

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：統合失調症における神経発達障害の分子基盤解明
2. 研究開発代表者：貝淵弘三（名古屋大学・大学院医学系研究科）
3. 相手国研究代表者：ライナー・オリリー（ワイツマン科学研究所・分子遺伝学講座(イスラエル)
4. 研究開発の成果

統合失調症は思春/青年期から壮年期にかけて発症傾向を示す重篤な精神疾患である。その病態については中枢神経系の発達障害が示唆されているが、詳細な病態プロセスは分かっていない。これまでに私たちは、RAPGEF1やARHGAP26を含む新規統合失調症発症関連分子を多数同定している。加えて有望な統合失調症発症関連分子NDE1について疾患患者特有のミスセンス変異(S214F)を同定している。しかしながら、同定した発症関連分子がどのように病態プロセスへ関与しているかは不明であった。本課題で国際共同研究グループは、中枢神経系の発達に関わる統合失調症発症関連分子に着目し、疾患モデル細胞及びマウスを作製・解析することで統合失調症の分子病態機構の解明を目指した。具体的には日本研究グループが培養海馬神経細胞モデルを用いて新規統合失調症発症関連分子として同定したRAPGEF1やARHGAP26、また病因性NDE1変異として同定したNDE1-S214F変異体の過剰発現や遺伝子発現抑制解析を行い、神経形態・極性、シナプス形成・機能について評価した。神経発達過程においてRap1活性化因子であるRAPGEF1が未熟な樹状突起の形成に重要な役割を果たしていることを見出した。そして低分子量G蛋白質Rap1の過剰活性が樹状突起形成を阻害することも見出した。これらの知見はRap1シグナル伝達が統合失調症の神経発達障害に関与していることを示唆した。また病因性NDE1変異アリル(NDE1-S214F)に関わる分子病態メカニズムを明らかにするため、培養海馬神経細胞に当該アリルを遺伝子導入したところ軸索伸長が阻害されることを見出した(Kimura et al, Schizophr Bull, 41(3), 2015)。日本研究グループは野生型NDE1またはNDE1-S214F変異体を外来発現させた神経細胞を用いて免疫沈降実験、そしてマスマスペクトロメトリー解析を行った。マスマスペクトロメトリー解析の結果、100種類以上のNDE1相互作用分子を同定することに成功した。更にMaxQuantペプチド定量解析から10種類以上のNDE1相互作用分子について、野生型NDE1免疫沈降産物に比べてS214F変異型NDE1免疫沈降産物で共沈降量が減少していることが分かった。この結果は、S214Fアミノ酸変異が多くNDE1相互作用分子との結合に影響を及ぼしていることを示唆した。野生型NDE1とNDE1-S214F変異体は二量体を形成することができることから、神経発達過程においてS214Fはある種のdominant negative effectを有している可能性がある。in vitroにおける機能解析と並行して、イスラエル研究グループは組織・個体レベルでのin vivo解析から統合失調症の分子病態機構解明にアプローチした。子宮内電気穿孔法を用いた大脳皮質神経へのNDE1-S214F変異体発現は細胞移動の阻害を引き起こす一方で、野生型NDE1発現については影響が認められなかった。そして、NDE1-S214Fを発現する神経細胞では形態ならびに極性形成異常が認められた。またイスラエル研究グループはゲノム編集技術を用いてNDE1-S214F変異導入ES細胞およびマウスモデルを作製した。NDE1-S214F変異導入ES細胞において野生型NDE1とNDE1-S214F変異体はmRNA量および蛋白質質量に差異は認められなかった。本共同研究から私たちは、統合失調症発症関連分子の機能について細胞レベルから組織・個体レベルまで統合的に解析することで、Rap1シグナル伝達やNDE1複合体機構が病態プロセスに関与することを示唆する証左を得ることができた。