

LRR 膜タンパク質によるモノアミン神経系制御と気分障害・強迫スペクトラム症の病態

有賀 純

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医科薬理学分野

【研究の背景】

脳神経系に発現するロイシンリッチリピート(Leucine-Rich Repeat)を含む膜貫通タンパク質(以下、LRR 膜タンパク質)は神経突起の伸展制御、シナプス形成・機能維持において重要な役割を持つ¹⁻⁸⁾。申請者らは6種類のLRR膜タンパク質よりなるSlitrk(Slit and Ntrk-like)ファミリータンパク質を同定・命名し、発現・機能解析を行った⁹⁾。その結果、Slitrk1欠損、Slitrk2欠損、Slitrk5欠損の3系統のマウスにおいて、モノアミン代謝の異常が起きることを見いだした¹⁻³⁾(一部未発表)。これら3系統ではいずれもうつ様症状の指標と考えられている行動テストで異常が認められており、ノルアドレナリン性神経系、セロトニン性神経系の一方もしくは両方の発生・分化の異常が認められる。更にSlitrk1欠損マウスでは強迫スペクトラム症の治療薬の1つクロニジン投与により¹⁰⁾、Slitrk2欠損マウスでは気分障害(双極性障害)治療薬リチウム投与により³⁾、行動異常が部分的に回復することがわかった。

一方、ヒトSLITRK1はトゥレット障害、抜毛症、強迫性障害を含む強迫スペクトラム症の原因遺伝子であるが¹¹⁾、我々はヒトSLITRK1に気分障害患者群で有意に多く観察されるミスセンス変異を発見し、それがSLITRK1タンパク質の神経突起形成制御能を変化させることを報告した^{1,2)}。ヒトSLITRK2の遺伝子近傍は気分障害(双極性障害)に関連している¹²⁾。ヒトSLITRK5は強迫神経症と最も強く関連する遺伝子である¹³⁾。NTRK3についても気分障害への遺伝的学的関連が報告されている¹⁴⁾。

【目 的】

本研究では強迫スペクトラム症関連遺伝子(Slitrk1、Slitrk5)、気分障害関連遺伝子(Slitrk2、Ntrk3)がどのような機序でモノアミン性神経系の発生・発達を制御するのか、これら遺伝子のモノアミン性神経系における遺伝子不活化により引き起こされる不安様行動異常・うつ様行動異常はモノアミン性神経伝達を標的とする治療薬によりどのような影響をうけるのかを明らかにする。

【方 法】

Slitrk1、Slitrk2、Slitrk5、Ntrk3をノルアドレナリン性神経系、セロトニン性神経系、ドパミン性神経系または背側前脳で選択的に欠損させたマウスを作成し、それらマウスの行動とモノアミン神経系の状態(形態、モノアミン動態、発生異常を含む)を解析する。うつ様・不安様の行動異常およびモノアミン動態の異常については、モノアミン系を標的とする治療薬投与の影響を評価する。

【結 果】

Slitrk1条件変異マウス、Slitrk2条件変異マウス、Slitrk5条件変異マウスの作製を進めた。いずれの条件変異アレルCrisprCas9を利用した遺伝子組換えを2回連続して行うことにより、タンパク質コード領域を夾む2個のloxP配列の挿入を行った。得られた条件変異マウス(Slitrk1^{lox}、Slitrk2^{lox}、Slitrk5^{lox})とCreドライバーマウス(SERT-Cre、Dbh-Cre)の交配により、ノ

ルアドレナリン系、セロトニン系における選択的遺伝子欠損マウスの作成を行った。現在、行動解析が必要なマウスを得るための繁殖を行っている。一方、作成済であった Ntrk3 の条件変異マウス(Ntrk3^{lox})については、ノルアドレナリン系、セロトニン系、前脳背側における選択的欠損の影響評価を行った。その結果、Ntrk3 遺伝子のノルアドレナリン系ニューロンにおける選択的欠損により、不安・うつ様の行動異常が現れることが明らかになった。また、対象として用いた Cre ドライバーマウスの一部は、野生型マウスと比較して、一部の行動課題パラメータの異常を示すことが明らかになった。また、研究実施期間中に Slitrk4 欠損マウスに抑制性ニューロンの発生異常が起き、心的外傷後ストレス障害(PTSD)関連の行動異常が現れることに関する誌上発表を行った¹⁵⁾。

【考 察】

以上の結果を踏まえ、適切な対照群を設定しながら、Slitrk1, Slitrk2, Slitrk5 を含む LRR 膜タンパク質遺伝子のモノアミン神経系選択的遺伝子欠損マウスについて、ホームケージ活動性、オープンフィールド、高架式十字迷路、強制水泳、尾懸垂、ショ糖嗜好性、恐怖条件付け等の行動試験を進める。必要に応じて、セロトニン、ドパミン、ノルアドレナリンの定量(ELISA, HPLC)、各モノアミン線維の免疫染色による形態観察、モノアミンセンサータンパク質による自由行動下でのノルアドレナリン、セロトニン等の動態観察を行う。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

気分障害および不安障害の頻度は高い(生涯有病率はそれぞれ 5-10%)。本研究により、これら疾患の遺伝子変異から、モノアミン動態の変化、行動異常まで、一貫した解析のなされた疾患モデル動物を提供でき、病態の理解・より良い治療法の開発に貢献できる。これらは理研バイオリソース研究センターに寄託され、強迫スペクトラム症と気分障害の病態研究・創薬研究に広く利用される予定である。

【参考・引用文献】

1. Hatayama, M. and J. Aruga: Developmental control of noradrenergic system by SLITRK1 and its implications in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders: *Front Mol Neurosci*. 2022: 15: p. 1080739.
2. Hatayama, M., K.I. Katayama, Y. Kawahara, H. Matsunaga, N. Takashima, Y. Iwayama, Y. Matsumoto, A. Nishi, T. Yoshikawa, and J. Aruga: SLITRK1-mediated noradrenergic projection suppression in the neonatal prefrontal cortex: *Commun Biol*. 2022: 5: p. 935.
3. Katayama, K.I., N. Morimura, K. Kobayashi, D. Corbett, T. Okamoto, V.G. Ornthalalai, H. Matsunaga, W. Fujita, Y. Matsumoto, T. Akagi, T. Hashikawa, K. Yamada, N.P. Murphy, S. Nagao, and J. Aruga: Slitrk2 deficiency causes hyperactivity with altered vestibular function and serotonergic dysregulation: *iScience*. 2022: 25: p. 104604.
4. Ichise, M., K. Sakoori, K.I. Katayama, N. Morimura, K. Yamada, H. Ozawa, H. Matsunaga, M. Hatayama, and J. Aruga: Leucine-Rich Repeats and Transmembrane Domain 2 Controls Protein Sorting in the Striatal Projection System and Its Deficiency Causes Disturbances in Motor Responses and Monoamine Dynamics: *Front Mol Neurosci*. 2022: 15: p. 856315.
5. Morimura, N., H. Yasuda, K. Yamaguchi, K.I. Katayama, M. Hatayama, N.H. Tomioka, M. Odagawa, A. Kamiya, Y. Iwayama, M. Maekawa, K. Nakamura, H. Matsuzaki, M. Tsujii, K. Yamada, T. Yoshikawa, and J. Aruga: Autism-like behaviours and enhanced memory formation and synaptic plasticity in Lrfrn2/SALM1-deficient mice: *Nat Commun*. 2017: 8: p. 15800.
6. Tomioka, N.H., H. Yasuda, H. Miyamoto, M. Hatayama, N. Morimura, Y. Matsumoto, T. Suzuki, M. Odagawa, Y.S. Odaka, Y. Iwayama, J. Won Um, J. Ko, Y. Inoue, S. Kaneko, S. Hirose, K. Yamada, T. Yoshikawa, K. Yamakawa, and J. Aruga: Elfn1 recruits presynaptic mGluR7 in trans and its loss results in seizures: *Nat Commun*. 2014: 5: p. 4501.

7. Tekin, M., B.A. Chioza, Y. Matsumoto, O. Diaz-Horta, H.E. Cross, D. Duman, H. Kokotas, H.L. Moore-Barton, K. Sakoori, M. Ota, Y.S. Odaka, J. Foster, 2nd, F.B. Cengiz, S. Tokgoz-Yilmaz, O. Tekeli, M. Grigoriadou, M.B. Petersen, A. Sreekantan-Nair, K. Gurtz, X.J. Xia, A. Pandya, M.A. Patton, J.I. Young, J. Aruga, and A.H. Crosby: SLITRK6 mutations cause myopia and deafness in humans and mice: *J Clin Invest*. 2013: 123: p. 2094-102.
8. Takahashi, H., K. Katayama, K. Sohya, H. Miyamoto, T. Prasad, Y. Matsumoto, M. Ota, H. Yasuda, T. Tsumoto, J. Aruga, and A.M. Craig: Selective control of inhibitory synapse development by Slitrk3-PTPdelta trans-synaptic interaction: *Nat Neurosci*. 2012: 15: p. 389-98, S1-2.
9. Aruga, J. and K. Mikoshiba: Identification and characterization of Slitrk, a novel neuronal transmembrane protein family controlling neurite outgrowth: *Mol Cell Neurosci*. 2003: 24: p. 117-29.
10. Katayama, K., K. Yamada, V.G. Ornathanalai, T. Inoue, M. Ota, N.P. Murphy, and J. Aruga: Slitrk1-deficient mice display elevated anxiety-like behavior and noradrenergic abnormalities: *Mol Psychiatry*. 2010: 15: p. 177-84.
11. Abelson, J.F., K.Y. Kwan, B.J. O’Roak, D.Y. Baek, A.A. Stillman, T.M. Morgan, C.A. Mathews, D.L. Pauls, M.R. Rasin, M. Gunel, N.R. Davis, A.G. Ercan-Sencicek, D.H. Guez, J.A. Spertus, J.F. Leckman, L.S.t. Dure, R. Kurlan, H.S. Singer, D.L. Gilbert, A. Farhi, A. Louvi, R.P. Lifton, N. Sestan, and M.W. State: Sequence variants in SLITRK1 are associated with Tourette’s syndrome: *Science*. 2005: 310: p. 317-20.
12. Smith, E.N., C.S. Bloss, J.A. Badner, T. Barrett, P.L. Belmonte, W. Berrettini, W. Byerley, W. Coryell, D. Craig, H.J. Edenberg, E. Eskin, T. Foroud, E. Gershon, T.A. Greenwood, M. Hipolito, D.L. Koller, W.B. Lawson, C. Liu, F. Lohoff, M.G. McInnis, F.J. McMahon, D.B. Mirel, S.S. Murray, C. Nievergelt, J. Nurnberger, E.A. Nwulia, J. Paschall, J.B. Potash, J. Rice, T.G. Schulze, W. Scheftner, C. Panganiban, N. Zaitlen, P.P. Zandi, S. Zollner, N.J. Schork, and J.R. Kelsoe: Genome-wide association study of bipolar disorder in European American and African American individuals: *Mol Psychiatry*. 2009: 14: p. 755-63.
13. Halvorsen, M., J. Samuels, Y. Wang, B.D. Greenberg, A.J. Fyer, J.T. McCracken, D.A. Geller, J.A. Knowles, A.W. Zoghbi, T.D. Pottinger, M.A. Grados, M.A. Riddle, O.J. Bienvenu, P.S. Nestadt, J. Krasnow, F.S. Goes, B. Maher, G. Nestadt, and D.B. Goldstein: Exome sequencing in obsessive-compulsive disorder reveals a burden of rare damaging coding variants: *Nat Neurosci*. 2021: 24: p. 1071-1076.
14. Feng, Y., A. Vetró, E. Kiss, K. Kapornai, G. Daróczy, L. Mayer, Z. Tamás, I. Baji, J. Gádoros, N. King, J.L. Kennedy, K. Wigg, M. Kovacs, and C.L. Barr: Association of the neurotrophic tyrosine kinase receptor 3 (NTRK3) gene and childhood-onset mood disorders: *Am J Psychiatry*. 2008: 165: p. 610-6.
15. Matsumoto, Y., H. Miwa, K.I. Katayama, A. Watanabe, K. Yamada, T. Ito, S. Nakagawa, and J. Aruga: Slitrk4 is required for the development of inhibitory neurons in the fear memory circuit of the lateral amygdala: *Front Mol Neurosci*. 2024: 17: p. 1386924.