

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16371

研究課題名（和文）成長関連タンパク43（GAP43）の神経発達障害への影響

研究課題名（英文）Effects of growth-associated protein 43 (GAP43) on neurodevelopmental disorders

研究代表者

井上 絵美子 (Inoue, Emiko)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：80726323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：自閉症ヒト患者のDNAサンプルにおけるGAP-43遺伝子のエクソンシーケンスにより同定した機能的に有害と判定された稀なミスセンス変異（rs561268447）について、568人の自閉症患者、1,473人の統合失調症患者、10,127人の対照者を対象にrs561268447の関連分析を実施した。しかし、疾患との有意な関連は確認できなかった（Arta et al., 2021）。rs561268447部位の変異を導入したHela細胞を抗GAP43抗体で染色したところ、変異導入細胞は野生型GAP43導入細胞に比べて、GAP43の核周囲の発現が少ないという所見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症ヒト患者のDNAサンプルにおけるGAP-43遺伝子のエクソンシーケンスにより同定したin silico解析（Polyphen-2およびSIFT）において機能的に有害と判定された稀なミスセンス変異（rs561268447）は、一般集団において自閉症および統合失調症のリスクとなることは示すことはできなかったが、少なくとも自閉症の一部の集団でのリスクとなることや細胞レベルで異常を起こす可能性を示した。本研究成果は自閉症の病態研究や治療開発推進の一助となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We identified a rare, functionally harmful missense mutation (rs561268447) identified by exon sequencing of the GAP-43 gene in DNA samples from human autistic patients. An association analysis of rs561268447 was performed on the mutation in 568 autistic patients, 1,473 schizophrenia patients, and 10,127 controls. However, no significant association with the disease was confirmed (Arta et al., 2021). We stained Hela cells introduced with the mutation at the rs561268447 with anti-GAP43 antibody. As a result, the expression of GAP43 around the nucleus was lower in the mutagenesis cells than in the wild-type GAP43-introduced cells.

研究分野：発達精神医学

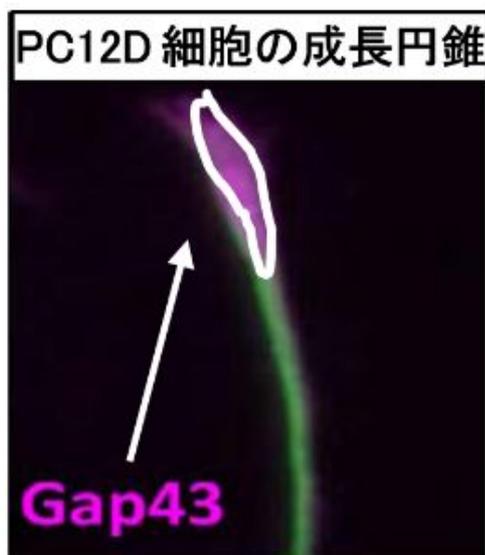
キーワード：自閉症 GAP-43 シナプス ハイコンテンツスクリーニング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### 研究の学術的背景

成長関連タンパク質 43(43kDa Growth-Associated Protein; GAP-43)は神経発生過程において発現レベルが上昇し、成長円錐に特異的に局在することが成長円錐のプロテオミクスによって示されている(右図: Nozumi et al., 2009)。アクチンフィラメントを安定化させることより軸索伸長の誘導すること(Strittmatter et al., 1995)やスパイン形成を含めたシナプス可塑性に重要な役割を担っていること(Wang et al., 2015)から GAP-43 は神経発達において中心的な役割を演じていると考えられている。その病因として神経発達障害仮説が有力である統合失調症の患者死後脳において背内側前頭前野および海馬歯状回の GAP-43 の発現減少を認め(Fung et al., 2011; Chamber et al., 2005)また GAP-43 発現の減少したマウスは、自閉症様行動が認められるという報告が複数存在する(Zaccaria et al., 2010; Dubroff et al., 2006)。しかし GAP-43 の機能変化がヒトの神経発達に与える影響についても明らかではない。



## 2. 研究の目的

上記の学術的背景を元にした本研究の目的を以下に示す。

GAP43 のリスク変異と神経発達障害(自閉症、統合失調症)発症との関連を明らかにする

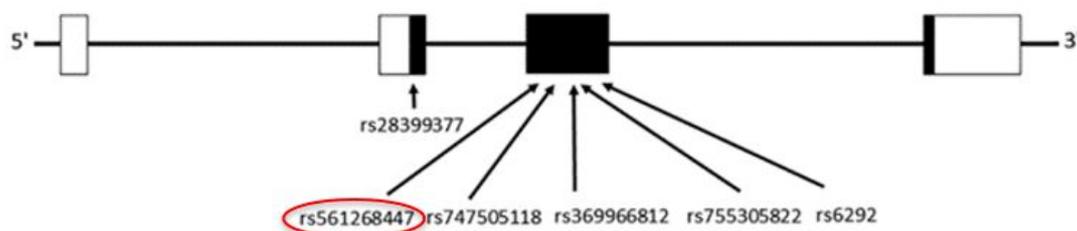
GAP43 のリスク変異の細胞レベルでの影響を明らかにする

## 3. 研究の方法

GAP43 のリスク変異と神経発達障害(自閉症、統合失調症)発症との関連を明らかにするために、新潟大学精神科が保有する自閉症 295 例、統合失調症 323 例の患者および 304 例の対照者の DNA サンプルにおける GAP-43 遺伝子のエクソンシーケンスにより同定された 6 つの変異(下図)のうち in silico 解析(Polyphen-2 および SIFT)において機能的に有害と判定された稀なミスセンス変異(rs561268447)について別のサンプルである 568 例の自閉症患者、1,473 例の統合失調症患者、10,127 例の対照者を対象に rs561268447 の関連分析を実施した。

GAP43 のリスク変異の細胞レベルでの影響を明らかにするために、rs561268447 部位の変異 GAP-43 D23G を lipofection 法で導入した Hela 細胞を抗 GAP43 抗体で染色した。

### 自閉症および統合失調症の患者の GAP43エクソンシーケンスにより同定された変異



## 4. 研究成果

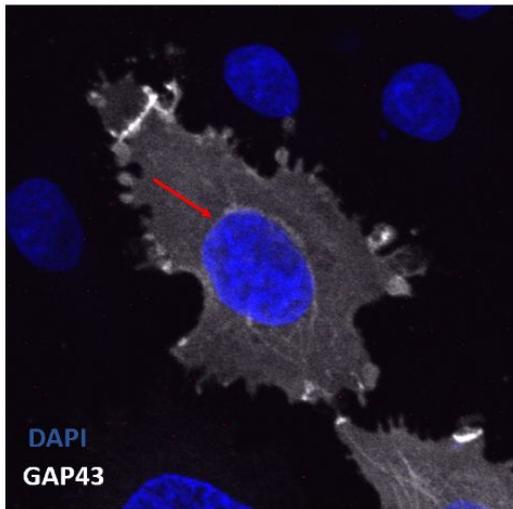
我々が自閉症ヒト患者の DNA サンプルにおける GAP-43 遺伝子のエクソンシーケンスにより同定した in silico 解析(Polyphen-2 および SIFT)において機能的に有害と判定された稀なミスセンス変異(rs561268447)について、568 人の自閉症患者、1,473 人の統合失調症患者、10,127 人の対照者を対象に rs561268447 の関連分析を実施した。しかし、疾患との有意な関連は確認できなかった(Artá et al., *Res Autism Spectr Disord.* 2021)。

rs561268447 部位の変異 GAP-43 D23G を lipofection 法で導入した Hela 細胞を抗 GAP43 抗

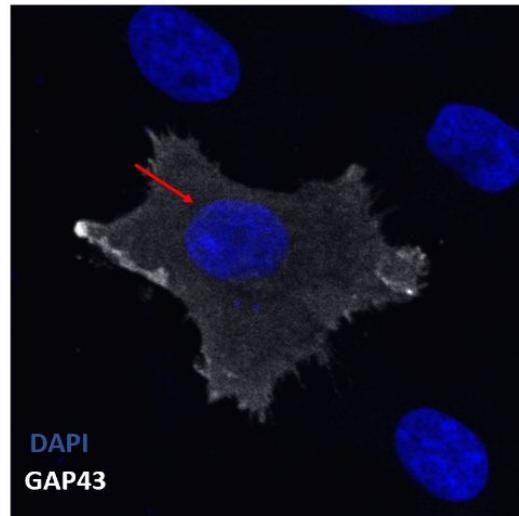
体で染色したところ、変異導入細胞は野生型 GAP43 導入細胞に比べて、GAP43 の核周囲の発現が少ないという所見を得た（下図）。

## Hela細胞強制発現系の免疫染色

野生型GAP43導入



GAP43 D23G導入



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okazaki Satoshi, Hishimoto Akitoyo, Otsuka Ikuo, Watanabe Yuichiro, Numata Shusuke, Boku Shuken, Shimmyo Naofumi, Kinoshita Makoto, Inoue Emiko, Ohmori Tetsuro, Someya Toshiyuki, Sora Ichiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Increased serum levels and promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor in schizophrenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 33～41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pnpbp.2018.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okazaki Satoshi, Hishimoto Akitoyo, Otsuka Ikuo, Watanabe Yuichiro, Numata Shusuke, Boku Shuken, Shimmyo Naofumi, Kinoshita Makoto, Inoue Emiko, Ohmori Tetsuro, Someya Toshiyuki, Sora Ichiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Increased serum levels and promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor in schizophrenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 33～41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pnpbp.2018.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hoya Satoshi, Watanabe Yuichiro, Hishimoto Akitoyo, Nunokawa Ayako, Kaneko Naoshi, Muratake Tatsuyuki, Shinmyo Naofumi, Otsuka Ikuo, Okuda Shujiro, Inoue Emiko, Igeta Hirofumi, Shibuya Masako, Egawa Jun, Orime Naoki, Sora Ichiro, Someya Toshiyuki	4. 巻 71
2. 論文標題 Rare PDCD11 variations are not associated with risk of schizophrenia in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 780～788
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pcn.12549	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hoya Satoshi, Watanabe Yuichiro, Hishimoto Akitoyo, Nunokawa Ayako, Inoue Emiko, Igeta Hirofumi, Otsuka Ikuo, Shibuya Masako, Egawa Jun, Sora Ichiro, Someya Toshiyuki	4. 巻 71
2. 論文標題 Rare FBX018 variations and risk of schizophrenia: Whole-exome sequencing in two parent-affected offspring trios followed by resequencing and case-control studies	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 562～568
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pcn.12526	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 井上絵美子, 渡部雄一郎, 江川純, 杉本篤言, 布川綾子, 澁谷雅子, 井桁裕文, 染矢俊幸	4. 巻 119(1)
2. 論文標題 自閉スペクトラム症多発罹患者系の全エクソームシーケンスおよびフォローアップ研究	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 精神神経学雑誌	6. 最初と最後の頁 3-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 井上絵美子, 谷卓, 小澤鉄太郎, 寺島健史, 湯川尊行, 有波浩, 恩田啓伍, 染矢俊幸
2. 発表標題 無症候性に進行し躁症状で発見された神経梅毒の一例
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hoya S, Igeta H, Watanabe Y, Nunokawa A, Inoue E, Shibuya M, Egawa J, Someya T
2. 発表標題 Resequencing of the SETD1A gene in Japanese patients with schizophrenia
3. 学会等名 WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Igeta H, Watanabe Y, Hoya S, Ikeda M, Hishimoto A, Nunokawa A, Inoue E, Sora I, Iwata N, Someya T
2. 発表標題 Whole-exome sequencing in a consanguineous multiplex family with schizophrenia and a case-control study.
3. 学会等名 WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe Y, Hoya S, Hishimoto A, Nunokawa A, Inoue E, Igeta H, Otsuka I, Shibuya M, Sora I, Someya T
2. 発表標題 Rare FBXO18 variations and risk of schizophrenia.
3. 学会等名 WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔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

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