

2022 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：山田雅己

所属機関名・部局名・職名：福井大学・学術研究院医学系部門・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

核輸送因子 KPNA1 の未知機能の明白化と統合失調症発症への新機序の解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：疋田貴俊

(研究室名： 高次脳機能学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

統合失調症は、遺伝的素因に精神的ストレスなどの環境的要因が加わり思春期から成人期にかけて好発する。既存の治療薬(定型/非定型抗精神薬)は、薬効の不十分さや副作用が大きいことから、従来とは異なる作用機序での治療薬の開発が今後の課題である。近年、統合失調症患者を対象とした大規模なゲノム解析により、*KPNA1* 遺伝子の変異(異常)が複数報告された。*KPNA1* は、核輸送を担う代表的な因子であるが、既知の機能だけでは統合失調症との因果関係は説明できない。これまでに *KPNA1* 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いた行動解析実験の結果、統合失調症(様)症状の兆候とともに向精神薬フェンシクリジン (PCP) の薬剤負荷による脆弱性がみられた。これより、*KPNA1* KO マウスは Gene x Environmental interaction によって発症に至る精神疾患のモデル動物として期待できる。

本研究の目的は、*KPNA1* の未知機能を明白化し、*KPNA1* 遺伝子 KO マウスでみられる統合失調症(様)症状の発症機序への関与を分子レベルで解明することである。これより、*KPNA1* 遺伝子 KO マウスのヒト統合失調症疾患モデルとしての有用性を評価し、*KPNA1* の未知機能を糸口とした独創的なバイオマーカーや新規治療薬の開発につなげる。

今回私たちは、PCP 負荷による脆弱性についてさらに検討する為に、*KPNA1* 遺伝子 KO マウス脳から RNA を抽出し DNA マイクロアレイにより遺伝子の発現変動を網羅的に解析した。その結果、側坐核で微小管やモータータンパク質の構成因子などの軸索輸送や神経細胞遊走に重要な機能をもつ特徴ある遺伝子に薬剤負荷による顕著な発現低下がみられた。そこで、*KPNA1* のもつ軸索輸送あるいは神経遊走における機能の不全と *KPNA1* 遺伝子 KO マウスでみられる統合失調症(様)症状の関連を以下のように検証した。

【遺伝子発現変動】 *KPNA1* 遺伝子破壊マウス由来の脳(側坐核)における遺伝子変動を網羅的に解析した結果、細胞質ダイニン構成因子、ダイナクチン、神経細胞特異的 β III-Tubulin (Tubb3) など軸索輸送および微小管に関連する特徴ある遺伝子群の発現低下がみられた。さらに、向精神薬フェンシクリジンの負荷条件下でいくつかの遺伝子に顕著なる脆弱性がみられた。

【軸索(細胞内)輸送&プロテオミクス解析】 ライブセルイメージングの結果、*KPNA1* は、ダイニンやその輸送方向を制御するダイナクチン (P150) と微小管上で共挙動していた。また、ダイニン阻害薬 (Ciliobrevin) より、*KPNA1* の微小管輸送はダイニンに依存していることがわかった。免疫沈降及び微小管共沈実験より、*KPNA1* とダイニンが共沈することを LC-MS/MS 法と WB 法にて確認した。

【神経細胞遊走解析】 小脳顆粒細胞(凝集塊)を用いた *in vitro* 神経細胞遊走アッセイにおいて、*KPNA1*-KO 細胞での遊走活性の低下と核-中心体間距離の伸長(N-C カップリングの低下)が有意にみられた。