

論文要旨

学位論文題目：統合失調症と自閉症スペクトラム障害の病因と脂肪酸結合タンパク質の異常

(Roles of brain-expressed fatty acid binding proteins in pathogenesis of schizophrenia and autism spectrum disorder)

氏名：島本 知英

要旨：

【背景・目的】

近年、統合失調症や自閉症スペクトラム障害（ASD）と脂肪酸との関連性が示唆されているが、具体的な分子メカニズムは不明である。脂肪酸は生体内のさまざまな機能に関与しており、脳の発達においても重要な物質である。脂肪酸分子は疎水性であるため、目的の場所でその機能を発揮するには、脂肪酸を運搬する働きを担う脂肪酸結合タンパク質（FABP）がシャペロン分子として不可欠である。FABP は約 15kDa の低分子量タンパク質であり、ヒトでは 10 種類存在する。我々は *FABP7* 遺伝子がマウスのプレパルス抑制（PPI；統合失調症の「中間表現型」の一つ）を制御することを以前報告した（Watanabe *et al.*, *PLoS Biol*, 2007）。脳には *FABP7* の他にも *FABP3/5* が発現していることから、本研究では検討対象とする遺伝子を *FABP3/5/7* とした。また、対象とする疾患を、発症メカニズムが統合失調症と類似していることが指摘されている ASD へと広げ、脳に発現する FABP が統合失調症や ASD の病態生理に関与する可能性を包括的に理解することを目指し、検証を行った。

【結果】

1) 統合失調症、ASD 患者サンプルにおける *FABP3/5/7* の mRNA 発現解析：

我々は、これまでに患者死後脳の前頭前野背外側部で *FABP7* の mRNA の発現量が上昇することを報告している（*Ibid.*）。そこで、本研究では、以前の報告と同じ統合失調症患者・対照群の死後脳サンプルを用いて、*FABP3/5* の mRNA 発現量を比較した。また、併せて統合失調症患者末梢血リンパ球、ASD 患者の死後脳での *FABP3/5/7* の発現量についても解析した。その結果、統合失調症患者死後脳の前頭前野背外側部では *FABP5* の発現量が *FABP7* と同様に有意に上昇していた。一方、末梢血リンパ球では *FABP5* のみ検出でき、その発現量は有意に低下していた。また、ASD 患者死後脳の前頭前野背外側部と縁上回では、統合失調症と同様に *FABP7* の発現量が有意に上昇していた。

2) 日本人の統合失調症・ASD 患者サンプルを用いた *FABP3/5/7* の変異の同定と、同定した変異の機能解析：

2,097 人の統合失調症患者と 316 人の ASD 患者のサンプルを用いて、*FABP3/5/7* について resequence を行い、アミノ酸の変化を伴う 8 つの変異（6 種類のミスセンス変異と 2 種類のフレームシフト変異）を同定した。次に、2 種類のフレームシフト変異と *in silico* 解析により機能変化をおこす可能性が高いと予測された 4 種類のミスセンス変異について、生物学的、生化学的解析をおこなった。まず、GFP 融合 FABP

タンパク質を Neuro2A 細胞に強制発現させて細胞内局在を観察したところ、ミスセンス変異体は野生型と同様、細胞質と核に均一な局在を示したが、2種類のフレームシフト変異[FABP3 E132fs (統合失調症 1 症例で発見)、FABP7 N80fs (統合失調症 1 症例で発見)]は細胞内で凝集体構造を形成した。さらに、これらフレームシフト変異タンパク質は、cotransfection アッセイ、プロテアソーム阻害剤 (MG132) 添加実験の結果より、不安定な性質をもち、部分的にプロテアソーム系で積極的な分解を受けることが示唆された。

次に、ミスセンス変異がリガンド結合能に与える影響を調べるため、大腸菌発現系により精製した組み換え FABP タンパク質を用いてリガンド結合能解析を行った。その結果、FABP7 野生型では、過去の知見通りのリガンド特異性[ドコサヘキサエン酸 (DHA) とリノール酸では、DHA への特異性が高い]を示したが、FABP7 S86G (統合失調症 1 症例で発見) タンパク質と FABP7 V126L (ASD1 症例で発見) タンパク質では、その特異性が失われていた。

4) *Fabp3/5/7* ノックアウト (KO) マウスの精神疾患研究に関連のある行動解析：

精神疾患に関連のある行動解析バッテリーを用いて、*Fabp3/5/7* KO マウスがどのような表現型を示すのかを調べた。その結果、3チャンバーテストの結果より、*Fabp3* KO マウスは社会的動機付け/新規探索傾向の低下を示した。また *Fabp7* KO マウスは、すでに報告した PPI の減弱に加え、オープンフィールドテスト、強制水泳テスト、居住者-侵入者テストの結果から、不安傾向や過活動性、社会性の障害を示すことがわかった。一方、*Fabp5* KO マウスは特徴的な表現型を示さなかった。

【考察】

これらの結果から、「脳に発現する FABP の質的あるいは量的変化によって脂肪酸機能不全が起こり、それにより精神疾患発症の基盤となる脳発達の微細な障害が引き起こされる」という仮説が、一部の精神疾患患者には当てはまる可能性が示唆された。今後、この仮説をさらに検証していくことにより、“細胞内の脂肪酸機能不全と精神疾患”という新たな観点から、統合失調症や ASD の予防法や治療法、診断への足掛かりが得られる。