



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

DISC1の変異によるオリゴマー化と統合失調症モデルマウスにおける情報伝達障害について

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-06-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 角田, 響介 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/77973

氏名（本籍）	角田 響介（大阪府）
学位の種類	博士（医科学）
学位授与番号	甲第 48 号
学位授与日付	平成 31 年 3 月 25 日
専攻	医療情報学専攻
学位論文題目	DISC1の変異によるオリゴマー化と統合失調症モデルマウスにおける情報伝達障害について (Oligomerization of DISC1 caused by a point mutation impairs information processing in a mouse model of schizophrenia)
学位論文審査委員	(主査) 教授 加藤 善一郎 (副査) 教授 上田 浩 (副査) 准教授 寺田 知新 (副査) 教授 桑田 一夫

論文内容の要旨

【背景】

タンパク質は正常な構造に折りたたまれることで、特有の機能を発揮することができる。しかし、II型糖尿病の膵島アミロイドポリペプチド、パーキンソン病における α シヌクレイン、ハンチントン病のハンチンチン、アルツハイマー病のA β のような特定の疾患に関連した病原性タンパク質は、プリオンライクなメカニズムにより、正常立体構造が異常立体構造に変換されることで、病気が進行し、かつ伝播すると考えられている。DISC1遺伝子は、統合失調症に代表される慢性の精神疾患に関連する原因遺伝子の候補である。DISC1遺伝子は854個のアミノ酸からなるタンパク質を構成するが、これまでのところ、DISC1単体における3次元立体構造は明らかにされていない。本研究では、DISC1タンパク質の形状、分子間相互作用、脳の病理学的変化、および統合失調症に関連する神経生理学的な病態の間の関連を明らかにしようと試みた。

【結果】

統合失調症の病態と関連するとされている変異 L607F を有する DISC1 部分ペプチド、(ヒト由来の DISC1; 598-678aa: HuL607F)、あるいはそれに対応するマウスの変異 L604F (マウス由来の DISC1; 595-675aa: MoL604F) を有する DISC1 部分ペプチドの構造は、蛍光、円偏光二色性、超遠心、動的光散乱、および核磁気共鳴の測定結果からは、それぞれの野生型 (HuWT、MoWT) の部分ペプチドと明確に区別することは困難であった。一方で、高速原子間力顕微鏡では、それらの形態学的な違いを分子全体の形状および分布において、観測することができた。WT の部分ペプチドは基本的に丸く、広範囲にわたって分布していた。しかし、変異体は不均一であり、二量体あるいは三量体を形成していた。また、明らかな線維体または凝集体を形成することなく、一方向に並んでおり、さらに、部分的に構造が破壊されていた。

CRISPR/Cas9を用いて作製したホモ接合型L604Fポイントミュータントマウスは、海馬領域のH&E

染色切片の顕微鏡画像において、WT、L604Fヘテロ接合型との間に識別可能な組織学的な違いは見当たらなかった。しかし、DISC1タンパク質の分布・発現量の差を明らかにするために行った免疫蛍光染色では、野生型・ヘテロ接合型と比較して、ホモ接合型変異マウスにおける海馬領域でのDISC1の発現量の有意な減少が示された。さらに、ホモ接合型変異マウスに対して音響驚愕反応試験を行った結果、プレパルス・インヒビション（PPI）の割合が、WTとヘテロ接合型マウスと比較して有意に低下した。

【考察】

蛍光、円偏光二色性、超遠心、動的光散乱などの多くの分光学的方法は、マイナーポピュレーションの信号が感度以下の場合には一般に観測できない。実際、WTとHuL607FあるいはMoL604Fにおける立体構造の相違を発見することは困難であった。

それとは対照的に、高速原子間力顕微鏡は、変性状態や少数のポピュレーションも観察することができる。この特性を生かして、HuWT、MoWTとHuL607F、MoL604Fの分子形状と分子間相互作用の明確な違いを明らかにした。HuWTおよびMoWTの分子形状は丸く、また、均一に分布していたが、HuL607FおよびMoL604F変異体分子は、二量体、三量体のようなオリゴマーを形成し、不均一に分布していた。また、ヘテロ接合型およびWTと比較して、L604Fホモ接合型マウスにおいてはPPIが有意に低下していた。DISC1分子のオリゴマー化とPPIの障害との間の相関関係は、DISC1のオリゴマー化が統合失調症の感覚運動異常に関与することを示している。したがって、異常な分子間相互作用によって引き起こされるDISC1タンパク質の分布または機能の変化は、統合失調症における情報処理の特性に関与する可能性があるという示唆を得た。

DISC1タンパク質の凝集性についてはこれまでも報告されていたが、L607Fの変異によりオリゴマー形成傾向が強まることは明らかにされていなかった。本研究で明らかになったDISC1タンパク質のオリゴマー化によって、統合失調症の発症リスクが上昇すると仮定するならば、そのような変異が遺伝子診断により見いだされた場合に、論理的創薬法によるメディカルシャペロンの開発により、その発症を防ぐことも可能になると考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究により、統合失調症に代表される慢性の精神疾患に関連する原因蛋白質の候補であるDISC1タンパク質の点変異に伴う分子形状、分子間相互作用、脳の病理学的変化、および統合失調症に関連する神経生理学的な病態の変化の間の相互連関が明らかとなった。

統合失調症の病態と関連するとされている変異L607Fを有するDISC1部分ペプチド、(ヒト由来のDISC1; 598-678aa: HuL607F)、及びそれに対応するマウスの変異L604F (マウス由来のDISC1; 595-675aa: MoL604F)を有するDISC1部分ペプチドの構造を、蛍光、円偏光二色性、超遠心、動的光散乱、および核磁気共鳴スペクトルを用いて測定したが、それぞれの野生型 (HuWT、MoWT) の部分ペプチドと明確に区別することは困難であった。しかし、高速原子間力顕微鏡を用いて、それらの形態学的な違いを分子全体の形状および分布において、観測することに成功した。野生型の部分ペプチドは基本的に丸く、広範囲にわたって分布していた。しかし、変異体は不均一であり、二量体あるいは三量体を形成していた。また、明らかな線維体または凝集体を形成することなく、一方向に並んでおり、さらに、部分的

に構造が破壊されていた。

CRISPR/Cas9を用いて作製したホモ接合型L604Fポイントミュータントマウスは、海馬領域のH&E染色切片の顕微鏡画像において、野生型、L604Fヘテロ接合型との間に識別可能な組織学的な違いは見当たらなかった。しかし、DISC1タンパク質の分布・発現量の差を明らかにするために行った免疫蛍光染色では、野生型・ヘテロ接合型と比較して、ホモ接合型変異マウスにおける海馬領域でのDISC1の分布量の減少が示された。さらに、ホモ接合型変異マウスに対して音響驚愕反応試験を行った結果、プレパルス・インヒビション (PPI) の割合が、野生型とヘテロ接合型マウスと比較して有意に低下した。

DISC1分子のオリゴマー化とPPIの障害との間の相関関係は、DISC1のオリゴマー化が統合失調症の感覚運動異常に関与することを示唆している。したがって、異常な分子間相互作用によって引き起こされるDISC1タンパク質の分布または機能の変化は、統合失調症における情報処理の特性に関与する可能性がある。

DISC1タンパク質の凝集性についてはこれまでも報告されていたが、L607Fの変異によりオリゴマー形成傾向が強まることは明らかにされていなかった。本研究で明らかになったDISC1タンパク質のオリゴマー化によって、統合失調症の発症リスクが上昇すると仮定するならば、そのような変異が遺伝子診断により見いだされた場合に、論理的創薬法によるメディカルシャペロンの開発により、その発症を防ぐことも可能になると考えられる。

従って申請者が見出した知見は、統合失調症の病態解明、及び治療薬開発に大いに貢献できると期待できる。こうした観点より、申請者角田響介の論文は学術的価値が極めて高く、博士学位論文に値するものと判定した。

最終試験結果の要旨

角田氏の論文は、統合失調症に関わる変異によるDISC1タンパク質の分子間相互作用の変化、脳の病理変化、および統合失調症に関連する病態の変化との間の関連を見出し、統合失調症の病態解明及び治療薬開発に大きくつながる画期的な内容をまとめたものであり、審査付き論文として公表済みの論文に基づく、完成された内容であることを確認した。

また、公聴会において、学位論文の内容に関する事項、すなわち、点変異によるDISC1の構造変化、病理変化、及び脳機能の変化、今後の研究の方向性などについての諮問を行った。

申請者からは、十分な内容の回答が得られたので、博士(医科学)に値するものと判断し、最終試験に合格したと判断した。

論文リスト

1 . Kyosuke Kakuda, Ayumi Niwa, Ryo Honda, Kei-ichi Yamaguchi, Hiroyuki Tomita, Md. Nojebuzzman, Akira Hara, Yuji Goto, Masataka Osawa, Kazuo Kuwata. A DISC1 point mutation promotes oligomerization and impairs information processing in a mouse model of schizophrenia. J. Biochem. In press [IF = 2.35 (2017/8)]