

氏 名 李 林煜
りー りんいく

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富生命博甲第 160 号

学位授与年月日 令和 6 年 3 月 22 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院生命融合科学教育部 博士課程
認知・情動脳科学専攻

学位論文題目

Differential contribution of canonical and noncanonical NLGN3 pathways
to early social development and memory performance

(自閉スペクトラム症関連タンパク質NLGN3による早期社会性発達および
記憶の調節機構)

論文審査委員

(主査) 教授 西丸 広史

(副査) 教授 鈴木 道雄

(副査) 教授 井ノ口 馨

(副査) 教授 山本 善裕

(指導教員) 教授 森 寿

論文要約

学位論文題目

(和文)

自閉スペクトラム症関連タンパク質 NLGN3 による早期社会性発達および記憶の調節機構

(英文)

Differential contribution of canonical and noncanonical NLGN3 pathways to early social development and memory performance

氏名 李林煜

〔目的〕

Neuroigin 3 (NLGN3) は NLGN ファミリーに属するシナプス後部の細胞接着タンパク質である。NLGN ファミリーは NLGN1, 2, 3, 4X, 4Y より構成され、アミノ末端側よりシグナル配列、細胞外コリンエステラーゼ様ドメイン、膜貫通領域、短い細胞質ドメインを共通に持っている。ヒト *NLGN3* 遺伝子上の様々な変異が社会性の発達障害である自閉スペクトラム症の患者や知的障害の患者より見出されたことから、NLGN3 は社会性発達調節の鍵分子と考えられてきた。従来、NLGN3 はシナプス前部の Neurexin (NRXN) 1-3 と結合してシナプスを誘導すること（古典経路）が知られており、この経路の遮断が自閉スペクトラム症を引き起こすと考えられてきた。しかし、最近になってシナプス前部の受容体チロシン脱リン酸化酵素 (PTP) δ と結合してシナプスを誘導する経路（非古典経路）が見出されたことから、NLGN3-NRXN 古典経路と NLGN3-PTP δ 非古典経路のいずれの障害が自閉スペクトラム症や知的障害に関連した行動変化に寄与するのかという新たな疑問が生じた。この疑問の答えを得ることが本研究の目的である。

〔方法並びに成績〕

NRXN1-3、PTP δ それぞれとの結合を選択的に障害する点変異を *Nlgn3* 遺伝子に導入したマウス系統を用いて、自閉スペクトラム症および知的障害の症状に関連した各種の行動解析を行なった。行動バッテリー試験および早期社会性発達を評価する 5 試行型社会的新規性認知試験 (Five-trial social novelty recognition test) および社会的報酬評価試験 (Social conditioned place preference test, sCPP test)、さらに認知機能を評価する空間参照記憶試験 (Barnes maze test)、空間作業記憶試験 (Eight-arm radial maze test)、恐怖条件付け学習試験 (Fear conditioning test) を行なった。NLGN3-NRXN 古典経路が遮断された *Nlgn3^{hse}* 系統、および NLGN3-PTP δ 非古典経路が遮断された *Nlgn3^{mf}* 系統ともに顕著な発達遅滞は認められず、感覚情報処理、筋力等にも大きな異常は認められなかった。*Nlgn3^{mf}* 系統は高架式十字迷路試験において同腹の野生型マウスと比べて有意にオープンアームの滞在時間が長かったことから、不安がやや減弱していることが示唆された。幼弱期マウスの Five-trial social novelty recognition test では *Nlgn3^{hse}* 変異体、*Nlgn3^{mf}* 変異体ともに、同腹野生型マウスと同様の社会的新規性認知機能を持つことが判った。*Nlgn3* 欠損マウスでは同様の試験において社会的新規性認知機能が損なわれていることが報告されており、社会的認知機能には古典経路と非古典経路が補完的に働いている可能性が示唆された。一方、*Nlgn3^{mf}* 変異体では sCPP test において社会的相互作用を報酬とした条件付けが成立せず、社会的報酬系の発達に NLGN3-PTP δ 非古典経路が関与することが示唆された。更に、*Nlgn3^{mf}* 変異体では Barnes maze test において、学習成立 1 か月後の遠隔記憶が障害されており、空間参照記憶の固定化に NLGN3-PTP δ 非古典経路が関与することが示唆された。また、*Nlgn3^{mf}* 変異体では恐怖条件付け・恐怖記憶の充進が認められ、記憶の消去も起こりにくくなっていた。一方、*Nlgn3^{hse}* 変異体では弱い電気ショックを用いた条件下での恐怖条件付け・恐怖記憶の低下が認められた。

〔総括〕

これらの結果は NLGN3 の古典経路と非古典経路は社会的新規性認知過程では互いに補完的に働くが、それ以外の社会性調節や記憶・学習調節においてはそれぞれが別々に寄与することを示唆するものである。また、NLGN3 遺伝子変異に起因する自閉スペクトラム症では非古典経路が担う社会的報酬系の調節異常がその病因に関与する可能性がある。

学位論文審査の要旨

【学位申請者氏名】 李 林煜

【学位論文題目】

(和文)

自閉スペクトラム症関連タンパク質NLGN3による早期社会性発達および記憶の調節機構

(英文)

Differential contribution of canonical and noncanonical NLGN3 pathways to early social development and memory performance

【学位論文審査委員】

| | 職名 | 氏名 |
|------|----|-------|
| (主査) | 教授 | 西丸 広史 |
| (副査) | 教授 | 鈴木 道雄 |
| (副査) | 教授 | 井ノ口 馨 |
| (副査) | 教授 | 山本 善裕 |



【指導・紹介教員】 教授 森 寿

【判定】 合格

【審査の要旨 (2ページ以内)】

〔目的〕

Neuroligin 3 (NLGN3) は NLGN ファミリーに属するシナプス後部の細胞接着タンパク質である。NLGN ファミリーは NLGN1, 2, 3, 4X, 4Y より構成され、N 末端のシグナル配列、細胞外コリンエステラーゼ様ドメイン、膜貫通領域、短い細胞質ドメインを共通に持っている。ヒト NLGN3 遺伝子上の様々な変異が社会性の発達障害である自閉スペクトラム症の患者や知的障害の患者より見出されたことから、NLGN3 は社会性発達調節の鍵分子と考えられてきた。従来、NLGN3 はシナプス前部の Neurexin (NRXN) 1-3 と結合してシナプスを誘導すること (古典経路) が知られており、この経路の遮断が自閉スペクトラム症を引き起こすと考えられてきた。しかし、最近になってシナプス前部の受容体チロシン脱リン酸化酵素 (PTP) δ と結合してシナプスを誘導する経路 (非古典経路) が見出されたことから、NLGN3-NRXN 古典経路と NLGN3-PTP δ 非古典経路のいずれの障害が自閉スペクトラム症や知的障害に関連した行動変化に寄与するのかをという疑問に答えることを李氏は本研究の目的とした。

〔方法並びに成績〕

李氏は本研究において、Neurexin (NRXN) 1-3、受容体チロシン脱リン酸化酵素 (PTP) δ それぞれとの結合を選択的に障害する点変異を *Nlgn3* 遺伝子に導入したマウス系統を用いて、自閉スペクトラム症および知的障害の症状に関連した各種の行動解析を行なった。行動バッテリー試験および早期社会性発達を評価する社会的新規性認知試験 (Five-trial social novelty recognition test) および社会的報酬評価試験 (Social conditioned place preference test, sCPP test)、さらに認知機能を評価する空間参照記憶試験 (Barnes maze test)、空間作業記憶試験 (Eight-arm radial maze test)、恐怖条件付け学習試験 (Fear conditioning test) を行なった。NLGN3-NRXN 古典経路が遮断

された *Mlgn3^{hse}* 系統および NLGN3-PTP δ 非古典経路が遮断された *Mlgn3^{mf}* 系統ともに顕著な発達遅滞は認められず、感覚情報処理、筋力等にも大きな異常は認められなかった。*Mlgn3^{mf}* 系統は高架式十字迷路試験において同腹の野生型マウスと比べて有意にオープンアームの滞在時間が長かったことから、不安がやや減弱していることが示唆された。幼弱期マウスの 5-trial social novelty recognition test では *Mlgn3^{hse}* 変異体、*Mlgn3^{mf}* 変異体ともに、同腹野生型マウスと同様の社会的新規性認知機能を持つことが判った。*Mlgn3* 欠損マウスでは同様の試験において社会的新規性認知機構が損なわれていることが報告されており、社会的認知機能には古典経路と非古典経路が補完的に働いている可能性が示唆された。一方、*Mlgn3^{mf}* 変異体では sCPP test において社会的相互作用を報酬とした条件付けが成立せず、社会的報酬系の発達に NLGN3-PTP δ 非古典経路が関与することが示唆された。更に、*Mlgn3^{mf}* 変異体では Barnes maze test において、学習成立 1 か月後の遠隔記憶が障害されており、空間参照記憶の固定化に NLGN3-PTP δ 非古典経路が関与することが示唆された。また、*Mlgn3^{mf}* 変異体では恐怖条件付け・恐怖記憶の亢進が認められ、記憶の消去も起こりにくくなっていた。一方、*Mlgn3^{hse}* 変異体では弱い電気刺激（フットショック）を用いた条件下での恐怖条件付け・恐怖記憶の低下が認められた。

〔総括〕

李林焯氏は本研究において、NRXN1-3、PTP δ それぞれとの結合を選択的に障害する点変異を *Mlgn3* 遺伝子に導入したマウス系統を用いて、自閉スペクトラム症および知的障害の症状に関連した各種の行動解析を行なった。その結果、NLGN3 の古典経路と非古典経路は社会的新規性認知過程では互いに補完的に働くが、それ以外の社会性調節や記憶・学習調節においてはそれぞれが別々に寄与することを示唆する結果を得た。この結果は、NLGN3 遺伝子変異に起因する自閉スペクトラム症では非古典経路が担う社会的報酬系の調節異常がその病因に関与する可能性がある。本研究の新規性として、網羅的な行動解析によって NLGN3-NRXN 古典経路と NLGN3-PTP δ 非古典経路の障害が異なる行動変化の発現を引き起こすことを明らかにした点が挙げられる。また、自閉スペクトラム症および知的障害でみられる行動異常の分子遺伝学的な病態の一端を明らかにしたという点で、医学における学術的重要性も高い。

以上より、本審査会は本論文を博士（医学）の学位に十分値すると判断した。