

平成 30 年 5 月 14 日現在

機関番号：33706

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06787

研究課題名(和文) スプライシング異常に着目した統合失調症発症機構の解明と新規RNA医薬の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of onset of schizophrenia caused by aberrant splicing and development of novel RNA medicine

研究代表者

眞部 孝幸 (Manabe, Takayuki)

中京学院大学・看護学部・教授

研究者番号：90382283

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年多くの精神疾患関連遺伝子の選択的スプライシング(AS)異常が報告されている。本研究成果により、hnRNP A1の発現バランスが脳構築過程におけるASに重要であり、その攪乱が、髄鞘や神経細胞の分化異常を来すことが解った。この現象には、すでに精神疾患で関連が指摘されている因子群が広く関与していた。一方hnRNP A1には、新規のAS産物が存在し、各臓器で発現が違っても解った。また、新規AS産物と既存のAS産物が複合体を形成し、これらAS産物複合体の発現バランスの違いが、各種臓器間での機能や脆弱性の違いに関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recently, aberrant regulation of alternative splicing (AS) of many psychiatric disease-related genes has been reported. Based on the results of our study, it was found that the expression balance of hnRNP A1 is important for AS in the brain constitution process, and that disturbance causes aberrant differentiation of myelin sheath and neurons. This phenomenon was widely involved in factors that have already been pointed out in mental illness. On the other hand, novel AS products were present in hnRNP A1, and these were also revealed that the expression of these variants were different in each organ. It was also suggested that the new AS variants forms a complex with the existing AS product and the difference in the expression balance of these AS product complexes may be involved in the differences in functions and fragility between various organs.

研究分野：神経化学

キーワード：選択的スプライシング 統合失調症 オリゴデンドロサイト hnRNA A1

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム計画による成果は、ヒトの遺伝子数が蛋白質分子の数から予想された数値を遥かに下回る高々2,2000 個余りである事を明らかにした。これら遺伝子が、十数万種もの蛋白質因子を作り上げることから考えると、選択的スプライシングの重要性を再認識させるものであった。この調節は巧妙かつ精巧に行われ、この破綻は、シナプス形成、脳発達・成熟段階はもちろんのこと多くの疾患病態に関与していることが想定される。実際に精神疾患、神経変性疾患等の患者の脳内において、種々の遺伝子のスプライシング異常が報告されている。申請者は学生時代より脳科学領域で研究を行ってきたが、十数年前よりこの選択的スプライシングと脳の発達・分化、シナプス形成、あるいは疾患発現について研究してきた。申請者は、孤発性アルツハイマー病においてその原因遺伝子プレセニン2の異常スプライシングを発見し、そのメカニズム解明を世界に先立って報告してきた。また近年、この因子のスプライシング異常が統合失調症患者脳においても、その主要な病変部位の一つである前頭前野で報告されたことは非常に興味深い。一方近年の脳研究が、めざましい進歩を遂げているにも関わらず、統合失調症研究は未だ萌芽状態にあると言わざるを得ない。統合失調症は、100人に1人という高い有病率や10%にもおよぶ自殺率等、多岐に渡る精神症状が社会に及ぼす深刻な影響に鑑みれば統合失調症のメカニズム解明と有効な治療法開発は焦眉の急といえる。

2. 研究の目的

我々は、当疾患の多岐に渡る病態と、広範な選択的スプライシング抑制因子 hnRNPA1の機能異常に相関性があり、脳構築に異常を呈する事を示してきた。これらに基き本研究課題ではhnRNPA1の神経系細胞分化攪乱のメカニズムを解明し、異常スプライシングを標的にした新規統合失調症のRNA医薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

1) hnRNP A1 の過剰発現が、オリゴデンドロサイト分化(ミエリン化)に与える影響を検討するために、ヒトオリゴデンドロサイト前駆細胞のセルライン M03.13 株を用いて検討した。また、神経分化への影響を検討するために、ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH 細胞を用いて検討した。

2) 下流の遺伝子を明らかにするために、マイクロアレイ法を用い、その後パスウェイ解析を行った。

3) この時の、hnRNP A1 の過剰発現が引き起こすオリゴデンドロサイト分化異常時に、統合失調症関連遺伝子で且つ脳構築に関する遺伝子の異常スプライシングを解析した。

4) 逆に、hnRNP A1 のノックダウンによる影響を同様に検討した。

5) 当初の研究計画にはなかったが、新規のhnRNPA1 スプライシング変種が存在し、それらが深く関与していることが明らかになったため、新規バリエーション特異的抗体を作成し解析した。また野生型同様に分化への影響を検討した。

4. 研究成果

1) hnRNPA1 のオリゴデンドロサイト分化への影響

本研究により、hnRNPA1 の発現バランスが脳構築過程における選択的スプライシングに重要であり、その攪乱が、髄鞘や神経細胞の分化異常を来すことが明らかになった。この現象には、マイクロアレイ法およびその後のパスウェイ解析によって炎症・免疫系を含むすでに精神疾患で関連が指摘されているような因子が広く関与していることも解った。

2) 新規 hnRNPA1 スプライシングバリエーションの発見

hnRNPA1 は全身を通して大量かつユビキタスに発現していることからあまり着目さ

れてこなかったが、hnRNPA1 の発現は単純ではなく、まだ報告されていない選択的スプライシングバリエーションが存在すること、それは各臓器で発現が違うことなどが解った。

3) 新規 hnRNPA1 バリエーションの機能

新規バリエーションを強制発現させると、各バリエーションの発現量が均等になり、バリエーション B の強制発現は各バリエーションの発現に影響を与えなかった。また、新規バリエーションを強制発現させた場合でも、野生型の強制発現と同様にオリゴデンドロサイトの分化を攪乱させる。一方、独自に作成した新規バリエーション特異的抗体を用いて、新規バリエーションと既存のバリエーションが複数個の複合体を形成していることを明らかにすることができた。これらの結果から、hnRNPA1 によるオリゴデンドロサイト分化の攪乱は、hnRNPA1 の各種バリエーションの発現バランスが重要であることが示唆された。これらバリエーション複合体の発現バランスの違いが、各種臓器間での機能や脆弱性の違いに関与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Manabe T. and Wanaka A. (2017). Regulation and/or Repression of Cholinergic Differentiation of Murine Embryonic Stem Cells using RNAi Against Transcription Factor L3/Lhx8. *Methods in Mol. Biol.* 1622, 101-109.

Izumo N, Ishibashi Y, Ono Y, Toho M, Sumino A, Kameyama T, Morikawa T, Shiba Y, Watanabe Y, Manabe T. MU314, a novel selective estrogen receptor modulator (SERM), improves estrogen-dependent depressive behaviors. *Global Drugs and Therapeutics.* 2(5), 1-5.

Izumo N, Ono Y, Inatomi C, Toho M, Katoh S, Tsuzuki S, Manabe T. Watanabe Y. (2017). Potentiation of nerve growth

factor-induced neurite outgrowth by a novel SERM, MU314, in PC12 cells. in press.

Ishibashi Y, Izumo N, Iwata K, Morikawa T, Kameyama T, Watanabe Y, Manabe T. and Matsuzaki M. (2016). Fluvoxamine reverses estrogen-dependent decline in voluntary activities and decreased amygdala levels of serotonin in ovariectomized rats. *J. Brain Sci.* 46, 5-19.

Manabe T. (2016). Drugs and therapeutics as global pharmacology. *Global Drugs and Therapeutics.* 1(2), 1.

Miyatake Y, Matsuzaki S, Taniguchi M, Takamura H, Yamada K, Hattori T, Kameyama T, Manabe T. Tohyama M, Katayama T. (2015). Identification and characterization of a novel splice variant of disrupted in schizophrenia 1 (Disc1). *J. Brain Sci.* 45, 5-34.

[学会発表](計2件)

眞部孝幸. スプライシング異常から解析する精神疾患 - ヒト hnRNPA1 の新規 isoform とその機能 - . 2015年12月. 金沢大学と北陸先端科学技術大学院大学 RNA 研究公開合同セミナー 特別講演 (金沢).

森川智美、眞部孝幸. グローバルなスプライシング抑制因子 hnRNPA1 の発現量・発現様式の違いと神経ホメオスタシスの攪乱. 2017年3月. シンポジウム「臓器間ネットワークからみる恒常性維持機構の破綻 - 神経系、代謝内分泌系、免疫系からみた生体情報のクロストーク制御と病態発症 - 」. 日本薬学会第137年会(仙台)

[図書](計1件)

柴裕子、森川智美、眞部孝幸. (2016). アルツハイマー病における PS2V 研究の新展

開. 脳 21, 19, 102-105.

〔産業財産権〕(計 0 件)

なし

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

眞部 孝幸 (MANABE, Takayuki)

中京学院大学・看護学部・教授

研究者番号： 9 0 3 8 2 2 8 3

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

森川 智美 (MORIKAWA, Tomomi)

中京学院大学・看護学部・研究補助員

研究者番号： なし