The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	精神疾患における転写抑制因子NRSF/mSin3複合体形成阻害の創薬的意義に関する研究
Author(s)	川瀬, 啓生
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72331
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　川瀬　啓生　　）	
論文題名	精神疾患における転写抑制因子NRSF/mSin3複合体形成阻害の創薬的意義に関する研究

論文内容の要旨

精神疾患や発達障害の多くは,遺伝要因と環境要因からなるリスク因子間の複雑な相互作用により発症すると考えられている．またDNAの配列ではなくDNA・ヒストンタンパク質の化学修飾に依存する遺伝子発現制御メカニズム(エピジェネティクス)に関わる酵素や各種タンパク質の先天的な異常も，発達障害の一因となっていることが明らかになってきており，正常な脳の発生や発達にはエピジェネティックな遺伝子調節が必須であることが示唆されている．このような中，近年の臨床あるいは非臨床研究から，神経特異的転写抑制因子であるneuron-restrictive silencer factor (NRSF)を介するシグナルの亢進が，自閉スペクトラム症(autism spectrum disorder: ASD)やうつ病などの精神疾患に関与する可能性が示されてきた．NRSFは遺伝子プロモーター中の保存されたNRS 配列と結合し，mSin3やヒストン脱アセチル化酵素などと大きなリプレッサー複合体を形成することで，非神経細胞や神経前駆細胞において神経特異的な遺伝子の発現を抑制し，各種細胞の機能に重要な役割を担っている．しかしながら，NRSFシグナルの活性化がどのように病態と関連するのか，またその阻害が精神疾患の新たな創薬標的になるのかは不明である．本研究では，NRSFとmSin3の複合体形成を阻害するペプチド模倣低分子化合物(mS-11)を用いて，mS-11がうつ病やASDモデルマウスの行動異常を改善し得るかについて解析し，転写制御に関わるNRSF，mSin3の複合体形成阻害の創薬的意義を明らかにすることを目的に検討を行った．

グルココルチコイドであるコルチコステロン(corticosterone: CORT)の慢性投与マウスは，ストレス負荷によるCORT分泌の増加を模倣し，生体の主要なストレス応答機構である視床下部－下垂体－副腎皮質系の機能破綻を示すうつ様モデル動物として広く用いられている．本研究では，CORT (20 mg/kg)をマウスに1日1回1週間連続投与することにより，溶媒投与の対照群と比べ強制水泳試験での無動行動の増加がみられ，抑うつ様状態が観察された．また3週間の連続投与後においても，無動行動の増加が持続していた．このような条件下，CORT投与1週間後からmS-11を併用することにより，mS-11の投与2週間後において無動行動の減少がみられ，抑うつ様状態の改善が認められた．また，CORT慢性投与マウスでみられるメス選択性行動の低下といった無快感症(アンヘドニア)も，mS-11の2週間慢性投与により改善し，抗うつ効果が認められた．慢性的なストレス負荷により，マウスの大脳皮質前頭前野や海馬などにおいてモノアミンやその代謝物の含量，代謝回転に異常がみられることや，既存抗うつ薬である三環系抗うつ薬デシプラミン，セロトニン再取り込み阻害薬はモノアミン代謝に影響を与えることが知られているが，mS-11はモノアミン代謝には影響を与えず，モノアミン神経系とは異なる機序を介して，抗うつ効果を発揮している可能性が示唆された．うつ病患者の一部で血中IL-1β，IL-6，TNF-α，CRPなどの炎症性マーカーの上昇がみられることや，NRSFシグナルの亢進によ

り炎症性サイトカインが増加することが報告されており，うつ病の病態基盤の一つとして過剰な炎症反応や免疫系の異常が考えられる．本研究では，CORT慢性投与マウスの大脳皮質前頭前野や海馬においてIL-1β，IL-6 mRNAの発現が増加していること，mS-11がIL-1βの発現増加を抑制することを見いだした．さらに，CORTの慢性投与により，脳内において炎症性サイトカインを産生する主要な細胞であるミクログリアの数が増加すること，この作用はmS-11により消失することを明らかにした．IL-1βやIL-6遺伝子のプロモーター領域にはNRS配列が存在しないことから，mS-11は直接的にNRSFを介してIL-1β mRNA発現を調節しているのではなく，ミクログリアの増殖を(少なくとも部分的には)抑制することで，炎症性サイトカインの産生を抑制し，抗うつ作用を発揮している可能性が示唆された．一方，CORT慢性投与マウスの脳内においてNRSF，mSin3 mRNA発現量に変化は認められず，NRSFシグナルの異常を直接的に捉えることはできなかった．NRSFはmRNAレベルでの変化ではなく，核への移行，mSin3との会合，グルココルチコイド受容体との結合などにおいて異常が生じている可能性や，mS-11がNRSF以外にも作用することで抗うつ効果を発揮している可能性が考えられるが，詳細については不明である．

つぎに，ASD様モデルマウスに対するmS-11の作用について検討を行った．ASDの病因の詳細は不明であるが，臨床研究から，妊娠中にバルプロ酸ナトリウム(valproic acid: VPA)を服用すると小児における自閉症の発生率が増加することが示されている．マウスにおいても胎仔期にVPA (500 mg/kg)を投与すると，社会性行動の障害や認知機能障害，痛覚過敏やアロディニアなどのASD様の行動障害が観察されるが．これらの行動変化は，成体期にmS-11を2週間慢性投与することにより改善された．また，胎仔期VPA投与マウスの体性感覚皮質ではNRSF mRNAの発現増加が認められ，興奮性シナプス入力を受ける神経細胞上の樹状突起スパイン密度も低下していた．樹状突起スパイン密度の低下は，海馬CA1領域においても認められた．mS-11は，行動学的解析の結果と一致して，これらのスパイン密度の低下を回復させた．ASDなどの発達障害の病態メカニズムの一つとして，神経細胞でのシナプス可塑性に関わる樹状突起スパインの形態や密度の変化が関与している可能性が示唆されている．体性感覚皮質は社会性行動の制御と密接に関わっており，また大脳の痛覚中枢としても働く脳領域である．また，海馬は認知機能などに重要な役割を担う脳領域である．これらのことから，mS-11は樹状突起スパインの機能回復など，神経形態学的異常を改善することで，胎仔期VPA投与マウスの行動学的異常を改善した可能性が考えられた．

以上，本研究では，NRSFシグナルの亢進が報告されていたうつ病，ならびにASDに着目し，モデル動物を用いてmS-11の薬効評価とメカニズム解析を実施した結果，内因性のNRSFとmSin3の結合阻害が両疾患の新たな治療標的になり得る可能性を見いだした．mS-11は，モノアミン神経系とは異なる作用機序を介して抗うつ効果を発揮している可能性があり，従来の抗うつ薬では治療困難なうつ病にも有効であるものかもしれない．また現在，ASDの中核症状に対して有効な治療薬はなく，臨床的に痛覚の異常も大きな問題となっている．本研究の結果は，NRSFとmSin3の複合体形成を阻害する化合物が，ASDの全く新しい治療薬になり得る可能性を示すものである．今後，mS-11の作用機構をより詳細に解析していくことで，NRSF，mSin3を介するエピジェネティックな制御による精神疾患の病態分子基盤が明らかになるとともに，mS-11のような“Protein－Protein Interaction”を標的とする創薬が，精神疾患においても実現されることが期待される．

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　川瀬　啓生　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
主 査	教授	橋本　均
副 査	教授	藤尾　慈
副 査	教授	辻川　和丈

論文審査の結果の要旨

「精神疾患における転写抑制因子NRSF/mSin3複合体形成阻害の創薬的意義に関する研究」と題する論文において学位申請者は、うつ病や自閉スペクトラム症(autism spectrum disorder, ASD)モデルマウスの行動異常に対し、神経特異的転写抑制因子NRSFとコリプレッサーmSin3の複合体形成を阻害するペプチド模倣低分子化合物mS-11の薬効評価とメカニズム解析を実施し、NRSFとmSin3の結合阻害が両疾患の新たな創薬標的になる可能性を見いだした。この研究は、うつ病やASDの病態やその治療におけるNRSF－mSin3シグナルの役割の解明に貢献すると考えられる。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

NRSFは、遺伝子プロモーター中の保存された配列に結合し、mSin3やMeCP2、ヒストン脱アセチル化酵素などとリプレッサー複合体を形成することで、エピジェネティック機構による遺伝子発現調節に重要な役割を担っている。近年の臨床および非臨床研究から、NRSFの発現増加あるいは活性化がうつ病や発達障害に関与することが示唆されているが、NRSFを介するシグナルの亢進がどのように病態と関連するのか、またNRSFシグナルの阻害が精神疾患の新たな創薬標的になり得るのかは不明である。

本学位論文において学位申請者は、以下のことを明らかにした。

1. コルチコステロン慢性投与によるうつ様モデルマウスにおいて、mS-11の慢性投与は抑うつ様行動やアンヘドニア(無快感症)を改善する。
2. mS-11の抗うつ作用には、大脳皮質前頭前野や海馬におけるIL-1βやIL-6などの炎症性サイトカインの発現変化との関連が示唆される。
3. mS-11は脳内のモノアミン代謝に影響を与えず、モノアミン神経系とは異なる機序を介して抗うつ作用を発揮している可能性が示唆される。
4. 胎仔期にバルプロ酸を投与したASD様モデルマウスにおいて、mS-11の慢性投与は社会性行動障害、認知機能障害、痛覚過敏、アロディニア(異痛症)を改善する。
5. mS-11による胎仔期バルプロ酸投与マウスの行動異常の改善には、体性感覚皮質や海馬の神経細胞における樹状突起スパイン密度の低下の改善が関与している可能性が示唆される。

以上の結果は、NRSFとmSin3の複合体形成を阻害する作用をもつ化合物が、うつ病やASDの新しい治療薬になる可能性を示すものであり、既存薬とは異なる治療戦略を提供するものといえる。NRSFやmSin3を含む脳内炎症に関与する分子が、うつ病の新しい創薬標的分子となる可能性を示唆していること、またNRSFとmSin3の結合阻害作用を有する化合物が、未だ治療法のないASDの中核症状(社会性行動障害)と周辺症状(認知機能障害や痛覚異常)の両方に有効である可能性を見出したことは、今後の精神疾患の創薬開発に新たな視点を加えたと考えられることから、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。