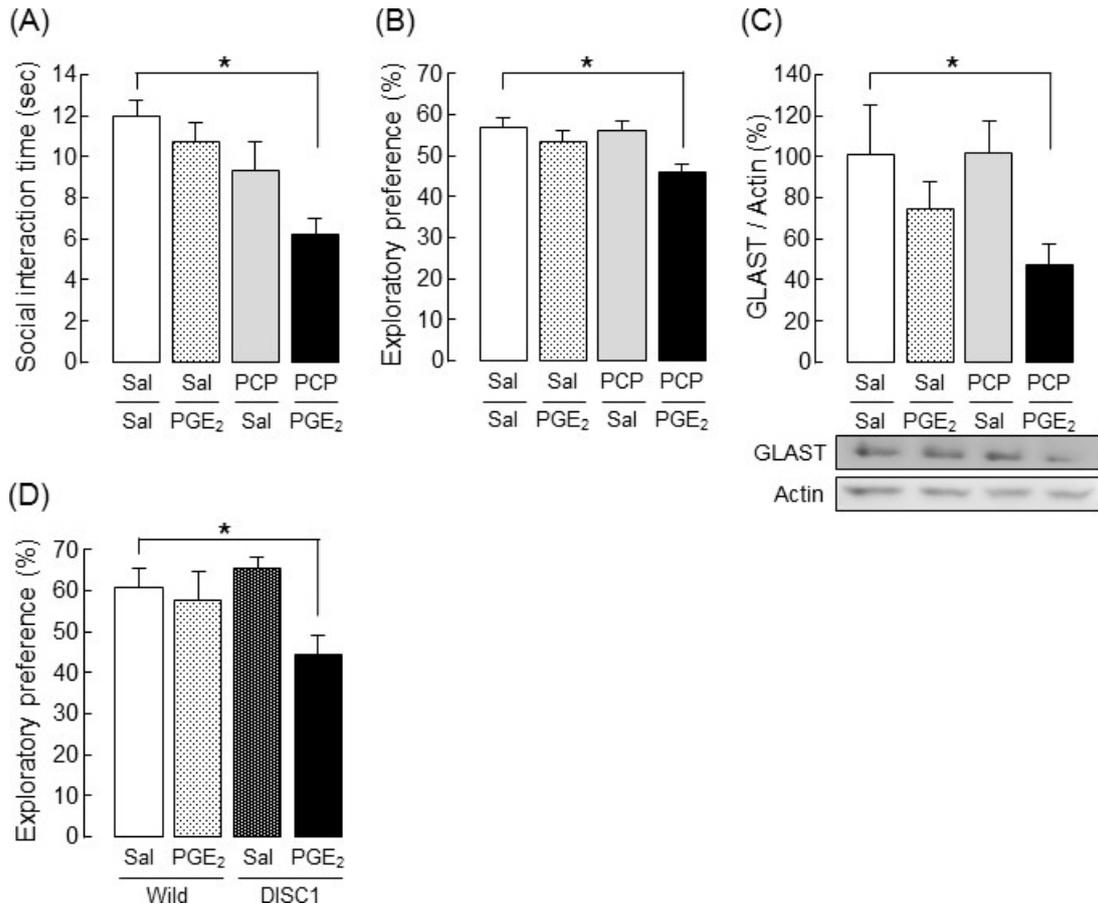


図2. 新生仔期プロスタグランジン E₂ (PGE₂) と他の要因の複合的負荷による精神行動への影響

新生仔期マウスに PGE₂ を連続投与し、若齢期からフェンシクリジン (PCP) を連続投与した場合の (A) 社会性行動試験における社会性行動、(B) 新奇物体認知試験における物体認知機能、および (C) 前頭前皮質における glial-aspartate glutamine transporter (GLAST) タンパク質発現への影響。いずれの行動も障害され、GLAST タンパク質の発現は低下していた。新生仔期の Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1) 変異遺伝子過剰発現マウスに PGE₂ を連続投与した場合の新奇物体認知試験における物体認知機能は障害されていた (D)。Sal: saline。
*p < 0.05 vs corresponding Sal+Sal/Wild group (Bonferroni の多重比較検定)。

3. 統合失調症様モデルマウスにおける PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系の関与

6 週齢の雄性マウスに PCP (10 mg/kg s.c.) を 14 日間連続投与し、薬理的な統合失調症様モデルマウスとして汎用されているモデル動物を作製した。本モデルマウスにおいても PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系が関与しているかどうか、脳内 PGE₂ および PG 受容体 (EP1-4) の発現変化を ELISA 法およびウェスタンブロットティング法にて検討した。その結果、PCP 最終投与 24 時間後において、線条体の PGE₂ 含量は、対照群のそれと比較して有意に増加しており、PGE₂-EP1 受容体タンパク質の発現は有意に減少していた (図 3A, B)。

PGE₂ 含量の増加および PGE₂-EP1 受容体タンパク質の発現の減少が認められた線条体では、PGE₂-EP1 受容体はドパミン D₂ 受容体の応答性を制御していることが報告されている⁴⁾。そこで、本モデルマウスにおいてドパミン D₂ 受容体の応答性が変化しているかどうか検討するために、ドパミン D₂ 受容体拮抗薬であるハロペリドールを投与し、ドパミン D₂ 受容体誘発性カタレプシーの発現程度を評価した。その結果、本モデルマウスにハロペリドール (0.3 mg/kg i.p.) を投与すると、カタレプシー行動の発現程度が対照群より増強された (図 3C)。

以上の結果から、PCP を連続投与した統合失調症様モデルマウスにおける、ドパミン D₂ 受容体拮抗作用を有する抗精神病薬誘発性の行動学的異常の発現には、PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系が関与している可能性が示唆される。

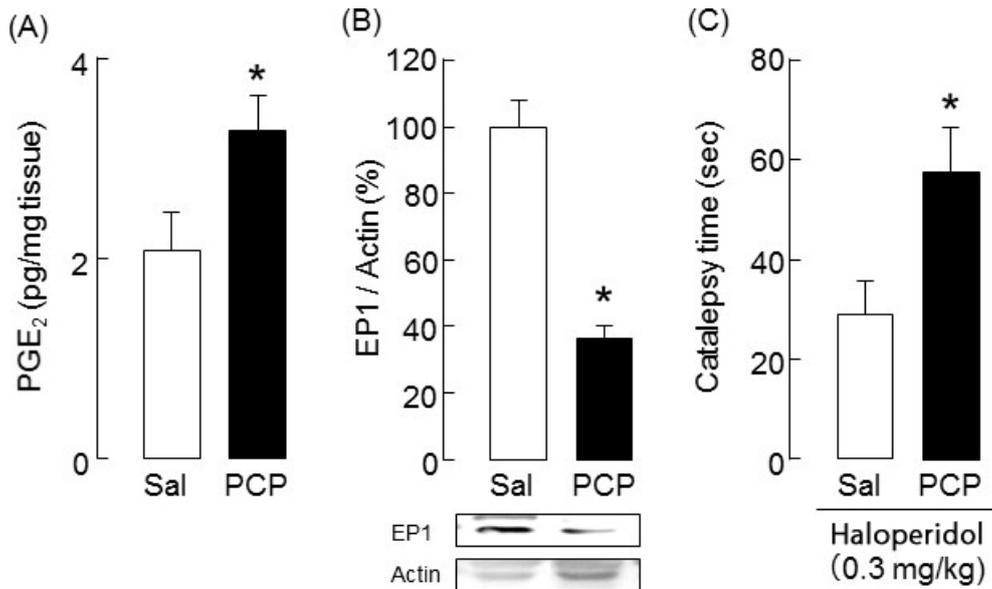


図3. 統合失調症様モデルマウスにおけるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) -EP1 受容体シグナル伝達系の関与 (A) 脳内 PGE₂ 発現量。 (B) 線条体における PGE₂-EP1 受容体発現。 (C) カタレプシー発現程度。 フェンシクリジン (PCP) 最終投与 24 時間後において、線条体の PGE₂ 含量は増加しており、PGE₂-EP1 受容体タンパク質の発現は減少していた。 PCP 連続投与マウスにハロペリドールを投与すると、カタレプシー行動の発現程度が増強された。 Sal: saline。 *p < 0.05 vs corresponding Sal group (Student の t 検定)。

4. 統合失調症患者を対象としたゲノム解析

統合失調症における PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系の関与について検討するため、統合失調症患者を対象にアレイ CGH (comparative genomic hybridization) による全ゲノムコピー数変異 (copy number variant: CNV) 解析を行った。統合失調症患者 1,700 名の血液から DNA を抽出し、PGE₂ 合成酵素類 [*PTGSI, 2* (COX-1, 2)、*PTGESI, 2* (mPGES-1, 2)、および *PTGES3* (cPGES: cytosolic PGE synthase)] あるいは、その受容体の [*PTGERI-4* (EP1-4)] の CNV を確認したところ、*PTGES3* のエクソン領域の重複が 1 名認められた。自閉スペクトラム症患者 500 名と健常者 800 名を対象に全ゲノム CNV 解析を実施したところ、PGE₂-EP1 受容体関連遺伝子の CNV 保有者は認められなかった。

近年のゲノム研究において、通常、細胞当たり 2 コピーの遺伝子が存在するが、3 コピー (重複) あるいは 1 コピー (欠失) のようなコピー数の多型 (CNV) が認められること、染色体や遺伝子の重複は遺伝子の発現制御に関与することが確認されており⁵⁾、統合失調症や自閉スペクトラム症を含む様々な精神神経疾患との病的な関連が報告されている。本研究において、*PTGES3* のエクソン領域の重複が同定されたが、全解析対象者 3,000 名中に統合失調症患者 1 名のみの非常にまれな変異であるため、疾患の発症との関連の証明には更なる症例数の拡大が必要である。

同定された *PTGES3* のエクソン領域の重複は、3'-非翻訳領域 (untranslated region: UTR) に位置しており、3'-UTR の選択的スプライシングが遺伝子の発現量を制御する働きをすることから⁶⁾、PGE₂-EP1 受容体関連遺伝子の発現変化が生じて胎児の脳の発育段階に応じて遺伝子の発現量が制御されている可能性がある。

考 察

統合失調症の遺伝的な要因として PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系の関連性については明確にはできなかったが、本知見により、統合失調症における生物学的要因として PGE₂-EP1 受容体シグナル伝達系が発症脆弱性に関与していること、PGE₂-EP1 受容体を介するシグナル伝達系を阻害する PGE₂-EP1 受容体拮抗薬が新たな統合失調症の治療ターゲットとなる可能性を明らかにすることができた。

共同研究者

本研究の共同研究者は、名城大学薬学部・大学院薬学研究科の吉見陽、肥田裕丈、毛利彰宏および鍋島俊隆、京都大学大学院医学系研究科の成宮周、神戸大学医学系研究科の古屋敷智之、および名古屋大学大学院医学系研究科の尾崎紀夫である。最後に、本研究にご支援賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Kaiya H, Uematsu M, Ofuji M, Nishida A, Takeuchi K, Nozaki M, Idaka E. Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J Neural Transm.* 1989;77(1): 39-46. doi: 10.1007/BF01255817. PMID: 2746199.
- 2) Nabeshima T, Mouri A, Murai R, Noda Y. Animal model of schizophrenia: dysfunction of NMDA receptor-signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Nov;1086: 160-8. doi: 10.1196/annals.1377.003. PMID: 17185514.
- 3) St Clair D, Blackwood D, Muir W, Carothers A, Walker M, Spowart G, Gosden C, Evans HJ. Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. *Lancet.* 1990 Jul 7;336(8706): 13-6. doi: 10.1016/0140-6736(90)91520-K. PMID: 1973210.
- 4) Kitaoka S, Furuyashiki T, Nishi A, Shuto T, Koyasu S, Matsuoka T, Miyasaka M, Greengard P, Narumiya S. Prostaglandin E2 acts on EP1 receptor and amplifies both dopamine D1 and D2 receptor signaling in the striatum. *J Neurosci.* 2007 Nov 21;27(47): 12900-7. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3257-07. PMID: 18032663.
- 5) Golzio C, Katsanis N. Genetic architecture of reciprocal CNVs. *Curr Opin Genet Dev.* 2013 Jun;23(3): 240-8. doi: 10.1016/j.gde.2013.04.013. PMID: 123747035.
- 6) Mironov AA, Fickett JW, Gelfand MS. Frequent alternative splicing of human genes. *Genome Res.* 1999 Dec;9(12): 1288-93. doi: 10.1101/gr.9.12.1288. PMID: 10613851.