

核小体機能制御機構における核移行因子 KPNA1 の役割

研究代表者： 久富 理 (医学系部門・助教)

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

概 要	
研究代表者らは、脳神経細胞において核タンパク質を輸送する核移行因子のひとつである「KPNA1」が、核小体に局在する新規の現象を発見した。最近の研究により、核移行因子が神経精神疾患の発症と関係していることとあわせて考えて、神経精神疾患の発症機序において核移行因子が重要な役割を担うという仮説を立てた。これを明らかにするため、本研究は KPNA1 の核小体への局在の分子機構と生理的意義の解明を目指した。組織学的解析により、上記の KPNA1 の核小体への局在は、神経細胞特異的の可能性を示した。さらに、KPNA1 の過剰発現系による KPNA1 の細胞内局在解析により、統合失調症患者のゲノムにて検出された変異部位を持つ KPNA1 の場合、野生型よりも核小体に局在する割合が有意に増加することが明らかになった。以上の成果は、統合失調症型変異による KPNA1 の細胞内局在変化が細胞機能への影響を及ぼす可能性を示している。	
関連キーワード	核移行因子、核小体、細胞内イメージング、神経精神疾患

研究の背景および目的

統合失調症や認知症などの神経精神疾患は QOL を著しく損ね、かつ罹患率が高いことから (統合失調症では 100 人に 1 人)、有効な診断法や根治療法の確立が急務である。しかし、細胞レベルでの病態が未解明であるため、これらの治療法の確立は進んでいない。

このような背景の中、核タンパク質を細胞質から核へと輸送する因子「核移行因子」は、臨床研究により神経精神疾患との関連が相次いで報告されていることから (for Review: Pasha *et al.*, *Brain*, 2021)、医学的に注目が集まっている。この因子のひとつである「KPNA1」は、KPNA ファミリーの中で脳内での発現が最も高いことと、神経細胞への分化に伴う発現誘導が見られることから、神経系における KPNA1 の機能的役割が注目されている。さらに、最近のノックアウトマウスを用いた行動実験によって、社会的孤立 (Sakurai *et al.*, *PLoS One*, 2021) ならびに向精神薬投与 (Nomiya *et al.*, *Sci. Rep.*, 2024) といったストレスに対

して野生型と比べて有意に脆弱性を示し、精神疾患(様)の行動異常を示すことが報告されている。

研究代表者らは、マウス脳神経細胞の核内において KPNA1 が核小体に局在することを発見した(久富ら, 2023 年第 75 回日本細胞生物学会大会にて発表)。核小体はタンパク質翻訳を担うリボソームの合成の場として知られているが、近年の研究により、外界からのストレス応答のセンサーとして細胞の恒常性維持を担うことと、核小体の機能不全が神経精神疾患の発症に関わることが示唆されている。

これらの知見に基づき、本研究では神経細胞における KPNA1 が核小体に集積する生理的意義の解明し、神経精神疾患の発症機序の理解への基盤形成を目指す。上記の目的が達成され、本研究をさらに発展させることで、薬剤・遺伝子治療により KPNA1 や核小体の機能を回復させ、神経精神疾患の早期診断・予防・治療法の確立につながると期待される。

研究の内容および成果

1. 幼若マウスの種々の組織における KPNA1 の細胞内局在

脳神経細胞以外の組織における、上記の KPNA1 の局在の有無を検証するため、幼若マウス (生後 3~5 日) の種々の組織切片に対して免疫染色を行った。その結果、大脳皮質および後根神経節においては、

KPNA1 が核小体の構成分子のひとつ nucleophosmin (NPM1) と共局在している様子が認められた。いっぽう、腸管粘膜 (上皮組織)・胸腺 (リンパ組織)・大腿筋 (筋組織) といった神経組織以外においては、上記の局在は認められなかった (図 1)。これらの結果から、KPNA1 が核小体に局在する現象は、神経

細胞特異的である可能性が示された。

2. 統合失調症患者型変異が及ぼす KPNA1 の細胞内局在への影響

次に KPNA1 が核小体に局在する条件を探るため、いくつかの KPNA1 の構造を欠損させた変異体をマウス胎児由来線維芽細胞 (NIH-3T3 株) に過剰発現させたときの KPNA1 の細胞内局在を解析した。健常者型の KPNA1 (KPNA1^{WT} と表記) は核全体に局在し、核小体に相当する部位の蛍光輝度が核小体以外の核質における蛍光輝度と比べて高い値を示した。これに対して、統合失調症患者のゲノムにおいて検出された変異 KPNA1 の場合 (448 番目のアミノ酸残基「E: グルタミン酸」が終止コドンに置換されている, KPNA1^{E448X} と表記: Girard *et al.*, *Nat. Genet.*, 2011)、健常者型 KPNA1 と比較して核小体と核質との蛍光輝度の比が上昇していた (図 2)。この結果から、統合失調症型変異は KPNA1 の核小体への過剰な集積を引き起こす可能性が示された。

3. ライブ観察による核内の KPNA1 の挙動

KPNA1 が核小体に局在するタイミングを明らかにするため、NIH-3T3 株の過剰発現系における細胞分裂から核の再編成までの間における KPNA1 の細胞内局在について、タイムラプス撮影を行った。この実験において、核膜と核小体の再形成のタイミングを決定する指標として、Nup153 (核膜孔複合体の主成分のひとつ) と NPM1 の局在をそれぞれ解析した。実験の結果、細胞分裂して核膜が再形成されてからおよそ 1 時間後に核小体が再形成され、さらに 1 時間後に KPNA1^{WT} が局在することがわかった。これに対して、核小体への過剰な集積が見られた KPNA1^{E448X} の場合では、核小体が形成されるとほぼ同じタイミングで局在する様子が認められた。

まとめと今後の展望

以上より本研究成果は、神経細胞特異的に KPNA1 が核小体に局在することと、KPNA1 の統合失調症型変異により、KPNA1 の核小体への局在が過剰になることを示した。今後は、この局在は KPNA1 が特定の核小体分子と相互作用することが重要と予想して、現在 KPNA1 の結合相手を探索中である。これに加えて、KPNA1 欠損や統合失調症変異が及ぼす神経細胞ならびに個体への影響を明らかにすることで、KPNA1-核小体を介した神経精神疾患の発症機序を明らかにしていきたい。

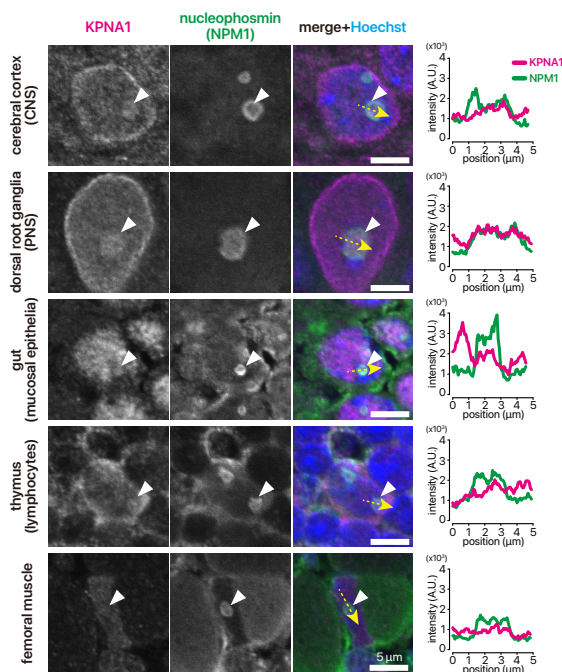


図 1. 幼若マウスの種々の組織における KPNA1 の局在. 白矢尻、黄色矢印はそれぞれ核小体の局在箇所・蛍光輝度プロット (右グラフ) の方向を示す。

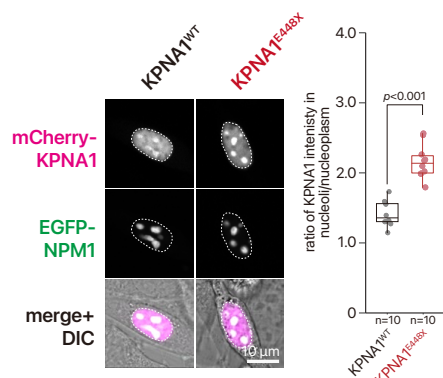


図 2. 過剰発現系における健常型 (WT) と統合失調症型変異 (E448X) の KPNA1 の細胞内局在. 左画像における白破線は核の輪郭を示す。右グラフの値は、核小体/核小体を除く核質の KPNA1 の蛍光輝度の比を示す。核小体は NPM1 の局在部位と定義して解析した。

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」

Osamu Kutomi, Katsutoshi Mizuno, Masami Yamada, *International Symposium on Nuclear Structure and Function* (シンポジウム, ポスター発表), 2024. 3. 12-13 (RIKEN, 和光) .

「特記事項」 該当なし

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」
科学研究費 基盤研究 C. 代表. 総額 4,680 千円.
2023 年度～2025 年度 (予定). 獲得.
(その他、民間財団の助成に随時申請予定)