

## ジアシルグリセロールキナーゼ $\delta$ のセロトニン神経系・強迫性障害発症制御の分子機構

坂根郁夫

千葉大学大学院理学研究院 化学研究部門 生体機能化学研究室

### 【研究の背景】

ジアシルグリセロール (DG) キナーゼ (DGK) の  $\delta$  アイソザイム (脳に強く発現する) の脳特異的 KO マウスを用い、種々の行動解析の結果、強迫性障害 (OCD) 様行動を示すことが明らかになった<sup>1)</sup>。更に、OCD 治療薬フルオキセチン (セロトニントランスポーター (SERT) 阻害剤) を投与したところ、OCD 様行動が顕著に抑制された。更に、マウス的大脑皮質において、DGK  $\delta$  欠損により SERT 発現量は 1.5 倍に増加し (安定化し)、更に、DGK  $\delta$  と SERT が相互作用することが分かった<sup>2)</sup>。また、セロトニンの合成酵素 TPH-2 の発現量が 1/2 に減少し、セロトニン代謝酵素 MAO-A の発現量が 1.5 倍に増加し、実際にセロトニンの減少が見られた<sup>2)</sup>。以上の結果から、DGK  $\delta$  欠損によってセロトニン神経機能の減弱が起こり、OCD 様行動惹起に寄与している可能性が示された。しかし、これまで SERT の安定性を制御する因子は報告されておらず、DGK  $\delta$  による SERT の安定性制御機構については全く不明であった。

### 【目 的】

最近、強迫性障害 (OCD) に関与することが判明した DGK  $\delta$  と SERT の相互作用の詳細を明らかにする。また、これまで全くと言っていい程分かっていない DGK  $\delta$  とそれが選択的に産生するホスファチジン酸 (PA) 分子種がどのように SERT の安定性を制御するのかを分子レベル・細胞レベルで解明する。そのことによって、これまで OCD の鍵因子として全く知られていなかった DGK  $\delta$  と PA 分子種を起点とした新規の知見を得ることを目的とした。

### 【方 法】

(1) 最近、我々は、LC-MS 法を用いた (従来困難であった) PA 分子種の高再現性・安定的な同定法を確立した。そこで、本法により、脳特異的 DGK  $\delta$ -KO マウス的大脑を野生型と比較することで DGK  $\delta$  が選択的に産生する PA 分子種を同定した。  
(2) 興味深いことに、最近、DGK  $\delta$ -KO マウス的大脑皮質におけるユビキチン化 SERT が減少することを見出した。DGK  $\delta$ -SERT 結合、もしくは、DGK  $\delta$  が選択的に産生する PA 分子種のどちらが SERT のユビキチン化を制御するか、免疫沈降法、リポソーム沈降法やウエスタンブロット法等で検証した。

### 【結 果】

(1) DGK  $\delta$  の N 末側触媒サブドメインとコイルドコイル構造含有領域が SERT の C 末細胞質領域に結合することが明らかになった<sup>3)</sup>。  
(2) DGK  $\delta$  はその触媒活性依存的に SERT のユビキチン化と分解を促進することが明らかになった<sup>3)</sup>。  
(3) DGK  $\delta$  は E3 ユビキチン-リガーゼである Praja-1 とアダプタータンパク質 MAGE-D1 と相互作用し、Praja-1-ユビキチン-プロテアソーム系を介して分解を促進することが分かった<sup>3)</sup>。  
(4) DGK  $\delta$  特異的 KO マウス的大脑では、1-ステアリン酸、2-ドコサヘキサエン酸-ホスファチジン酸 (18:0/22:6-PA) のみが減少し、逆に、18:0/22:6-DG のみが蓄積していた。このことは、脳内では DGK  $\delta$  が選択的に 18:0/22:6-DG をリン酸化して

18:0/22:6-PA を産生することを強く示唆していた[投稿中]。

(5) DGK  $\delta$  が選択的に産生する 18:0/22:6-PA が選択的に Praja-1 に結合して、その E3 ユビキチンリガーゼ活性を促進した[投稿中]。

### 【考 察】

以上の結果から、DGK  $\delta$  は触媒作用により産生する 18:0/22:6-PA が選択的に Praja-1 を活性化して、SERT をユビキチン化し、プロテアソーム系を介して SERT の分解を促進すると考えられた。従って、本研究により、DGK  $\delta$  によるセロトニン神経系制御の新たな分子メカニズムの一端を解明することが出来た。また、脳特異的 DGK  $\delta$  -KO マウスがユニークな OCD の動物モデルとして確立し、且つ、新しい治療法の開発にも役立つ可能性がある。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究によって、OCD の発症機構の解明と治療薬の開発に向けた基盤知識が得られた。SERT は強迫性障害以外にも、うつ病、自閉症、注意欠如多動性障害といった多くの精神神経疾患の発症に関与することから、DGK  $\delta$  と SERT の相互作用機序や SERT の分解機構の解明により、他の精神神経疾患の発症機構や治療戦略においても重要な基礎的知見を得ることが期待出来る。例えば、DGK  $\delta$  と SERT の結合を促進する化合物や、18:0/22:6-PA をミミックする(SERT を不安定化する)化合物が OCD 等の治療薬の候補となる。

### 【参考・引用文献】

- 1 Usuki, T., Takato, T., Lu Q., Sakai, H., Bando, K., Kiyonari, H. and Sakane, F. Behavioral and pharmacological phenotypes of brain-specific diacylglycerol kinase  $\delta$ -knockout mice. *Brain Res.* **1648**, 193-201 (2016)
- 2 Lu, Q., Komenoi, S., Usuki, T., Takahashi, D. and Sakane, F. Abnormalities of the serotonergic system in diacylglycerol kinase  $\delta$ -deficient mouse brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **497**, 1031-1037 (2018)
- 3 Lu, Q., Murakami, C., Hoshino, F., Murakami, Y. and Sakane, F. Diacylglycerol kinase  $\delta$  destabilizes serotonin transporter protein through the ubiquitin-proteasome system. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **1865**, Article 158608 (2020)