

ショウジョウバエを使用した統合失調症リスク因子の遺伝学的解析

新井 佑子 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 古久保 徳永 克男 (筑波大学 生命環境系)

背景および目的

統合失調症は人口の約1%に発症する精神疾患である。主な症状は妄想や幻覚などの陽性症状、意欲の減退や自発性の欠如などの陰性症状に分けられる。発症には環境的要因に加えて遺伝的要因が関与すると考えられるが、具体的メカニズムは未解明である。近年、患者家族の家系解析やヒトゲノムワイド遺伝子解析 (GWAS) の結果、リスク遺伝子が多数リストアップされている。なかでも、スコットランドの精神疾患を頻発する家系の調査から見つかった DISC1 (Disrupted in Schizophrenia 1) 遺伝子は卓越した影響力があるリスク遺伝子であり、*in vitro* の研究から多数のタンパク質と結合し、相互作用する事が示唆されている。

当研究室ではショウジョウバエをモデル生物として用い、DISC1 の機能を解析してきた。ショウジョウバエに DISC1 の相同遺伝子は存在しないが、DISC1 と相互作用して神経発生を調整する遺伝子はハエとヒトとで多くが保存されている。実際にショウジョウバエの中樞神経系に DISC1 を強制発現させると学習障害や睡眠異常といった、統合失調症陰性症状の基礎にある生物学的内在形質が誘起されるということが明らかにされてきた。

本研究では、神経回路シナプス形成における DISC1 遺伝子の機能を明らかにするために、ショウジョウバエの神経筋結合部 (NMJ) において DISC1 遺伝子を強制発現させ、様々な統合失調症リスク遺伝子との相互作用を探索した。ショウジョウバエの NMJ は脊椎動物中枢と同じグルタミン酸作動性であり、DISC1 の強制発現の結果シナプス面積が減少するということが明らかになっている。また、統合失調症リスク遺伝子の多くはショウジョウバエにも保存されていて、それらの変異体が利用可能である。そこで、ショウジョウバエ遺伝学を応用し、リスク候補遺伝子の変異体において DISC1 遺伝子を強制発現する幼虫を作成し、NMJ の形態変化を指標に DISC1 遺伝子と相互作用遺伝子をスクリーニングした。これにより、統合失調症の発症過程における多様なリスク遺伝子の作用メカニズムを明らかにすることが本研究の目的である。

材料および方法

NMJ での神経細胞画像解析

ショウジョウバエの幼虫の NMJ はシナプスの形態観察に最適である。リスク候補遺伝子の変異と DISC1 の発現の両方を持つ二重変異体を作成し、NMJ のシナプス面積を比較した。

1. 変異体のバランス化

- ♂(mutant)/(mutant) or (mutant)/(balancer)
- ♀w; Sp/CyO Act-GFP; PrDr/TM6B Ubi-GFP
→♂w^h; +/CyO Act-GFP; (mutant)/TM6B Ubi-GFP

2. 変異体と DISC1 の二重変異体の作成・採卵

- ♂w^h; +/CyO Act-GFP; (mutant)/TM6B Ubi-GFP
- ♀w; UAS-DISC1(CS10)6-6(II); tubP-GAL4/TM6B ubi-GFP
→w/w or w^h; +/UAS-DISC1(CS10)6-6(II); (mutant)/tubP-GAL4

Control

- ♂w^h; +/CyO Act-GFP; (mutant)/TM6B Ubi-GFP
- ♀w; +(CS10); tubP-GAL4/TM6B ubi-GFP
→w/w or w^h; +/(CS10); (mutant)/tubP-GAL4

3. 抗体染色

2 の採卵から 116-120 時間後の 3 齢幼虫を解剖し、NMJ をシナプス特異的な抗体で染色した。

4. NMJ の画像解析

3 のサンプルを共焦点顕微鏡で撮影した。画像解析には Image J を使用し、シナプス面積、シナプス数、軸索の分岐数を測定した。

結果および考察

2013 年 1 月の時点で、6 のリスク候補遺伝子についてのスクリーニングが終了した。

Table1; DISC1 effect against each mutant

Fly gene	Schizophrenia risk gene	Bouton area	No of boutons	Branch points	Category of modification
Wild type	-	Down	No change	No change	N.A.
Fmr1	FMR1	No change	Down	Down	Suppressor
CG9953	PRSS16	No change	No change	No change	Suppressor
Dorsocross	TBX6	No change	No change	No change	Suppressor
Ank2	ANK3	No change	No change	No change	Suppressor
CYFP	CYFP1	Up	No change	No change	Suppressor
5-HT2	HTR2A	Down	No change	No change	Neutral

今後の予定

さらに多くの遺伝子についてスクリーニングを重ねてリスク候補遺伝子のパターン分けをし、DISC1 と相互作用する因子を探す予定である。DISC1 と強力に相互作用するものが見つければさらに研究を進め、DISC1 の働きについて詳細に解析していく予定である。