

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：82401
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2012
課題番号：23700457
研究課題名（和文） 不安・気分障害関連遺伝子 <i>Slitrk5</i> の機能解析と疾患発症メカニズムの解明
研究課題名（英文） <i>Slitrk5</i> knock-out mice showed elevated anxiety and depression like behavior.
研究代表者 松本 圭史 (MATSUMOTO YOSHIFUMI) 独立行政法人理化学研究所・行動発達障害研究チーム・研究員 研究者番号：60513463

## 研究成果の概要（和文）：

*Slitrk* ファミリーは様々な精神疾患や神経疾患に関わっていることが知られている。しかし *Slitrk5* の機能は未知である。そこで我々はノックアウトマウス (KO マウス) を作製し、詳細な行動解析を行った。その結果、KO マウスは不安症状の亢進及び鬱様の症状を示した。またいくつかの脳領域のモノアミン量及びその代謝産物量を測定したところ、KO マウスの海馬におけるセロトニンの有意な減少が見られた。さらに海馬の perforant path における電気生理を調べたところ、有意な LTP の減少が見られた。ヒトの気分障害や不安障害患者においてセロトニン再取り込み阻害剤が治療に効果があること、さらに腹側海馬が不安障害と強く関連があることなどから、*Slitrk5* はこれらの疾患と強い関連があることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

*Slitrk* family is strongly associated with the psychiatric disorder or auditory function. However, *Slitrk5* function has not been known yet. We therefore generated *Slitrk5* knockout (KO) mouse and performed comprehensive behavioral tests. *Slitrk5* KO mice showed the increased anxiety and depression like behavior, and moreover showed significantly decreased serotonin levels in hippocampus among various brain regions. Taken together with these results, *Slitrk5* is strongly associated with pathogenesis of anxiety and depression disorder through impairment of serotonin concentration in hippocampus.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

## 研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：SLITRK、不安障害、気分障害

## 1. 研究開始当初の背景

*Slitrk* ファミリーは哺乳類において6種類 (*Slitrk1*, *Slitrk2*, *Slitrk3*, *Slitrk4*, *Slitrk5*, *Slitrk6*) の遺伝子により構成され、それぞれが中枢神経系で非常に特徴的な発現パターンを示す\*1。さらに我々は、PC12 細

胞を用いた *in vitro* の実験において、*Slitrk* ファミリーが神経突起の伸展・分岐に関与していることを示している\*2。そのため、*in vivo* においても神経回路網形成に関与し、これらの機能異常が様々な神経発達障害・精神疾患の発症に関与している可能性が強く示唆されてきた。

そこで我々は *Slitrk1* 遺伝子のノックアウトマウス (以下 KO マウス) を作製し、その組織形態観察および行動解析を行った。その結果、*Slitrk1* の KO マウスは重度の神経系発達障害として知られるトゥレット症候群と類似の行動パターンを示した\*3。さらに他の研究グループにより、トゥレット症候群患者の *SLITRK1* に変異が存在していることが示された\*4。これらの結果から *Slitrk1* は神経回路網形成に深く関わっており、その機能不全により精神疾患が発症すると示唆されている。

一方 *Slitrk6* 遺伝子の KO マウスでは、内耳の蝸牛における投射神経の数の減少が見られたほか、三半規管のなかで前半規管の投射神経の欠損がみられた\*5。さらに *Slitrk6* の KO マウスにおいて聴覚機能と前庭反射機能の低下が見られた\*6。また *Slitrk6* は内耳の他に視床においても強い発現が見られる。そこで行動解析を行ったところ、認知機能に異常が見られた。また我々と共同研究グループにより、重度の視覚および聴覚に障害を持つヒトにおいて *Slitrk6* に変異が見つかった。このことから *Slitrk6* はこれら感覚神経に重要な役割を担っていることが示唆されている。*SLITRK1* と *SLITRK6* は *SLITRK5* と共にヒト 13 番染色体の 13q31 領域に存在する。興味深いことに、この領域はトゥレット症候群だけでなく大うつ病、双極性障害、統合失調症等の責任領域であることが様々な研究により報告されている。このことから *Slitrk5* もまた、高次脳機能において重要な役割を担い、その機能異常は精神疾患の発症に関与していると十分考えられていた。しかしながら、*Slitrk1*、*Slitrk6* を含め *Slitrk* ファミリーの脳における機能は未知である。そこで *Slitrk5* の高次脳における役割を明らかにし、さらにその分子機能を明らかにすることにより、その他のファミリーメンバーの機能も明らかにできるのではないかと考えられた。

参考文献

1. [Aruga et al. GENE 2003 315:87-94.](#), 2. [Aruga and Mikoshiba Mol. Cell. Neurosci. 2003 24:117-129](#) 3. [Katayama and Aruga et al. Mol psychiatry 2010 15 177-184.](#) 4. [Abelson et al. Science 2005 310:317-320.](#), 5. [Katayama and Aruga et. al. PLoS one 2010 4 e7786.](#), 6. [James et al. 2003 Am. J. Psychiatry 160:680-686](#) 注) 下線は当研究室からの発表論文

## 2. 研究の目的

本研究は様々な精神神経疾患・神経発達障害の原因遺伝子として報告されている *Slitrk* ファミリーの機能解析を行い、疾患発症のメカニズムを分子レベルで明らかにすることを目的としている。そのために *Slitrk5* KO マウスの行動解析や形態観察を行

い、一方 *in vitro* では、神経突起・棘突起形成やシナプスにおける働きなど、神経細胞レベルでの *Slitrk5* の分子機能を解明する。これら *in vivo* と *in vitro* との実験を有機的に結合させることにより、*Slitrk5* による精神神経疾患発症のメカニズムを分子レベルで明らかにすることを目的としている。

## 3. 研究の方法

(1) *in vivo* での *Slitrk5* の機能を明らかにするために *Slitrk5* の KO マウスを作製し、さらに Open field test, Elevated plus maze test, Light-dark box test 等の不安症状を解析するものから、Tail suspension test, Forced swimming test 等の鬱症状を解析するものまで、様々な包括的な行動解析を行った。

(2) また、*Slitrk5* の脳内での機能を調べるために、脳全体での *Slitrk5* の発現部位を免疫染色により明らかにした。さらに細胞内での発現分布を明らかにするために海馬初代培養細胞内での発現部位を調べた。また、海馬初代培養細胞を用いて *Slitrk5* のシナプス形成能を調べた。

(3) 上記結果により、*Slitrk5* KO マウスは不安・気分障害の表現型を示したことから、その原因を明らかにするために、脳の各部位のモノアミンとその代謝産物量を HPLC により測定した。

(4) 上記 (2) により *Slitrk5* KO マウスの海馬においてセロトニンの有意な減少が見られたため、海馬における神経伝達機能を電気生理学的手法により調べた。

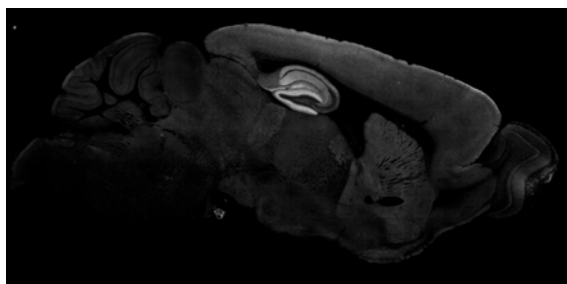
(5) また、海馬におけるシナプス形成能を調べるために、共焦点顕微鏡や電子顕微鏡を用いて KO マウスの海馬のシナプス形態を野生型と比較した。さらに海馬における神経の形態を Golgi 染色により調べた。

## 4. 研究成果

まず、*in vivo* における *Slitrk5* の機能を明らかにするために、*Slitrk5* の KO マウスを作製した。野生型と KO マウスとの間で体重や脳の形態などを比較したが外見上大きな違いは観察されなかった。そこで、Open field test, Elevated plus maze test, Light-dark box test 等の不安症状を解析するものから、Tail suspension test, Forced swimming test 等の鬱症状を解析するものまで行動解析を行った。その結果、*Slitrk5* KO マウスは不安症状の亢進及び鬱様の症状を示した。一方、学習や記憶における試験では異常は見られなかった。次に *Slitrk5* の脳における発現部位を免疫染色法により調べたところ、海馬、特に歯状回に強い発現が見られた (図参照)。さらに神経細胞内での発現

分布を調べるために、海馬初代培養細胞を用いて細胞免疫染色を行ったところ、主にシナプス後部位に分布していた。Slitrk5 はシナプス形成に関与している可能性があるため、海馬初代培養細胞を用いてシナプス誘導能を調べた。その結果、Slitrk5 はシナプス前部位の形成を誘導することにより、シナプス形成を促進していることが明らかになった。

これまで、不安症状の亢進や鬱症状にはモノアミンが強く関与していることが知られている。そこでいくつかの脳領域（前頭前皮質、線条体、扁桃体、海馬）のモノアミン量及びその代謝産物量を HPLC により測定したところ、KO マウスにおいて海馬におけるセロトニンの有意な減少が見られた。ヒトの気分障害や不安障害患者においてセロトニン再取り込み阻害剤が治療に効果があること、さらに腹側海馬が不安障害と強く関連があることなどから、Slitrk5 の KO マウスにおける気分障害症状は海馬におけるセロトニン量の減少により生じた可能性が示唆された。Slitrk5 は海馬でのシナプス形成に関与し、セロトニンの海馬での有意な低下によりこれらの疾患の発症に関与している可能性が高いと考えられる。



(図) Slitrk5 のマウスの脳における発現部位

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ①3 *SLITRK6* mutations cause myopia and deafness in humans and mice. Mustafa Tekin, Barry A. Chioza, Yoshifumi Matsumoto, Oscar Diaz-Horta, Harold E. Cross, Duygu Duman, Haris Kokotas, Heather L. Moore-Barton, Kazuto Sakoori, Maya Ota, Yuri S. Odaka, Joseph Foster II, F. Basak Cengiz, Suna Tokgoz-Yilmaz, Oya Tekeli, Maria Grigoriadou, Michael B. Petersen, Ajith Sreekantan-Nair, Kay Gurtz, Xia-Juan Xia, Arti Pandya, Michael A. Patton, Juan Young, Jun Aruga, and Andrew H. Crosby

The Journal of Clinical Investigation 2013  
Volume 123 Number 5 2094-102  
査読あり

② Selective control of inhibitory synapse development by Slitrk3-PTP・trans-synaptic interaction.

Takahashi H., Katayama K., Sohya K., Miyamoto H., Prasad T., Matsumoto Y., Ota M., Yasuda H., Tsumoto T., Aruga J and Craig AM.

Nat Neurosci. 2012 15(3):389-98

査読あり

③有賀純、松本圭史

LRR シナプスオーガナイザーと神経疾患

実験医学増刊 2012 vol. 30 No2 218-223  
in vivo実験医学によるヒト疾患解明の最前線

査読なし

④ Impaired auditory-vestibular functions and behavioral abnormalities of Slitrk6-deficient mice.

Matsumoto Y., Katayama K., Okamoto T., Yamada K., Takashima N., Nagao S., Aruga J.

PLoS One. 2011 26;6(1):e16497

査読あり

[学会発表] (計 2 件)

①Matsumoto Y., Takashima N., Nozaki Y., Nishioka N., Kudoh M., Aruga J. : Zic2 knock down mice show the higher response to auditory stimulus and size reduction of DCoN. Society for Neuroscience meeting 2011, Washington D. C. , USA, November 12-16, 2011.

②松本圭史、片山圭一、岡本武人、山田一之、永雄総一、工藤雅治、有賀純：Slitrk6 欠損マウスの聴覚および前庭機能異常について。第 34 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、横浜 2011 年 9 月 14-17 日。

[その他]

ホームページ等

理化学研究所・脳科学総合研究センター・行動発達障害研究チーム

<http://lcn.brain.riken.jp/topicsj.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 圭史 (MATSUMOTO YOSHIFUMI)

独立行政法人理化学研究所・行動発達障害研究チーム・研究員

研究者番号：60513463

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし