

# Functional roles of DBZ in brain development

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/42085">http://hdl.handle.net/2297/42085</a>

## 【総説】

## 脳発達におけるDBZの機能解明

## Functional roles of DBZ in brain development

金沢大学医薬保健研究域医学系神経分子標的学  
(解剖学第三)

服 部 剛 志

## はじめに

DBZ (DISC1-Binding Zinc finger protein) は、精神疾患関連因子DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia 1) の結合因子である。DISC1は、スコットランドの統合失調症、双極性障害、うつ病などを発症する精神疾患多発家系の遺伝学的解析より、第1染色体と第11染色体の相互転座により分断される遺伝子として最初に報告された<sup>1)</sup>。その後の多くの遺伝学的解析により、DISC1の様々な single-nucleotide polymorphism (SNP) が統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉症とも関連することが明らかとなった。そのため、DISC1は精神疾患の有力なリスクファクターとして注目されている<sup>2)</sup>。

DISC1タンパク質自体に機能を示唆する構造ドメインがなく、DISC1が他のタンパク質と協調することにより機能していると考えられ、その生物学的な機能解析は、結合タンパク質の同定とDISC1タンパク質複合体の解析を中心に行われてきた。DISC1の結合因子は多岐にわたり、転写因子 (ATF4/5など)、細胞内シグナル伝達因子 (GSK-3など)、中心体タンパク質 (BBS4, LIS1, NDEL1, kendrinなど)、モータータンパク質 (FEZ1, KIF5A, DICなど) が同定され、DISC1は細胞内で足場タンパク質として働いていると考えられている。DISC1はこれらの結合タンパク質とともに、神経前駆細胞の増殖 (GSK-3, DIXDC1, LIS1, NDEL1)、神経細胞の移動 (LIS1, NDEL1, DIXDC1, BBS4, APP)、神経突起形成やスパイン形成 (NDEL1, FEZ1, Girdin, PDE4) に働いている<sup>3,4)</sup>。これらの研究結果より、統合失調症をはじめとする精神疾患は、神経発達の様々な過程における障害が、発症の一因と考えられる。

我々は、Human cDNA libraryを対象にY2H (Yeast Two Hybrid法) を行い、DISC1の結合タンパク質として、FEZ1, Kendrin, ZNF365を同定した。DISC1-FEZ1複合体は、細胞骨格であるアクチンフィラメント上で、神経突起の伸展に関与するだけでなく、成体海馬における新生神経細胞の樹状突起形成、細胞移動を制御している<sup>5)</sup>。DISC1-kendrin複合体は細胞内の中心体において、微小管形成に関与する<sup>6)</sup>。ZNF365は、当時、中枢神経

特異的に発現することはわかっていたが、機能未知であったため、我々は、DBZ (DISC1-Binding zinc finger protein) と命名し、DISC1-DBZ複合体の機能解析を行うだけでなく、DBZ自身の生体での機能を明らかにするために、DBZ欠損マウスを作成し、解析を行ってきた。本項では、DISC1-DBZ複合体及びDBZ自身の神経発達、グリア細胞発達における役割を紹介する。

## DISC1-DBZ 複合体の神経発達における役割

副腎髄質由来のPC12細胞は、NGF (Nerve growth factor) やPACAP (Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) などの神経栄養因子を添加すると、神経突起様の突起を細胞体から伸ばすため、神経突起伸展のモデルとして用いられている。PC12細胞においてDBZとDISC1はともに細胞質に強く発現しており、DBZのDISC1結合ドメインのみをこれらの細胞に発現させ、DISC1とDBZの結合が阻害すると、神経突起の伸展が阻害される。これらの結果より、DISC1-DBZ複合体は神経突起伸展の促進に働いていると考えられる。In situ hybridization法によるDISC1及びDBZ mRNAの生体ラット脳における両者の局在を検討すると、DISC1 mRNAは大脳皮質、海馬、嗅球、小脳において、DBZ mRNAは大脳皮質、海馬、視床、線条体での発現が特に強い。従って、DISC1-DBZ複合体による神経突起伸展の制御は、精神疾患との関連が強い大脳皮質や海馬において、働いていると考えられる<sup>7)</sup>。

DISC1-DBZ複合体の生体における機能解析を行うために、DBZ欠損マウス及びIn utero electroporation法によるDBZやDISC1の発現抑制により、大脳皮質形成時の神経突起形成、神経細胞移動について検討を行った。DBZ欠損マウスでは、神経細胞の数には変化が見られなかったが、生後3日齢における大脳皮質錐体細胞の樹状突起形成異常、また、大脳皮質の層構造の一部に乱れが認められた。胎生14日の大脳皮質においてDBZ及びDISC1のshRNAにて発現抑制を行うと、大脳皮質形成時の神経細胞移動と神経突起の伸展異常が認められる。細胞移動の異常が見られる細胞においては、中心体と核の距離が正常より顕著に長く、神経突起伸展異常が見られ

る細胞においては、微小管の重合速度が低下していることがわかった。その分子メカニズムにおいては、DISC1及びDBZの下流に存在するNDEL1のリン酸化が重要であることが示唆された。NDEL1はモータータンパク質であるDyneinの機能を制御しており、Dyneinは神経突起先端から細胞体への逆行輸送や神経突起の成長円錐の形成に働くことが知られている。DBZ欠損マウスの大脳皮質においては、このNDEL1のリン酸化が亢進しており、DBZの発現抑制を行った細胞にNDEL1の非リン酸化体を発現させると、神経細胞移動の異常は回復する。また、DBZの発現抑制を行うと、DISC1とその結合因子のLIS1の神経突起先端への輸送に異常が見られた。これらの結果より、DBZの欠損はNDEL1のリン酸化を亢進し、そのことがDISC1複合体の細胞体から神経突起先端への順行性輸送を阻害し、神経突起先端での微小管形成が抑制されることにより、神経突起形成が障害されることが明らかとなった。また、中心体におけるNDEL1リン酸化の亢進は、核と中心体の連動に障害を起し、神経細胞移動を抑制することが明らかとなった(図1)<sup>9)</sup>。

#### DBZの介在神経発達における役割

介在神経は抑制性の神経であり、GABAを神経伝達物質とする。統合失調症患者死後脳において、GABA合成酵素であるGAD67の発現減少が報告されており、介在神経の異常が病態に関与していると考えられている。マウスの胎生期におけるDBZ mRNAの発現は、胎生12日頃からはじまり、胎生14日には大脳皮質の脳室下帯だけでなく、介在神経が発生する内側基底核原基においても発現が見られる。成体マウスの大脳皮質においても

DBZ mRNAは介在神経のマーカーであるGAD67を発現する細胞と一致している。このDBZの発現より、DBZが介在神経において発現、機能していることが考えられる。DBZ欠損マウスにおいて、Golgi染色により介在神経の形態を観察したところ、介在神経の一部であるバスケット細胞において、神経突起の長さが短く、その枝分かれも少ないことがわかった。また、介在神経に特異的に発現するGAD67 mRNAの発現量も減少している。これらの結果より、DBZは錐体細胞などの興奮性神経だけでなく、GABAを発現する抑制性神経の一部にも発現し、その発達に関与していることが考えられる<sup>9)</sup>。

#### DBZのスパイン形成における役割

上述のように、マウス脳におけるDBZ mRNAの発現は胎生12日頃から開始するが、その発現量は生後も増加し続け、大脳皮質や海馬において成体においても高い発現量が認められる。神経細胞の樹状突起に形成されるスパインは、生後に形成され、その形態はシナプス伝達の効率に影響を与える。また、スパインの形態異常は脆弱X症候群やレット症候群といった神経発達障害と関連することが知られている。DBZ欠損マウスの大脳皮質における錐体細胞の樹状突起を、Golgi染色を行い観察すると、スパインの数の増加、スパイン先端の直径の減少が認められた。DBZ欠損マウスにおけるスパインの形態を分類すると、野生型マウスより未熟なスパイン形態であるthin型スパインが顕著に増加し、成熟したスパインであるmushroom型スパインの減少が認められた。さらに、超高圧電子顕微鏡を用いて得たスパインの画像を再構築し、立体的にスパインの構造を解析すると、DBZ欠損マ

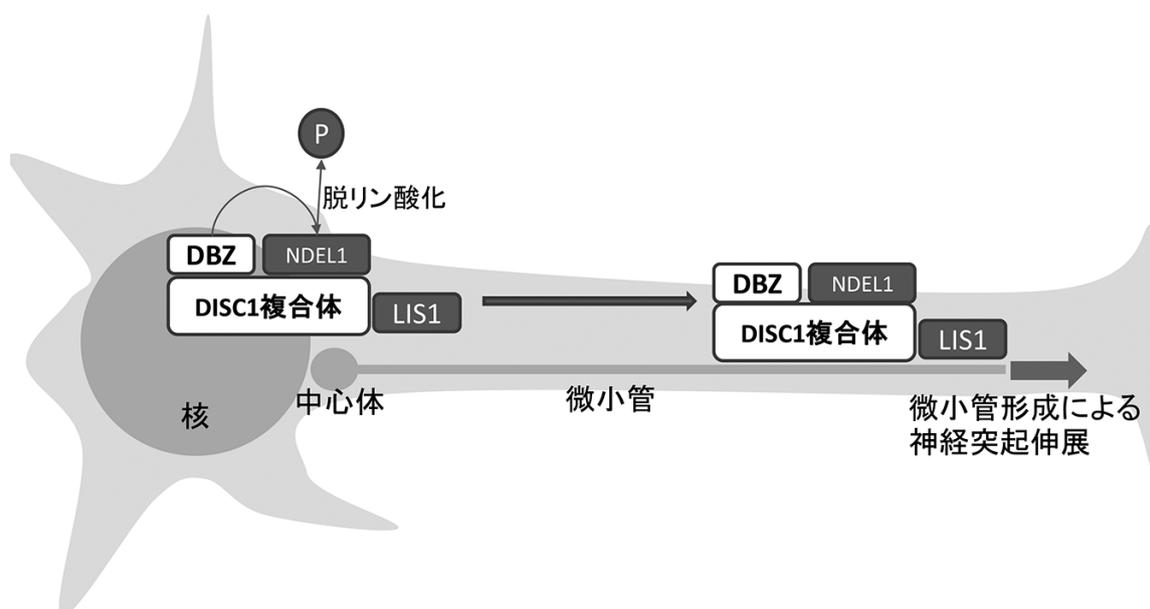


図1. DBZとDISC1による神経突起伸展のメカニズム

DBZがNDEL1のリン酸化を抑制することにより、DISC1やLIS1が神経突起先端まで輸送され神経突起伸展が行われる

ウスにおいては、スパインの先端が細いfilopodia型のスパインと、スパインの先端は正常であるがその基部が異常に細いthin-neck型のスパインが認められた(図2)。スパインの細胞膜直下にはpost synaptic density (PSD)と呼ばれる構造物があり、神経伝達物質の受容体が集積している。DBZ欠損マウスにおいてはスパインあたりのPSDの数も顕著に減少していた。これらの結果より、DBZ欠損マウスの錐体細胞のスパインは、成体においても未熟なものが多く、また、成熟したスパインの一部においてもその形態に異常が見られることがわかった。

**DBZ, DISC1 のオリゴデンドロサイト発達における役割**  
統合失調症をはじめとする精神疾患において、神経細胞だけでなくグリア細胞の発達異常が、患者死後脳の解析などにより示唆されている。グリア細胞の一種である

オリゴデンドロサイトは、神経軸索にミエリン鞘を形成し、神経伝達を促進する細胞である。患者死後脳において、ミエリンを形成する因子の発現減少やミエリン鞘の形態異常が報告されていることから、オリゴデンドロサイトの発達異常が疾患発症の一因であることが示唆される。DISC1は神経細胞だけでなく、オリゴデンドロサイトなどのグリア細胞にも発現することがわかっているため、我々は、DISC1の培養オリゴデンドロサイトにおける機能解析を行った。培養オリゴデンドロサイトにsiRNAによりDISC1の発現抑制を行うと、分化したオリゴデンドロサイトに発現するMBPやCNPaseの発現が有意に上昇した。また、DISC1の発現抑制を行った細胞では、分化を促進する転写因子Sox10やNkx2.2が有意に上昇していた。これらの結果より、DISC1は、オリゴデンドロサイト前駆細胞に強く発現し、転写因子Sox10

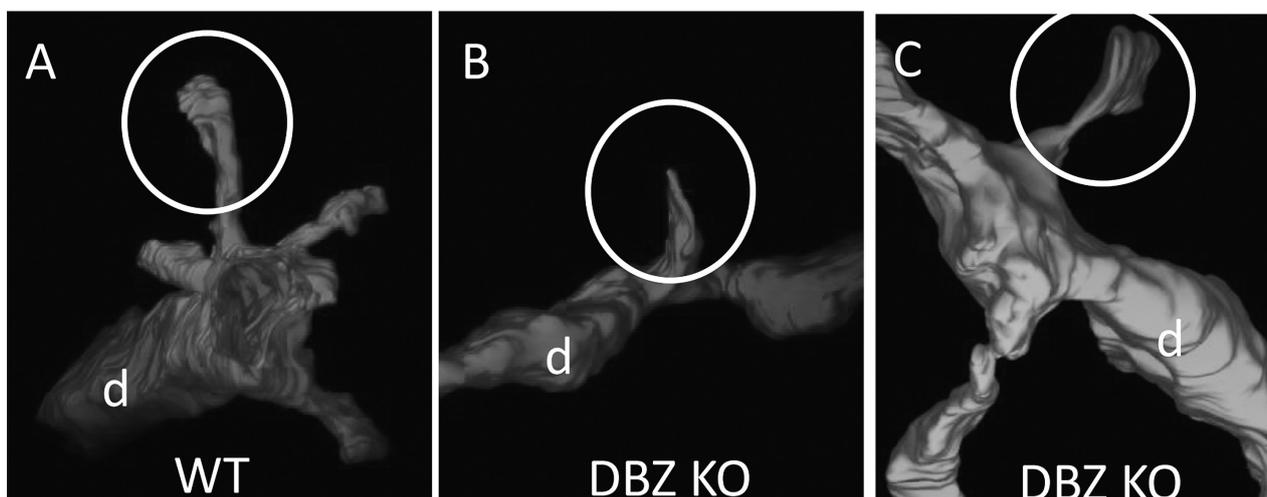


図2. DBZ欠損マウスにおけるスパイン形成異常

野生型マウスにおける正常な成熟型スパイン(A)、DBZ欠損マウスにおける先端の細い未熟なスパイン(B)と基部の細い異常なスパイン(C)。d: 樹状突起

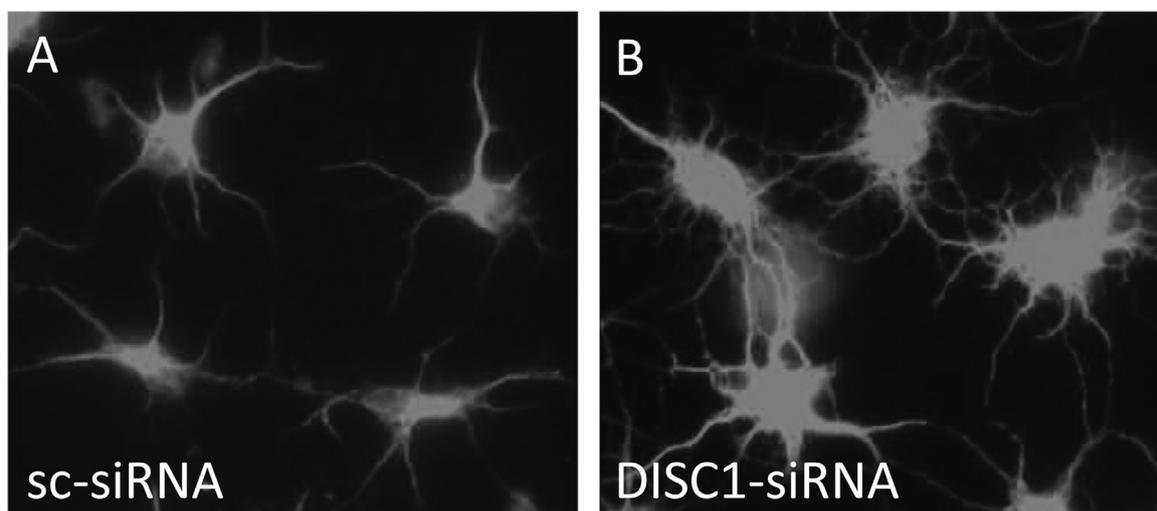


図3. DISC1の発現抑制を行うと(B)、コントロール(A)と比較して、オリゴデンドロサイトの分化が亢進する

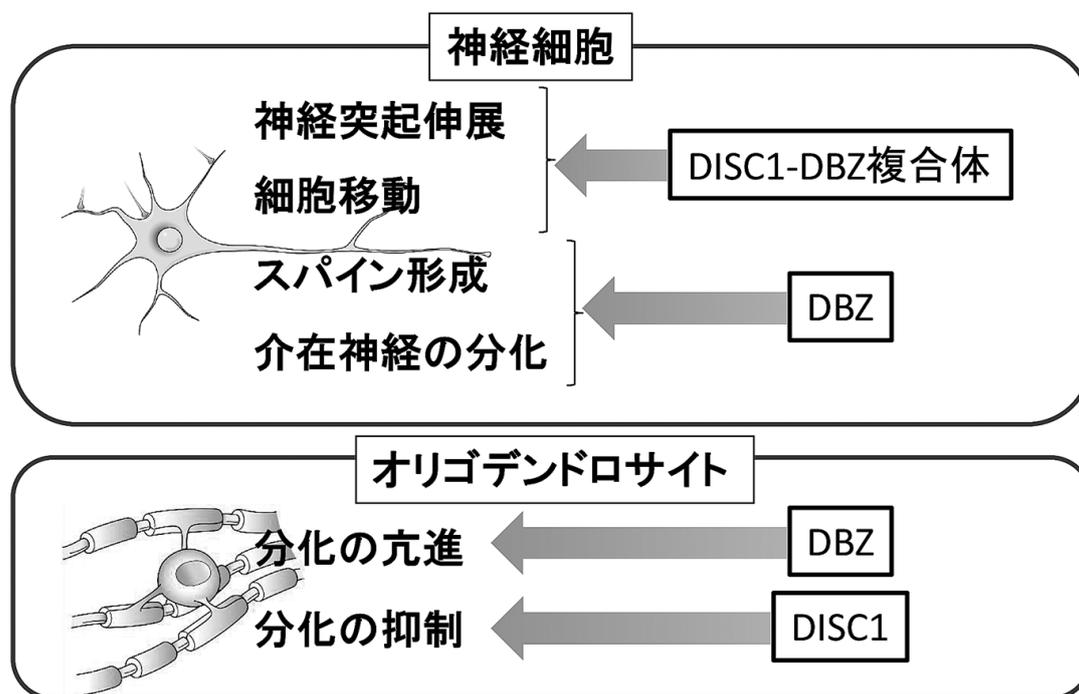


図4. DISC1, DBZの神経細胞, オリゴデンドロサイトにおける役割

とNkx2.2の発現を抑制することにより、分化を抑制する働きがあることが明らかとなった(図3)<sup>10</sup>。

DBZはDISC1と同様にオリゴデンドロサイトに発現するが、成熟オリゴデンドロサイトでより強く発現する。培養オリゴデンドロサイトにおいて、DBZの発現抑制を行うと、その分化は抑制された。また、DBZ欠損マウスにおいてもオリゴデンドロサイトが発達する過程の生後10日齢において、オリゴデンドロサイトのマーカーであるMBPやMAGの発現が減少しており、電子顕微鏡による観察においても、ミエリン化された軸索の割合が顕著に減少していた。これらの結果より、DBZはオリゴデンドロサイトの分化を正に制御する因子であることがわかった<sup>11</sup>。DISC1とDBZのオリゴデンドロサイトにおける発現パターンの違いより、DISC1はオリゴデンドロサイト前駆細胞において分化を抑制しているが、一旦、分化を開始するとDBZの発現量が増加し、より分化を促進する方向に働いていると考えられる。統合失調症患者脳のアオリゴデンドロサイトにおいて、DISC1の発現量が増加しているという報告があることから、精神疾患患者脳にてDISC1やDBZの発現量の変化が、オリゴデンドロサイトの発達異常を引き起こしている可能性が考えられる。

#### おわりに

以上のように、DISC1とその結合因子DBZは脳の発達段階における神経突起伸展や細胞移動、スパイン形成などに関わることが明らかとなった(図4)。さらに、こ

れらの因子はオリゴデンドロサイトの発達にも関与していることも明らかとなった。しかし、DISC1やDBZがオリゴデンドロサイトの発達異常を引き起こす分子メカニズムの全貌、また、神経伝達や行動に与える影響、アストロサイトやマイクログリアなどの他のグリア細胞における機能など、いまだに明らかになっていないことが多い。今後は、統合失調症だけでなく自閉症などの様々な精神疾患において、グリア細胞発達異常の意義や重要性について精力的に研究を推進していきたい。

#### 謝 辞

本総説の執筆に当たり研究のご指導を賜りました金沢大学医薬保健研究域医学系神経分子標的学(第3解剖)の堀修教授、教室員、関係の先生方、ならびに学内外の共同研究者の皆様へ深謝致します。また、執筆の機会を与えてくださいました、金沢大学十全医学会編集委員長の井関尚一教授並びに関係の方々に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) Millar JK, Christie S, Semple CA, Porteous DJ Chromosomal location and genomic structure of the human translin-associated factor X gene (TRAX; TSNAX) revealed by intergenic splicing to DISC1, a gene disrupted by a translocation segregating with schizophrenia. *Genomics* 67: 69-77, 2000.
- 2) Liu YL, Fann CS, Liu CM, Chen WJ, Wu JY, et al. A single nucleotide polymorphism fine mapping study of chromosome 1q42.1 reveals the vulnerability genes for schizophrenia, GNPAT and DISC1: Association with impairment of sustained attention. *Biol Psychiatry* 60: 554-562, 2006.
- 3) Lipina TV, Roder JC Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1)

interactome and mental disorders: impact of mouse models. *Neurosci Biobehav Rev* 45: 271-294, 2014.

4) Hattori T, Shimizu S, Koyama Y, Yamada K, Kuwahara R, et al. DISC1 regulates cell-cell adhesion, cell-matrix adhesion and neurite outgrowth. *Mol Psychiatry* 15: 778, 798-809, 2010.

5) Miyoshi K, Honda A, Baba K, Taniguchi M, Oono K, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth. *Mol Psychiatry* 8: 685-694, 2003.

6) Shimizu S, Matsuzaki S, Hattori T, Kumamoto N, Miyoshi K, et al. DISC1-kendrin interaction is involved in centrosomal microtubule network formation. *Biochem Biophys Res Commun* 377: 1051-1056, 2008.

7) Hattori T, Baba K, Matsuzaki S, Honda A, Miyoshi K, et al. A novel DISC1-interacting partner DISC1-Binding Zinc-finger protein: implication in the modulation of DISC1-dependent neurite outgrowth. *Mol Psychiatry* 12: 398-407, 2007.

8) Okamoto M, Iguchi T, Hattori T, Matsuzaki S, Koyama Y, et al. DBZ regulates cortical cell positioning and neurite development by sustaining the anterograde transport of Lis1 and DISC1 through control of Ndel1 dual-phosphorylation. *J Neurosci* 35: 2942-2958, 2015.

9) Koyama Y, Hattori T, Shimizu S, Taniguchi M, Yamada K, et al. DBZ (DISC1-binding zinc finger protein)-deficient mice display abnormalities in basket cells in the somatosensory cortices. *J Chem Neuroanat* 53: 1-10, 2013.

10) Hattori T, Shimizu S, Koyama Y, Emoto H, Matsumoto Y, et al. DISC1 (disrupted-in-schizophrenia-1) regulates differentiation of oligodendrocytes. *PLoS One* 9: e88506, 2014.

11) Shimizu S, Koyama Y, Hattori T, Tachibana T, Yoshimi T, et al. DBZ, a CNS-specific DISC1 binding protein, positively regulates oligodendrocyte differentiation. *Glia* 62: 709-724, 2014.