

は、「胎児期の必須脂肪酸欠乏—統合失調症の発症基盤形成」という図式を想定し、多価不飽和脂肪酸欠乏食投与マウスを作製して具体的な分子メカニズムまで踏み込んだ研究を行うことにより、思春期頃に起こる前駆状態の出現から顕在発症に至る分子基盤の解明を目指している。脂質研究と統合失調症およびそのハイリスク状態の研究をエビデンスティック変化も含めて、多角的アプローチをもって研究を進めていきたいと考えている。

謝辞

本研究にご協力・ご指導いただきました、東北大学大隅典子教授、山口大学大和田祐二教授、富山大学浜崎景先生、理化学研究所分子精神科学研究チーム吉川武男チームリーダーおよび関係者の皆様方にこの場をお借りして心より感謝申し上げます。

- Freeman, M.P., Hibbeln, J.R., Wisner, K.L., Davis, J.M., Mischoulon, D., Peet, M., Keck, P.E., Jr., Marangell, L.B., Richardson, A.J., Lake, J., & Stoll, A.L. (2006) *J. Clin Psychiatry*, 67, 1954–1967.
- Peet, M., Shah, S., Selvam, K., & Ramchand, C.N. (2004) *World J. Biol. Psychiatry*, 5, 92–99.
- Reddy, R.D., Keshavan, M.S., & Yao, J.K. (2004) *Schizophr. Bull.*, 30, 901–911.
- Sublette, M.E., Bosetti, F., DeMar, J.C., Ma, K., Bell, J.M., Fagin-Jones, S., Russ, M.J., & Rapoport, S.I. (2007) *Bipolar Disord.*, 9, 759–765.
- Amminger, G.P., Schafer, M.R., Papageorgiou, K., Klier, C.M., Cotton, S.M., Harrigan, S.M., Mackinnon, A., McGorry, P.D., & Berger, G.E. (2010) *Arch. Gen. Psychiatry*, 67, 146–154.
- Watanabe, A., Toyota, T., Owada, Y., Hayashi, T., Iwayama, Y., Matsumata, M., Ishitsuka, Y., Nakaya, A., Maekawa, M., Ohnishi, T., Arai, R., Sakurai, K., Yamada, K., Kondo, H., Hashimoto, K., Osumi, N., & Yoshikawa, T. (2007) *PLoS Biol.*, 5, e297.
- Iwayama, Y., Hattori, E., Maekawa, M., Yamada, K., Toyota, T., Ohnishi, T., Iwata, Y., Tsuchiya, K.J., Sugihara, G., Kikuchi, M., Hashimoto, K., Iyo, M., Inada, T., Kunugi, H., Ozaki, N., Iwata, N., Nanko, S., Iwamoto, K., Okazaki, Y., Kato, T., & Yoshikawa, T. (2010) *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, 153B, 484–493.
- Maekawa, M., Iwayama, Y., Arai, R., Nakamura, K., Ohnishi, T., Toyota, T., Tsujii, M., Okazaki, Y., Osumi, N., Owada, Y., Mori, N., & Yoshikawa, T. (2010) *J. Hum. Genet.*, 55, 127–130.
- Susser, E., Neugebauer, R., Hoek, H.W., Brown, A.S., Lin, S., Labovitz, D., & Gorman, J.M. (1996) *Arch. Gen. Psychiatry*, 53, 25–31.
- St Clair, D., Xu, M., Wang, P., Yu, Y., Fang, Y., Zhang, F., Zheng, X., Gu, N., Feng, G., Sham, P., & He, L. (2005) *JAMA*, 294, 557–562.

- Arai, Y., Funatsu, N., Numayama-Tsuruta, K., Nomura, T., Nakamura, S., & Osumi, N. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 9752–9761.
- Maekawa, M., Takashima, N., Matsumata, M., Ikegami, S., Kontani, M., Hara, Y., Kawashima, H., Owada, Y., Kiso, Y., Yoshikawa, T., Inokuchi, K., & Osumi, N. (2009) *PLoS One*, 4, e5085.
- Sakayori, N., Maekawa, M., Numayama-Tsuruta, K., Katura, T., Moriya, T., & Osumi, N. (2011) *Genes Cells*, 16, 778–790.
- Sharifi, K., Morihito, Y., Maekawa, M., Yasumoto, Y., Hoshi, H., Adachi, Y., Sawada, T., Tokuda, N., Kondo, H., Yoshikawa, T., Suzuki, M., & Owada, Y. (2011) *Histochem. Cell Biol.*, 136, 501–513.
- Shioda, N., Yamamoto, Y., Watanabe, M., Binas, B., Owada, Y., & Fukunaga, K. (2010) *J. Neurosci.*, 30, 3146–3155.

前川 素子*, 島本 知英***

(*理化学研究所脳科学総合研究センター

分子精神科学研究チーム,

**お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科

ライフサイエンス専攻生命科学コース

細胞生化学研究室)

The role of fatty acids and fatty acid binding proteins in the development of schizophrenia

Motoko Maekawa* and Chie Shimamoto*** (*Laboratory for Molecular Psychiatry, RIKEN Brain Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan; **Laboratory for Cell Biochemistry, Humanities and Sciences, Department of Life Science, Ochanomizu University, 2-1-1 Ohtsuka, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8610, Japan)

鎮痛ペプチドを介した好中球の新しい生理機能：性周期の維持と痛みの制御

1. 序

好中球はヒト末梢血白血球の約60%、マウス末梢血白血球の約10%を占め、一般に感染や虚血再灌流に伴って局所に浸潤し、殺菌や組織傷害をもたらすと考えられている。しかし好中球は、生理的条件下であっても、性周期のうち発情後期に腔腔に排出される。この現象は実はかなり古くから知られており、その発見は、腔腔上皮細胞の形状が性周期において周期的に変化する現象が1917年 Stockard と Papanicolaou によってモルモットで初めて見いだされたあと、1922年 Long と Evans がラットの性周期を腔腔スメアによって決定する方法を発表したことにさかのぼ

る¹⁾と言われる。なおラットやマウスの性周期は、明暗サイクルによって駆動され、発情前期 (proestrus)、発情期 (estrus)、発情後期 (metestrus)、休止期または間期 (diestrus) の四つのフェーズを4~5日で一巡する。

マウス好中球の腔腔への排出はマウスでの好中球選択的ケモカインの一つ MIP-2 が腔腔上皮細胞に発現されることによると報告されている²⁾。一方、腔腔に排出された好中球の役割については腔腔常在菌の貪食、殺菌を行っている予想されてきたものの異論もあった。そこで我々は2005年に腔腔排出好中球の役割を調べるべく研究を開始した。マウス好中球は Gr-1 抗原を強く発現していて抗 Gr-1 抗体を投与することで一過的に枯渇することができる。抗 Gr-1 抗体で好中球を枯渇すると、先の予測と一致して腔腔中に球菌が多く認められた。ところが、性周期は視床下部-下垂体-卵巣系によってもっぱら支配されていると考えられてきたにもかかわらず、好中球枯渇により性周期が休止期で一時停止し、同時にステロイドホルモンレベル (エストラジオール, プロゲステロン) も異常値を示した³⁾。さらに好中球が枯渇されている間にステロイドホルモンレベルが正常値へと戻ることも観察された。これらのことは、好中球が性周期の維持に関わること、好中球に依存しないバックアップ機構が存在すること、を示唆している。その後の研究から、好中球は卵巣に浸潤するとおそらく鎮痛ペプチドの一つ β -エンドルフィンを出して性周期を維持していることがわかった⁴⁾。一方、好中球は炎症部位で β -エンドルフィンなどの鎮痛ペプチドを放出して痛みの制御に関わることが知られている⁵⁾。そこで本稿では両者を比較しつつ紹介したい。

2. 好中球を介した性周期維持機構⁴⁾

「好中球を介した性周期維持機構」の機序を明らかにする上で、好中球が雌生殖器のどこに検出されるかは重要であろう。調べた結果、好中球は発情後期の腔腔に多数検出されたが、子宮頸部や卵巣にはごく少数しか検出されなかった^{3,4)}。一方好中球がどの部位の血管から浸潤し始めるのかについても検討を重ねたが、はっきりとした結論が得られないでいた。

前節に述べた実験では、好中球の枯渇を抗 Gr-1 抗体の投与によって行った。しかし抗 Gr-1 抗体は好中球以外に好酸球を枯渇できるという報告もあり、雌生殖器 (腔腔, 子宮頸部など) には好中球だけでなく好酸球も存在するので、用いた抗 Gr-1 抗体が好酸球を枯渇するかどうかは重要である。調べた結果、我々の条件下では雌生殖器の好酸

球には影響がなかった。(我々は正常マウスを用いているのに対し、報告では感染マウスを用いていることが食い違いの理由かもしれないと現在のところ考えている。)

そのような中、卵巣では鎮痛ペプチドが卵胞の周囲の莢膜細胞 (theca cell) や顆粒膜細胞 (granulosa cell) に作用してそれらの細胞でのステロイドホルモン産生を制御しているという報告^{6,7)}がなされていることを知り、好中球由来の鎮痛ペプチドが性周期を維持しているのではないかと考えるに至った。

ナロキソンは鎮痛ペプチドの受容体拮抗薬として知られる。もし我々の仮説が正しければ、ナロキソンは性周期を停止させるはずである。結果は予想通りで、我々の用いた ICR 雌マウス (SPF, 5~7 週, 三協ラボ) の性周期は 4.7 ± 0.8 日 ($n=54$) であったのに対し、好中球を枯渇すると 7.7 ± 2.3 日 ($n=67$) に、ナロキソンを投与すると 7.9 ± 2.0 日 ($n=7$) に、いずれも統計学的に有意に増加した。一方、好中球を枯渇したマウスに鎮痛ペプチド受容体アゴニストの一つ DAMGO を投与すると 6.0 ± 0.7 日 ($n=5$) に短縮し、DAMGO 投与をしなかった好中球枯渇マウスとの差は統計学的に有意だった。DAMGO (μ オピオイド受容体選択的アゴニスト) と異なり、U-69593 (κ オピオイド受容体選択的アゴニスト) や DPDPE (δ オピオイド受容体選択的アゴニスト) には好中球枯渇マウスの性周期を短縮させる作用はなかった。 μ オピオイド受容体はエンドルフィンとエンケファリンに、 κ オピオイド受容体はダイノルフィンに、 δ オピオイド受容体はエンケファリンに、それぞれ特異性を持つ。以上の結果から、好中球由来の β -エンドルフィンが性周期維持に関わるのではないかと推定された。

白血球には鎮痛ペプチドが検出されると報告されている。実際、マウス末梢血好中球の約 35%、卵巣内血管中の好中球の約 26% に β -エンドルフィンの前駆体プロオピオメラノコルチン (POMC) が検出された (図 1A, Aa, Ab)。一方、血管から卵巣内に浸潤した好中球には POMC が全く検出されなかった (図 1C, なおラットでも好中球の約 40% に POMC が検出されたとの報告がある⁸⁾)。このことは、好中球が何らかの走化性因子によって卵巣へと浸潤すると、活性化されて β -エンドルフィンを放出することを示唆している。マウスでの代表的な好中球選択的ケモカイン MIP-2 あるいは KC に対する抗体を投与すると性周期が停止するので、 β -エンドルフィンの放出に MIP-2 あるいは KC が関与している可能性がある。また、好中球の卵巣への走化性因子も MIP-2 あるいは KC である可能性はあ

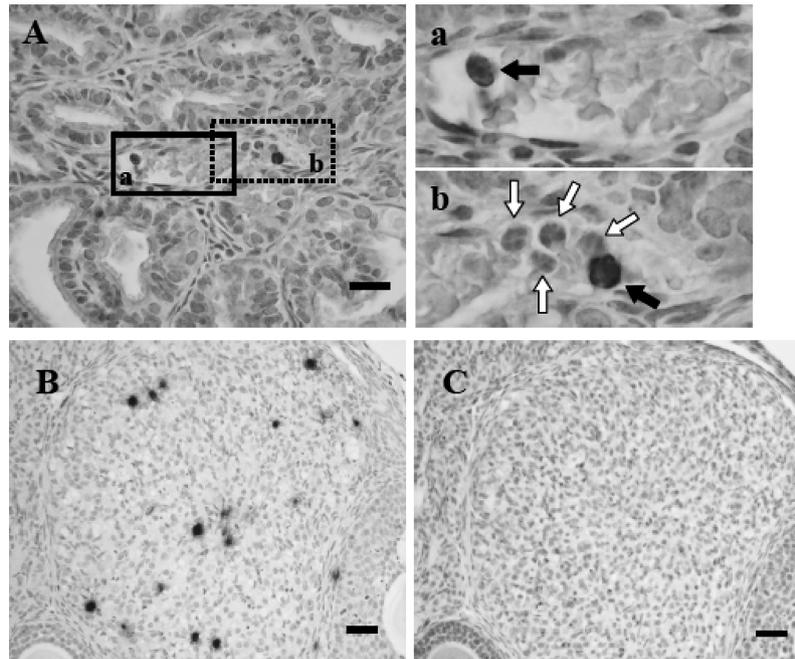


図1 卵巣における好中球とPOMCの免疫組織化学的検出

卵巣は発情期の午後6時に摘出され、パラフィン切片が作製された。切片は抗POMC抗体 (A, Aa, Ab, C) または抗Gr-1抗体 (B) で染色された。BとCは連続切片。なおAaとAbで、黒は陽性シグナル、白は陰性シグナルを示す。バーは25 μm 。(文献4より引用)

るが現在のところ確証はない。

一方、MIP-2やKCを静脈内投与することでも性周期の停止が見られた。この際、末梢血好中球のCD69の発現上昇(好中球の活性化)とともに、末梢血好中球中のPOMCが検出されなくなるを見いだした。これは、末梢血で異所的に活性化された好中球が β -エンドルフィンを放出してしまって、鎮痛ペプチドによる性周期維持ができなくなるからだろうと解釈される。ストレスを受けると血中IL-8レベルが上昇することが知られている⁹⁾ことから、この知見は臨床的にも重要であると考えている。

以上の結果などをもとに現在我々の想定している「好中球を介した性周期維持機構」を図で示した(図2)。

3. 好中球由来の鎮痛ペプチドを介した痛みの制御

傷や細菌感染に伴って炎症が起こると、プロトン、ATP、神経ペプチド、プロスタグランジン、ブラジキン、サイトカイン、ケモカインなど様々な物質が痛みを引き起こす。一方、炎症部位に浸潤した白血球(好中球、単球、リンパ球)は、鎮痛ペプチドを放出して、末梢感覚ニューロン上の鎮痛ペプチド受容体を介して、痛みを抑制する。

浸潤した白血球のうちどの細胞が鎮痛ペプチドを放出するかは炎症の時期によって決まっており、炎症の初期には好中球、後期には単球やリンパ球が中心となっている。

白血球由来の鎮痛ペプチドを介した痛みの制御はおもにドイツのSteinとMachelskaのグループによって報告されてきた⁵⁾。このような制御機構が存在する根拠としては、(i)末梢感覚神経に鎮痛ペプチド受容体が存在する、(ii)白血球にPOMC、プロエンケファリン、プロダイノルフィンのmRNAとタンパク質が検出される、(iii)炎症部位に鎮痛ペプチドを含有する白血球が集積する、(iv)白血球はコルチコトロピン放出ホルモン(CRH)やケモカイン(IL-8)などの適切な刺激を与えると*in vitro*で鎮痛ペプチドを放出する、(v)CRHを局所に投与すると痛みが減少し、局所のCRHを中和すると痛みが増す、などがある^{5,10,11)}。

彼らは最近、フロイント完全アジュバントによる炎症モデルではホルミルペプチド受容体が*in vivo*での鎮痛ペプチド放出に関わることを明らかにしている¹²⁾。フロイント完全アジュバントには結核菌の死菌が含まれ、結核菌はホルミルペプチドを持っているので、おそらくそれが作用し

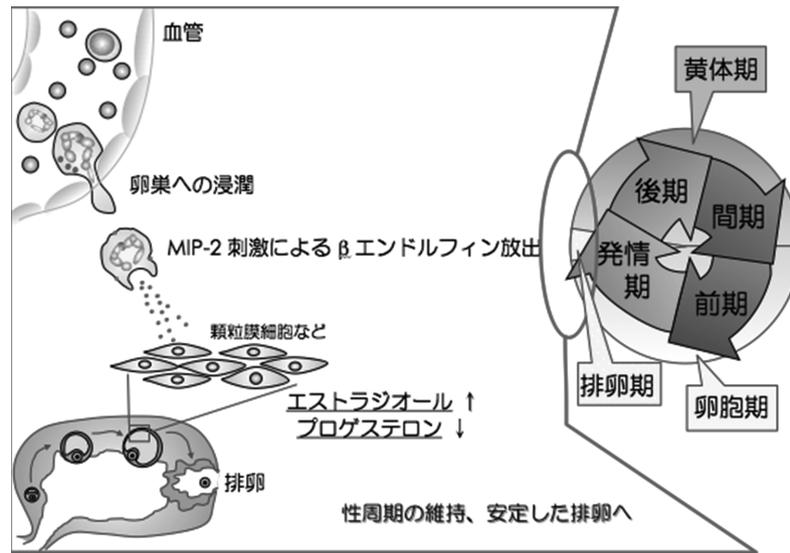


図2 好中球を介した性周期維持機構

ているのであろうというのが彼らの推測である。ただしフロント完全アジュバントによる炎症モデルでも MIP-2 や KC といったケモカインが産生されているだろうから、これらのケモカインが鎮痛ペプチドの放出に関わっている可能性も残されている。

4. まとめにかえて

好中球の顆粒には1次顆粒, 2次顆粒, 3次顆粒, 分泌顆粒があり, これらの顆粒成分はたとえば炎症反応において好中球が血管内皮から組織へと浸潤する過程で放出される¹³⁾。すなわち好中球が内皮と接着すると分泌顆粒から脱顆粒が起こって内腔側へと放出され, 内皮を通り抜ける時に3次顆粒から脱顆粒が起こって, 最後に1次, 2次顆粒からの(部分的)脱顆粒が起こる。鎮痛ペプチド(β-エンドルフィン, Met-エンケファリン)はこれらの四つの顆粒のうち, ミエロペルオキシダーゼと同じく1次顆粒に含まれる¹⁴⁾。

好中球由来の鎮痛ペプチドを介した痛みの制御が炎症反応の一部であると見なせるのに対し, 鎮痛ペプチドを介した性周期の維持は生理的反応で, その制御機構は多くが未知であり, 残された課題は多い。(i) 好中球の卵巣への走化性因子, 卵巣での活性化分子は何か, (ii) 卵巣で放出されているであろうβ-エンドルフィン量はどの程度か, (iii) その量は卵胞の周囲の莢膜細胞や顆粒膜細胞でのステロイドホルモン産生制御に十分か, (iv) 「好中球を介した性周期維持機構」の生理的意義は何か, (v) それは「好

中球に依存しない性周期維持機構」とどのような関係にあるか, 等である。これらのうち(iv)と(v)については最近「好中球を介した性周期維持機構」を欠如したマウスを発見した(佐々木ら, 未発表)ので, このマウスの解析により何らかの手がかりが得られることが期待される。

- 1) Goldman, J.M., Murr, A.S., & Cooper, R.L. (2007) *Birth Defects Res. (Part B)*, 80, 84–97.
- 2) Sonoda, Y., Mukaida, N., Wang, J., Shimada-Hiratsuka, M., Naito, M., Kasahara, T., Harada, A., Inoue, M., & Matsushima, K. (1998) *J. Immunol.*, 160, 6159–6165.
- 3) Sasaki, S., Nagata, K., & Kobayashi, Y. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 382, 35–40.
- 4) Sasaki, S., Tamaki, Y., Nagata, K., & Kobayashi, Y. (2011) *J. Immunol.*, 187, 774–780.
- 5) Machelska, H. & Stein, C. (2006) *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 1, 90–97.
- 6) Kaminski, T., Siawrys, G., Bogacka, I., Okrasa, S., & Przala, J. (2003) *Anim. Reprod. Sci.*, 78, 71–84.
- 7) Kaminski, T., Siawrys, G., Bogacka, I., Okrasa, S., & Przala, J. (2004) *Reprod. Domest. Anim.*, 39, 25–32.
- 8) Mousa, S.A., Shakibaei, M., Sitte, N., Schaefer, M., & Stein, C. (2004) *Endocrinology*, 145, 1331–1341.
- 9) Weik, U., Herforth, A., Kolb-Bachofen, V., & Deinzer, R. (2008) *Psychosom. Med.*, 70, 906–912.
- 10) Labuz, D., Schmidt, Y., Schreiter, A., Rittner, H.L., Mousa, S. A., & Machelska, H. (2009) *J. Clin. Invest.*, 119, 278–286.
- 11) Rittner, H.L., Labuz, D., Schaefer, M., Mousa, S.A., Schulz, S., Schaefer, M., Stein, C., & Brack, A. (2006) *FASEB J.*, 20, E2177–E2188.
- 12) Rittner, H.L., Hackel, D., Voigt, P., Mousa, S., Stolz, A., Labuz, D., Schaefer, M., Schaefer, M., Stein, C., & Brack, A.

(2009) *PLoS Pathog.*, e1000362.

- 13) Soehnlein, O., Weber, C., & Lindbom, L. (2009) *Trends Immunol.*, 30, 538–546.
 14) Rittner, H.L., Brack, A., & Stein, C. (2008) *Br. J. Anaesth.*, 101, 40–44.

小林 芳郎¹, 佐々木 宗一郎²

¹ 東邦大学理学部生物分子科学科分子医学部門,

² 金沢大学がん進展制御研究所分子生体応答研究分野)

A novel function of neutrophils via opioid peptides: maintenance of estrous cycle and regulation of pain

Yoshiro Kobayashi¹ and Soichiro Sasaki² (¹Division of Molecular Medicine, Department of Biomolecular Science, Faculty of Science, Toho University, 2-2-1, Miyama, Funabashi 274-8510, Japan; ²Cancer Research Institute, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa 920-1192, Japan)

難病発症に関わる内在性レトロエレメントの活性化とその機構

はじめに

これまでの生命科学は、主としてタンパク質をコードする遺伝子とその産物の機能解析を基本として行われてきた。しかし2001年にヒトゲノムの全配列が明らかにされ、タンパク質をコードする領域はヒトゲノムの高々約1%で、残りの99%は非翻訳領域から構成されていることがわかった¹⁾。すなわち、いわゆる「遺伝子」の解析だけでは生命現象の全貌を理解することは難しいことが容易に想像される。一方、「動き回りうる因子」(TPエレメント: トランスポゾン)は全ゲノムの約半分を占め(~45%), 非翻訳領域の主要な構成要素である。TPエレメントは繰り返し構造をとるため、これまでのゲノム解析ではいわゆる“ジャンク配列”と隅に追いやられてきた感があるが、近年、TPエレメントの動きが様々な疾病発症に関与する可能性が提唱されるようになった^{2,3)}。そこで本稿では、TPエレメントの一つである long interspersed element-1 (LINE-1 以下 L1) について、特に体細胞における動きに関与する細胞内外の因子について述べるとともに、疾患発症における L1 の関与の可能性について紹介する。

1. ヒトゲノム中に最も多く存在する L1

L1 は全ゲノムの 17% を占め、一細胞中に約 52 万コ

ピー存在する⁴⁾。ほとんどの L1 は構造変異を有しているため、機能性を示す L1 はきわめて少ない。しかし、機能性を保持した L1 が一細胞あたり 80~100 コピー存在することも報告されており、これらは「コピー&ペースト」によってゲノム間を動くことができる。特にこのうちの 10% はより機能的で、L1 全体の動きの約 80% をカバーすると試算されている。そして、正常細胞内で L1 の動きは約 100 回の出生に 1 回程度の頻度であると考えられている [レトロトランスポジション (retrotransposition), 以下 RTP]⁵⁾。L1-RTP により、ゲノム構造や遺伝子発現様式は変化し、出現した新しい遺伝形質はゲノム内に保存され次世代に伝播される⁶⁾。

L1 がヒトゲノム中を動くという事実は、血友病 A の原因である血液凝固第 VIII 因子遺伝子の解析で発見された¹⁾。その後、血液凝固第 VIII 因子遺伝子以外でも、L1 挿入による遺伝子変異はこれまで多数見いだされており、疾患発症との関連性も指摘されている。例えば、筋ジストロフィーや慢性肉芽腫症をはじめとする伴性劣性遺伝形質を示す疾患の発症に L1-RTP が関与していることが報告された (図 1A)。ヒトにおける L1 が血友病 A 疾患の突発例に見いだされたことから、これまで L1 の動きに関する解析は、主として胚細胞や胎生初期の胎児組織を対象に行われてきた。しかし、近年、様々なヒト腫瘍で L1-RTP が誘導されている例が見いだされ、特に大腸がんや乳がん組織において、がん抑制遺伝子である APC やがん遺伝子である c-myc 遺伝子内に、L1 が挿入されていることが報告された (図 1A)¹⁾。発がんとの関連では、腫瘍細胞の L1 の 5' 非翻訳領域 (untranslated-region: UTR) が脱メチル化状態になっていることや、L1 の発現を抑制すると腫瘍細胞の増殖や分化能が低下することが知られている。

2. L1 の構造と転移機構

L1 は全長約 6 kB からなり、約 900 塩基の 5' 側プロモーター領域である UTR と二つのタンパク質である ORF1 および ORF2 (open reading frame: ORF) をコードする。L1 は 5' UTR 上の RNA pol II プロモーターから mRNA が転写された後、ORF1 と 2 の作用に依存して逆転写され、新たなゲノム部に挿入される⁴⁾。ORF1 は塩基性に富むタンパク質で、RNA と複合体 (RNP) を形成し、核内へ運搬する。一方、ORF2 のエンドヌクレアーゼ活性によってゲノム上の 3'-A/TTTT-5' 配列部位が切断されると、L1 mRNA のポリ A テールが切断部位のポリ T ストレッチにアニールし、ORF2 の逆転写酵素活性によって逆