

論文の内容の要旨

論文題目

統合失調症関連タンパク質 *dysbindin-1* と
ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC3 の相互作用の解析

氏名 相馬ミカ

【背景と目的】

統合失調症はヒト精神疾患の 1 つで、その症状には妄想や幻覚などの陽性症状、思考の貧困化や感情の平板化などの陰性症状、記憶力や学習能力の低下などの認知機能障害がある。統合失調症の生涯罹患率は約 1% と高く、根本的な治療法が求められている。薬理的研究、臨床的研究から、陽性症状にはドーパミン伝達の亢進、陰性症状には NMDA 受容体を介したグルタミン酸伝達の低下の関連が示唆されているが、根本的なメカニズムはまだ明らかになっていない。

dystrobrevin-binding protein 1 (DTNBPI) は統合失調症の感受性遺伝子の有力な候補の 1 つである。*DTNBPI* には多くの SNPs があり、そのうち統合失調症の発症に関わっているものが知られている。*DTNBPI* によりコードされるタンパク質が *dysbindin-1* である。*dysbindin-1* タンパク質は、統合失調症患者の脳において減少していることが報告されている。*Dtnbp1* 欠損マウスは新規探求性の低下や社会的相互作用の欠如、不安様行動などの統合失調症の陰性症状様行動や記憶力や学習能力の低下という認知機能障害を示すため、*dysbindin-1* は統合失調症の中でも特に陰性症状や認知機能障害に関わっていると考えられている。

Histone deacetylase 3 (HDAC3) は、ヒストン脱アセチル化酵素の 1 つであり、遺伝子の転写を抑制する働きをもつ。精神疾患の発症にはエピジェネティックな要因が関わって

いると考えられており、HDAC 阻害剤は統合失調症を含む精神疾患の治療薬になる可能性が示唆されている。また最近では HDAC3 が記憶の形成を抑制する働きをもつことが報告された。

研究室の先行研究により、dysbindin-1 と HDAC3 がタンパク質—タンパク質相互作用することが確認されていた。本研究は、dysbindin-1 のスプライシングバリエントである-1A、-1B、-1C という 3 つのアイソフォームの違いにも着目し、HDAC3 との相互作用の特異性や局在などを検討し、dysbindin-1 と HDAC3 の相互作用が統合失調症の発症にどのように関わるのか解明することを目的とした。

【結果と考察】

dysbindin-1 には主に 3 つのアイソフォーム-1A、-1B、-1C があることが知られている。そこで HDAC3 と相互作用する dysbindin-1 のアイソフォーム（大腸菌から精製した GST-dysbindin-1A、-1B、-1C）と V5-HDAC3 を発現させた HEK293 細胞のライセートを用いて GST pull down assay を行い、HDAC3 と相互作用するかを調べた。さらに HEK293 細胞に myc-dysbindin-1A、-1B、-1C と V5-HDAC3 を共発現させ、共免疫沈降を行い調べた。その結果、dysbindin-1A と-1B は HDAC3 と結合し、-1C はしないことが分かった。

また、HEK293 細胞に V5-HDAC3 と myc-dysbindin-1 を共発現させ、細胞分画とウェスタンブロッティングを行い、HDAC3 の過剰発現により、HDAC3 と結合する dysbindin-1A と-1B の核への局在が増加し、HDAC3 とは結合しない-1C では局在の変化は起こらないことが分かった。このことから dysbindin-1A と-1B は HDAC3 と核で相互作用すると推測され、dysbindin-1 との相互作用が HDAC3 の核内での機能に影響を与える可能性が考えられた。

dysbindin-1 と HDAC3 の関係を調べるにおいて、同じクラス I の HDAC1 と HDAC2 と比較するために同様のコンストラクトを作成し、dysbindin-1 との相互作用の有無を GST pull down assay で確認した。そして HDAC1 と HDAC2 も dysbindin-1 と相互作用するという結果が得られた。さらに共免疫沈降法で HDAC1、HDAC2 と結合する dysbindin-1 のアイソフォームを検証したところ、HDAC3 と同様、dysbindin-1A と-1B のみが相互作用し、-1C はしないという結果が得られた。これらのことから、dysbindin-1 は-1A と-1B に共通する N 末部分でクラス I の HDAC1/2/3 いずれとも相互作用することが示唆された。

dysbindin-1 による核内の HDAC3 に対する影響を見るために、HEK293 細胞に myc-dysbindin-1A、-1B、-1C をそれぞれ発現させて、細胞分画を行い、核内での HDAC3 の発現量をウェスタンブロッティングで調べた。その結果いずれの dysbindin-1 も HDAC3 の核での発現量には影響を与えないことが分かった。また、抗リン酸化 HDAC3 抗体を用いたウェスタンブロッティングから、HDAC3 と結合する dysbindin-1A と-1B は核内の HDAC3 のリン酸化を抑制することが分かった。HDAC3 はリン酸化されることで活性が上昇することが報告されているので、dysbindin-1A と-1B は HDAC3 の働きを抑制すると考

えられた。

以上の結果とこれまでの知見を合わせて、統合失調症患者の脳では **dysbindin-1** が減少しているために **HDAC3** の働きが強くなり、そのために記憶や学習などに必要な遺伝子の発現が低下する。さらにそれによって症状が生じるというモデルを立てた。

【展望】

本研究では、**dysbindin-1** が **HDAC3** の機能に与える影響を検証したが、相互作用を通じて、**HDAC1**、**HDAC2** の機能にも影響を与えることが考えられ、これらを明らかにすることで、統合失調症発症の新たなメカニズムが解明できると考えられる。