

タンパク質結合ネットワークの解析による統合失調症の病態の解明

萬代研二

北里大学医学部 生化学

【研究の背景】

統合失調症は社会的損失の大きな精神疾患の一つで、本邦では人口の約1%が罹患する。病態に根ざした有効な治療法は乏しく、患者の QOL は低い。これまで多くの本疾患関連遺伝子が見出されているが、発症と病態の進展における、これらの遺伝子の意義は十分に解明されていない。

アクチン線維結合分子のアファディンは、細胞接着分子ネクチンに結合してカドヘリンに依存するアドヘレンスジャンクションの形成を制御する^{1,2)}。それによって、最終的に細胞間接着が形成される^{3,4)}。中枢神経系では、アファディンは、シナプスの接着装置様のタンパク質複合体のプンクタドヘレンシアジャンクション (PAJ) に局在し、PAJ の形成に必須の役割を果たしている⁵⁾。加えて、シナプス後肥厚部とシナプスの形態形成、ならびに興奮性シナプス伝達にも重要な役割を果たしている⁶⁾。研究代表者らは、これらの機構の解明の過程で、アファディンがシナプス後肥厚部に存在する分子の PSD-95 に結合する分子で、非症候性 X 連鎖性の知的障害の原因遺伝子でもあるマギンと結合することを見出している(論文準備中)。一方で、アファディンとマギンは、共に統合失調症との関連が報告されている^{7,8)}。

【目 的】

本研究では、アファディンとマギンのタンパク質結合ネットワークを同定し、統合失調症の発症と病態の進展との関係を見出し、新規治療法開発のための基盤を提供する。

【方 法】

(1) アファディンとマギンが共有するタンパク質結合ネットワークの同定

独自に作製した免疫沈降に使用可能なマギンの特異的抗体を用いて、脳の抽出液の免疫沈降を行い、マギン結合タンパク質を探索した。脳におけるアファディンの免疫沈降物のプロテオーム解析によるアファディン結合タンパク質の探索は先行実験で終えている。

(2) HA マギンノックインマウスの作成

HA タグで標識した内在性のマギンに対する免疫沈降を行うため、開始コドン直下に HA タグシーケンスをゲノムに挿入したノックインマウスを、ゲノム編集法を用いて作成した。

(3) アファディンとマギンが協働して担う、脳での細胞生物学的機能の解明

遺伝子改変マウスを用いて、脳においてアファディンとマギンが制御する細胞生物学的機能の解明を試みた。

【結 果】

先行実験によって得たアファディン結合タンパク質のリストからマギンとの結合が報告されている分子を見出し、マウスの脳抽出物において実際に内在性のマギンと免疫沈降されることを確認した。現在、この分子のマギンおよび、アファディンとの結合の生理学的意義と、そこでのそれぞれの分子の機能の解明に向けた実験を進めている。さらに、高い特異性でマギン

を免疫沈降するため、HA マギンノックインマウスを作成した。マウスの作成は終了し、HA マギンの発現を確認している。現在、HA 抗体を用いた免疫沈降産物のプロテオーム解析をおこない、アフアディンとマギンの両方に結合する分子群の全貌を明らかにするための実験を継続中である。

上述したがアフアディンは、シナプス後肥厚部とシナプスの形態形成、ならびに興奮性シナプス伝達に重要な役割を果たしている。そこで、これらのアフアディンの生理機能を参考にし、マギン遺伝子欠損マウスを用いてマギンの機能を解析した。その結果、マギン欠損マウスとアフアディン欠損マウスのシナプスにおける表現型がほぼ一致しており、アフアディンはマギンと協働して、グルタミン酸受容体のシナプスへの集積を介して興奮性シナプス伝達を制御していることを見出した(論文準備中)。

【考 察】

統合失調症は、環境因子ならびに、多数の遺伝子が関与して発症すると考えられており、単一遺伝子の機能解析から本疾患の病態を解明することは困難である。本研究では、共に統合失調症と関係するアフアディンとマギンの分子連関に着目し、両分子に結合する分子の同定を試みた。この分子連関の全貌と生理学的意義の解明は今後の課題であるが、これらの分子を中心としたタンパク質ネットワークの破綻が統合失調症の発症や病態の進展に関与している可能性があると考えられる。

遺伝子欠損マウスの解析から、アフアディンとマギンが共に興奮性シナプス伝達を制御していることを解明した。物理的に結合するアフアディンとマギンが同じ神経生物学的機能を生体内で果たしていることは、これらの分子とその結合分子のネットワークが果たす生理機能の重要性を示唆している。今後はこれらの分子群の更なる機能解析によって、統合失調症の病態との直接的な関係性を解明したいと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

タンパク質ネットワークの破綻が統合失調症の発症や病態の進展に関与している可能性があるという概念は、これまでほとんど検討されてこなかった。本研究の成果は、タンパク質ネットワークの破綻と疾患機序との関連性を見出す契機になる可能性があり、今後の研究の進展と臨床への橋渡し研究への発展が期待される。

マギン遺伝子のある種の変異を有する患児は知的障害とてんかんを発症する。本研究の成果は統合失調症との関連以外に、知的障害とてんかんの病態の本質的な理解にも貢献する可能性があると考えている。

【参考・引用文献】

1. Takahashi, K., et al., *Nectin/PRR: an immunoglobulin-like cell adhesion molecule recruited to cadherin-based adherens junctions through interaction with Afadin, a PDZ domain-containing protein.* J Cell Biol, 1999. **145**(3): p. 539-49.
2. Mandai, K., et al., *Afadin: A novel actin filament-binding protein with one PDZ domain localized at cadherin-based cell-to-cell adherens junction.* J Cell Biol, 1997. **139**(2): p. 517-28.
3. Mandai, K., et al., *Afadin/AF-6 and canoe: roles in cell adhesion and beyond.* Prog Mol Biol Transl Sci, 2013. **116**: p. 433-54.
4. Mandai, K., et al., *Nectins and nectin-like molecules in development and disease.* Curr Top Dev Biol, 2015. **112**: p. 197-231.
5. Sai, K., et al., *Multiple roles of afadin in the ultrastructural morphogenesis of mouse hippocampal mossy fiber synapses.* J Comp Neurol, 2017. **525**(12): p. 2719-2734.
6. Geng, X., et al., *Roles of afadin in functional differentiations of hippocampal mossy fiber synapse.* Genes Cells, 2017. **22**(8): p. 715-722.
7. Katsel, P., K.L. Davis, and V. Haroutunian, *Variations in myelin and oligodendrocyte-related gene expression across multiple brain regions in schizophrenia: a gene ontology study.* Schizophr Res, 2005. **79**(2-3): p. 157-73.

8. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics, C., *Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci*. Nature, 2014. **511**(7510): p. 421-7.