

| | |
|--------------|---|
| Title | Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth |
| Author(s) | 本田, 章子 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | none |
| URL | http://hdl.handle.net/11094/46019 |
| DOI | |
| rights | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

| | |
|------------|--|
| 氏名 | ほん だ あき こ 本 田 章 子 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 18916 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 16 年 4 月 15 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文名 | <i>Disrupted-In-Schizophrenia 1</i> , a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth (統合失調症候補遺伝子 <i>DISC1</i> は神経突起伸展に関与する) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 遠山 正弥 (副査) 教授 武田 雅俊 教授 辻本 賀英 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】統合失調症 (SZ) は、人口の約 1% に発症する比較的頻度の高い精神疾患であるが、その生物学的基礎は未だ良く分かっていない。ドーパミンを筆頭とする脳の神経伝達物質の異常に起因すると考えられている一方で、SZ は家族集積性に発現する疾患であることから、連鎖解析など遺伝子レベルでの解析も数多くなされている。SZ 候補遺伝子の一つに *DISC1* (*Disrupted-In-Schizophrenia 1*) が挙げられる。SZ を含む精神疾患患者のみられるスコットランドの一家系において、染色体上の転座が認められ、*DISC1* はその転座の生じている部位にコードされる遺伝子として 2000 年に同定された。転座により *DISC1* の正常な機能が障害されることが SZ を含む精神疾患発症につながると考えられ、SZ の原因遺伝子として注目されているが、その機能の詳細は明らかにされていない。私は、*DISC1* の機能解析によって SZ 発症機構を明らかにすることを目的として、以下の検討を行った。

【方法】

(1) *DISC1* の結合因子の同定

ヒト *DISC1* の C 末側領域を bait とした yeast 2 hybrid 法によりヒト脳ライブラリーをスクリーニングした。得られた複数の陽性クローンの内、*FEZ1* (*fasciculation and elongation protein zeta-1*) に着目して以下の検討を行った。*DISC1* と *FEZ1* との培養細胞内における結合は、免疫沈降法により検出した。

(2) *DISC1* 及び *FEZ1* の細胞内局在

SK-N-SH 細胞あるいはラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫染色法により調べた。細胞内の F-アクチンは phalloidin 染色により検出した。

(3) *DISC1* の神経細胞における機能解析

FLAG-tagged *DISC1* を恒常的に発現する stable transformant を PC12 細胞で作成した。この細胞内での *DISC1* と *FEZ1* との結合を、nerve growth factor (NGF) 存在下・非存在下で免疫沈降法により調べた。また、NGF 刺激による神経突起伸展を継時的に観察した。*DISC1* と *FEZ1* との結合の阻害は、*DISC1* のアミノ酸 446-633 を組み込んだ pIRES2-EGFP を強制発現することで行った。

(4) *DISC1* および *FEZ1* のラット脳内発現分布

In situ hybridization 法により調べた。

【成績】

(1) *DISC1* の結合因子の同定

Yeast 2 hybrid 法により *DISC1* の結合因子として *FEZ1* を同定した。*FEZ1* は protein kinase c の基質であり、PC12 細胞において神経突起伸長に関与することが報告されている。また 293T 細胞での強制発現系を利用した免疫沈降法により、培養細胞内での両者の結合が確認された。

(2) *DISC1* 及び *FEZ1* の細胞内局在

SK-N-SH 細胞において、*FEZ1* の細胞内局在は F-アクチンと一致していた。*DISC1* は細胞質全体にドット状に局在しており、一部が F-アクチンと一致していた。ラット海馬初代培養神経細胞では、*DISC1*、*FEZ1* 共に成長円錐上に強く発現しており、これは F-アクチンの局在と一致していた。

(3) *DISC1* の神経細胞における機能解析

FLAG-tagged *DISC1* を恒常的に発現する PC12 細胞内において、FLAG-tagged *DISC1* と内在性 *FEZ1* との結合は NGF 刺激により有意に上昇した。またこの細胞では、NGF 刺激による神経突起伸長が mock 細胞に比較して有意に亢進していた。この *DISC1* 発現による神経突起伸長の亢進効果は、*DISC1* と *FEZ1* との結合を阻害することにより抑制された。

(4) *DISC1* および *FEZ1* のラット脳内発現分布

DISC1、*FEZ1* 共に胎生 16 日で海馬領域で発現が認められ、その発現は誕生前後をピークとして、その後成長と共に減少した。

【総括】SZ 候補遺伝子 *DISC1* の結合因子として *FEZ1* を同定した。PC12 細胞を用いた実験より、*DISC1* は *FEZ1* との結合を介して神経突起伸長に関与していると考えられた。また *DISC1* 及び *FEZ1* のラット脳における発現は、胎生期から出生前後にかけて海馬で高いことが認められた。以上のことから、*DISC1* と *FEZ1* は海馬の回路形成に協調して関与しており、これが転座のキャリアーにおいては障害されていると考えられる。これらの知見は、SZ が海馬の形成異常に起因する疾患であるという仮説を支持するものであり、SZ 発症メカニズムの解明に有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、統合失調症の候補遺伝子として 2000 年に同定された新規遺伝子 *DISC1* の機能を分子生物学的手法によって解析し、統合失調症発症メカニズムについて考察したものである。

本論文では、まず yeast 2 hybrid 法により *DISC1* の結合因子として *FEZ1* を同定した。さらに PC12 細胞を用いた実験において、*DISC1* は *FEZ1* との結合を介して神経突起伸長に関与していることを示した。またラット脳において、*DISC1* 及び *FEZ1* は胎生期から出生前後にかけて海馬領域においてその発現が高いことを示した。以上の結果から、*DISC1* と *FEZ1* は海馬の回路形成に協調して関与しており、これが障害されることが統合失調症発症につながる可能性が考えられる。

このように、本論文は根治困難である統合失調症の発症メカニズムについて、その候補遺伝子の機能解析から解明を試みた先進的・独創的な研究であり、学術的にも有用な新知見である。従って、本論文は学位論文に値するものと考えられる。