

機関番号：32659

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790394

研究課題名（和文）統合失調症関連遺伝子 DISC1 と結合する FLJ 蛋白質による
大脳皮質形成機構の解析研究課題名（英文）CAMDI, a novel DISC1-binding protein, is required
for radial migration

研究代表者

福田 敏史 (FUKUDA TOSHIFUMI)

東京薬科大学・生命科学部・助教

研究者番号：50372313

研究成果の概要（和文）：本研究では、統合失調症関連蛋白質 DISC1 に結合する新規蛋白質 CAMDI (FLJ から改名) を同定しました。発生中のマウス胎児の大脳で CAMDI 遺伝子の発現阻害を行なうと、神経細胞の移動が阻害されました。CAMDI の配列中に全人種にほぼ等しく存在する一塩基多型 (R828W) を見出しました。CAMDI (R828W) をマウス胎児の大脳皮質に導入すると、神経細胞の移動が阻害されました。これらの結果は、CAMDI が大脳皮質神経細胞の移動、6 層構造の形成に重要な役割を担っていることを示します。

研究成果の概要（英文）：This study has identified a novel disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)-interacting protein, named CAMDI after coiled-coil protein associated with myosin II and DISC1. Knockdown of CAMDI revealed severely impaired radial migration. Interestingly, one single nucleotide polymorphism of the CAMDI gene (R828W) is identified. Furthermore, mice with overexpression of R828W in neurons exhibit an impaired radial migration. Our findings indicate that CAMDI is required for radial during neuronal development.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：CAMDI, Myosin, DISC1、神経、移動、脳、中心体、層構造

1. 研究開始当初の背景

CAMDI (FLJ から改名) 遺伝子産物は統合失調症関連蛋白質 DISC1 の新規蛋白質として我々が同定した。免疫沈降法による結合、細胞内における共局在（特に中心体）が確認された。さらに in situ ハイブリダイゼーション

法による組織発現分布においても、DISC1 と同様に発生期の大脳皮質中間帯に発現が見られた。胎児発生中、この領域では神経細胞の移動が開始されることが知られており、秩序だった神経細胞の移動は将来の大脳皮質 6 層構造の形成に重要な役割を担っている。こ

これらのことから、CAMDI が胎児の大脳皮質神経細胞の移動に関与していることが示唆されていた。

2. 研究の目的

統合失調症は人口の約 1%で発症すると言われている精神疾患であるが、根本的な発症要因は未だ解明されておらず、患者数、治療費などによる社会的な損失は計り知れない。本研究では、新規 DISC1 結合蛋白質であり、我々が発見した CAMDI (FLJ から改名) の機能解析により、統合失調症の発症要因の解明につながることを目指す。発生生物学的な解析で評価の高いマウス子宮内遺伝子導入法を用いて、個体発生中における大脳皮質での機能解析を行う。本手法は胎児を正常発生させながら時間的・空間的に遺伝子発現を制御し、その遺伝子の大脳発生における影響を *in vivo* において探ることが可能である。大脳皮質発生過程はマウスとヒトにおいて共通する分子メカニズムがあると考えられている。分子レベルと個体発生レベルの解析から統合失調症発症の分子メカニズムの解明、ならびに将来的には統合失調症の予防、治療へとつながる可能性があると考えており、その基礎的研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CAMDI 遺伝子産物の発現抑制・過剰発現による大脳皮質細胞移動に与える影響の解析

CAMDI 遺伝子はその mRNA の局在 (Intermediate Zone: IZ) から、大脳皮質脳質面で生まれた神経細胞が皮質形成のために移動して行く過程で機能していることが示唆される。そこで子宮内の胎児脳質内に siRNA (shRNA) を微量注入し、電気パルスをかけることで脳質面に存在する神経前駆細胞に遺伝子導入を行い、発生をそのまま子宮内で続けさせることで、発生過程における CAMDI 遺伝子の機能を探った (子宮内遺伝子導入法)。CAMDI

遺伝子産物の胎児大脳皮質神経の細胞移動における役割を DISC1 の阻害時の表現型と比較することにより、相互作用する意味を明らかにする。

(2) CAMDI 遺伝子産物結合蛋白質の単離、解析

CAMDI 遺伝子をベイトとして酵母ツーハイブリッド法による新規結合蛋白質の同定を目指す。論文報告のない遺伝子であるため機能は未知である。その本来の機能を探る上で結合蛋白質や既知の細胞内現象との関連性の探索は重要である。そこで、CAMDI をベイトとした酵母ツーハイブリッド法を用いて結合タンパク質の探索を行なった。

4. 研究成果

本研究では、統合失調症関連蛋白質 DISC1 に結合する新規蛋白質 CAMDI (FLJ から改名) を同定した。CAMDI は DISC1 依存的に中心体に移行した。発生中のマウス胎児の大脳で CAMDI 遺伝子の発現阻害を行なうと、中心体の異常な方向性を伴う神経細胞の移動が阻害された。CAMDI の更なる機能を解析するために結合蛋白質を探索したところ、Myosin II 軽鎖を同定した。CAMDI は Myosin のリン酸化に依存して結合することを見出した。また、CAMDI の配列中に全人種にほぼ等しく存在する一塩基多型 (R828W、828 番目のアルギニンがトリプトファンに置換する) を見出した。この多型を持つ CAMDI (R828W) は DISC1 とは結合できるが、Myosin との結合は減弱した。さらに、CAMDI (R828W) をマウス胎児の大脳皮質に導入すると、神経細胞の移動が阻害された。これらの結果は、CAMDI が中心体において DISC1 や Myosin と協調して大脳皮質神経細胞の移動を制御していることを示す。CAMDI はヒト染色体 2q31.2 に存在するが、こ

の領域は自閉症の原因領域の1つとしても知られている。CAMDIの異常により、統合失調症のみならず自閉症など精神疾患全般の発症に関与してい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 5件)

- ①. Sugiura, A., Yonashiro, R., Fukuda, T., Matsushita, N., Nagashima, S., Inatome, R., and Yanagi, S. A mitochondrial ubiquitin ligase MITOL controls cell toxicity of polyglutamine-expanded protein. *Mitochondrion* 11, 139-146 (2011)
- ②. Matsushita, N., Yonashiro, R., Ogata, Y., Sugiura, A., Nagashima, S., Fukuda, T., Inatome, R., and Yanagi, S. Distinct regulation of mitochondrial localization and stability of two human Sirt5 isoforms. *Genes Cells* 16, 190-202 (2011)
- ③. Kouchi, Z., Igarashi, T., Shibayama, N., Inanobe, S., Sakurai, K., Yamaguchi, H., Fukuda, T., Yanagi, S., Nakamura, Y., and Fukami, K. Phospholipase Cδ3 regulates RhoA/Rho kinase signaling and neurite outgrowth. *J. Biol. Chem.* 286, 8459-8471 (2011)
- ④. Fukuda, T.*, Sugita, S., Inatome, R., and Yanagi, S.* CAMDI, a novel disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)-binding protein, is required for radial migration. *J. Biol. Chem.* 285, 40554-40561 (2010) (Corresponding author),
- ⑤. Yonashiro, R., Sugiura, A., Miyachi, M., Fukuda, T., Matsushita, N., Inatome, R., Ogata, Y., Suzuki, T., Dohmae, N., and Yanagi, S. Mitochondrial ubiquitin ligase MITOL ubiquitinates mutant SOD1 and

attenuates mutant SOD1-induced ROS generation. *Mol. Biol. Cell* 20, 4524-4530 (2009).

[学会発表] (計 8件)

- ①. 柳澤香菜、福田敏史、服部 晶、稲留涼子、柳 茂 : CAMDI ノックアウトマウスの解析 of CAMDI knockout mouse. BMB 2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 2010, 12/8, 神戸
- ②. 井上晴満、福田敏史、角 千春、稲留涼子、柳 茂 : CAMDI のエンドサイトーシスとリサイクリングにおける機能解析 Functional analysis of CAMDI with endocytosis and recycling. BMB 2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 2010, 12/8, 神戸
- ③. 長島 駿、福田敏史、岩瀬彩香、三浦恒平、稲留涼子、柳 茂 : CRAG によるポリグルタミン病遺伝子治療の分子メカニズム Molecular mechanism of CRAG gene therapy for polyglutamine disease. BMB 2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 2010, 12/7, 12/8, 神戸
- ④. 福田敏史、杉田智子、稲留涼子、柳 茂 : 新規 DISC1 結合蛋白質 CAMDI による神経細胞移動の制御機構の解析 Neuro 2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経科学会大会・第20回日本神経回路学会大会. 2010, 9/2, 神戸
- ⑤. 福田敏史、柳 茂 : 新規 DISC1 結合蛋白質 CAMDI による Myosin II 依存的な中心体の制御を介した大脳皮質形成機構の解析 第82回日本生化学会大会

合同大会. 2009, 10/22, 神戸

- ⑥. 窪田有花、長島 駿、楊 立偉、柳澤香菜、井上晴満、角 千春、稲留涼子、福田敏史、柳 茂：新規 GTPase タンパク CRAG による公算機構の解明 第 32 回日本分子生物学会年会. 2009, 12/9, 横浜
- ⑦. 福田敏史、杉田智子、稲留涼子、柳 茂：新規 DISC1 結合蛋白質 CAMDI による中心体成熟と神経細胞移動の制御 第 32 回日本分子生物学会年会. 2009, 12/10, 横浜
- ⑧. 杉田智子、福田敏史、稲留涼子、柳 茂：新規 DISC1 結合蛋白質 CAMDI による大脳皮質神経細胞移動の制御機構の解析 第 32 回日本分子生物学会年会. 2009, 12/10, 横浜

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田 敏史 (FUKUDA TOSHIFUMI)

東京薬科大学・生命科学部・助教

研究者番号：50372313

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：