

令和 6 年 9 月 19 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06375

研究課題名（和文）活動依存的に発現する脂質修飾酵素の細胞内、個体における機能、統合失調症への関与

研究課題名（英文）In vitro, in vivo functions and involvement in schizophrenia of lipid modifying enzyme that shows activity-dependent expression

研究代表者

原口 みさ子 (Haraguchi, Misako)

鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授

研究者番号：10244229

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：タンパク質のパルミトイル化は神経機能に重要な役割を果たしている。筆者らはパルミトイル化酵素のうち、Zdhhc18とよばれる遺伝子が活動依存性をもつことを見出した。本研究ではzdhhc18の生理機能を解析するためにノックアウト（KO）マウスを作成し、神経細胞の形態変化解析、行動解析を行った。KOマウスと野生型マウスの海馬歯状回に蛍光タンパクを発現するウイルスベクターを導入して顆粒細胞の樹状突起の長さ、複雑さなどを比較している。行動解析についてはKOマウスで統合失調症に特徴的なプレパルスインヒビション低下がみられないこと、オープンフィールド試験で不安が低下することなどを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質のパルミトイル化は神経機能に重要な役割を果たしており、大規模ゲノム解析ではいくつかのパルミトイル化酵素遺伝子の変異と統合失調症への関連が示唆されている。特にZdhhc18は活動依存性を示し統合失調症との関連も示唆されていた。本研究においては統合失調症に特徴的な行動プレパルスインヒビションが見られないことを確認した。一方当研究室においてオープンフィールド試験を行いKOマウスの不安が低下することを確認した。これはバッテリー試験を依頼した藤田医科大学でも再現性を得ておりZDHHC18が不安を担う神経機能に関わることが確認できた。

研究成果の概要（英文）：Palmitoylation of proteins plays important role on neuronal function. Among palmitoyl transferase, authors found that expression of zdhhc18 depend on neuronal activity. In this study, authors made zdhhc18 Knockout mice to determine the physiological role and performed the morphological analysis of neuronal cells and behavioral analysis of mice. We injected AAV vectors that express fluorescent protein into dentate gyrus of Hippocampus of KO and Wild type mice and compare the length and complexities of granulocytes. Zdhhc18 KO mice did not display decrease of pre-pulse inhibition (that is typical phenotype of schizophrenia). Zdhhc18 KO mice showed reduced anxiety in open field test.

研究分野：神経科学

キーワード：zdhhc18 神経活動依存的

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質のパルミトイル化は神経機能に重要な役割を果たしており、大規模ゲノム解析ではいくつかのパルミトイル化酵素遺伝子の変異と統合失調症への関連が示唆されている。筆者らは大脳における神経活動依存的な遺伝子発現とその機能を探索している過程において、哺乳類の24種類のパルミトイル化酵素遺伝子のうち、Zdhhc18とよばれる遺伝子がシナプス活動に応じて転写レベルで発現が上昇することが明らかになった。これまで神経系におけるZdhhc18の機能解析はほとんど報告がなく機能未知である。しかし最近報告された統合失調症患者を対象としたゲノムワイド解析研究ではZDHHC18の一塩基多型と疾患との高い関連が示されていた。またZDHHCファミリーの中でZDHHC18と比較的近いアイソフォームであるZDHHC8遺伝子は統合失調症の高い発症リスクを持つ染色体22q11.2に位置し、その多型は統合失調症のリスク因子として報告されておりさらにZdhhc8欠損マウスは統合失調症様の表現形を示す。これらの知見より応募者は、未だ機能が未知である活動依存的遺伝子Zdhhc18の細胞生物学的機能及び生理機能を解析することは神経回路形成や精神機能疾患に関する新しい分子基盤や分子病態の発見につながる可能性が高いと考えた。

### 2. 研究の目的

この機能未知である、新規活動依存的パルミトイル化酵素遺伝子Zdhhc18の神経細胞、マウス個体における機能及び病態への関与の機構を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) Zdhhc18の細胞内での局在解析や単一神経細胞レベルでのZdhhc18欠損あるいは強制発現による機能変化解析。

Zdhhc18の発現レベルを強制的上昇された際に神経細胞にどのような効果があるのかを初代培養神経細胞を用いて明らかにする。海馬初代培養細胞にZdhhc18を強制発現させた時に樹状突起の分枝が有意に増加するか調べる。また、樹状突起スパインの数や形態の解析も行う。同様にRNA干渉法を用いてZdhhc18のloss-of-functionを行った際の細胞の形態への影響を調べる。また、Zdhhc18タンパク質の細胞内局在も不明であるため、最近市販されたいくつかの抗体を用いて免疫染色を行う。

(2) Zdhhc18遺伝子欠損マウスによる生理機能解析

Zdhhc18欠損マウスの大脳における神経回路形成や神経細胞形態を解析するため、妊娠15日の胎児の大脳に蛍光タンパク質レポータープラスミドをin utero electroporation (子宮内電気穿孔法)で導入し、単一細胞の形態解析や軸索投射解析を行った。

Zdhhc18遺伝子欠損マウス表現形を種々の行動実験により解析する。統合失調症モデルとなり得るか、プレパルス抑制実験や社会性行動障害試験を行った。

### 4. 研究成果

(1) Zdhhc18の細胞内での局在解析は有効な抗体などができなかった。  
Zdhhc18 KOマウスと野生型マウスの海馬歯状回、前頭前野にCre依存性に蛍光赤色素mcherryを発現するウイルスベクターを導入して神経細胞の形態の差異を同定しようとし

ている。切片の透明化を行い極厚の切片で顆粒細胞などの全体が観察できるようにして樹状突起の長さ、複雑さ。スパイン形態変化などの定量化を試みている。

マウス脳内に Zdhhc18 のウイルスベクターを導入する実験はまだ行っていない。

- (2) Zdhhc18 欠損マウス的大脑における神経回路形成や神経細胞形態を解析するため、妊娠 15 日の胎児的大脑に蛍光タンパク質レポータープラスミドを in utero electroporation (子宮内電気穿孔法)で導入し、単一細胞の形態解析や軸索投射解析を行ったが野生型マウスと KO マウスでは明確な差がみられなかった。。

野生型マウスと zdhhc18 KO マウスの行動解析を行っている。KO マウスにおいて統合失調症の特徴とされるプレパルスインヒビションは観察されなかった。一方オープンフィールド実験などにおいて KO マウスでは運動量の亢進、不安の低下などがみられた。不安の低下に関わるメカニズムの解析を始めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	奥野 浩行  (Okuno Hiroyuki)  (80272417)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授   (17701)	
研究分担者	城山 優治  (Kiyama Yuji)  (90456195)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教   (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関