

ショウジョウバエを使用した統合失調症リスク遺伝子 *DISC1* と脆弱 X 症候群遺伝子 *FMR1* との遺伝学的相互作用の解析

相馬 朱里 (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・目的

統合失調症は、人口のおよそ 1% が発症する精神疾患であり、妄想や幻覚などの陽性症状、意欲や思考力の低下などの陰性症状、認知機能障害を呈する。一卵性双生児の研究などから、発症には環境的要因と共に遺伝的要因が大きく関与することが示されているが、具体的な発症メカニズムは明らかにされていない。

DISC1 (*Disrupted in Schizophrenia 1*) は統合失調症のリスク遺伝子のひとつであり、スコットランドの精神疾患が頻発する家系の研究から見出された。染色体異常により *DISC1* の一部が欠失することで、統合失調症や双極性障害など多くの精神疾患のリスクが高まると考えられている。また *DISC1* タンパク質は、神経発生の過程において複数のタンパク質と相互作用することが分かっている。

当研究室では、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を用いて *DISC1* 遺伝子の機能解析を行ってきた。ショウジョウバエは *DISC1* の相同遺伝子を持っていないが、*DISC1* と相互作用する多くの遺伝子がヒトとの間で保存されていることが分かっている。また、ショウジョウバエ幼虫の神経筋接合部(NMJ) は、統合失調症で機能低下すると考えられている神経回路と共通の神経伝達物質を用いており、モデルとして妥当であると考えられる。過去の研究では、*DISC1* を強制発現させた幼虫 NMJ の神経の形態解析の結果、シナプスの面積が減少していた。一方で、脆弱 X 症候群のリスク遺伝子である *FMR1* (*Fragile X Mental Retardation 1*) のハエ相同遺伝子 *dfmr1* が、*DISC1* と相互作用する遺伝子の一つであることが示唆されているが、具体的な分子メカニズムは未明である。

本研究は、異なる 2 種類の遺伝的バックグラウンドにおいて、過去の研究で用いられたものとは別の種類の *dfmr1* 変異体に *DISC1* を強制発現させ、幼虫の NMJ における神経発生への影響を調べる。これにより、*DISC1* と *dfmr1* との相互作用性について更なる確証を得ることで、統合失調症の発症過程における複雑な遺伝学的メカニズムを明らかにすることを目的とする。

材料・方法

1. ハエのバランス化

dfmr1 変異体

- *dfmr1^{B55}* (CS)/ TM6B
- *dfmr1^{B55}* (*yw*)/ TM6B

control

- *w*(CS10)
- CS(Shimoda)
- *yw*(Shimoda)

上記の 5 つの各系統の♂に、それぞれ次♀を交配した。

♀ *w*; Sp/ CyO *Act-GFP*; Pr Dr/ TM6B *ubi-GFP*

2. *dfmr1* 変異体と *DISC1* 系統の交配・採卵

1 の交配によって得られた♂に、*DISC1* を強制的に発現できる♀を交配し、採卵を行った。

DISC1 強制発現

♂ *w*⁻; +/ CyO *Act-GFP*; +or *dfmr1^{B55}* TM6B *ubi-GFP*

♀ *w*; UAS-*DISC1*(CS10)6-6; *tubPGAL4*/ TM6B *ubi-GFP*

Control

♂ *w*⁻; +/ CyO *Act-GFP*; +or *dfmr1^{B55}* TM6B *ubi-GFP*

♀ *w*; UAS-*DISC1*(CS10)6-6; +/ TM6B *ubi-GFP*

3. 抗体染色

2 の採卵から 120 時間後の 3 齢幼虫の内、変異型 *dfmr1* と *DISC1* が同時発現している個体を選び、解剖した。

→ *w*; +/ UAS-*DISC1*(CS10)6-6; +or *tubPGAL4*/ +or *dfmr1^{B55}*
解剖した個体は、神経細胞特異的な抗体およびシナプス特異的な抗体で染色した。

4. NMJ の形態解析

3 で得たサンプルの NMJ を共焦点顕微鏡で撮影した。Image-J を用いて画像解析を行い、シナプス面積、シナプス数、軸索分岐数を測定した。

結果・考察

2016 年 1 月時点で *w*(CS10) コントロールについて染色を行ったが、染色に問題が生じたため十分な解析ができていない。調製した抗体に問題があると考えられることから、抗体を再調製し再度染色・解析を行う予定である。

今後の予定

本研究では幼虫の NMJ を用いて *DISC1* と *dfmr1* の相互作用性を調べた。この後は成虫の脳において、特定の神経細胞の形態変化について解析を行い、中枢神経系における両遺伝子の相互作用性を検証する予定である。