

論文内容要旨

Functional significance of rare neuroligin 1
variants found in autism

(自閉症で同定された希少な neuroligin1 遺伝子
変異の機能的意義)

PLOS Genetics, 13(8): e1006940, 2017.

指導教員：内匠 透 教授
(理化学研究所 脳科学総合研究センター)

仲西 萌絵

自閉症は、社会的コミュニケーションの障害、繰り返し行動、特定のものへの強いこだわりなどが特徴的な発達障害の一つである。2010年にアメリカで行われた調査では、約68人に1人が自閉症であると報告されている。自閉症の発症には遺伝的要因が強く関与することが明らかとなっており、様々な遺伝子の変異が発症と関与すると考えられているが、原因となる遺伝子の全容と詳しい分子メカニズムは明らかではない。近年の研究では、特にシナプスに関連する遺伝子の変異が多く同定されていることから、シナプス異常と自閉症の関連が強く示唆されている。シナプス膜に存在する分子 *neuroligin* (NLGN) と、その結合分子である *neurexin* (NRXN)、*shank* から構成される NLGN-NRXN-Shank 経路では、これまでに複数の自閉症関連遺伝子が同定されており、この分子経路の異常は自閉症の発症と強く関連していると考えられていた。これまでに NLGNファミリーの *NLGN3* や *NLGN4* が自閉症関連遺伝子であることが報告されてきたが、最もよく研究されているファミリー分子である *NLGN1* の自閉症への関与や、他の神経精神疾患への関与は明らかでなかった。今回我々は、自閉症の兄弟2名の全エクソーム解析から、新規に NLGN1 遺伝子のミスセンス変異 (Pro89Leu) を同定し、さらに発表データ/未発表データを調べ、他に5名の患者から4つの NLGN1 ミスセンス変異を同定し、これら変異がどのような機能的差異をもたらすか解析を行った。

in silico の解析では、これら5つの変異のうち、少なくとも3つはタンパク質の構造に影響を及ぼす可能性が高いことが示唆された。特に2つの変異は、同じプロリンリッチなループ状の構造に位置しており、この構造上には、NLGN3と4で複数の自閉症関連変異が報告されていた。培養細胞へ変異型 NLGN1 を過剰発現したところ、変異型では、5つのうち4つで野生型と比較して発現量の減少が認められた。また、うち3つでは細胞内局在の変化(小胞体への局在)が観察され、これらの変異では共通する異常メカニズムによってタンパク質の発現減少が引き起こされていることが示唆された。発現量が減少するものの、局在に変化が見られなかった変異1つを詳細に解析した所、細胞表面において、NLGN1の細胞外ドメインが切断されるプロセスが亢進していることが明らかになり、このことは自閉症変異型での NLGN1 の発現量減少に、少なくとも2つの異常なメカニズムが関与することを示していると考えられた。NLGN1は、初代培養神経細胞に過剰発現すると、スパインの形成を促進することが知られる。この機能を自閉症変異型で確認すると、4つの変異型ではスパイン誘導能が減少していた。最後に、NLGN1の変異が、実際に自閉症様の行動異常を引き起こすか確認するため、新規ゲノム編集技術 CRISPR/Cas を用いて一塩基置換を導入し、変異ノックインマウス (*Nlgn1* P89L マウス) を作製した。変異型マウスでは、脳に発現する NLGN1 タンパク質の減少が確認された。このマウスの行動を網羅的に解析した所、社会的相互作用を調べるテスト (three-chamber social interaction, caged social interaction, tube test) および空間記憶能力を調べるテスト (モリス水迷路) で異常が見られることが明らかになった。このことは、NLGN1 遺伝子変異が、NLGN1 タンパク質の減少をもたらす、自閉症用の行動変化を起こしうることを示していると考えられた。以上より、NLGN1 遺伝子の変異は、自閉症の発症に繋がり、NLGN1 は新たな自閉症候補遺伝子である可能性が示唆された。