

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15349

研究課題名(和文) テストステロンによるシナプス結合制御からみる自閉症の発症分子機序の探索

研究課題名(英文) Exploring the pathogenic mechanism of autism through the synaptic binding control by testosterone

研究代表者

柳下 楠(Nan, Yagishita-Kyo)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：70799189

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、自閉症の発症に深く関係しているシナプス接着分子のニューレキシンとニューロリギンとの結合について、それを攪乱する分子の探索を行った。また、ニューレキシンとニューロリギンとの結合攪乱による影響を検証した。その結果、男性ホルモンであるテストステロンがニューレキシン・ニューロリギン結合を阻害すること、その阻害作用はテストステロンとニューレキシンが直接結合するためであることを明らかにした。これらの結果は、自閉症の発症に対して、テストステロンとニューレキシン、ニューロリギンがどのように作用しているのかを明らかにする重要なものであり、査読付き国際学術雑誌にも掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ニューレキシン・ニューロリギン結合の攪乱分子として、本研究で見出されたテストステロンは自閉症の発症因子としてニューレキシンやニューロリギンとは別に注目されているものである。自閉症は顕著に男性の発症率が高いのだが、この原因として、羊水中のテストステロン濃度が異常に高くなることが考えられている。しかし、テストステロンがどのように自閉症の発症に関わっているかは全くわかっていなかった。本研究によって、テストステロンの自閉症発症に対する詳細な機序が明らかになった。本研究の結果を踏まえて、テストステロン濃度の胎児期での重要性が明らかになり、発症リスクを下げる手立てを確立していく端緒となるものである。

研究成果の概要(英文)：Modern research has indicated that inherited defects of synapse formation or maintenance cause familial ASD. Especially, synaptic adhesion molecules, such as Neurexin and Neuroligin, have gotten a lot of attention as responsible genes of ASD. More importantly, Neurexin binds to Neuroligin at synaptic cleft, and this intercellular binding is also related to the manifestation of social behavior. We have been investigating whether the change of Neurexin-Neuroligin binding intensity cause sporadic ASD. Then, we have found testosterone as a molecule that affects Neurexin-Neuroligin binding in vitro. Testosterone, one of the main male hormones, directly binds to Neurexin and interrupts the cell-to-cell binding of Neurexin and Neuroligin. Interestingly, testosterone is another key molecule of higher incidence of ASD in male. Our results suggest the missing link of sporadic ASD-causing mechanisms by Neurexin, Neuroligin and testosterone.

研究分野：神経分子生物学

キーワード：ニューロリギン ニューレキシン テストステロン 自閉症 シナプス接着因子

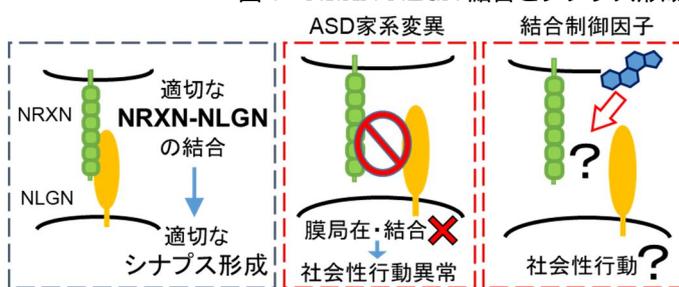
### 1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症(ASD)は社会的なコミュニケーションの障害を主とする発達障害である。ASD 発症の原因としては、神経細胞同士が接着する重要な構造であるシナプスの形成が、胎児期を中心とした脳の発生段階で、異常になるためと考えられている。しかし、具体的なシナプス異常の原因は明らかになっていないことが多い。シナプスを構成するタンパク質の中でも、ニューレキシン(NRXN)とニューロリギン(NLGN)というタンパク質は、「シナプス接着因子」として、神経細胞同士をつなげる役割を果たし、ASD 発症と深く関わるのが注目されている。NRXN と NLGN は別々の神経細胞に発現し、シナプスの隙間において結合している。この結合が何らかの原因で崩れると、社会性の行動異常が起こることが知られている(図 1)。そこで本研究では、NRXN-NLGN 結合の攪乱が ASD の発症原因であるか検証することを目指した。

### 2. 研究の目的

ASD 発症の原因を明らかにするために、NRXN-NLGN 結合を攪乱する物質を探求する(図 1)。申請者は、NRXN が性ホルモン結合タンパク質と共通の構造を持っていることに着目し、NRXN 自体が性ホルモンと結合するのではないかと考えた(図 2)。そこで、性ホルモンを中心に NRXN-NLGN 結合を攪乱する物質を探求する。

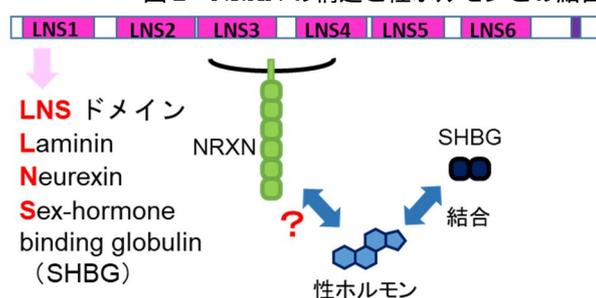
図 1 NRXN-NLGN 結合とシナプス形成



### 3. 研究の方法

培養細胞 COS-7 を用いて、NRXN と NLGN とを強制発現させ、その結合を共免疫沈降実験を用いて評価した。この際、NRXN と NLGN のシナプス間隙における細胞間の接着を再現するため、別々の細胞にそれぞれ NRXN と NLGN を発現させたものを混合することで、細胞間接着を評価する共免疫沈降実験系を新たに立ち上げた。この実験系を用いて、NRXN-NLGN 結合に影響を与える因子を探求するために、性ホルモン各種およびコルチコステロンを添加した。また、NRXN とテストステロンの結合を検証するために、テストステロンを付加した磁気ビーズと、NRXN を発現させた細胞の破碎液を混合し、沈降実験を行った。

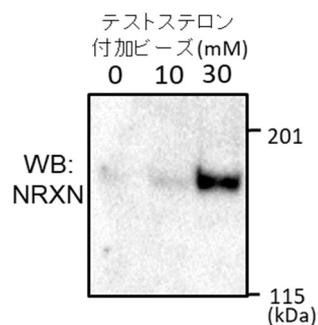
図 2 NRXN の構造と性ホルモンとの結合



### 4. 研究成果

共免疫沈降の結果、添加したコルチコステロン、エストロゲン、プロゲステロン、テストステロンといったホルモンの中でも、男性ホルモンであるテストステロンだけが顕著に NRXN-NLGN 結合を阻害することが明らかになった。また、テストステロンを付加したビーズを用いた沈降実験により、テストステロンの NRXN-NLGN 結合干渉作用は、テストステロンが直接 NRXN と結合することに起因するものであることが示された(図 3)。

図 3 NRXN とテストステロンの結合



この結果は大変興味深いものである。それは、テストステロンが別の観点から ASD の原因物質として強く注目されているためである。ASD には顕著な男女差があり、男性の方が発症率が高い。テストステロンが、男児の脳の発生時に重要な役割を果たすことや、胎児期に羊水中のテストステロン濃度が高いほど、成長した後の自閉傾向が強くなることなどから、羊水中のテストステロンが ASD の発症に深く関わっていると考えられている。しかし、テストステロンがどのようなメカニズムで ASD を引き起こすのかは全くわかっていなかった。本研究によって、テストステロンが NRXN-NLGN 結合を阻害することでシナプス形成が異常となり、ASD を引き起こす可能性が示唆された。本研究で得られた知見は全く新規に見出されたものであり、テストステロンが社会性行動の異常を引き起こす、メカニズムの一端を明らかにした(Yagishita et al., 2021)。

今後は、テストステロンと社会性行動の関連について、テストステロンを動物に投与し、

NRXN-NLGN 結合が阻害されるか、また動物の行動に変化が起こるのかなどを検討していき、引き続き社会性行動障害の原因となる分子メカニズムを明らかにすることを目指していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yagishita-Kyo Nan, Ikai Yuki, Uekita Tomoko, Shinohara Akio, Koshimoto Chihiro, Yoshikawa Keisuke, Maruyama Kei, Yagishita Sosuke	4. 巻 551
2. 論文標題 Testosterone interrupts binding of Neurexin and Neuroligin that are expressed in a highly socialized rodent, Octodon degus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 54 ~ 62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.03.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柳下 姜楠, 伊海結貴, 篠原明男, 越本知大, 丸山敬, 柳下聡介
2. 発表標題 自閉スペクトラム症に重大な役割を担う、テストステロンとNeurexin、Neuroliginの新規分子相互作用
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柳下 姜楠, 蜜澤千春, 小杉山捷, 上北朋子, 丸山敬, 伊海結貴, 篠原明男, 越本知大, 柳下聡介
2. 発表標題 遺伝子変化によらないアルツハイマー病モデル・デグー
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳下 姜楠, 上北朋子, 伊海結貴, 篠原明男, 越本知大, 柳下聡介, 丸山敬
2. 発表標題 高度な社会性を有する齧歯類 <i>O. degus</i> の遺伝情報を用いた新たな自閉症スペクトラム障害発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳下 姜楠、原田美海、上北朋子、丸山敬、伊海結貴、越本知大、柳下聡介
2. 発表標題 社会性に関わるシナプス接着分子に対する性ホルモンの影響
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------