

MINI REVIEW・第13回若手研究者育成プログラム奨励賞

精神疾患の病態理解のための新規遺伝学的ツールの開発

長濱健一郎

精神疾患の病態の理解のためには、遺伝子、分子、細胞、神経回路の各階層からのエビデンスを統合するアプローチが必要である。特に、細胞・神経回路については、生きた個体での解析が必要不可欠であり、倫理的な観点から人間以外の動物（マウス）を用いた研究が行われている^{1, 3, 4)}。近年、統合失调症や自閉スペクトラム症などの遺伝学的要因の関与が示唆されている精神疾患では、ゲノムワイド関連解析（genome-wide association study: GWAS）やエキソームシーケンスによって多数の遺伝子の精神疾患病態への関与が報告されている^{5~8)}。これらの遺伝子解析の結果を元に、今日までにさまざまな遺伝子改変動物が作製・解析され、精神疾患病態の分子・細胞・回路レベルでの研究が進められている。さまざまな精神疾患関連の遺伝子改変・変異動物の学習・認知機能、情動、本能行動の異常が報告されているが^{1, 3, 4)}、同一の疾患について複数の関連遺伝子が存在する場合に、個別の遺伝子に関する改変・変異マウスが同様の行動学的異常を示すことが多い。そのため共通する行動学的異常の根底にある細胞集団・神経回路に基づく神経基盤の解明が必要となり、行動にかかる細胞群や神経回路を高い精度で同定する方法論が求められる。

そこで筆者は、マウスを用いて、行動学的異常の原因となる生理学的なメカニズムの共通項を解析するための、技術・手法開発を行ってきた。まず筆者らは、神経活動を示した細胞のみを標識・活動操作することで、マウスの各種行動または行動異常に関連する細胞・神経回路を同定する手法の開発に取り組んだ。現所属で以前に開発されたカルシウムと光照射により特定の細胞に遺伝子導入を行うシステム（Cal-Light）を元に、より短時間・一過性に生じる行動とその異常の解析を行うことができるシステムを作製することをめざした。Cal-Lightの分子コンストラクトの一部を改変し、細胞体特異的に分子コンストラクトが発現することで、行動中のより短い時間枠で神経活動（活動電位）を示す神経細胞群を同定できるシステム、soma-targeted Cal-Light (ST-Cal-Light)²⁾を作製した。まず培養神経細胞系で、ST-Cal-LightがオリジナルのCal-Lightと比較して高いシグナルノイズ比で遺伝子導入を行えることを確認した。その後、マウスを用いたさまざまな行動実験系にST-Cal-Lightを応用し、運動機能学習、社会性行動、恐怖条件付け、薬剤誘発性てんかんの行動実験系において各行動・行動学的異常に関連する細胞群（責任細胞群）の解明を試みた。その結果、一次運動野、内側前頭前野、海馬のそれぞれの領域で神経活動を示した細胞を可視化し、光遺伝学を用いた神経活動の操作により、各行動系の責任細胞群の同定に成功した。さらに、ST-Cal-Lightによる遺伝子改変マウス系統を樹立し、特定の分子マーカーを発現する細胞群や神経回路の中から責任細胞群・回路を可視化・同定することを可能にした²⁾。

統いて、筆者らは、より詳細な神経回路メカニズムの解明のために、神経細胞同士の情報伝達を担い、精神疾患病態への強い関与が示唆されているシナプスの行動中の可視化を行った。他施設との共同研究で、二量体化依存的蛍光タンパク質

(dimerization-dependent green fluorescent protein: ddGFP) とシナプス接着タンパク質を結合させることで、行動中の動物でのシナプス動態の同時観察ツール SynapShotを開発した⁹⁾。培養細胞・神経細胞系を用いて、SynapShotのシグナルがシナプスの可塑性を反映する構造的変化（structural plasticity）に相関して蛍光強度が変化することを示した⁹⁾。次に、シナプスの動的変化の学習機能への関与を調べるため、SynapShotを用いて視覚刺激弁別課題を遂行中のマウスから、弁別学習に関連したシナプス可塑性の同時観察記録を行った。過去の文献から視覚刺激の弁別学習への関与が報告されているマウス前部帶状回（anterior cingulate cortex: ACC）と一次視覚野（V1）間の神経投射にSynapShotのコンストラクトを発現させ、V1の神経細胞の樹状突起上にある興奮性シナプスでSynapShotの蛍光シグナルを二光子励起顕微鏡下で観察した⁹⁾。その結果、学習途上のマウスの上記神経回路において、シナプスが多様な動的変化を起こしていることを明らかにした⁹⁾。

以上、筆者は精神疾患病態との関連が示唆されるさまざまな行動・行動学的異常の神経基盤の解明のための分子ツール開発を行ってきた。今後は、これらのツールを応用し、複数の精神疾患関連の遺伝子改変・変異動物で共通してみられる行動学的異常に着目し、その神経回路メカニズムの解明を生理学的な観点から理解していくことをめざしている。

本論文に記載した著者らの研究に関して、所属機関のすべての倫理的配慮のもと行われている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- Donaldson ZR and Hen R (2015) From psychiatric disorders to animal models: a bidirectional and dimensional approach. *Biol Psychiatry*, 77: 15-21.
- Hyun JH, Nagahama K, Namkung H, et al (2022) Tagging active neurons by soma-targeted Cal-Light. *Nat Commun*, 13: 7692.
- Nagahama K, Sakoori K, Watanabe T, et al (2020) Setd1a insufficiency in mice attenuates excitatory synaptic function and recapitulates schizophrenia-related behavioral abnormalities. *Cell Rep*, 32: 108126.
- Nestler EJ and Hyman SE (2010) Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*, 13: 1161-1169.
- Palmer DS, Howrigan DP, Chapman SB, et al (2022) Exome sequencing in bipolar disorder identifies AKAP11 as a risk gene shared with schizophrenia. *Nat Genet*, 54: 541-547.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511: 421-427.
- Singh T, Kurki MI, Curtis D, et al (2016) Rare loss-of-function variants in SETD1A are associated with schizophrenia and developmental disorders. *Nat Neurosci*, 19: 571-577.
- Singh T, Poterba T, Curtis D, et al (2022) Rare coding variants in ten genes confer substantial risk for schizophrenia. *Nature*, 604: 509-516.
- Son S, Nagahama K, Lee J, et al (2024) Real-time visualization of structural dynamics of synapses in live cells in vivo. *Nat Methods*, 21: 353-360.