

令和元年5月24日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07057

研究課題名(和文) 精神神経疾患患者で見いだされたSLITRK1変異体の病態生理的意義の解明

研究課題名(英文) Functional analysis of SLITRK1 mutations derived from patients of psychiatric disorders

研究代表者

畑山 実 (HATAYAMA, Minoru)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：50443007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、精神疾患患者に由来するSLITRK1遺伝子の変異体について、その機能異常について調べたものである。SLITRK1遺伝子は神経細胞に強く発現する膜貫通タンパク質で、シナプスの形成や突起の伸長に関与することが知られている。研究の結果、変異体はいくつかの機能評価において機能が十分に発揮できていないことが明らかになった。また研究の過程に於いて、SLITRK1にモノアミン作動性神経の中樞神経系での生後発達を制御する作用を見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、精神疾患の患者に由来する遺伝子変異が機能的に異常をもつか調べることで、発症との関連を追究することを目標としている。このことは疾患のリスク因子の解明につながると考えている。また、本研究で対象としているSlitrk1遺伝子は遺伝子欠損マウスの解析から脳内のノルアドレナリン量に異常があることがわかっており、脳内のノルアドレナリン作動性神経の発達には未解明な点も多く、本研究で明らかになった神経発達に対するSlitrk1の作用はモノアミン作動性神経の生後発達を理解する上で重要な位置を占めると考えている。

研究成果の概要(英文)：SLITRK1 is a transmembrane protein and regulates synapse formation and neurite extension. In this study I performed functional assays for SLITRK1 mutants that derived from psychiatric disorder patients. In a series of my experiments, I revealed partial dysfunction of the mutant SLITRK1 protein in vivo and in vitro. In addition, I found a novel in vivo function of SLITRK1 for monoaminergic neurite development in early postnatal brain.

研究分野：神経科学

キーワード：精神疾患 モノアミン作動性神経

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Slitrk は一回膜貫通型のタンパク質で、6つのファミリー遺伝子がある。細胞外ドメインには2つのロイシンリッチリピートをもち、膜貫通ドメインがある。皮質と海馬に発現が強く、その機能としてシナプスの誘導や突起伸展を制御することが知られている。一方、遺伝学解析から SLITRK1 とトゥレット症候群との関連が指摘されている。しかし、Slitrk1 欠損マウスの行動などから、トゥレット症以外の疾患との関連が予測されたため、統合失調症および双極性障害の患者を対象に再シーケンシング解析をおこなった。その結果、患者群に有意に高頻度で出現する点突然変異を見いだした。興味深いことに、この突然変異によって、アミノ酸配列はネアンデルタール人などと同じになることがわかった。そのほか、双極性障害の患者群にのみ検出された点突然変異体も発見した。こちらは、ほ乳類で保存性の高いアミノ酸における変異であった。このような背景から本研究は対象となる疾患の発症メカニズムの理解につながると考えられるだけでなく、人類の脳の進化に関して示唆的な結果が得られるのではないかと期待された。

### 2. 研究の目的

本研究では、神経細胞のシナプス形成や突起伸展に関与し、トゥレット症との関連が指摘されている SLITRK1 タンパク質の精神疾患への関与を明らかにする。申請者は、統合失調症と双極性障害の患者群に有意に高頻度で出現する変異を見いだした。この変異はアミノ酸配列が現生人類型から祖先型へと変化する置換であった。これまでの研究で変異により抑制性シナプスの形成が低調になり、突起伸展への作用も野生型より弱いことを見いだした。これらの点突然変異体の機能を野生型と比較することでこれらの変異により疾患の発症機序への理解を深めるのが本研究の目的である。一方で Slitrk1 欠損マウスの解析からノルアドレナリン作動性神経の前頭前皮質における神経支配に異常が予測されるため、生体内における SLITRK1 の役割と変異により生じる影響を解明する。この解析から生体における遺伝子の機能を探索することで変異体の影響を推察するための基盤とする。

### 3. 研究の方法

SLITRK1 変異体の機能解析は、おもに初代培養した神経細胞に遺伝子導入することにより評価した。また、ノルアドレナリン作動性神経の発達に関しては、子宮内電気穿孔法により野生型および変異体を皮質に導入し、生後5日目にノルアドレナリントランスポーターの免疫染色により発達を可視化して評価した。また機能喪失型の実験として生後7日目の Slitrk1 欠損マウスの前頭前野を同様に染色して遺伝型により線維の発達に違いがあるか検討した。加えて Slitrk1-Fc 融合タンパク質を精製して初代培養した青斑核神経細胞の培地に添加する実験も試みた。

研究の過程で出生後のモノアミン作動性神経の発達に対して Slitrk1 が当初の予想よりも強い影響を持つことが明らかとなった。そのため、免疫組織学的な解析に加えて、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)をもちいた脳内モノアミンの定量をおこなうこととした。

### 4. 研究成果

これまでの実験結果と併せて、変異体の機能解析では野生型と比較して統計的に有意な機能の低下が認められた。本研究の過程で、ノルアドレナリン作動性神経の発達における役割については予想を超えた強い作用を持つことが明らかになった。変異体についても野生型とは逆の作用を示す変異体があり、培養細胞での解析結果を考慮すると変異体は精神疾患の発症に対して少なくない影響を持つことが推察された。なお、Slitrk1-Fc 融合タンパク質を用いた実験では十分な量のタンパク質を得ることが難しく、本研究では実験を断念した。

現在、誌上発表に向けて準備しているが、Slitrk1 の新規機能の発見があり、より注目度の高い雑誌への投稿をめざしている。そのため当初の計画に無かった実験を追加するなどしており、初期の目標である誌上発表は達成できていない。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5件)

**Mol Biol Evol.** 2018; 35(9): 2205 (doi: 10.1093/molbev/msy122) 査読有り

Tohmonda T, Kamiya A, Ishiguro A, Iwaki T, Fujimi TJ, Hatayama M, Aruga J.: Identification and characterization of novel conserved domains in metazoan Zic proteins.

**Sci Rep.** 2018;8(1):2140. (doi: 10.1038/s41598-018-20242-2) 査読有り

Ishiguro A, Hatayama M, Otsuka MI, Aruga J: Link between the causative genes of holoprosencephaly: Zic2 directly regulates Tgif1 expression.

**Adv Exp Med Biol.** 2018;1046:3-26. (doi: 10.1007/978-981-10-7311-3\_1) 査読有り

Aruga J, Hatayama M: Comparative Genomics of the Zic Family Genes.

**Adv Exp Med Biol.** 2018;1046:353-380. (doi:10.1007/978-981-10-7311-3\_18) **査読有り**  
Hatayama M, Aruga J: Role of Zic Family Proteins in Transcriptional Regulation and Chromatin Remodeling.

**Nat Commun.** 2017;8:15800. (doi: 10.1038/ncomms15800) **査読有り**  
Morimura N, Yasuda H, Yamaguchi K, Katayama KI, Hatayama M, Tomioka NH, Odagawa M, Kamiya A, Iwayama Y, Maekawa M, Nakamura K, Matsuzaki H, Tsujii M, Yamada K, Yoshikawa T, Aruga J: Autism-like behaviours and enhanced memory formation and synaptic plasticity in Lrln2/SALM1-deficient mice.

〔学会発表〕(計 3件)

2017年11月18日 かごしま県民交流センター、鹿児島市  
前川 隆太、畑山 実、片山 圭一、有賀 純: 神経膜タンパク質 SLITRK1 の細胞外ドメインによる神経突起伸展および分枝形成制御の分子機構  
第70回日本薬理学会西南部会

2017年7月20日-23日 幕張メッセ、千葉市  
Minoru Hatayama, Kei-ichi Katayama, Noriko Takashima, Jun Aruga: Slitrk1 regulates adrenergic innervation in prefrontal cortex (PFC) and affects anxiety/depression related behavior  
第40回日本神経科学大会

2017年3月15日-17日 長崎ブリックホール、長崎市  
畑山 実、片山 圭一、高嶋 記子、有賀 純: Slitrk1 controls noradrenergic innervation in prefrontal cortex and its absence affects anxiety-like behavior. Slitrk1 のノルアドレナリン作動性神経の発達における役割-不安様行動との関連について  
第90回日本薬理学会年会

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者  
なし

(2)研究協力者  
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。