

神経細胞移動における核移行関連因子の機能的役割の解明。

研究代表者： 山田 雅己（医学系部門・教授）
共同研究者： 藤田 聡（工学系部門・准教授）

| 概 要 | |
|---------|---|
| | 精神・発達障害に共通する社会性行動の脳基盤を探索することは、病態解明に向けての有力な指針となり得る。私たちは、神経細胞内にその分子基盤があるのではないかと考えた。近年、複数の当該障害の発症に核移行因子が関与するとの報告が相次いでいる。本研究は、脳内での発現量が高く、統合失調症などとの関連が報告されている <i>KPNA1</i> の神経細胞内における新たな機能に着目した。まず、行動解析実験の結果より、 <i>KPNA1</i> 欠損マウスでは薬剤ストレス負荷による有意な脆弱性がみられた。今回、遺伝子発現差異解析の結果、 <i>KPNA1</i> 欠損マウス由来の脳組織において、細胞質ダイニンおよびその関連因子に顕著なる遺伝子発現の低下が見られた。今後は、 <i>KPNA1</i> の細胞内輸送および神経遊走活性における機能的役割を指標に、当該障害の病態解明に迫りたい。 |
| 関連キーワード | 核移行因子、微小管モーター、神経細胞移動、細胞内物質輸送、精神・発達障害 <i>KPNA1</i> (importin $\alpha 5$)、細胞質ダイニン |

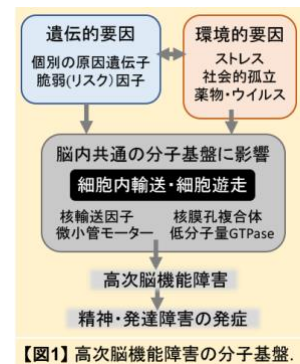
研究の背景および目的

精神障害のひとつである統合失調症、発達障害に分類される自閉症スペクトラム障害 (ASD) や注意欠如・多動性障害 (ADHD) は、相互間の併発率が高く、統合失調症の発症に先行して ASD や ADHD の症状が認められる場合も少なくない。当該障害は、疾病分類上は異なるものとして各々細分化されているが、中核症状である社会性行動の類似性や認知機能、脳画像、脳機能画像 (fMRI) における共通の所見が指摘されている。ASD、ADHD、統合失調症者の脳には、各々特徴的な発達傾向がみられるが、その機能を最適化できない点においては共通性が認められる。さらに、当該障害に関連する可能性のあるリスク (脆弱) 因子として、共通のものが多数報告されている。これまでに、当該障害の要因としては、遺伝、環境、脳機能の異常が指摘されているものの、根本的な治療法を生み出す為の研究の方向性は未だ共有できていない。前述の類似性より、当該障害に共通する社会性行動の脳基盤を探索することは、病態解明に向けての有力な指針となり得ることを示唆する。今回私たちは、神経細胞内にその分子基盤があるのではないかと考えた【図 1】。

KPNA (importin α) や *IPO* (importin β) は、代表的な核移行因子であり、細胞質から核内へと基質を輸送することで、外部からの多種多様なシグ

ナルを核内へと伝える。近年、統合失調症、ASD、ADHD 等の複数の精神・発達障害に核移行因子が関与していることが相次いで報告されている。しかしながら、当該障害における核移行因子の関与は、記憶・学習、情動など高次脳機能に関わる個々の情報を核内に伝達する従来の核移行活性だけでは、その機能的役割を説明することはできない。従って、核移行因子の神経細胞内における新たな機能的役割を明らかにすることは、当該疾患の発症に至る分子メカニズムを解明する為に重要である。

本研究課題は、細胞内輸送および神経遊走活性を指標に、核移行因子 *KPNA1* (importin $\alpha 5$) の神経細胞内における新たな機能的役割を明らかにすることを目的とする。さらに、精神・発達障害に共通する分子基盤を標的とした創薬探索を行い、汎用性の高い診断法、根本的治療法の確立を目指す。



研究の内容および成果

これまでの *KPNA1* 遺伝子欠損マウスを用いた行動解析実験の結果、新規物体認知機能の低下、社

会孤立ストレス負荷条件下での感覚運動統合の障害、うつ傾向、統合失調症様の症状を惹起するこ

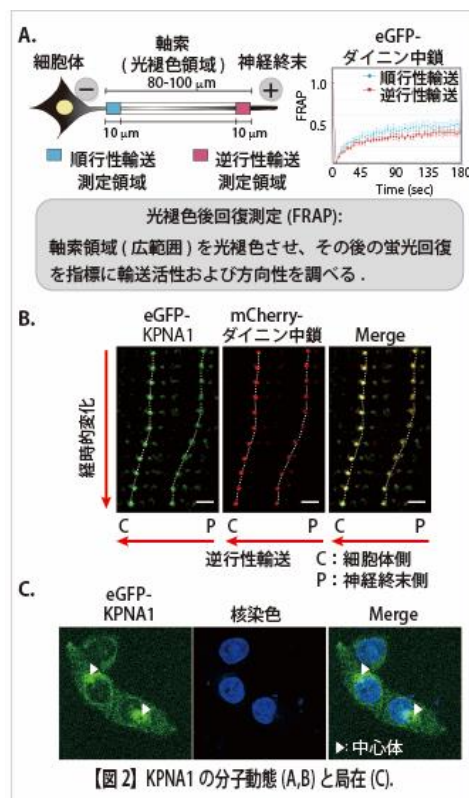
とが知られているフェンシクリジン(以下、PCP)に対する顕著な感受性の増大がみられた【足田ら】。

そこで今回、*KPNA1* 遺伝子欠損マウス由来の脳部位(側坐核)から抽出・精製したRNAを用いたDNAマイクロアレイにより、各遺伝子の mRNA レベルでの発現差異を野生型マウス由来のものと網羅的に比較した(Thermo Fisher Scientific)。【表1】に示したように、*KPNA1* 遺伝子欠損マウス由来の側坐核においては、微小管モーター蛋白質の一つである細胞質ダイニンの構成因子、細胞質ダイニン重鎖(DHC)および中鎖(DIC)において、顕著に遺伝子発現が低下していた。さらに、PCPによる薬物ストレス負荷の影響を調べたところ、*KPNA1* 遺伝子欠損マウスにおいて、DHC および DIC 遺伝子のさらなる発現低下が見られた。但し、PCPによる野生型マウス由来の側坐核から抽出したこれらの遺伝子発現に対する影響はほとんど見られなかった。

| 【表1】 <i>KPNA1</i> KOマウス側坐核における遺伝子発現の変化とPCPの影響. | | | | |
|--|--------|-------------|----------|---------------------------------------|
| ・ <i>KPNA1</i> KO(Cont.) vs WT(Cont.) | | | | |
| KO Avg | WT Avg | Fold Change | P-value | Gene |
| 7.25 | 11.04 | -13.83 | 1.32E-09 | <i>KPNA1</i> |
| 7.28 | 10.5 | -9.35 | 0.0015 | Cytoplasmic dynein heavy chain |
| 8.15 | 9.31 | -2.24 | 0.0007 | Cytoplasmic dynein intermediate chain |
| ・ <i>KPNA1</i> KO(PCP) vs WT(PCP) | | | | |
| KO Avg | WT Avg | Fold Change | P-value | Gene |
| 7.4 | 11.52 | -17.38 | 2.18E-08 | <i>KPNA1</i> |
| 6.61 | 10.96 | -20.42 | 0.0005 | Cytoplasmic dynein heavy chain |
| 7.01 | 9.5 | -5.63 | 0.0002 | Cytoplasmic dynein intermediate chain |
| 11.04 | 12.9 | -3.62 | 0.0067 | doublecortin |

次に、*KPNA1* の神経細胞内での新たな機能的役割を明らかにするために、【図2】のような実験を行い、微小管上での細胞質ダイニンとの関係を検討した。これまでに私たちは、細胞質ダイニンが微小管上で、順行性および逆行性の両方向に輸送されることを報告している【図2(A), FRAP 実験】

(Yamada et al, *EMBO J*, 2008)。今回私たちは、*KPNA1* が微小管上を細胞質ダイニンによって逆行性(神経終末から細胞体側へ)に輸送されていることを、ライブセルイメージングの結果より明らかにした【図2(B)】。また、興味深いことに、*KPNA1* の細胞内局在は、中心体近傍に強い集積がみられた【図2(C)】。一方、*KPNA1* 遺伝子欠損マウス由来の側坐核において、細胞質ダイニンと協調的に働き、微小管による核の牽引移動に重要な役割を果



たすことが報告されているダブルコルチン X の薬物(PCP)依存的な遺伝子発現レベルでの低下が見られた【表1】。これらより、*KPNA1* が細胞質ダイニンあるいは微小管関連因子と協調的に神経細胞遊走の律速段階となる微小管による核の牽引移動に関わっている可能性が示唆された。統合失調症、ASD、ADHD 者の脳は、神経遊走障害によって惹起されるとの報告があり、微小管モーターをはじめとする微小管関連因子が注目されはじめていることと矛盾しない。

今後は、細胞内輸送および神経遊走活性を指標に、核移行因子 *KPNA1* (importin $\alpha 5$) の神経細胞内における新たな機能的役割を明らかにすることで、精神・発達障害に共通する分子基盤を解明したい。さらには、これらを標的とした創薬探索を行い、汎用性の高い診断法、根本的治療法の確立を目指す。

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

特記すべき事項なし

「特記事項」

共同研究者：

足田貴俊(大阪大学蛋白質研究所)

岡正啓、宮本洋一(医薬基盤・健康・栄養研究所)