

РОЛЬ КОНТАКТИНОВ В НЕЙРОГЕНЕЗЕ У ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

© Н. М. Матвеева,¹ А. А. Каишеварова,² И. Н. Лебедев,² О. Л. Серов^{1,*}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090, и ² Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, 634050;

* электронный адрес: serov@bionet.nsc.ru

Формирование функциональной центральной и периферической нервной системы (ЦНС и ПНС соответственно) — один из самых сложных процессов в развитии. Несомненно, что важнейшим компонентом нейрогенеза является дендритогенез, поскольку степень и характер ветвления дендритов определяют объем входных и выходных сигналов из нейрона. Более того, связь между нейронами осуществляется через формирование синапсов между аксонами и дендритами, что лежит в основе синаптической пластичности и формирования памяти. Процесс дендритогенеза находится под контролем большого семейства нейральных адгезивных белков иммуноглобулинового типа, к которым, в частности, относятся 6 белков семейства контактинов. Контактинны контролируют ключевые события нейрогенеза — адгезию нейральных клеток и их миграцию, ориентированный рост нейритов и аксонов и миелинизацию последних. Функции контактинов активно исследуются на модельных животных, у которых, как и у человека, контактины экспрессируются в ЦНС и ПНС, хотя для некоторых из них характерна специфическая региональная локализация. Мутации генов контактинов сопровождаются нарушениями нейрогенеза и как следствие — развитием широкого спектра нейропатологий. Настоящий обзор посвящен анализу данных о роли контактинов в нейрогенезе и развитии нейропатологий.

Ключевые слова: контактины, нейрогенез, дендритогенез, мутации контактиновых генов, роль контактинов в нейропатологии.

Дендритогенез является фундаментальным компонентом при формировании функционирующей нервной системы. Степень и характер ветвления дендритов определяют объем входных и выходных сигналов из нейрона (Cline, 2001; Jan, Jan, 2003). Учитывая существование множества типов нейронов, важно отметить, что каждый из них имеет свой уникальный вариант ветвления дендритов. Ветвление дендритов происходит либо посредством бифуркации растущего конусообразного выроста (нейрита), либо через выростание новых нейритов на уже существующем дендрите (Gao et al., 1999). Результат этого процесса проявляется в том, что нейроны, например, неокортекса представлены поляризованными клетками, содержащими множество дендритов (реже единичные), и одним аксоном. Связь между нейронами осуществляется через формирование синапсов между аксонами и дендритами, что лежит в основе синаптической пластичности и, в конечном счете, формирования памяти. Важнейшим элементом дендритогенеза является ориентированный рост апикальных дендритов нейронов. Например, для пирамидальных нейронов характерен рост апикального дендрита в направлении мягкой оболочки головного мозга, тогда как базальные дендриты ветвятся от тела нейрона.

Процесс дендритогенеза находится под контролем белковых и небелковых адгезивных молекул, специфическим способом распознающих друг друга, а конечный результат их взаимодействий проявляется в фосфорилировании эффекторных белков нейральных клеток.

Среди нейральных адгезивных белков особый интерес представляет суперсемейство иммуноглобулиновых молекул Ig-CAMs (immunoglobulin superfamily of neural cell-adhesion molecules), непосредственно участвующих в контроле дендритогенеза при развитии ЦНС и ПНС и формировании пластичности синаптических контактов (Doherty et al., 1995; Murase, Schuman, 1999; Murai et al., 2002; Stoeckli, 2004, 2010; Shimoda, Watanabe, 2009).

Характерной структурной особенностью белков Ig-CAMs является наличие в них Ig- (иммуноглобулиновых) и фибронектиновых доменов. Среди этого суперсемейства внимание исследователей приковано к контактинам, играющим важную роль в ключевых событиях нейрогенеза — адгезии нейральных клеток и их миграции, росте нейритов и аксонов и миелинизации последних (Murai et al., 2002; Shimoda, Watanabe, 2009; Stoeckli, 2010).

В настоящее время семейство контактинов включает в себя 6 членов: от контактина 1 до контактина 6 (см. таблицу) (Shimoda, Watanabe, 2009). Белки контактинов состоят из более 1000 аминокислот и организованы сходным образом: все содержат 6 доменов, подобных Ig, и 4 домена, подобных фибронектину III типа, и «заякориваются» на клеточной мембране посредством гликозилфосфатидилинозитола, но не имеют внутриклеточного домена. Сравнительный анализ последовательностей аминокислот контактинов показал, что их сходство составляет от 40 до 60 % (Ogawa et al., 1996; Shimoda, Watanabe,

Локализация генов, кодирующих контактины, у человека и мыши

Ген (синонимы)	Хромосома, человек	Хромосома, мышь ^a
<i>CNTN1</i> (<i>Cntn1</i> , <i>Contactin-1</i> , <i>F3</i> , <i>F11</i> , <i>GP135</i> , <i>MYRCN</i>)	12q12 (Berglund, Ranscht, 1994)	15
<i>CNTN2</i> (<i>Cntn2</i> , <i>Contactin-2</i> , <i>Axonin-1</i> , <i>Tax1</i> , <i>TAG-1</i> , <i>AXT</i> , <i>TAX</i> , <i>TAX1</i> , <i>FAME5</i>)	1q32.1 (Tsiotra et al., 1993)	1
<i>CNTN3</i> (<i>Cntn3</i> , <i>Contactin-3</i> , <i>Big-1</i> , <i>BIG-1</i> , <i>Pang</i> , <i>PANG</i> , <i>PCS</i>)	3p12.3 (Mock et al., 1996)	6
<i>CNTN4</i> (<i>Cntn4</i> , <i>Contactin-4</i> , <i>Big-2</i> , <i>BIG-2</i> , <i>AXCAM</i>)	3p26.3 (Zeng et al., 2002)	6
<i>CNTN5</i> (<i>Cntn5</i> , <i>Contactin-5</i> , <i>Gm507</i> , <i>NB-2</i> , <i>HNB-2s</i>)	11q22.1 (Kamei et al., 2000)	9
<i>CNTN6</i> (<i>Cntn6</i> , <i>Contactin-6</i> , <i>NB-3</i>)	3p26.3 (Kamei et al., 1998)	6

^a Использованы данные Mouse genome informatics (<http://www.informatics.jax.org>).

2009). Гены контактинов имеют сложную экзон-интронную организацию, и их размеры достигают 1 мегабазы (1000 тыс. п. о.). Например, ген контактина-6 (*CNTN6*) содержит 30 экзонов, размер которых варьирует от 355 п.о. до 12 тыс. п. о. (Lee et al., 2000; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/27255>), а ген *CNTN4* состоит из 24 экзонов (Zeng et al., 2002).

Функции контактинов активно исследуются на модельных животных — мышах и крысах, реже на цыплятах. У грызунов, как и у человека, контактины экспрессируются главным образом в ЦНС и ПНС, где их экспрессия частично перекрывается. Тем не менее для некоторых контактинов характерна региональная специфичная локализация (Mori et al., 2006; Kaneko-Goto et al., 2008; Ye et al., 2008; Toyoshima et al., 2009; Huang et al., 2012). Важно отметить также, что все контактины локализуются в аксонах и практически не определяются в нейритах (Favre-Sarrailh, Rougon, 1997).

Исследования молекулярных механизмов наследственных нейропатологий у человека позволили расширить наши представления о роли контактинов в нейрогенезе человека. В большинстве случаев мутации генов контактинов приводят к серьезным нейральным нарушениям и, что важно, к существенной задержке становления нейропсихических функций, включая умственную отсталость и деменцию.

Ниже будут рассмотрены свойства и функции отдельных контактинов у модельных животных, включая нокаутных животных по этим генам, а также патологические состояния у человека, ассоциированные с мутациями в генах контактинов.

Контактин 1

Ген *CNTN1*, кодирующий этот белок у мыши, экспрессируется в разных популяциях нейронов ЦНС и ПНС (Bizzoca et al., 2009). С помощью гибридизации *in situ* с использованием специфичных РНК-зондов показано, что его мРНК присутствует в неокортексе, гиппокампе, в гранулярном (зернистом) слое и клетках Пуркинье мозжечка, а также в таламусе и гипоталамусе, в верхних и нижних бугорках четверохолмия, в нейрональных слоях обонятельной луковицы, в нижней оливе и спинном мозге (Yoshihara et al., 1995). Экспрессия контактина 1 помимо постмитотических нейронов обнаружена и в пролиферирующих предшественниках нейронов в вентрикулярной зоне эмбриональной коры головного мозга мышей (Bizzoca et al., 2012).

Следует отметить, что экспрессия гена *CNTN1* важна для развития в целом, поскольку мыши, гомозиготные по нокаутному гену *CNTN1*, погибают через 18 сут после рождения (Berglund et al., 1999). Показано, что у таких мышей нарушены околоузловые (паранодальные) структуры аксонов, наблюдаются тяжелые нарушения в координации движений, связанные с изменениями в мозжечке, такими как нарушения в направлении роста аксонов и дендритов гранулярных клеток и клеток Гольджи.

Роль контактина 1 в активации нейрогенеза гиппокампа показана на взрослых трансгенных мышах, у которых была индуцирована сверхэкспрессия гена *CNTN1*. У таких мышей отмечено увеличение размера гиппокампа, сопровождавшееся пролиферацией нейральных клеток-предшественников. На функциональном уровне у мышей улучшались пространственная память и распознавание объектов, что коррелировало с улучшением синаптической функции (Puzzo et al., 2013).

Установлено, что контактин 1 локализуется в околоузловых районах аксонов — важных сайтах для аксоглиального взаимодействия при скоординированной дифференцировке аксона и миелинизирующих клеток (Colakoglu et al., 2014). Прогрессивное накопление контактина 1 в районах узловых перехватов Ранвье имеет место в постнатальный период развития мыши, а дефицит контактина 1 прерывает образование околоузловых соединений. У мышей, гомозиготных по нокаутному гену *CNTN1*, обнаружена значительная гипомиелинизация с потерей миелина до 60%. Эти данные показали, что контактин 1 регулирует как образование миелина, так и образование узловых и околоузловых функциональных доменов в миелинизированных волокнах ЦНС (Colakoglu et al., 2014). Среди многочисленных функций контактина 1 следует отметить и его участие в дифференцировке предшественников олигодендроцитов (Hu et al., 2003).

К настоящему времени опубликовано только одно сообщение о мутации в гене *CNTN1* человека, которая ассоциирована с летальной формой врожденной миопатии у четырех членов из одной семьи (Compton et al., 2008). Все дети с данной мутацией родились преждевременно, и трое из четырех умерли вскоре после рождения. Четвертый ребенок умер спустя месяц, имея сниженную мышечную массу и отсутствие спонтанных движений. У этого ребенка был выявлен ряд аномалий скелетных мышц, включая отсутствие интегрин $\alpha 7$. Поскольку ген *CNTN1* экспрессируется в нейромышечных контактах, было сделано предположение о том, что мышечные дефекты являются результатом аномальной нервно-мышечной передачи сигналов.

Контактин 2

Впервые экспрессия гена *CNTN2* у мыши обнаруживается в ЦНС и ПНС в период с 10-х по 15-е сут эмбрионального развития в дифференцирующихся нейронах, формирующихся спинномозговых и черепных нервах (Wolfer et al., 1994). По данным *in situ*-гибридизации, у крысы мРНК гена *CNTN2* наблюдается в разных отделах головного мозга, в частности в гранулярном слое коры мозжечка, гиппокампе, в нейронах обонятельной луковицы, в белом веществе неокортекса и в клетках глии (Yoshihara et al., 1995). Контактин 2 является компонентом специализированных функциональных доменов миелиновых волокон. Для мышей и крыс показано, что контактин 2 экспрессируется в олигодендроцитах и Шванновских клетках, причем выявляется в участках, сопряженных с узловыми перехватами Ранвье (Traka et al., 2002). Эти данные получили подтверждение в исследованиях на мышцах с мутацией гена *CNTN2* (Traka et al., 2003).

Важная двойная роль контактина 2 в развитии белого вещества мозга при формировании структуры аксонов и аксоглиальных взаимодействий была показана в развитии зрительного нерва у мыши (Chatzopoulou et al., 2008). Зрительный нерв начинает формироваться в эмбриогенезе из аксонов клеток ганглия сетчатки. Со стадии E14.5 клетки-предшественники олигодендроцитов, которые мигрируют из преоптической области переднего мозга, начинают окружать эти аксоны, участвуя в формировании миелиновой оболочки. Эти процессы были исследованы в формирующемся зрительном нерве у мышей, гомозиготных по нокаутному гену *CNTN2* (Chatzopoulou et al., 2008). Такие мутантные эмбрионы имели множественные структуральные дефекты цитоскелета аксонов зрительного нерва, которые сохранялись у взрослых животных, причем все аксоны были гипомиелинизированы.

Не менее важную роль контактин 2 играет в аксоногенезе при созревании гранулярных клеток мозжечка. Высокий уровень экспрессии этого гена наблюдали в гранулярных клетках до стадии их радиальной миграции (Bizzoca et al., 2003; Wang et al., 2011). Использование антител, блокирующих контактин 2, показало, что в культуре гранулярных клеток мозжечка мыши, а также *in situ* на срезах мозжечка происходит подавление образования аксонов и миграции гранулярных клеток в другие слои мозжечка (Wang et al., 2011). Таким образом, выявлена роль контактина 2 не только в дифференцировке предшественников гранулярных клеток и образовании аксонов, но и в их радиальной миграции.

Следует, однако, отметить, что у гомозиготных мышей, несущих делецию гена *CNTN2*, не обнаружено выраженных морфологических изменений в мозжечке, гиппокампе и в спинном мозге, но у них наблюдали повышенную чувствительность к судорожным стимулам по сравнению с мышами, нормальными по этому гену (Fukushima et al., 2001). Авторы этого исследования предполагают, что дефицит контактина 2 индуцирует тонкие изменения в нервной пластичности, приводящие к избирательной уязвимости в конкретных регионах головного мозга и эпилептогенности у таких мышей.

У человека ген *CNTN2* наиболее интенсивно экспрессируется в коре головного мозга. Недавно описана египетская семья, в которой среди 7 детей 4 несли миссенс-мутацию (однонуклеотидную делецию с.503_503delG) в 6-м экзоне гена *CNTN2*, вызывающую сдвиг рамки считывания (Stogmann et al., 2013). Эффект мутации у всех гомо-

зиготных носителей проявлялся в виде эпилепсии, миоклонального тремора и задержки умственного развития.

Контактин 3

Экспрессия гена *CNTN3* наименее изучена среди контактиновых генов. Есть данные (Yoshihara et al., 1994, 1995), что транскрипты гена *CNTN3* в головном мозге крысы обнаружены в клетках Пуркиньи мозжечка, в гранулярных клетках зубчатой извилины гиппокампа и в нейронах верхних слоев кортекса. В экспериментах на нейронах *in vitro* показано, что рекомбинантный контактин 3 стимулирует рост нейритов (Yoshihara et al., 1994, 1995).

Единственное сообщение о делеции в 5'-нетранслируемой области гена *CNTN3* было сделано при описании пациентов с аутизмом (Morrow et al., 2008).

Контактин 4

Экспрессия гена *CNTN4* начинается во внутриутробном развитии мыши (стадия E14) в аксонах нейронов, контактирующих с обонятельными луковицами (Saito et al., 1998). Согласно данным *in situ*-гибридизации с использованием меченой кДНК, наивысший уровень экспрессии наблюдается к 7-м сут постнатального онтогенеза, в период пролиферации клеток узелков обонятельных луковиц. Эти результаты указывают на ключевую роль гена *CNTN4* в синаптогенезе обонятельной системы (Saito et al., 1998). Помимо нейронов обонятельных луковиц мРНК контактина 4 выявлена в пирамидальных нейронах кортекса крысы (Yoshihara et al., 1995). У человека, по данным Нозерн-блот-анализа, мРНК гена *CNTN4* присутствует во многих отделах головного мозга с наивысшим уровнем экспрессии в мозжечке (Kamei et al., 2000; Zeng et al., 2002).

Более детальное исследование локализации контактина 4 с использованием антител против этого белка показало, что он выявляется в аксонах обонятельных сенсорных нейронов, тогда как в телах нейронов и растущих нейритах не определяется (Kaneko-Goto et al., 2008). Интересно, что наряду с клубочками на поверхности обонятельных луковиц, состоящими из контактин-позитивных клеток, встречались клубочки, представленные либо слабо позитивными, либо контактин-негативными клетками (Kaneko-Goto et al., 2008). Предполагается, что мозаичное распределение контактина 4 среди клубочков связано с активным или неактивным состоянием сенсорных нейронов. Установлена тесная корреляция между уровнем экспрессии гена *CNTN4* и выбором нейроном рецептора запаха. Важно отметить, что у мышей, дефицитных по контактину 4, сенсорные нейроны, экспрессирующие рецептор какого-либо запаха, часто иннервируют множество клубочков. По мнению некоторых авторов (Kaneko-Goto et al., 2008), последнее свидетельствует о том, что контактин 4 является одним из ключевых факторов в формировании и поддержании функции предполагаемой «карты запахов» обонятельной луковицы.

У человека некоторые мутации в гене *CNTN4* ассоциированы с задержкой развития и формированием патологий аутистического спектра ASD (autistic spectrum disorders) (Zuko et al., 2013). При реализации проекта «Геном аутизма» (Autism genome project) описаны три вариации

числа копий ДНК (copy number variation; CNV), затрагивающих ген *CNTN4* (Pinto et al., 2010). В базе данных AGRE (Autism genetic resource exchange, 2008), содержащей данные о 949 семьях с одним или несколькими детьми, больными аутизмом, документировано семь унаследованных CNV (две микродупликации и пять микроделеций) в данном гене или его промоторе (Zuko et al., 2013).

Имеются данные о вовлеченности контактина 4 и (или) контактина 6 в развитие других нейропсихиатрических расстройств. Например, биполярное расстройство с алкогольной зависимостью и другие коморбидные состояния ассоциированы с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) rs2727943 ($p = 3.3 \cdot 10^{-8}$), локализованном в области между генами *CNTN4* и *CNTN6* (Kerner et al., 2011).

В литературе описан случай наследственной мозжечковой дегенерации при спиноцеребеллярной атаксии типа 16, вызванной точковой мутацией в 3'-нетранслируемом районе гена *CNTN4* (Miura et al., 2006). С помощью генетического картирования было установлено, что *CNTN4* наряду с другими генами, экспрессирующимися в мозге, участвует в регуляции ряда метаболических путей, ответа на стресс, ожирения и гемодинамики. Предполагается, что эти гены обладают общей синаптической функцией, вероятно, связанной с длительной потенциацией (Nikpray et al., 2012).

Контактин 5

Ген *CNTN5* экспрессируется в слуховой зоне коры в развивающемся головном мозге. В нейронную сеть передачи ответа на звуковой сигнал, генерируемый во внутреннем ухе, вовлечены следующие элементы слуховой зоны: спиральный ганглий—кохлеарное ядро в продолговатом мозге; кохлеарное ядро—нижние бугорки четверохолмия (colliculi inferiores) среднего мозга; нижние бугорки четверохолмия—средние коленчатые ядра (medial geniculate nuclei) таламуса, от которого аксоны достигают слуховой зоны коры. По данным *in situ*-гибридизации, мРНК гена *CNTN5* присутствует во всех перечисленных выше областях слуховой зоны у крыс (Ogawa et al., 2001; Toyoshima et al., 2009). Эти данные хорошо согласуются с результатами иммуногистохимического анализа разных структур головного мозга при использовании моноклональных меченых антител против контактина 5 (Toyoshima et al., 2009). Более того, анализ экспрессии репортерного гена Lac Z (beta-galactosidase gene of *Escherichia coli*), инсерцированного в ген *CNTN5*, показал, что у гетерозиготных мышей Lac Z-позитивные клетки обнаруживаются в тех же участках слуховой зоны, что были идентифицированы вышеописанными методами (Li et al., 2003).

Исследование экспрессии гена *CNTN5* с помощью Нозерн-блот-гибридизации показало, что активация гена происходит вскоре после рождения и возрастает до максимума к 14-м сут постнатального развития у крыс и мышей (Ogawa et al., 1996; Li et al., 2003). Интересно, что в мозжечке максимальное присутствие контактина 5 наблюдается к 3-м сут после рождения и затем резко снижается. Сходные результаты были получены при количественной оценке контактина 5 с помощью иммуноблотинга с использованием антител против этого белка (Ogawa et al., 2001).

У мышей, дефицитных по гену *CNTN5*, не обнаружено видимых нарушений развития, но они менее чувствительны к аудиосенсорной эпилепсии, хотя смертность по-

сле припадков выше, чем у мышей дикого типа (Li et al., 2003). Известно, что индукция аудиогенной эпилепсии у крыс сопровождается быстрой активацией транскрипции гена *c-Fos* после эпилептического припадков, вызванного однотонной звуковой стимуляцией (Ishida et al., 2002). У гомозиготных мышей, дефицитных по *CNTN5*, существенно снижена экспрессия гена *c-Fos* в клетках четверохолмия по сравнению с однопометниками дикого типа (Li et al., 2003). Важно отметить, что у таких мышей нет полной глухоты, но отмечается задержка (увеличение латентного периода) в прохождении ответа в стволе мозга на акустические сигналы. Предполагается, что это связано со снижением числа волокон и синапсов в слуховой зоне ствола мозга у таких мышей (Li et al., 2003).

В тканях мозга человека мРНК гена *CNTN5* обнаруживается главным образом в затылочной доле и миндалине, а также в таламусе, коре головного мозга, лобной и височной долях (Kamei et al., 2000). В литературе есть сообщения о пациентах с расстройствами аутистического спектра, ассоциированными с CNV в гене *CNTN5* (Pinto et al., 2010; Daalen et al., 2011). 4 случая CNV в гене *CNTN5* представлены в базе данных AGP (Pinto et al., 2010), а 12 семей с наследственными CNV в гене *CNTN5* описаны в базе AGRE (Zuko et al., 2013). Эти указанные в базах вариации числа копий ДНК, затрагивающие ген *CNTN5*, представлены одной микродупликацией и тремя микроделециями, одна из которых повторяется в 9 разных семьях, а другая — в 4. Интересно, что CNV в гене *CNTN5* были обнаружены также у пациентов с синдромом дефицита внимания и гиперактивности (Lionel et al., 2011).

Контактин 6

В головном мозге мыши экспрессия гена *CNTN6* детектируется после рождения и достигает максимума через 7 сут постнатального онтогенеза, а затем снижается, тогда как в мозжечке его экспрессия возрастает в течение всего постнатального периода, достигая максимума у взрослых животных. Согласно данным Нозерн-блот-анализа и *in situ*-гибридизации с использованием меченых мРНК, присутствие транскриптов гена *CNTN6* найдено в обонятельных луковицах, слоях кортекса II, III и V, передних таламических ядрах, клетках Пуркиньи мозжечка и клетках миндалевидного тела (Takeda et al., 2003). В более раннем исследовании (Ogawa et al., 1996) с помощью *in situ*-гибридизации высокая экспрессия контактина 6 наряду с головным мозгом и мозжечком была найдена также в спинном мозге.

Как отмечалось выше, экспрессия гена *CNTN6* в мозжечке возрастает вплоть до полного созревания, так что в 3- и 6-месячном возрасте уровень экспрессии в 9 раз выше, чем при рождении. Функциональная роль гена *CNTN6* была оценена у трансгенных мышей, у которых часть гена *CNTN6* была заменена инсерцированным геном-репортером Lac Z. У дефицитных по гену *CNTN6* мышей формирование и организация всех ядер и слоев коры были в пределах нормы. Тем не менее поведенческие тесты моторных функций показали, что мутантные мыши медленнее обучаются удержанию равновесия на вращающемся стержне и демонстрируют нарушение функции равновесия при ходьбе по стационарному горизонтальному стержню. Однако мутантные мыши не отличались по «силе схватывания» провода в висячем тесте от

мышей дикого типа. Общий вывод, сделанный авторами (Takeda et al., 2003), заключался в том, что у нокаутных мышей нарушена моторная координация. Интересно, что ген *CNTN6* играет ключевую роль в становлении глутаматергических синапсов, но не ГАМК-(гамма-аминомасляная кислота)ергических в гиппокампе и мозжечке в постнатальный период развития (Sakurai et al., 2010).

В ходе реализации проекта «Геном аутизма» у человека было идентифицировано 4 микроделеции в гене *CNTN6* (Pinto et al., 2010). Сообщается (Daalen et al., 2011) об одной *de novo* CNV и одной косегрегирующей унаследованной CNV, затрагивающей *CNTN6*, в когорте Утрехта. В базе данных AGRE представлено 9 CNV, затрагивающих ген контактина 6 (8 микродупликаций и 1 микроделеция) в 10 семьях (Zuko et al., 2013). Микроделеция в гене *CNTN6* описана также при нервной форме анорексии (Wang et al., 2010). Недавно нами были описаны сибсы с микроделецией, 1 семья с микроделецией и 1 семья с микродупликацией гена *CNTN6* (Kashevarova et al., 2014). У обоих сибсов и пробанда из семьи с микродупликацией диагностированы умственная отсталость и дисморфии. Еще у одного пациента с микроделецией диагностирована атипичная форма аутизма. Интересно, что микроделеция, затрагивающая ген *CNTN6*, была унаследована от клинически здорового отца. Более того, микродупликация в другой семье была также унаследована от здорового отца, который в свою очередь унаследовал ее от своей здоровой матери. Эти наблюдения могут указывать на неполную пенетрантность мутаций в гене *CNTN6* либо на эпигенетическую регуляцию его активности посредством метилирования и импринтинга.

Множественные, вероятно патогенные, мутации обнаружены в гене *CNTN6* у пациентов с ASD, однако многие из них встречались лишь в единичных случаях (Zuko et al., 2013). В результате секвенирования 1030 пациентов с ASD и 942 условно здоровых индивидов (Murdoch et al., 2015) в гене *CNTN6* выявлено соответственно 11 и 12 потенциально патогенных мутаций. К таким мутациям отнесены варианты согласно классификациям программ SIFT и PolyPhen2, а также все нонсенс-мутации и мутации сайта сплайсинга, которые не учитываются данными программами. Из 11 мутаций, идентифицированных у пациентов, 4 были отцовского происхождения и 6 материнского, тогда как только 1 мутация возникла *de novo* и представляла собой миссенс-вариант. Анализируя полученные данные, авторы указывают на то, что обнаруженная *de novo* миссенс-мутация еще не дает основания говорить о ее значимой ассоциации с заболеванием (Murdoch et al., 2015). Однако возможно, что мутация в гене *CNTN6* является рецессивной или обладает сниженной пенетрантностью, а следовательно, не проявляется в гетерозиготном состоянии.

Заключение

Суммируя вышеизложенные данные о функциях контактинов, следует подчеркнуть их тонкую специализацию. Так например, недавно показано (Mercati et al., 2013), что эффекты контактинов 4–6 различаются по их влиянию на рост и ветвление нейритов. При сокультивировании нейронов крысы с клетками НЕК293, секретирующими эти контактины, в течение первых 4 сут контактин 4 и контактин 6 стимулируют удлинение нейритов, тогда как контактин 5 увеличивает число точек роста

нейритов на теле нейрона. К 8-м сут культивирования эффект контактина 6 на удлинение нейритов усиливается, а влияние контактина 5 проявляется в усилении ветвления нейритов (Mercati et al., 2013). Эти данные указывают на сложную систему регуляции нейрогенеза контактинами, обеспечивающими региональную специализацию в формировании синаптической сети.

В последнее десятилетие внимание исследователей привлекает выяснение роли контактинов в патогенезе ASD (Zuko et al., 2013). Предполагается, что контактины вовлечены в процесс развития аутизма, причем либо прямым образом, либо посредством регуляции синтеза контактинассоциированных белков (белки, кодируемые генами *FMR1*, *CYFIP1* и *EIF4E*) в аксондритных синапсах (Zuko et al., 2013). Выше даны примеры предполагаемой связи мутаций в конкретных генах контактинов с расстройствами аутистического спектра. Следует, однако, отметить, что недавние масштабные геномные исследования большого числа пациентов с ASD (1030 человек) и здоровых людей (942 человека) в большинстве случаев не выявили статистически значимых ассоциаций редких мутаций в генах, кодирующих либо контактины, либо контактинассоциированные белки с проявлением ASD (Murdoch et al., 2015). Несомненно, требуются дальнейшие исследования роли контактинов и контактинассоциированных белков в развитии ASD.

Работа авторского коллектива выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-15-00772).

Список литературы

- Berglund E. O., Murai K. K., Fredette B., Sekerkova G., Marturano B., Weber L., Mugnaini E., Ranscht B. 1999. Ataxia and abnormal cerebellar microorganization in mice with ablated contactin gene expression. *Neuron*. 24 : 739–750.
- Berglund E. O., Ranscht B. 1994. Molecular cloning and *in situ* localization of the human contactin gene (CNTN1) on chromosome 12q11-q12. *Genomics*. 21 : 571–582.
- Bizzoca A., Corsi P., Gennarini G. 2009. The mouse F3/Contactin glycoprotein: structural features, functional properties and developmental significance of its regulated expression. *Cell. Adh. Migr.* 3 : 53–63.
- Bizzoca A., Corsi P., Polizzi A., Pinto M. F., Xenaki D., Furlley A. J., Gennarini G. 2012. F3/Contactin acts as a modulator of neurogenesis during cerebral cortex development. *Develop. Biol.* 365 : 133–151.
- Bizzoca A., Virgintino D., Lorusso L., Buttiglione M., Yoshida L., Polizzi A., Taitoli M., Cagiano R., Rossi F., Kozlov S., Furlley A., Gennarini G. 2003. Transgenic mice expressing F3/Contactin from the TAG-1 promoter exhibit developmentally regulated changes in the differentiation of cerebellar neurons. *Develop.* 130 : 29–43.
- Chatzopoulou E., Miguez A., Savvaki M., Lévassseur G., Muzerelle M. A., Olivier G., Watanabe K., Goutebroze L., Gaspar P., Zalc B., Karagogeos D., Thomas J.-L. 2008. Structural requirement of TAG-1 for retinal ganglion cell axons and myelin in the mouse optic nerve. *J. Neurosci.* 28 : 7624–7636.
- Cline H. T. 2001. Dendritic arbor development and synaptogenesis. *Curr. Opin. Neurobiol.* 11 : 118–126.
- Çolakoglu G., Bergstrom-Tyrberga U., Berglund E. O., Ranscht B. 2014. Contactin-1 regulates myelination and nodal/paranodal domain organization in the central nervous system. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 111 : E394–E403.
- Compton A. G., Albrecht D. E., Seto J. T., Cooper S. T., Ilkovski B., Jones K. J., Challis D., Mowat D., Ranscht B., Bahlo M., Froehner S. C., North K. N. 2008. Mutations in contactin-1, a neu-

ral adhesion and neuromuscular junction protein, cause a familial form of lethal congenital myopathy. *Amer. J. Hum. Genet* 83 : 714—724.

Daalen E., Kemner C., Verbeek N. E., Zwaag B., Dijkhuizen T., Rump P., Houben R., Slot R., Jonge M. V., Staal W. G., Beecher F. A., Vorstman J. A., Burbach J. P., Amstel H. K., Hochstenbach R., Brilstra E. H., Poot M. 2011. Social responsiveness scale-aided analysis of the clinical impact of copy number variations in autism. *J. Neurogenet.* 12 : 315—323.

Doherty P., Fazeli M. S., Walsh F. S. 1995. The neural cell adhesion molecule and synaptic plasticity. *J. Neurobiol.* 26 : 437—446.

Faivre-Sarrailh C., Rougon G. 1997. Axonal molecules of the immunoglobulin superfamily bearing a GPI anchor: their role in controlling neurite outgrowth. *Mol. Cell. Neurosci.* 9 : 109—115.

Fukamauchi F., Aihara O., Wang Y. J., Akasaka K., Takeda Y., Horie M., Kawano H., Sudo K., Asano M., Watanabe K., Iwakura Y. 2001. TAG-1-deficient mice have marked elevation of adenosine A1 receptors in the hippocampus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281 : 220—226.

Gao F. B., Brenman J. E., Jan L. Y., Jan Y. N. 1999. Genes regulating dendritic outgrowth, branching, and routing in *Drosophila*-repellent for the robo receptor in *Drosophila*. *Genes. Devel.* 13 : 2549—2561.

Hu Q. D., Ang B. T., Karsak M., Hu W. P., Cui X. Y., Duka T., Takeda Y., Chia W., Sankar N., Ng Y.-K., Eng-Ang Ling E.-A., Maciag T., Small D., Trifonova R., Kopan R., Okano H., Nakafuku M., Chiba S., Hirai H., Aster J. C., Schachner M., Pallen C. J., Watanabe K., Xiao Z.-C. 2003. F3/contactin acts as a functional ligand for Notch during oligodendrocyte maturation. *Cell.* 115 : 163—175.

Huang Z., Yu Y., Shimoda Y., Watanabe K., Liu Y. 2012. Loss of neural recognition molecule NB-3 delays the normal projection and terminal branching of developing corticospinal tract axons in the mouse. *J. Comp. Neurol.* 520 : 1227—1245.

Ishida Y., Nakahara D., Hashiguchi H., Nakamura M., Ebihara K., Takeda R., Nishimori T., Niki H. 2002. Fos expression in GABAergic cells and cells immunopositive for NMDA receptors in the inferior and superior colliculi following audiogenic seizures in rats. *Synapse.* 46 : 100—107.

Jan Y.-N., Jan L. Y. 2003. The control of dendrite development. *Neuron.* 40 : 229—242.

Kamei Y., Takeda Y., Teramoto K., Tsutsumi O., Taketani Y., Watanabe K. 2000. Human NB-2 of the contactin subgroup molecules: chromosomal localization of the gene (*CNTN5*) and distinct expression pattern from other subgroup members. *Genomics.* 69 : 113—119.

Kamei Y., Tsutsumi O., Taketani, Y., Watanabe K. 1998. cDNA cloning and chromosomal localization of neural adhesion molecule NB-3 in human. *J. Neurosci. Res.* 51 : 275—283.

Kaneko-Goto T., Yoshihara S., Miyazaki H., Yoshihara Y. 2008. BIG-2 mediates olfactory axon convergence to target glomeruli. *Neuron.* 57 : 834—846.

Kashevarova A. A., Nazarenko L. P., Schultz-Pedersen S., Skryabin N. A., Salyukova O. A., Chechetkina N. N., Tolmacheva E. N., Rudko A. A., Magini P., Graziano C., Romeo G., Joss S., Tümer Z., Lebedev I. N. 2014. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability. *Mol. Cytogenet.* 7 : 97—107.

Kerner B., Lambert C. G., Muthén B. O. 2011. Genome-wide association study in bipolar patients stratified by comorbidity. *PLoS ONE.* 6 : e28477.

Lee S., Takeda Y., Kawano H., Hosoya H., Nomoto M., Fujimoto D., Takahashi N., Watanabe K. 2000. Expression and regulation of a gene encoding neural recognition molecule NB-3 of the contactin/F3 subgroup in mouse brain. *Gene.* 245 : 253—266.

Li H., Takeda Y., Niki H., Ogawa J., Kobayashi S., Kai N., Akasaka K., Asano M., Sudo K., Iwakura Y., Watanabe K. 2003. Aberrant responses to acoustic stimuli in mice deficient for neural recognition molecule NB-2. *Eur. J. Neurosci.* 17 : 929—936.

Lionel A. C., Crosbie J., Barbosa N., Goodale T., Thiruvahindrapuram B., Rickaby J., Gazzellone M., Carson A. R., Howe J. L.,

Wang Z., Wei J., Stewart A. F., Roberts R., McPherson R., Fiebig A., Franke A., Schreiber S., Zwaigenbaum L., Fernandez B. A., Roberts W., Arnold P. D., Szatmari P., Marshall C. R., Schachar R., Scherer S. W. 2011. Rare copy number variation discovery and cross-disorder comparisons identify risk genes for ADHD. *Sci. Transl. Med.* 3 : 95ra75.

Mercati O., Danckaert A., Andre-Leroux G., Bellinzoni M., Gouder L., Watanabe K., Shimoda Y., Grailhe R., de Chaumont F., Bourgeron T., Cloëz-Tayarani I. 2013. Contactin 4, -5 and -6 differentially regulate neuriteogenesis while they display identical PTPRG binding sites. *Biol. Open.* 2 : 324—334.

Miura S., Shibata H., Furuya H., Ohyagi Y., Osoegawa M., Miyoshi Y., Matsunaga H., Shibata A., Matsumoto N., Iwaki A., Taniwaki T., Kikuchi H., Kira J., Fukumaki Y. 2006. The contactin 4 gene locus at 3p26 is a candidate gene of SCA16. *Neurology.* 67 : 1236—1241.

Mock B. A., Connelly M. A., McBride O. W., Kozak C. A., Marcu K. B. 1996. Plasmacytoma-associated neuronal glycoprotein, Pang, maps to mouse chromosome 6 and human chromosome 3. *Genomics.* 34 : 226—228.

Mori K., Takahashi Y. K., Igarashi K. M., Yamaguchi M. 2006. Maps of odorant molecular features in the mammalian olfactory bulb. *Physiol. Rev.* 86 : 409—433.

Morrow E. M., Yoo S. Y., Flavell S. W., Kim T. K., Lin Y., Hill R. S., Mukaddes N. M., Balkhy S., Gascon G., Hashmi A., Al-Saad S., Ware J., Joseph R. M., Greenblatt R., Gleason D., Ertelt J. A., Apse K. A., Bodell A., Partlow J. N., Barry B., Yao H., Markianos K., Ferland R. J., Greenberg M. E., Walsh C. A. 2008. Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry. *Science.* 321 : 218—223.

Murai K. K., Misner D., Ranscht B. 2002. Contactin supports synaptic plasticity associated with hippocampal long-term depression but not potentiation. *Curr. Biol.* 12 : 181—190.

Murase S., Schuman E. M. 1999. The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11 : 549—553.

Murdoch J. D., Gupta A. R., Sanders S. J., Walker M. F., Keane J., Fernandez T. V., Murtha M. T., Anyanwu S., Ober G. T., Rabubeson M. J., DiLullo N. M., Villa N., Waqar Z., Sullivan C., Gonzalez L., Willsey A. J., Choe S. Y., Neale B. M., Daly M. J., State M. W. 2015. No evidence for association of autism with rare heterozygous point mutations in contactin-associated protein-like 2 (*CNTNAP2*), or in other contactin-associated proteins or contactins. *PLoS Genet.* 11 : e1004852.

Nikpay M., Seda O., Tremblay J., Petrovich M., Gaudet D., Kotchen T. A., Cowley A. W., Hamet P. 2012. Genetic mapping of habitual substance use, obesity-related traits, responses to mental and physical stress, and heart rate and blood pressure measurements reveals shared genes that are overrepresented in the neural synapse. *Hypertens. Res.* 35 (6) : 585—591.

Ogawa J., Kaneko H., Masuda T., Nagata S., Hosoya H., Watanabe K. 1996. Novel neural adhesion molecules in the Contactin/F3 subgroup of the immunoglobulin superfamily: isolation and characterization of cDNAs from rat brain. *Neurosci. Lett.* 218 : 173—176.

Ogawa J., Lee S., Itoh K., Nagata S., Machida T., Takeda Y., Watanabe K. 2001. Neural recognition molecule NB-2 of the contactin/F3 subgroup in rat: specificity in neurite outgrowth-promoting activity and restricted expression in the brain regions. *J. Neurosci. Res.* 65 : 100—110.

Pinto D., Pagnamenta A. T., Klei L., Anney R., Merico D., Reggan R., Conroy J. 2010. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature.* 466 : 368—372.

Puzzo D., Bizzoca A., Privitera L., Furnari D., Giunta S., Girolamo F., Pinto M., Gennarini G., Palmeri A. 2013. F3/Contactin promotes hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity, and memory in adult mice. *Hippocampus.* 23 : 1367—1382.

Saito H., Mimmack M., Kishimoto J., Keverne E. B., Emson P. C. 1998. Expression of olfactory receptors, G-proteins and AxCAMs during the development and maturation of olfactory sensory neurons in the mouse. *Brain Res. Develop. Brain. Res.* 110 : 69—81.

- Sakurai K., Toyoshima M., Takeda Y., Shimoda Y., Watanabe K. 2010. Synaptic formation in subsets of glutamatergic terminals in the mouse hippocampal formation is affected by a deficiency in the neural cell recognition molecule NB-3. *Neurosci. Lett.* 473 : 102—106.
- Shimoda Y., Watanabe K. 2009. Contactins: emerging key roles in the development and function of the nervous system. *Cell Adhesion Migr.* 3 : 64—70.
- Stoeckli E. T. 2004. Ig superfamily cell adhesion molecules in the brain. *Handb. Exp. Pharmacol.* 165 : 373—401.
- Stoeckli E. T. 2010. Neural circuit formation in the cerebellum is controlled by cell adhesion molecules of the Contactin family. *Cell Adhesion Migr.* 4 : 523—526.
- Stogmann E., Reinthaler E., El Tawil S., El Etribi M. A., Hemeda M., El Nahhas N., Gaber A. M., Fouad A., Edris S., Benet-Pages A., Eck S. H., Pataraja E., Mei D., Brice A., Lesage S., Guerrini R., Zimprich F., Strom T. M., Zimprich A. 2013. Autosomal recessive cortical myoclonic tremor and epilepsy: association with a mutation in the potassium channel associated gene CNTN2. *Brain.* 136 : 1155—1160.
- Takeda H., Akasaka K., Lee S., Kobayashi S., Kawano H., Murayama S., Takahashi N., Hashimoto K., Kano M., Asano M., Sudo K., Iwakura Y., Watanabe A. 2003. Impaired motor coordination in mice lacking neural recognition molecule NB-3 of the contactin/F3 subgroup. *J. Neurobiol.* 56 : 252—265.
- Toyoshima M., Sakurai K., Shimazaki K., Takeda Y., Nakamoto M., Serizawa S., Shimoda Y., Watanabe K. 2009. Preferential localization of neural cell recognition molecule NB-2 in developing glutamatergic neurons in the rat auditory brainstem. *J. Comp. Neurol.* 51 : 349—362.
- Traka M., Dupree J. L., Popko B., Karagogeos D. 2002. The neuronal adhesion protein TAG-1 is expressed by Schwann cells and oligodendrocytes and is localized to the juxtaparanodal region of myelinated fibers. *J. Neurosci.* 22 : 3016—3024.
- Traka M., Goutebroze L., Denisenko N., Bessa M., Nifli A., Havaki S., Iwakura Y., Fukamauchi F., Watanabe K., Soliven B., Girault J.-A., Karagogeos D. 2003. Association of TAG-1 with Caspr2 is essential for the molecular organization of juxtaparanodal regions of myelinated fibers. *J. Cell Biol.* 16 : 1161—1172.
- Tsiotra P. C., Karagogeos D., Theodorakis K., Michaelidis T. M., Modi W. S., Furlley A. J., Jessell T. M., Papatheakis J. 1993. Isolation of the cDNA and chromosomal localization of the gene (TAG1) encoding the human axonal glycoprotein TAG-1. *Genomics.* 8 : 562—567.
- Wang K., Zhang H., Bloss C. S., Duvvuri V., Kaye W., Schork N. J., Berrettini W., Hakonarson H.; Price Foundation Collaborative Group. 2010. A genome-wide association study on common SNPs and rare CNVs in anorexia nervosa. *Mol. Psychiatry.* 9 : 949—959.
- Wang W., Karagogeos D., Kilpatrick D. L. 2011. The effects of Tag-1 on the maturation of mouse cerebellar granule neurons. *Cell Mol. Neurobiol.* 31 : 351—356.
- Wolfer D. P., Henahan-Beatty A., Stoeckli E. T., Sonderegger P., Lipp H. P. 1994. Distribution of TAG-1/axonin-1 in fibre tracts and migratory streams of the developing mouse nervous system. *J. Comp. Neurol.* 345 : 1—32.
- Ye H., Tan Y. L. J., Ponniah S., Takeda Y., Wang S.-Q., Schachner M., Watanabe K., Pallen C. J., Xiao Z.-C. 2008. Neural recognition molecules CHL1 and NB-3 regulate apical dendrite orientation in the neocortex via PTPa. *EMBO J.* 27 : 188—200.
- Yoshihara Y., Kawasaki M., Tamada A., Nagata S., Kagamiyama H., Mori K. 1995. Overlapping and differential expression of BIG-2, BIG-1, TAG-1 and F3 : four members of an axon-associated cell adhesion molecule subgroup of the immunoglobulin superfamily. *J. Neurobiol.* 28 : 51—69.
- Yoshihara Y., Kawasaki M., Tani A., Tamada A., Nagata S., Kagamiyama H., Mori K. 1994. BIG-1 : a new TAG-1/F3-related member of the immunoglobulin superfamily with neurite outgrowth promoting activity. *Neuron.* 13 : 415—426.
- Zeng L., Zhang C., Xu J., Ye X., Wu Q., Dai J., Ji C., Gu S., Xie Y., Mao Y. 2002. A novel splice variant of the cell adhesion molecule contactin 4 (CNTN4) is mainly expressed in human brain. *J. Hum. Genet.* 47 : 497—499.
- Zuko A., Kleijer K. T. E., Oguro-Ando A., Kas M. J. H., van Daalen E., van der Zwaag B., Burbach J. P. H. 2013. Contactins in the neurobiology of autism. *Eur. J. Pharmacol.* 719 : 63—74.

Поступила 17 VIII 2015

ROLE OF CONTACTINS IN NEUROGENESIS IN HUMAN AND ANIMALS

N. M. Matveeva,¹ A. A. Kashevarova,² I. N. Lebedev,² O. L. Serov^{1,*}¹ Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of RAS, Novosibirsk, 630090, and ² Scientific-Research Institute of Medical Genetics, Tomsk, 634050;

* e-mail: serov@bionet.nsc.ru

Development of central and peripheral nervous system is one of the most complicated processes of embryogenesis. Dendritogenesis is an important component of this process because properties of dendritic branching define input and output signals received by neuron. Moreover, communications between neurons require transition of signal from dendrite of one neuron to axon of another, and this process of signal transduction underlies mechanisms of synaptic plasticity and memory formation. The neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily involved in the control of dendritogenesis. In current review we focus our attention on 6 members of this adhesion molecules family: contactins 1—6. The contactins are proteins that control key events of neurogenesis: adhesion and migration of neuronal cells, orientation of growth of neurites and axons myelination. Functions of contactins are actively studied using model animals that express contactins in central and peripheral nervous system with almost similar to human pattern. Mutations of contactin-encoding genes result in abnormalities of neurogenesis process and development of multiple neurological disorders. Review is devoted to the role of contactin proteins in neurogenesis and nervous system disorders.

Key words: contactins, neurogenesis, dendritogenesis, mutations of the contactin genes, a role of contactins in neuropathologies.