

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15059

研究課題名（和文）ST8SIA2上のrSNPsに関わる因子群の同定と統合失調症の分子機構の解明

研究課題名（英文）Identification of transcriptional factors associated with rSNPs on ST8SIA2 and the molecular mechanisms of schizophrenia

研究代表者

羽根 正弥（Hane, Masaya）

名古屋大学・生命農学研究科・助教

研究者番号：70853331

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症との関わりが報告されているポリシアル酸およびその生合成を担う酵素に関して、ST8SIA2のプロモーター領域を介するST8SIA2遺伝子の発現制御とその破綻が疾患を惹起するポリシアル酸構造に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。ST8SIA2遺伝子の転写活性の制御機構として、統合失調症患者から見出されたプロモーター領域に存在する一塩基多型変異と種の転写調節因子が関与し、その転写を制御することが明らかになった。また、ST8SIA2の転写異常が細胞レベルおよび個体レベルで影響を及ぼすことが明らかになり、関与する疾患の発症の分子メカニズムの一端が明らかになったと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、統計学的に統合失調症の病態との関連性があると推測されたST8SIA2のSNPについて、その遺伝子産物（酵素）から、その最終産物である糖鎖、そしてその糖鎖を発現した細胞および個体の性質まで、系統的に解析をおこなった。遺伝子からタンパク質、そして糖鎖までを全て繋いで実証する研究であり、研究の成果は、ポリシアル酸がどのような分子機構で統合失調症の病態と結びつくのかを明らかにするため、その治療法へと迫る学術的、社会的意義がある。

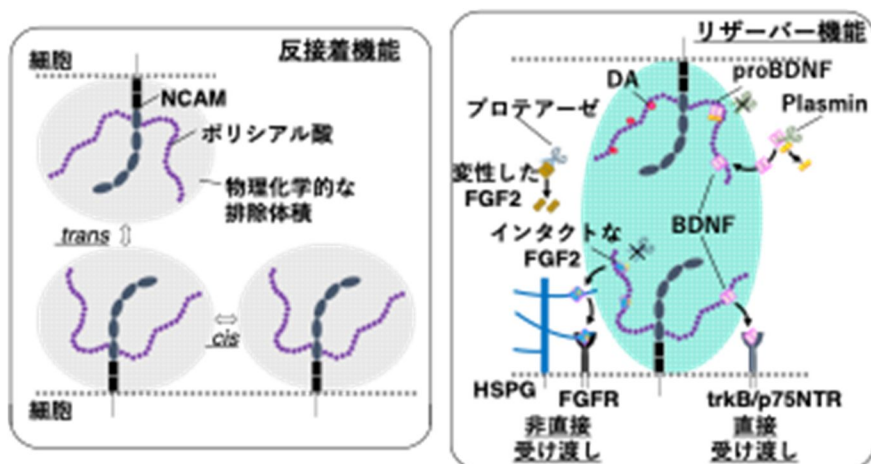
研究成果の概要（英文）：Polysialic acids and the enzymes responsible for their biosynthesis ST8SIA2, have been reported to be associated with schizophrenia. The aim of this study was to clarify the regulation of ST8SIA2 gene expression via the promoter region single nucleotide polymorphism and the effect of its disruption. In this study, SNP in the promoter region of ST8SIA2 altered the promoter activity with some transcription factors were revealed. And ST8SIA2 transcriptional impairments affected at the cellular and the animal level, which may provide some insight into the molecular mechanisms underlying the pathogenesis of the diseases.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：ポリシアル酸 ST8SIA2 一塩基多型変異体 統合失調症

### 1. 研究開始当初の背景

精神疾患患者数は増加の一途を辿り、100人に1人以上が罹患する疾患である。個人の苦痛はもちろん、社会的損失が大きい重篤な疾患であるにもかかわらず、これまでに統合失調症をはじめとする精神疾患の病態に至る共通の分子機構は見出されていない。近年、統合失調症や自閉症、双極性障害などの患者死後脳およびマウスを用いた研究、ゲノムワイドな一塩基多型変異体 (SNPs) の統計解析の結果から、ポリシアル酸とその生合成を担うポリシアル酸転移酵素 ST8SIA2 が多くの精神疾患と関連していることが示唆されてきている。ポリシアル酸は、シアル酸が 8-400 残基直鎖状に結合した酸性多糖であり、主に神経細胞接着分子 NCAM を修飾する分子として胎児脳および成体脳の一部に時・空間特異的に発現する。ポリシアル酸は、大きな負電荷を持ち、その物理化学的性質から細胞-細胞間の接着を負に制御する反接着分子として知られている。この性質により神経細胞の移動や軸索の可塑性の維持などが促進され、正常な神経回路の形成に関わると考えられてきた。しかし、近年、我々はポリシアル酸が生理活性分子を結合、保持しプロテアーゼからの保護や受容体への受け渡しを担うリザーバーとしての新たな機能を持つことを明らかにした。これらことから、ポリシアル酸は反接着機能およびリザーバー機能の両機能を介して包括的に神経回路の形成を制御していると考えられている。したがって、統合失調症の病態は、脳内のポリシアル酸のこれらの機能の昂進および減弱によって引き起こされる可能性が考えられる。しかし、ポリシアル酸と病態がどのように結びつくのかは謎に包まれていた。我々はこれまでにポリシアル酸転移酵素 ST8SIA2 遺伝子に見出されてきた SNPs が実際にどのような影響を与えるのかを生化学的に解析してきた。しかし、プロモーター領域に存在する rSNPs に関してはその検証が十分に行われてきていなかった。

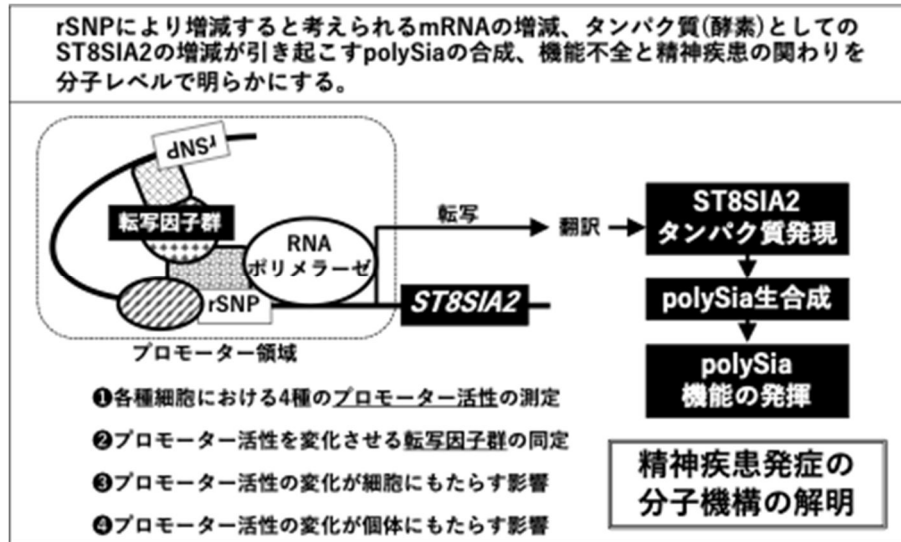


### 2. 研究の目的

プロモーター領域を介する ST8SIA2 遺伝子の転写活性の制御機構が解明されれば、これまで明確な解答が得られていないポリシアル酸の時期特異的、細胞種・組織特異的発現機構の一端が分かるかも知れない。しかし、ポリシアル酸の量の増減がその機能にどのような効果を及ぼすのかは不明であり、この効果を細胞レベルおよび個体レベルで理解することは、ポリシアル酸の作用機構を統合的に理解することに繋がると考えた。そこで、本研究ではポリシアル酸を生合成する酵素とポリシアル酸の量的制御が何をもちたらすかを分子レベルで解明することとした。

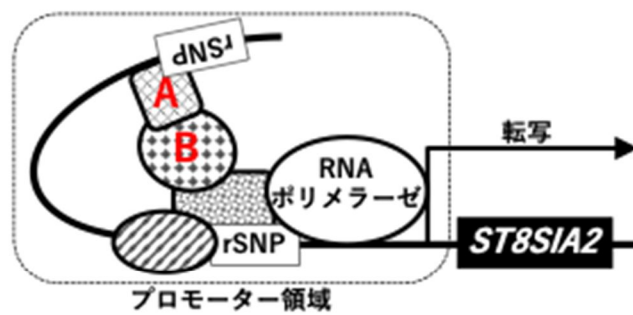
### 3. 研究の方法

世界に主に存在する ST8SIA2 のプロモーターのハプロタイプ 4 種に関して一般的なヒト神経細胞株である IMR-32、SK-N-SH 細胞およびその他の培養細胞を用いてプロモーター活性の測定実験を行なった。そして、ハプロタイプと細胞におけるプロモーター活性の関係から転写制御に関わる転写調節因子の同定を試みた。また、それらプロモーター活性の変化が細胞および個体においてどのような影響を及ぼすのかを遺伝子導入することで確認した。



### 4. 研究成果

IMR-32 細胞では統合失調症リスクハプロタイプはプロモーター活性が高くなるが SK-N-SH は有意な差が見られなかった。そこで、ヒトに主に存在する ST8SIA2 のプロモーターのハプロタイプ 4 種に関して、IMR-32、SK-N-SH 細胞、その他、非神経系の細胞などの各種細胞を用いたプロモーター活性を明らかにした。IMR-32 と SK-N-SH では rSNP が及ぼす影響が異なること、DNA マイクロアレイのデータおよびこれまでの報告から、およそ 50 の転写因子を見出した。これらの転写因子の発現を DNA マイクロアレイの解析および RT-PCR 法などにより解析した。その結果、いくつかの転写調節因子の関与が示唆される結果が得られた。当該転写因子の発現抑制、過剰発現細胞株を作製し、ST8SIA2 のプロモーター活性を測定したところ変化が見られたものの、単独ではなく未同定の因子との相互作用が示唆された。そこで、その未同定因子の探索を行い、協調し作用する因子を見出した。さらに、ST8SIA2 およびその酵素の最終産物であるポリシアル酸を内在的に発現しているヒト神経培養細胞への ST8SIA2 の遺伝子導入を行い、ST8SIA2 の過剰発現が細胞の生存に関わることが明らかとなった。また、ST8SIA2 の過剰発現の個体レベルでの影響を見るため、子宮内エレクトロポレーション法によりマウス胎児脳への遺伝子導入を行い、ST8SIA2 の過剰発現が大脳皮質における細胞移動へ異常をおこし、脳の発達において異常を来すことが示唆された。これらのことから、統合失調症リスクハプロタイプはプロモーター活性が高くなることは胎児期、成体期どちらにも影響を与えることが考えられる。



転写調節因子AおよびBの発現量とSNPの存在が転写活性を制御する。

↓  
細胞レベルでの影響

↓  
個体レベルでの影響 → 精神疾患の分子メカニズムの一端か？

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hane Masaya, Kitajima Ken, Sato Chihiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Comprehensive Analysis of Oligo/Polysialylglycoconjugates in Cancer Cell Lines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5569 ~ 5569
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23105569	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 羽根正弥
2. 発表標題 疾患関連糖鎖オリゴ・ポリシアル酸の生合成機構および認識分子の解析
3. 学会等名 第41回日本糖質学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 羽根正弥、北島健、佐藤ちひろ
2. 発表標題 がん細胞におけるシアル酸含有糖鎖の解析および予測
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masaya Hane, Ken Kitajima, Chihiro Sato
2. 発表標題 Analysis and prediction of sialoglycoconjugates in cancer cells
3. 学会等名 Sialoglyco2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川珠帆、羽根正弥、呉迪、北島健、佐藤ちひろ
2. 発表標題 ポリシアル酸転移酵素に対するリソソーム阻害剤およびプロテアソーム阻害剤の影響
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川珠帆、羽根正弥、WuDi、北島健、佐藤ちひろ
2. 発表標題 ポリシアル酸発現に対するリソソーム阻害剤およびプロテアソーム阻害剤の効果
3. 学会等名 第41回日本糖質学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miho Ishikawa, Masaya Hane, Di Wu, Ken Kitajima, Chihiro Sato
2. 発表標題 Effect of the lysosomal inhibitors and the proteasome inhibitor on the activity of the polysialyltransferases
3. 学会等名 Sialoglyco2022 (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------