

CAPS2 タンパク質による分泌制御機構とその機能不全による脳発達障害 の解明

Analyses of CAPS2 protein-dependent exocytosis mechanism and its association with developmental disorders

群馬大学 定方哲史

自閉症は、三歳までに発病する精神疾患として知られ、“対人関係における障害”、“言語などによるコミュニケーションの障害”、“興味の限局、反復的で常同的な行動”を特徴とした疾患である。CAPS2 (official symbol は CADPS2) は、分泌顆粒の分泌に関与する CAPS1 のホモログとして、我々によって新規遺伝子としてクローニングされ、小脳において CAPS2 は BDNF の分泌に関与していることなどが明らかになった。これまでに我々は作製した CAPS2 KO マウスの行動解析を行い、自閉症で見られるような様々な形質を示すことが明らかになってきた。さらに、ヒト自閉症患者の血中における CAPS2 の発現を解析したところ、自閉症患者特異的に CAPS2 の exon3 がスキップしていることが分かった。この exon3 がスキップした欠損型 CAPS2 は、シナプス部に輸送されなくなるなどが判明した。これらの結果から、欠損型 CAPS2 の発現によって BDNF の局所的分泌が異常になり、これが神経ネットワークの形成異常につながる可能性が示唆された。

今回我々は CAPS2 exon 3 skipping マウスを作製した。CAPS2 exon 3 スキップマウスの行動解析により、様々な自閉症様行動を示すことが分かってきた。以下は野生型マウスと比較した場合における exon 3 スキップマウスの形質である。

●オープンフィールドにおいて、新奇物体を置いたときに、行動量の低下や、新奇物体への接触の低下が見られた。

●高架式十字迷路において、不安が高進していた。

●回転かごにおいて、恒暗状態ではサーカディアンリズムが消失するケースが見られた。

●オープンフィールドを用いた社会性相互作用テストにおいて、社会性相互作用の低下が見られた。

●母マウスの哺育行動に異常が見られた。

さらにこのマウスの解剖学的解析により、BDNF やクロモグラニンのトラフィッキングの異常やゴルジ体の形態異常が示された。電気生理学的解析においては、paired-pulse facilitation に異常が見られた。以上より、このマウスは自閉症モデルマウスとして有用であることが示された。

以上の結果は、Sadakata et al., *Proc Nat Acad Sci USA*. (2013)にて報告した。

CAPS2 タンパク質が有芯小胞分泌のどのステップに関与するかを詳細に検討した。その結果、以下のことが分かってきた。

●CAPS2 タンパク質は PH ドメインを介してゴルジ体膜に結合し、その結合性は C2 ドメインによって制御されている。

●CAPS2 タンパク質は GDP 結合型のクラス II ARF タンパク質 (ARF4, ARF5) の N 末端に結合する。

●CAPS2 と ARF の結合をブロックした場合、有芯小胞マーカータンパク質であるクロモグラニンはゴルジ体へ集積する。

●同様のクロモグラニン集積は CAPS2 および ARF をノックダウンした場合にも起こる。

●CAPS2 をノックアウトした場合、神経細胞のゴルジ体の形態が異常になる。

以上より、CAPS2 タンパク質が有芯小胞のトラフィッキングに関与するメカニズムが分かってきた。

以上の結果は、Sadakata et al., *FEBS J*. (2012)にて報告した。