

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 羽 根 正 弥

論 文 題 目

ポリシアル酸転移酵素ST8SIA2/STXが関わる
精神疾患発症機構の解析

論文審査担当者

主 査	名古屋大学准教授	佐 藤 ち ひ ろ
委 員	名古屋大学教授	北 島 健
委 員	名古屋大学教授	中 野 秀 雄
委 員	名古屋大学助教	宮 田 真 路

脊椎動物において、シアル酸が 8~400 残基縮重合した酸性多糖であるポリシアル酸は、主に神経細胞接着分子(NCAM)を修飾し、それ自身のもつ物理化学的性質によって、細胞-細胞間の接着を阻害する反接着機能を発揮することによって、正常な神経回路の形成や脳機能を調節することが考えられてきた。しかし近年、ポリシアル酸が反接着機能だけでなく、脳機能に深く関わる生理活性因子と直接結合して、それらと受容体との結合を調節するリザーバーとして機能することが明らかにされ、ポリシアル酸による神経機能制御メカニズムに新しい概念が導入された。これまでにポリシアル酸転移酵素および NCAM の欠損マウスの研究から、ポリシアル酸転移酵素の一つである ST8SIA2/STX 欠損マウスが統合失調症の表現型を示すことが明らかにされている。また、精神疾患患者の死後脳のポリシアル酸の発現解析やポリシアル酸転移酵素遺伝子のゲノムワイドな解析から、ポリシアル酸と重篤な精神疾患である統合失調症、自閉症、双極性障害との関連性も報告されている。しかし、ポリシアル酸がどのように脳機能や精神疾患の発症に関わるのか、その分子機構は未解明である。羽根正弥は、ポリシアル酸転移酵素 ST8SIA2/STX の一塩基多型 (SNP) に着目し、精神疾患との関連性が報告されている SNP がもたらす影響を、その遺伝子発現レベル、酵素発現および活性変化レベル、酵素反応産物であるポリシアル酸の構造と機能レベルで解析すること、またヒト特異的なポリシアル酸構造の解析を行うことによって、精神疾患の発症機構の一端を明らかにすることを目的として研究に取り組んだ。

第 1 に、ヒト ST8SIA2/STX が生合成するポリシアル酸の構造と神経機能の関係性を精神疾患患者から報告された SNPs に着目して解析した(第 2 章)。統合失調症患者に見出されたアミノ酸置換を伴う ST8SIA2/STX 変異体である ST8SIA2/STX (g421a) という coding SNP (cSNP)については、詳細な解析の結果、顕著に低い酵素活性を示すこと、また、この酵素が生合成するポリシアル酸化 NCAM (polySia-NCAM)の構造については、正常酵素に比べて、ポリシアル酸の量および長さ(重合度)がともに減少することがわかった。また polySia-NCAM と生理活性因子との結合を表面プラズモン共鳴法によって解析すると、BDNF や FGF2 に対してその結合性が低下した。つまり、ST8SIA2/STX の cSNP は、酵素活性の低下によるポリシアル酸構造の異常をもたらし、その結果ポリシアル酸のリザーバー機能が破綻することが判明した(第 2 章第 1 節)。次に統合失調症患者で報告されたアミノ酸置換を伴わない silent SNP (sSNP) 変異体 ST8SIA2/STX (c621g) の解析を行い、この変異体酵素の細胞レベルの活性が低下することが判明し、アミノ酸変異を伴わなくてもコドン使用頻度の変化が活性変化をもたらす可能性を示した(第 2 章第 2 節)。さらに、自閉症(ASD)および双極性障害(BD)患者に見出された ST8SIA2/STX のイントロン領域に存在する intronic SNP (iSNP) 変異体 iSNP(ASD)と iSNP(BD)の解析を行った結果、後者については、ST8SIA2/STX の遺伝子とタンパク質の発現量を亢進させ、酵素反応産物ポリシアル酸の過剰発現を引き起こすことが明らかになった(第 2 章第 3 節)。最後に統合失調症患者の ST8SIA2/STX プロモーター領域の特定の 5 カ所に存在する regulatory SNP (rSNP)について解析し結果、それらのプロモーター活性は細胞種依存的であり、特に統合失調症で risk haplotype と

呼ばれるプロモーター活性が既報通りに亢進する細胞は特定の神経細胞のみであった。また、*risk haplotype* の SNP 領域に関わる転写調節因子について網羅的な探索と発現解析を行い、ある特定の SNP と転写調節因子の関わりを明らかにした。細胞レベルで統合失調症由来のプロモーター活性が上昇したため、*ST8SIA2/STX* の過剰発現と統合失調症発症との関連性をさらに探るために、子宮内エレクトロポレーション法により *ST8SIA2/STX* を過剰発現させて観察した結果、マウス胎児前頭前皮質において神経細胞の移動に偏りが生じ、大脳皮質の正常な層構造形成を損なわれるという結果が得られた(第2章第4節)。以上のことより、本研究で検証した精神疾患患者 *ST8SIA2/STX* の SNP 全てにおいて、その遺伝子量、酵素発現量や活性が変化し、反応産物であるポリシアル酸の質と量、そしてその生理活性因子結合機能が異常化することが初めて明らかになった。すなわち、*ST8SIA2/STX* 遺伝子の変異がポリシアル酸の構造と機能を変化させ、厳密に調整されていたポリシアル酸構造の破綻が疾患発症に繋がるという新たな疾患発症メカニズムの一端が明らかにされた。

また、ヒトは高度な社会性とそれを支える高次脳機能を有しており、その破綻が精神疾患に関与する可能性がある。ヒト脳に特有で高次脳機能を支える分子の存在が仮定されており、その候補としてポリシアル酸が考えられているが、その検証はなされて来なかった。そこで第2に、ヒト脳に特有なポリシアル酸転移酵素の変異とそれが生合成するポリシアル酸の機能との関係性を、ヒトと近縁の霊長類であるチンパンジーに着目して解析した(第3章)。その結果、ポリシアル酸転移酵素のうち *ST8SIA2/STX* 中の 1 アミノ酸残基だけにヒト特異的変異があること(第3章1節)、ヒト型 polySia-NCAM はポリシアル酸のリザーバー機能を高機能化していることがわかった(第3章第2節)。ポリシアル酸に結合する生理活性因子群は記憶や情動などの精神活動を担う分子であることが知られており、ポリシアル酸のリザーバー機能の高度化は巨大化したヒトの脳における生理活性因子の局所的濃度調節と機能発現の効率化を実現している可能性が高い。本研究によって、特定のポリシアル酸構造がヒトとしての特徴を生み出す一因である可能性が初めて示された。

以上のように、羽根正弥は精神疾患患者から報告された *ST8SIA2/STX* 遺伝子の SNP を総合的に解析し、その遺伝子発現、翻訳、酵素活性および反応産物の polySia およびその機能が正常型に比べて不全状態になることを初めて包括的に明らかにした。また、ヒト近縁の霊長類であるチンパンジーとの比較解析から、ヒト *ST8SIA2/STX* はチンパンジーから 1 アミノ酸残基だけ変異することによって高機能化し、高機能 polySia-NCAM の産生が可能になることも明らかにした。その結果、polySia-NCAM は通常は高度に制御された構造をもっており、その破綻がヒトの正常脳機能の破綻を導き、精神疾患が発症するという仮説を提唱するに至った。このことは、基礎および応用科学における今後の展開に高いポテンシャルをもつ点で重要である。したがって、審査委員会は本論文が博士(農学)の学位論文として十分な価値を有すると認め、論文審査に合格と判定した。