

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業 戦略的国際科学技術協力
推進事業 (イスラエル)
(英語) International Collaborative Research Program: Strategic
International
Research Cooperative Program (SICP)

研究開発課題名：(日本語) 統合失調症における神経発達障害の分子基盤解明
(英語) Molecular basis underlying neurodevelopmental disorders
in schizophrenia

研究開発担当者 (日本語) 名古屋大学大学院 医学系研究科 神経情報薬理学・教授・貝淵弘三
所属 役職 氏名：(英語) Nagoya University, Graduate school of Medicine, Department of Cell
Pharmacology・Professor・Kozo Kaibuchi

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)
開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

(日本語)

貝淵教授(名古屋大学大学院・医学系研究科)らは神経形態学および生化学的手法を駆使して、統合失調症発症関連分子 ARHGAP26 や RAPGEF1 の神経発達における役割、加えて統合失調症患者で認められた NDE1 疾患アリルが関わる分子病態基盤を明らかにすることを目指した。ライナー・オリリー博士(ワイツマン科学研究所 分子遺伝学講座 イスラエル)らの研究グループは発生脳を用いた *in vivo* 解析から統合失調症の分子病態機構解明を目指した。本研究事業で貝淵らは、低分子量 G 蛋白質 Rap1 の活性が樹状突起形成に関与することを見出した。更に RAPGEF1 が関わる統合失調症の分子病態を明らかにするため、RAPGEF1 相互作用分子の網羅的同定を行った。RAPGEF1 は幾つかの低分子量 G 蛋白質 Rab ファミリ

ーを含む輸送関連分子と相互作用していることが分かった。そして、大脳基底核において Rap1 シグナルが情動行動を制御することを明らかにした(Nagai et al, Neuron, 89(3), 2016)。また貝淵教授らは、*NDE1*^{S214F} 変異により影響を受ける NDE1 シグナル伝達経路を解明するため、野生型または NDE1 変異体を外来発現させた神経細胞を用いた NDE1 免疫沈降および定量マスペクトロメトリー解析を行い、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。そして NDE1 相互作用分子の中で、14-3-3 蛋白質は *NDE1*^{S214F} 変異によりその相互作用が低下することを見出した。NDE1 と 14-3-3 の相互作用は軸索伸長に参与していた(Kimura et al, Schizophrenia Bulletin, 41(3), 2015)。ライナー博士らの研究グループは子宮内電気穿孔法により野生型 *NDE1* および *NDE1*^{S214F} 変異体を遺伝子導入し、脳発生を *in vivo* 解析したところ、*NDE1*^{S214F} 変異体発現は大脳皮質の神経細胞層形成に影響を及ぼすことが分かった。更にライナー博士らは遺伝子編集技術を用いて *NDE1*^{S214F} 変異導入マウスを作製した。当該変異導入マウス脳を用いた定量プロテオミクス解析から 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。結果、Filamin-A/B や MPRIP を含むアクチン骨格制御因子と NDE1 の相互作用が S214F 変異により影響を受けていることを見出した。これらの解析から、S214F アミノ酸変異が多くの NDE1 相互作用分子との結合に影響を及ぼす統合失調症疾患アリルであることを示唆した。

(英語)

We aimed to elucidate the molecular pathology of schizophrenia (SCZ) using the applications of proteomic and neurodevelopmental approaches. For the goal, professor Kaibuchi (Nagoya University Graduate School and Graduate School of Medicine) focused on the susceptibility genes such as ARHGAP26, RAPGEF1 and NDE1 for SCZ. Dr. Orly Reiner (Weizmann Institute for Science Research Molecular Genetics lecture, Israel) and the colleagues addressed the molecular pathology of SCZ using *in vivo* imaging studies. In this study, we revealed the pivotal cues for understanding the pathology of the psychiatric disease. RAPGEF1, which is a guanine nucleotide exchange factor for Rap, is involved in dendritogenesis. Proteomic analysis identified many RAPGEF1-interactors including Rab-family small GTPases and their related regulators. The *in vivo* study demonstrated that Rap1 signaling modulated the neuronal excitability in basal ganglia for emotional behavior (Nagai et al, Neuron, 89(3), 2016). To examine the pathophysiology of SCZ, we focused on the missense mutation (*NDE1*^{S214F}) associated with SCZ in *NDE1* locus. We examined the NDE1-interactome using high-performance mass spectrometry. Among the Furthermore, the comparative proteomic approaches with wildtype NDE1 and the *NDE1*^{S214F} mutant revealed that the *NDE1*^{S214F} mutation affected the interactions of NDE1 with over ten cytoskeletal regulators including Filamin-A/B and MPRIP. To examine the pathological effect of NDE1-S214F mutation on neurodevelopment, we created genetically modified mice with *NDE1*^{S214F} mutation.

Taken together, these results suggest that *NDE1*^{S214F} mutation is implicated in cytoskeletal regulation.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Nagai, T., Yoshimoto, J., Kannon, T., Kuroda, K., and Kaibuchi, K. Phosphorylation Signals in Striatal Medium Spiny Neurons. Trends Pharmacol Sci, 2016, 37(10), 858-871

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 細胞内シグナルから考える情動と記憶の制御、招待講演、具淵弘三、第 39 回日本神経科学大会、2016/7/22、国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

該当なし