

平成 21 年 3 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591661
 研究課題名（和文） 精神神経疾患の分子生物学的発症機構の解明に向けて
 研究課題名（英文） Functional analysis of schizophrenia-susceptible gene dysbindin
 研究代表者
 山口 淳 (YAMAGUCHI ATSUSHI)
 千葉大学・大学院医学研究院・准教授
 研究者番号：00314336

研究成果の概要：

当該研究は統合失調症脆弱性遺伝子 Dysbindin の神経細胞における機能解析を施行。Yeast Two-hybrid System によるスクリーニングで、結合タンパク質として膜タンパク質の輸送・sorting に関与する SNX5 を同定した。細胞性免疫染色法により、Dysbindin と SNX5 は細胞質で共局在し、*in situ* hybridization 法を用いた解析では、両者とも脳の広範囲で発現を認めた。Endocytosis 解析で、両者の相互作用が受容体の取込み・分解に関与することが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,800,000	540,000	2,340,000
20年度	1,700,000	510,000	2,210,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科

キーワード：機能脳神経外科学、脳・神経、神経科学

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、思春期から青年期に発症することが多く、全世界で生涯発症率が約 1% と高率で、約 2 割の患者は中等度から重度の残遺症状を残し生活に支障をきたすとされており、患者本人のみならず、家族や社会にとっても精神的、社会的、経済的な苦痛・損失は計り知れず、その早急な発症機構解明と治療法開発が望まれている。

Dysbindin は、独立した複数の研究グループにより独立した集団を使い、これまで少なくとも 5 報以上、その統合失調症脆弱性遺伝

子としての可能性を支持する報告があり、統合失調症の脆弱性遺伝子の一つとしての可能性が高い。この Dysbindin の神経細胞における機能解析を行うことで、統合失調症の発症機構の解明に繋がる可能性がある。

2. 研究の目的

以下の(1)、(2)より統合失調の発症機構解明の糸口を掴む。

(1) 統合失調症の脆弱性遺伝子 Dysbindin が相互作用する因子の同定。

(2) 同定した因子の分子生物学的解析。

3. 研究の方法

- (1) Yeast two-hybrid system
- (2) 免疫沈降法による結合確認
- (3) 細胞免疫染色法による細胞内局在の確認
- (4) *In situ* hybridization 法による脳内分布
- (5) Real time PCR 法による組織分布
- (6) Endocytosis assay

4. 研究成果

(1) Dysbindinのcoiled-coil 部位(Figure 1)を bait として、Human brain cDNA library を用いた yeast two-hybrid system による screening を行った。この結果、Dysbindin と相互作用因子する因子として、膜タンパク質の取込み・Sorting などに関する SNX5 を同定した(Figure 2)。

Figure 1 Dysbindin の構造

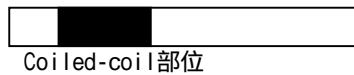
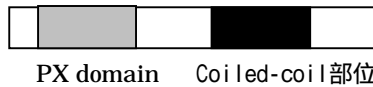


Figure 2 SNX5 の構造



(2) 免疫沈降法により、両者の哺乳類細胞内で結合を確認した(Figure 3)。また、SNX5 の欠損体による解析により、Dysbindin と SNX5 の結合には、SNX5 の全長が必要であった(Figure 4)。

Figure 3 免疫沈降法による結合確認

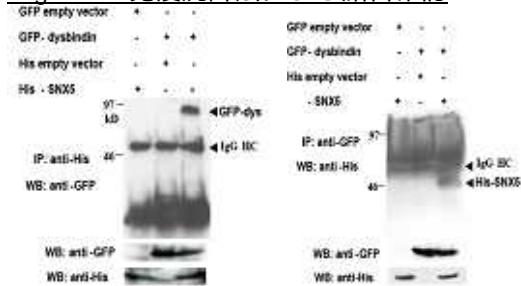
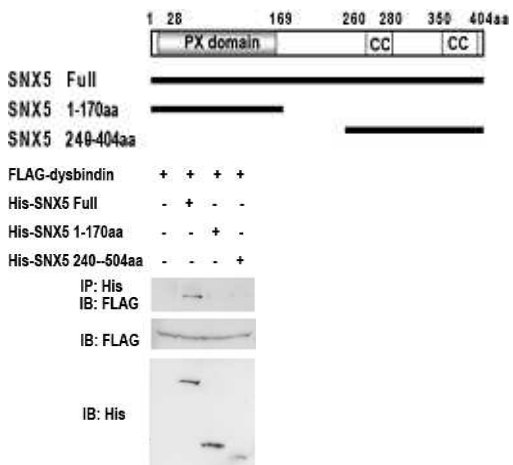
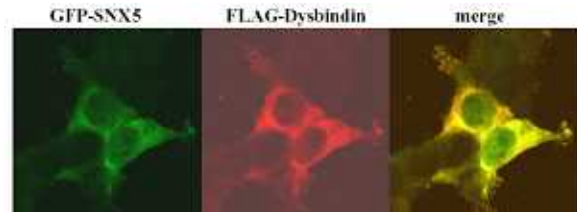


Figure 4 免疫沈降法による結合部位解析



(3) 細胞免疫染色法により、両者が細胞質で共局在することを確認した(Figure 5)。

Figure 5 細胞免疫染色



(4) *In situ* hybridization 法により、両者はラット大脳皮質などに広範囲の発現を認めた(Figure 6 左:SNX5, 右: Dysbindin)。

Figure 6 *in situ* hybridization 法



(5) Real time PCR 法により、脳、脾臓などの組織に発現を認めた(Figure 7, 8)。

Figure 7 RT-PCR 法(SNX5)

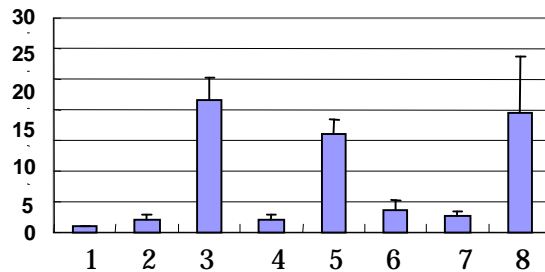
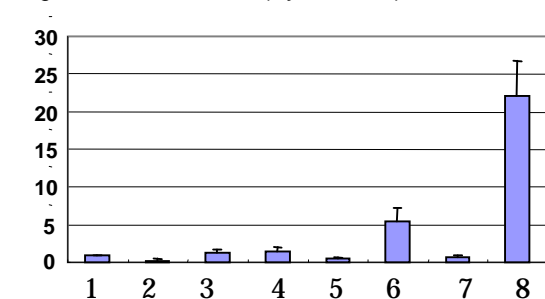


Figure 8 RT-PCR 法(Dysbindin)



1 Brain, 2 heart, 3 Lung, 4 Liver, 5 Spleen,
6 Kidney, 7 Muscle, 8 Testis

(6) Tx-Red transferrin を用いた Endocytosis assay により、Dysbindin と SNX5 が、取込まれた Tx-Red transferrin と共局在を認めた(Figure 9)。

Figure 9 Endocytosis assay (Dysbindin)

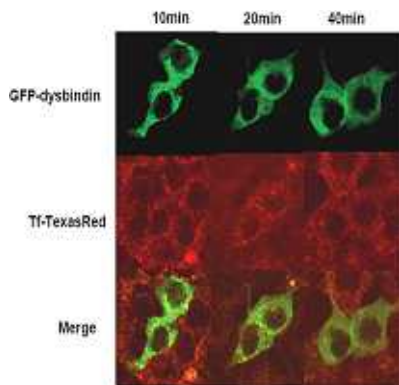
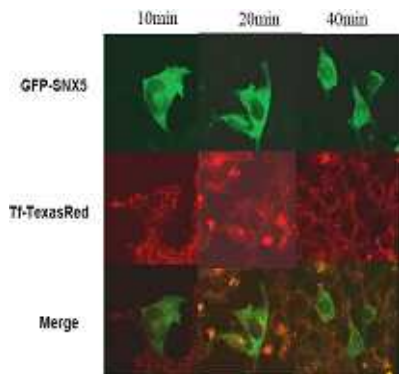


Figure 10 Endocytosis assay (SNX5)



5 . 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計3件)

Fujita, Y., Yamaguchi, A., Hata, K., Endo, M., Yamaguchi, N. and Yamashita, T. (2009) Zyxin is a novel interacting partner for SIRT1. **BMC Cell Biol.** In press. 査読有

Tohyama, D., Yamaguchi, A., and Yamashita, T. (2008) Inhibition of eIF2B /F11A3.2 during adulthood extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. **FASEB J.**22, 4327-4337. 査読有

Suda, M., Hata, K., Sawada, A., Nakamura, Y., Kubo., Yamaguchi, A. and Yamashita, T. (2008) Peptides derived from repulsive guidance molecule act as antagonists. **Biochem Biophys Res Commun.** 371, 501-504 査読有

〔学会発表〕(計3件)

American Society of Cell Biology, 48th Annual Meeting 2008年12月16日

San Francisco, USA

Inhibition of *eIF2B* during adulthood extends lifespan in *C. elegans*

遠山大介 山口淳 山下俊英

BMB 2008 第31回日本分子生物学会年会
2008年12月10日(水)

神戸ポートピアアイランド

Inhibition of *eIF2B* during adulthood extends lifespan in *C. elegans*

遠山大介 山口淳 山下俊英

第29回 日本臨床薬理学会年会
2008年12月3日(土)

京王プラザホテル

統合失調症脆弱性遺伝子 *dysbindin* の機能解析

遠山大介 山口淳 山下俊英

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山口 淳 (YAMAGUCHI ATSUSHI)

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：00314336

(2)研究分担者

該当無し

(3)連携研究者

該当無し