

主論文の要約

**Identification of Rare, Single-Nucleotide Mutations in NDE1  
and Their Contributions to Schizophrenia Susceptibility**

〔 統合失調症発症の脆弱性に寄与する稀な一塩基置換を  
NDE1 内に同定した 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻  
脳神経病態制御学講座 精神医学専攻

(指導：尾崎 紀夫 教授)

木村 大樹

## 【緒言】

統合失調症の病態仮説に、疾患発症に関わる複数の遺伝因子に加えて、母体感染などの胎生期・周産期における環境要因が、神経発達障害を引き起こすことで疾患発症脆弱性が形成される、という「神経発達障害仮説」がある。しかしながら、この神経発達障害がどのような分子メカニズムにて生じ、統合失調症病態を引き起こしているのかに関する証左が不十分であり、未だ仮説の域を出ない。

統合失調症の分子病態の解明への手法として、家系内に疾患が集積していること、遺伝率が 80%にまで及ぶと推定されていることから、遺伝子解析が有望であると考えられている。近年、精神疾患研究において、シーケンス解析により判明する頻度の低い稀な一塩基変異 (Single Nucleotide Variant: SNV) や、1 kb 以上にわたる遺伝子領域の欠失や重複が生じるコピー数多型 (Copy Number Variation: CNV) が、疾患発症に対して大きな効果を有する上に、変異を通じた機能解析も有望であるとして、注目が集まっている。

特に、最近の欧米の大規模な統合失調症患者の遺伝学研究において、全ゲノム CNV 解析により判明する疾患候補遺伝子と、エキソーム解析 (全遺伝子のエキソン領域をシーケンスする) により判明する疾患候補遺伝子の一部が重複していることが判明しており、それらの遺伝子内に存在する変異を同定し、機能解析を実施することは、統合失調症の分子メカニズム解明のための重要な戦略と考えられている。本研究において着目した Nuclear Distribution E Homolog 1 (*NDE1*) は、日本人統合失調症との関与が示唆されている Chr16p13.11 領域の CNV 内に存在している遺伝子で、胎生期の神経細胞分裂や遊走に関与するなど、神経発達に重要な役割を有し、統合失調症や自閉症スペクトラム障害の候補遺伝子として有望であると考えられている。今回、統合失調症患者の *NDE1* 内には疾患発症に強く関連する頻度の低い SNV が存在すると仮説を立て、*NDE1* のシーケンス解析を実施し、発症に強い効果を持つ稀な変異を探索し、その機能解析を通じて統合失調症病態との関連を評価することにした。

## 【対象及び方法】

統合失調症患者 433 名 (52.3±14.4 歳) と自閉症スペクトラム障害患者 145 名 (15.6±8.3 歳) を対象に、*NDE1* のコーディングエキソンをサンガー法により変異探索を実施した。発見された変異の中で、アレル頻度が 5%未満かつ、dbSNP136 に収載されていない変異を抽出した。抽出された変異について、1) Polyphen-2、SIFT、Pmut を用いた *in silico* 解析、2) 独立した患者サンプルとして統合失調症患者 3554 名 (48.4±14.6 歳) と健常対照者 4746 名 (43.2±14.7 歳) を用いた関連解析、3) 遺伝子機能に大きな影響を与えると考えられた変異に関して変異体を作成し、*in vitro* での機能解析、4) 同定した変異を有する患者の発達歴に関して患者カルテを用いた後方視的検討、を実施した。

## 【結果】

サンガー法による NDE1 のシーケンス解析により、統合失調症患者において、exon7 で 3 種類の新規変異が同定された (図 1)。変異による機能変化予測ソフトウェアを用いた解析では、NDE1 の 214 番目のセリン(S)がフェニルアラニン(F)に変化する変異である S214F が 3 種類のソフトウェア全てにおいて、NDE1 のタンパク質機能変化が予想された。次に、同定された 3 種類の新規変異に関して関連解析を実施した結果、S214F が統合失調症と有意な関連 (オッズ比 ; 7.1,  $p=0.039$ ) を示した。しかしながら、S214F を有する 6 名の患者に共通の臨床表現型は認めなかった。In silico 解析と関連解析の結果により S214F は、統合失調症病態に強く関連する可能性が示唆され、in vitro での機能解析が有望であると考えられた。NDE1 は既報から、YWHAE や DISC1、LIS1 などと複合体を形成し、神経突起先端まで運搬されることにより、神経突起伸張に関与することが想定されている。本研究にて同定した S214F は、NDE1 タンパク質の 214 番目のアミノ酸をセリン(S)から芳香環を持つフェニルアラニン(F)に変化させることで、YWHAE と NDE1 の結合に必要なことが知られる 215 番目のスレオニン(T)に立体障害を及ぼし、YWHAE との相互作用変化を引き起こす可能性が考えられた。YWHAE との相互作用変化を検討するため、S214F に加えて、立体障害を有しないと考えられる 214 番目の S をアラニン(A)に変化させた S214A、YWHAE との相互作用に重要である 215 番目のスレオニン(T)をアラニン(A)に変化させた T215A を作成した。その結果、S214F は野生型と比較して、相互作用の低下を認めた(図 2)。S214F は YWHAE との相互作用変化を通じて、神経軸索伸張に対して影響を有すると考えられたため、NDE1 変異体による神経軸索伸張に対する影響を検討した。ラット培養海馬神経細胞を用いて軸索伸張に関して評価を実施したところ、NDE1 が軸索先端部に存在することに加え、過剰発現系において軸索伸張作用が、S214F と T215A は野生型と比較して低下することが判明した(図 3)。

## 【考察】

これらの結果から、S214F の NDE1 タンパク質機能に対する影響として、S214A が YWHAE との相互作用変化を認めなかったことから (図 2)、S214F の相互作用低下の原因として、F214 の T215 に対する立体障害の可能性が考えられた。YWHAE は既報より DISC1、LIS1、NDE1 と複合体を作り軸索伸張に関与することが想定されており、NDE1 と YWHAE との相互作用低下と、神経軸索伸張作用低下との間に関連があることが示唆された。本研究にて同定された NDE1 の S214F は神経細胞の軸索伸張異常を引き起こし、統合失調症の神経発達障害仮説の中では、統合失調症発症に対する脆弱性を形成する遺伝的要因の一つであることが考えられた。

## 【結論】

*NDE1* の coding exon をシーケンスすることで、統合失調症病態に強く関与すると考えられる頻度の低い遺伝子変異 S214F を同定した。S214F は、統合失調症の神経発達障害仮説を支持し、病態モデルを分子レベルにて説明する上で有望である。今後、さらなる機能解析が実施され、本変異の病因への寄与が詳細に解明されることが期待される。