

特集

量子生命科学による精神神経疾患のメカニズム解明に向けた挑戦

5. ムーンショット微小炎症プロジェクトと連携した
脳内炎症を標的とした量子診断プラットフォーム形成の試み北條慎太郎^{1, 2, 3)}, 田中 勇希^{1, 2)}, 大木 出^{1, 2)}, 王 亜澤²⁾, 村上 正晃^{1, 2, 3, 4)}

抄録：慢性炎症は、自己免疫疾患や精神神経疾患など QOL の低下を招く疾患の発症に関与する。筆者らは、ストレスなどの環境要因を介した特異的な神経回路の活性化が、局所の血管領域で微小炎症を誘導し、血管透過性の亢進を介して病原性免疫細胞の組織侵入口の形成を促進する「ゲートウェイ反射」を発見した。現在、筆者らは、ムーンショットプロジェクトにおいて、微小炎症に依存して発現する極微量なバイオマーカーを指標に、未病状態から「病の芽」を超早期に発見する技術開発に取り組んでいる。この目的を達成するために、生体試料から当該マーカーを超高感度・超高精度に検出可能な量子計測・イメージング技術や、人工知能 (AI) を用いて遺伝情報や生理・行動情報を統合的に解析できるプラットフォームの構築をめざしている。本稿では、最近明らかにした精神神経疾患の潜在的な診断マーカーや、それを指標とした予防診断に資する量子技術の開発について概説したい。

日本生物学的精神医学会誌 35 (3) : 125-129, 2024

Key words : cytokine, inflammation, stress, systemic lupus erythematosus, neuropsychiatric diseases, nano diamond, AI-nanopore

はじめに

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) は若年女性に好発する慢性自己免疫疾患であり、患者の生活の質 (quality of life: QOL) に多大な影響を及ぼす。SLE では、皮疹、関節炎、血液学的異常などの軽症症状から、腎炎や中枢神経 (central nervous system : CNS) 障害などの致死的症状まで多種多様な病態を示す⁴⁾。特に、CNS 病変は約 50% の患者でみられ、不安や気分

障害、脳血管障害、精神病、およびせん妄 (急性錯乱状態) など多彩な臨床症状を呈し、SLE でもっとも重篤な精神神経 SLE (neuropsychiatric systemic lupus erythematosus : NPSLE) とよばれる。NPSLE は、精神的・神経心理学的なびまん性 NPSLE (diffuse neuropsychiatric systemic lupus erythematosus : dNPSLE) と脳卒中、痙攣、末梢神経障害などの局在性 NPSLE (focal neuropsychiatric systemic lupus erythematosus : fNPSLE) に分類される。fNPSLE は、血栓・虚血性障害による局所の神経障害が原因と考

Attempt to establish a quantum diagnostic platform targeting microinflammation in the brain, in collaboration with the Moonshot Microinflammation Project

1) 国立大学法人北海道大学遺伝子病制御研究所 分子神経免疫学分野 (〒060-0815 札幌市北区北 15 条西 7 丁目) Shintaro Hojyo, Yuki Tanaka, Izuru Ohki, Masaaki Murakami : Division of Molecular Psychoneuroimmunology, Institute for Genetic Medicine, Graduate School of Medicine, Hokkaido University. N15, W7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0815, Japan

2) 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構量子生命科学研究所 量子免疫学研究チーム (〒263-8555 千葉県千葉市稲毛区穴川 4 丁目 9 番 1 号) Shintaro Hojyo, Yuki Tanaka, Izuru Ohki, Yaze Wang, Masaaki Murakami : Quantum Immunology Team, Institute for Quantum Life Science, National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology (QST) . 4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan

3) 国立大学法人北海道大学ワクチン研究開発拠点 (HU-IVReD) (〒001-0021 札幌市北区北 21 条西 11 丁目) Shintaro Hojyo, Masaaki Murakami : Institute for Vaccine Research and Development (HU-IVReD), Hokkaido University. N21, W11, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 001-0021, Japan

4) 自然科学研究機構生理学研究所 生体機能調節研究領域分子神経免疫研究部門 (〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38) Masaaki Murakami : Division of Molecular Neuroimmunology, Department of Homeostatic Regulation, National Institute for Physiological Sciences, National Institutes of Natural Sciences. 38 Nishigonaka Myodaiji, Okazaki-shi, Aichi 444-8585, Japan

【北條慎太郎 E-mail : Shintaro.Hojyo@igm.hokudai.ac.jp】

えられているが、dNPSLE の病態生理は明らかではなく、臨床において dNPSLE に選択的な標的治療は存在していない^{3, 4)}。

ストレスとは外的刺激による情動的・生理的な反応を指し、神経内分泌経路を介して脳と循環器、呼吸器、代謝や免疫などの身体機能との双方向性伝達や、CNS の構造的・機能的な再構成にかかわり、行動学的・生理学的反応に影響を及ぼす⁵⁾。短期間かつ適切なストレスは環境・社会への適応を促進させ恒常性維持に寄与するが、長期間にわたる過剰なストレスは精神的・身体的な疲弊を誘導する。動物実験モデルから、慢性睡眠障害ストレス (sleep disturbance stress : SDS) は心身の疲弊を助長し、記憶・注意、遂行機能にかかわる海馬や前頭皮質の神経細胞の萎縮、学習や記憶行動の機能異常、また炎症性サイトカインや酸化ストレスを増加させることにより、CNS の機能障害を引き起こすことがわかっている。筆者らは以前に、多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE) マウスモデルに SDS 負荷したところ、脳内の特定血管部位への免疫細胞の集積を介して微小炎症が起こり、これを契機に末梢臓器に接続される迷走神経系が異常に活性化され、本来の上行性麻痺などの EAE 症状が表出することなく心機能不全により突然死が誘発された²⁾。このように、精神心理ストレスは、神経系の構造や機能に慢性的に影響を与え、臨床経過を変容させることが明らかとなった。また、慢性ストレスは自己免疫疾患の発症リスクとしても知られ、SDS が SLE 患者の精神神経病態と疾患活動性に悪影響を与える可能性も指摘されている。このように、慢性ストレスは CNS 病態に影響を及ぼすが、dNPSLE 発症に関連する分子機序は不明であった。本稿では、筆者らが最近明らかにした、ストレス依存的な dNPSLE の病態生理機序と潜在的な診断バイオマーカー、およびバイオマーカーを指標とした超高感度検出を可能にする量子技術プラットフォームの開発計画について概説する。

1. SLE モデルにおける SDS 誘発性の行動異常

SLE モデルである MRL/MpJmsSlc-*lpr/lpr* (MRL/*lpr* : 以下 SLE モデル) 系統は、Fas をコードする *lpr* 遺伝子の突然変異のホモ接合体マウスであり、Fas 誘導性アポトーシスの異常により自己反応性 T 細胞の増殖が促進され、6 ~ 8 週齢で CNS 症状を、10 週齢以降に全身性炎症を伴う腎炎を発症する。

筆者らは、MRL/MpJmsSlc- + / + (MRL/MpJ) を対照群として、6 ~ 8 週齢の雌 SLE モデルに SDS を与え、ストレスが脳機能や病態生理にどのような影響を与えるのか、高架式十字迷路試験やオープンフィールド試験により行動表現型解析を行った。その結果、SDS 負荷によって対照群で誘導される不安様行動が SLE モデルでは減少し、リスクテイキング興奮様行動が増長することがわかった¹⁾。

2. SDS⁺SLE モデルの内側前頭前皮質における持続的な神経細胞の活性化

脳室傍核 (paraventricular hypothalamic nucleus : PVN) はストレス中枢として知られ、ストレス刺激により活性化される。PVN は、内側前頭前皮質 (medial prefrontal cortex : mPFC) と側坐核 (nucleus accumbens : NAc) に投射しており、腹側被蓋野 (ventral tegmental area : VTA) にも軸索投射している。急性の単一ストレスは、mPFC の活性化を介して不安様行動を抑制し、一方で慢性ストレスは mPFC を抑制して NAc を活性化することにより不安を助長する。SDS 負荷した SLE (SDS⁺SLE) モデルの mPFC では、SDS 負荷した対照群と比較して、神経細胞の活性化が顕著に高いのに対して、PVN、NAc、VTA では神経細胞の活性化は同程度であった。これらの結果から、mPFC が SLE モデルにおいてストレス依存的な抗不安様行動を制御している領域であることが示唆された¹⁾。

3. SDS⁺SLE モデルの精神神経病態における IL-12/23p40 シグナル伝達の関与

上述の結果から、mPFC におけるトランスクリプトーム解析を実施したところ、SDS⁺SLE モデルでは、*H2-Eb1*, *Nos2*, *Il12b*, *Fcgr4* などのミクログリア活性化遺伝子の発現が高く、*Arg1*, *Nr4a3*, *Trem14* などのミクログリア不活性化遺伝子の発現が低いことが示された。特に、interleukin (IL)-12 と IL-23 の共通構成サブユニットである p40 (*Il12b* 遺伝子によってコード) に着目したところ、SDS⁺SLE マウスでは対照群と比較して髄液中の p40 レベルが高く、これに伴い IL-12/23 シグナル下流で誘導される interferon (IFN)- γ と IL-17A のレベルも高値を示した。また、SDS⁺SLE モデルの mPFC では、Iba-1 陽性の活性化ミクログリアの増加と神経細胞の異常な樹状突起が観察され、IL-12/23p40

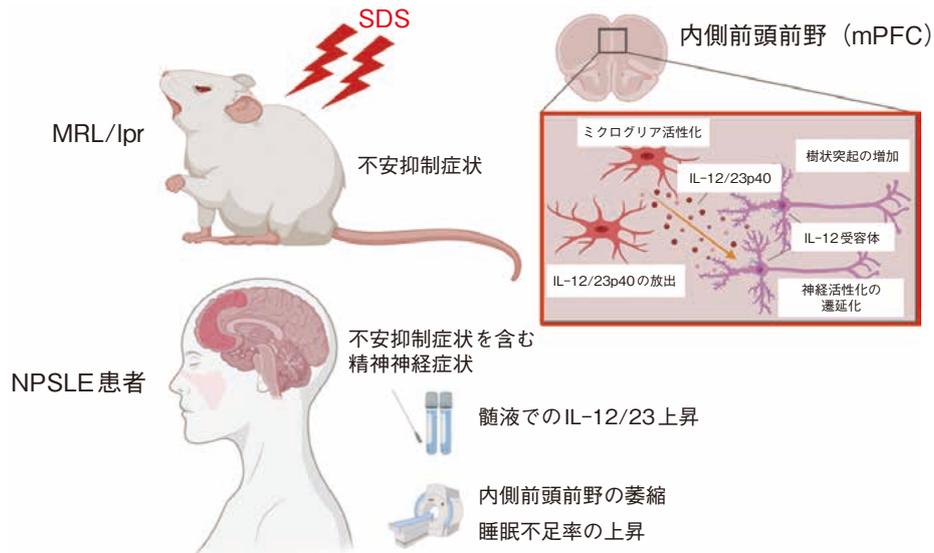


図1 ストレスによるNPSLE誘導機構

SDS⁺SLEモデルでは、mPFCで異常に活性化されたミクログリアから産生されるIL-12/23p40が、神経細胞の活性化を遷延化させ、抗不安様行動を制御する。中和抗体や阻害剤を用いてIL-12/23シグナル伝達を阻害すると、ストレス依存性の抗不安様行動は抑制される。また、dNPSLE患者においても、脳髄液中のp40レベルは上昇しており、mPFCの萎縮が認められた。(Abe N, et al : Ann Rheum Dis, 81 : 1564-1575. 2022¹⁾より引用)

やそのシグナル下流で活性化されるSTAT4のリン酸化レベルも亢進していることがわかった。一方で、IL-12/23シグナルのもう一つの下流分子であるSTAT3のリン酸化は認められなかったことから、SDS⁺SLEモデルのmPFCミクログリアでは主にIL-12シグナルが活性化されていることが示された。SDSを負荷していない対照群の髄腔内に組換えp40を定位注射すると、mPFC神経細胞により多くの樹状突起が観察され、逆に、SDS⁺SLEモデルの髄腔内にIL-12/23シグナル伝達阻害剤を投与すると、mPFC内の活性化ミクログリアの減少に伴い、髄液p40レベルも減少して抗不安様行動が改善した¹⁾(図1)。

4. dNPSLE患者髄液における

IL-12/23p40レベルの上昇とmPFCの萎縮

dNPSLE患者は、不眠や興奮性、幻覚や妄想などの精神過活動状態を呈し、この「脱抑制性行動異常」には危険行動の増加や不安の減少が含まれる。健常対照者と活動性SLE患者コホートを調査した結果、dNPSLE患者はfNPSLE患者よりも髄液p40のレベルが高いことがわかった。また、dNPSLE患者の約70～80%は急性錯乱状態や精神病を経験していたが、不安を訴える患者はほとんどいなかった。また、脳の形態学的変化をvoxel-based morphometryで

解析したところ、dNPSLE患者では非dNPSLE群と比べて灰白質と白質の体積が少なく、白質に多くの病変が認められた。さらに、年齢合致の健常対照データセットを基準としてmPFCの体積と萎縮度を計測したところ、dNPSLE患者では非dNPSLE群よりもmPFCの体積が減少しており、萎縮していることが示された。さらに、dNPSLE患者は、髄液採取の周術期に非dNPSLE群よりも多くの睡眠薬を投与されていたことから、dNPSLE発症時における睡眠障害の有病率が高いことが判明した。以上の結果から、SDS⁺SLEモデルとdNPSLE患者では同様の病態が認められ、mPFCにおけるIL-12/23p40が当該疾患の新たな治療標的となることが示唆された¹⁾。

5. 量子技術を利用した未病状態からの微量疾患マーカーの検出法の開発

現在、筆者らは、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(Japan Agency for Medical Research and Development:AMED)ムーンショット目標7およびAMED-Core Research for Evolutionary Science and Technology(CREST)ストレス研究開発領域において、上述の精神神経疾患や自己免疫疾患など、さまざまな慢性病態の要因となる微小炎症に着眼し、各疾患において微小炎症あるいはストレス依存

的に発現変動する分子群の同定を試みている。また、その同定した分子あるいはこれまでに筆者らがすでに同定している分子群を疾患特異的なバイオマーカーとして、量子技術の一つである蛍光ナノダイヤモンド (fluorescent nanodiamond: FND) を利用し、未病ヒト検体から極微量な標的分子を検出できる系の開発に取り組んでいる。さらに、これと並行して、人工知能 (artificial intelligence: AI) ナノポア技術を用いて、患者検体からさまざまなウイルスや細菌の亜型を迅速・簡便・高精度に識別可能なプラットフォームの構築に取り組んでいる。以下に、概説する。

a. FND を利用したヒト検体中の微量標的分子の検出系の開発

FND は、窒素空孔 (nitrogen-vacancy: NV) 中心を含み、量子コンピューティングや量子通信の量子ビット、また量子センシングのためのスピン系として近年大きな注目を集めている⁸⁾。また、FND は光退色を起こさないなどの蛍光特性、高い安定性、低い細胞毒性を示し^{6, 10)}、加えて生物機能化のための表面基の利便性や、高压高温ダイヤモンドの粉碎などによる大量製造の容易さといった特質を備えている。NV 中心のセンシング用途としては、磁場定量化、温度センシング、生物学的標識などがあり、生物学的標識に関しては細胞イメージング、薬物送達、磁気共鳴イメージングにおけるコントラスト増強が含まれる。また、NV 中心の利点は、マイクロ波、磁場、近赤外光を利用して、発する蛍光をスピン操作を介して選択的に変調させることで、従来の蛍光物質を用いた生物学的イメージング法ではかなわない、人為的なバックグラウンドの低減とコントラストの向上が可能である。本稿執筆時点で、FND を用いて炎症性サイトカインやケモカインをピコモラーレベルで、また新型コロナウイルスをフェムトモラーレベルで検出できる系を確立することができた。今後は FND や検出条件をさらに改良することにより、超高感度・超高精度に微量検体を検出可能な系を開発していく予定である。

b. AI ナノポアを用いたウイルス変異株の高感度・高精度検出法の開発

AI ナノポアは、超薄窒化シリコン膜中に開けられた直径 300nm の貫通孔 (ナノポア) に電圧を印加することにより得られるイオン電流-時間波形をプロットし、AI に深層学習させることにより、1 個のウイルスを高精度に識別することが可能な最新技

術である。具体的には、ナノポアに電圧を印加させることで電荷を有するイオンを強制的に通過させながら、ウイルスが通過した際にその体積によって阻害されるポア内のわずかなイオン電流波形の変化を経時的に捉える。以前に、大阪大学産業科学研究所 (阪大産研) の谷口正輝教授らのグループは、新型コロナウイルス (以下、SARS-CoV-2) 武漢株を 5 分以内に高い感度と特異度で検査可能な AI ナノポアプラットフォームを報告した⁹⁾。しかしながら、当該研究ではほかの SARS-CoV-2 亜型が識別可能か、また臨床検体からウイルス検出は可能であるかは検討されていなかった。筆者らは、阪大産研との共同研究を通して、改良型 AI ナノポアプラットフォーム上で SARS-CoV-2 武漢、 α 、 β 、 γ 、 δ 株の識別に取り組んだ。その結果、ウイルス S タンパクの差異により、武漢株と δ 株をもっとも高い精度で識別し、COVID-19 患者由来の唾液検体からもオミクロン株を感度 100%、特異度 94% で識別した。さらに機械学習により 60 ~ 80% の精度 (F 値) で迅速な陽性判定が可能な新たなプラットフォームの構築に成功し、当該プラットフォームが従来手法の性能を大きく上回る迅速・簡便な SARS-CoV-2 変異型の診断ツールになることを示した⁷⁾。筆者らは現在、インフルエンザウイルス亜型をはじめさまざまなウイルスおよび細菌の識別プラットフォームの構築に取り組んでいる。

本論文に記載した筆者らの研究に関して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) Abe N, Tarumi M, Fujieda Y, et al (2022) Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*, 81 : 1564-1575.
- 2) Arima Y, Ohki T, Nishikawa N, et al (2017) Brain micro-inflammation at specific vessels dysregulates organ-homeostasis via the activation of a new neural circuit. *Elife*, 6 : e25517.
- 3) Hanly JG (2014) Diagnosis and management of neuropsychiatric SLE. *Nat Rev Rheumatol*, 10 : 338-347.
- 4) Kaul A, Gordon C, Crow MK, et al (2016) Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Primers*, 2 : 16039.
- 5) McEwen BS (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation : central role of the brain.

- Physiol Rev, 87 : 873–904.
- 6) Mochalin VN, Shenderova O, Ho D, et al (2011) The properties and applications of nanodiamonds. Nat Nanotechnol, 7 : 11–23.
- 7) Murakami K, Kubota SI, Tanaka K, et al (2023) High-precision rapid testing of omicron SARS-CoV-2 variants in clinical samples using AI-nanopore. Lab Chip, 23 : 4909–4918.
- 8) Schirhagl R, Chang K, Loretz M, et al (2014) Nitrogen-vacancy centers in diamond : nanoscale sensors for physics and biology. Annu Rev Phys Chem, 65 : 83–105.
- 9) Taniguchi M, Minami S, Ono C, et al (2021) Combining machine learning and nanopore construction creates an artificial intelligence nanopore for coronavirus detection. Nat Commun, 12 : 3726.
- 10) Yu SJ, Kang MW, Chang HC, et al (2005) Bright fluorescent nanodiamonds : no photobleaching and low cytotoxicity. J Am Chem Soc, 127 : 17604–17605.

■ ABSTRACT

Attempt to establish a quantum diagnostic platform targeting microinflammation in the brain, in collaboration with the Moonshot Microinflammation Project

Shintaro Hojyo^{1,2,3)}, Yuki Tanaka^{1,2)}, Izuru Ohki^{1,2)}, Yaze Wang²⁾, Masaaki Murakami^{1,2,3,4)}

- 1) *Division of Molecular Psychoneuroimmunology, Institute for Genetic Medicine, Graduate School of Medicine, Hokkaido University*
- 2) *Quantum Immunology Team, Institute for Quantum Life Science, National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology (QST)*
- 3) *Institute for Vaccine Research and Development (HU-IVReD), Hokkaido University*
- 4) *Division of Molecular Neuroimmunology, Department of Homeostatic Regulation, National Institute for Physiological Sciences, National Institutes of Natural Sciences*

Chronic inflammation is involved in the development of autoimmune and neuropsychiatric diseases, which reduce quality of life. We have discovered a “gateway reflex”, in which activation of specific neural circuits via environmental factors such as stress induces microinflammation in local vascular regions, and promotes the formation of tissue entry points for pathogenic immune cells via increased vascular permeability. Currently, in the AMED Moonshot Research and Development Project, we are working on the development of technology for ultra-early detection of “buds of disease” from the unaffected state, using as indicators the extremely small amounts of biomarkers that are expressed in a microinflammation-dependent manner. To achieve this goal, the project aims to develop quantum measurement and imaging technologies, which enable ultra-sensitive and ultra-precise detection of such markers from biological samples, as well as a platform for integrated analysis of genetic, physiological, and behavioral information using artificial intelligence (AI). In this review, we outline our recently identified potential diagnostic markers of neuropsychiatric disorders and the development of quantum technologies, which contribute to preventive diagnosis using such biomarkers.