

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 神経発達関連因子を標的とした統合失調症の分子病態解明
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名 (研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

貝淵 弘三 (名古屋大学大学院 教授)

主たる共同研究者

尾崎 紀夫 (名古屋大学大学院 教授)

岩田 仲生 (藤田保健衛生大学医学部 教授)

高橋 努 (富山大学大学院 講師)

橋本 亮太 (大阪大学大学院 准教授)

3. 研究実施概要

本研究は、神経発達に関連する統合失調症発症脆弱性因子(DISC1、Dysbindin、Neuregulin-1など)に焦点を当て、それらの分子・生理機能を解明することにより統合失調症の分子病態を明らかにするとともに、発症脆弱性因子の結合分子を対象とした関連解析を推進し、新たな発症脆弱性因子の同定を進めた。更に、発症脆弱性遺伝子の変異マウスを作成し、病理学的、生理学的、行動学的解析を行うことで、統合的な分子病態の解明を目指した。

発症脆弱性分子の機能解明にあたり、NDEL1/14-3-3ε 複合体、Kinesin-1(モーター分子)、Girdin(actin 結合蛋白質)、HZF(mRNA 結合蛋白質)、Neuregulin-1(成長因子)、KALRN(Rho-GTPase 活性化因子)などを含む 122 種類の DISC1 結合蛋白質を同定した。神経発生過程において DISC1 は、NDEL1/14-3-3ε 複合体や Girdin を Kinesin-1 モーターに繋ぐカーゴアダプターとして働き、細胞移動や軸索伸長を制御していた。成熟神経において DISC1 は、Neuregulin-1 の細胞内輸送制御や mRNA の樹状突起輸送と局所翻訳を制御していた。また、DISC1 遺伝子欠損(DISC1-Ko)マウスの作製、および行動解析を行った。DISC1-Ko マウスは情報統合機能の低下、不安低下あるいは衝動性の亢進を示した。これらの行動異常は、統合失調症患者の精神症状と類似するものであり、抗精神病薬クロザピン投与により改善した。さらに 高感度の DISC1 特異抗体を作製し、DISC1 発現および局在を再評価した結果、新たな細胞種(グリア細胞)での DISC1 発現や DISC1 細胞内局在を明らかにした。

また、Dysbindin が AP-3 アダプター(小胞輸送制御)や Munc-18(神経伝達物質の放出に関与する蛋白質)に結合し、小胞輸送を制御することで、グルタミン酸やドーパミンの分泌に関与することを明らかにした。そして、Dysbindin-Ko マウスが探索意欲の減退や、不安の増強、社会的行動の異常を示すことを明らかにした。これらの知見から、統合失調症発症脆弱性分子 DISC1 や Dysbindin が様々な分子の輸送・局在を制御することを明らかにし、これら発症脆弱性分子が認知機能や情動行動に関わっていることを示唆した。

統合失調症を対象とした全ゲノム領域の関連解析を行い、複数のリスクとなりうるコピー数多型(CNV)、および一塩基多型(SNP)を同定した。特に本結果で強い関連を示したものでは、Notch4 や SULT6B1 が新規の統合失調症発症脆弱性因子として同定された。DISC1 結合蛋白質に着目して、日本人統合失調症患者ゲノムを用いた関連解析、およびリシーケンス解析を行ない、幾つかの DISC1 相互作用分子

(14-3-3ε や KALRN、NDE1)について統合失調症との関連を支持する所見を得るとともに、新規の稀なミスセンス変異を同定した。これらの遺伝学的知見は、貝淵らが明らかにした DISC1 分子パスウェイが統合失調症発症脆弱性に関連していることを示唆した。

統合失調症の中間表現型の作出のため、MRI 関心領域法を用いて DISC1 遺伝子多型(Ser vs. Cys)と脳形態の相関解析を行った。健常者では、DISC1-Ser/Ser 多型保因者は-Cys/Cys 多型よりも島短回や内側上前頭回の体積の減少が認められた。また統合失調症患者群において、Ser homozygotes の内側上前頭回体積は抗精神病薬投与量と正の相関を示した。14-3-3ε (DISC1 相互作用分子)の疾患リスクアレルが海馬容積の減少と相関していることを見いだした。また、ヒト統合失調症患者の死後脳解析と動物モデル(14-3-3ε-Ko mouse)から、TH(tyrosine hydroxylase)陽性線維のネットワーク形成不全が共通に認められることを示した。これらの研究成果は、DISC1 や 14-3-3ε の遺伝子多型がヒト脳機能に影響を及ぼすことを示唆した。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

DISC1結合蛋白とその機能解析に関する研究成果は世界的に高く評価されている。DISC1 が神経発生過程におけるカーゴアダプターとして働き、細胞移動や軸索の伸長を制御していることなどを明らかにし、また成熟神経においては Neuregulin-1 の細胞内輸送や mRNA の樹状突起輸送と局所翻訳を制御していることを明らかにした。さらに DISC1 KO マウスの作製に成功し、これが統合失調症モデルとなることを示した。

さらに DISC-1 結合分子をプロテオミクス解析により100種類以上同定し、その中からいくつかの候補分子を選び、日本人統合失調症患者ゲノムを用いた関連解析を行い 14-3-3ε、Kalirin、NDE1 など統合失調症で認められる稀な変異を同定するなど、有用な知見の数々を得た。

戦略目標の「疾患の分子病態理解」という観点からは、統合失調症発症脆弱因子(DISC1)などの分子・生理機能を検討し、これらが様々な分子の輸送・局在を制御することを明らかにし、これら発症脆弱性分子が認知機能や情動行動に関わっていることを示唆する結果を得るなど、その貢献は高く評価されるものである。一方、戦略目標の後段である「診断・治療へ向けた新技術の創出」に関しては、直接これに結び付くという意味での成果は出なかったが、DISC1 遺伝子欠損マウスの作製に成功したこと、このマウスの示す行動異常がクロザピン(抗精神病薬)により改善すること、また、DISC1 の特異抗体の作製に成功したことなど、今後の研究の発展にとって大きな貢献につながる知見を多数得た。また、統合失調症を対象とした全ゲノム領域解析を行った結果、複数のリスクとなる CNV, SNP を同定し新規の統合失調症脆弱因子を新たに同定した成果は重要である。

顕著な成果として次に3編の論文とその概要を記した。

(1) Roles of Disrupted-In-Schizophrenia 1-Interacting Protein Girdin in Postnatal Development of the Dentate Gyrus

概要:DISC1 が Akt キナーゼ基質である Girdin と結合し、両者の結合が海馬神経細胞の軸索の形成において重要であることを示した。RNA 干渉法で DISC1 を発現抑制した神経細胞では、Girdin の軸索成長円錐への局在が障害され、軸索伸長障害を引き起こした。Girdin ノックアウト(Ko)マウスでは歯状回顆粒細胞からの軸索の形成が顕著に障害されていた。以上の結果から、DISC1/Girdin 複合体は海馬歯状回の生後発生に重要な機能を果たしていることが示唆された。(Enomoto et al., Neuron, 63, 2009)

(2) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up

概要: 英国 Wellcome Trust Case Control Consortium、Cardiff 大学などとの共同で、統合失調症のゲノム関連研究及び大規模追試を行った報告である。研究者らは、全ゲノム関連研究のトップヒットに関して、1500 名の日本人サンプルを用いた追試を行い、複数の遺伝子多型が統合失調症と関連することを示した。メタ解析では、生物学的機能が未知である ZNF804A 遺伝子が、統合失調症と高い確度で関連していることを示し、本遺伝子が統合失調症リスクであることを報告した。(Nature Genetics 40, 2008)

(3) Behavioral alterations associated with targeted disruption of exons 2 and 3 of the Disc1 gene in the mouse

概要: DISC1 遺伝子欠損マウスの作製、および機能解析を行った。行動学的解析の結果、DISC1 欠損マウスは情報統合機能の低下、不安低下あるいは衝動性の亢進を示した。これらの行動異常は、統合失調症患者の精神症状と類似するものであった。また電気生理的解析から、シナプス可塑性に異常が認められた。また本研究で、幾つかのマウス亜種(129 & ICR mouse lines)で Disc1 遺伝子欠損が生じていることや DISC1-Ko マウスを用いた発現解析から、既存の多くの抗 DISC1 抗体について感度・特異性に問題があることを示した。そして、研究者らが作製した DISC1 新規抗体では、DISC1 が細胞内でゴルジ体に局在していることを見いだした。この結果は、既存の DISC1 に関する論文について、再評価が必要であることを示した。(Kuroda et al., Hum Mol Genet., 20, 2011)。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

DISC1 に関する基礎的研究の成果は十分に得られており、それ自体は高く評価される。一方、DISC1 およびその関連遺伝子の疾患への関与のデータは得られているものの、治療法への道はまだ見えておらず、社会還元という観点からはまだこれからという段階と言えるが、DISC1 ノックアウトマウスや抗 DISC1 抗体など利用価値の高い成果も得られており、これらは治療法の開発に寄与することが期待される。

また、DISC1を中心としたパスウェイの解析を進めることにより、統合失調症の遺伝要因からサブタイピングやターゲット分子の同定が可能になることも期待される。

4-3. 総合的評価

本研究課題は DISC1 中心にレベルの高い partner 解析や生理機構の解析がなされ、その結果に基づいて候補遺伝子のリシークエンスから感受性遺伝子の同定に成功するなど当初の研究計画に沿って着実な成果をあげた点は高く評価できる。すなわち、本研究課題「神経発達関連因子を標的とした統合失調症の分子病態解明」という観点からは、十分な成果を挙げたと評価することができる。しかしながら、統合失調症の病態の全てが解明された訳ではないことから考えれば、あまり性急に臨床への還元を期待すべきでないかもしれない。その意味では、KOマウスの作製に成功したことや特異抗体を得たことは将来、臨床に繋げる研究において有用であると思われる。今後はこれらの成果を踏まえて統合失調症のマーカーの開発が期待される。