

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 27 日現在

機関番号： 83902  
 研究種目： 基盤研究（C）  
 研究期間： 2008～2011  
 課題番号： 20591240  
 研究課題名（和文） ニューログリカンCによる樹状突起スパインの形態制御機構

研究課題名（英文） Roles of neuroglycan C on dendritic spine formation

## 研究代表者

時田 義人（TOKITA YOSHIHITO）  
 愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・周生期学部・主任研究員  
 研究者番号：50291175

研究成果の概要（和文）：ニューログリカン C（NGC）は神経系に発現しているコンドロイチン硫酸プロテオグリカンである。これまでに NGC はシナプスの機能に関与し、向精神薬により脳内での発現量の上昇をもたらすことが報告されている。これらの知見に加え、発達障害の原因の一端を明らかにする目的で、NGC と FGF の結合に関する実験を行った。その結果、幾つかの FGF が NGC と結合することをみいだした。

研究成果の概要（英文）：Neuroglycan C (NGC) is a transmembrane chondroitin sulfate proteoglycan that is expressed in the brain and predominantly localizes dendritic filopodia on neuron. Although it is revealed that presynaptic function of NGC-null mice was partially impaired in early stages of development, the molecular mechanisms of synapse formation modulated by NGC proteoglycan remains undefined. To address this question, we sought to determine the identity of proteins that interact with NGC. As the result of the analysis, we identified several members in the FGF family. In addition to a broad mitogenic and other biological processes including neural morphogenesis, some of members in FGF family were reported as a presynaptic organizer protein, which can induce a formation of functional synaptic vesicle aggregates on axon fiber. The result suggests a possibility that NGC on the dendrites functions to display FGF as a co-receptor for FGFR on the axons to form functional synapse at appropriate sites.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	730,758	300,000	1,030,758
2011 年度	269,242	0	269,242
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：コンドロイチン硫酸、プロテオグリカン、シナプス、スパイン

### 1. 研究開始当初の背景

ニューログリカンCは樹状突起に局在するコンドロイチン硫酸プロテオグリカンであり、向精神薬で発現量が増強する。ノックアウトマウスはシナプス形成に異常が見られる。

### 2. 研究の目的

神経細胞のスパインに局在するコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの一つ、ニューログリカンCのシナプス形成に関する分子機構を明らかにする

### 3. 研究の方法

ニューログリカンCに結合する分子を生化学的に単離して、質量分析などにより同定する。その後、細胞生物学的に解析を進める。

### 4. 研究成果

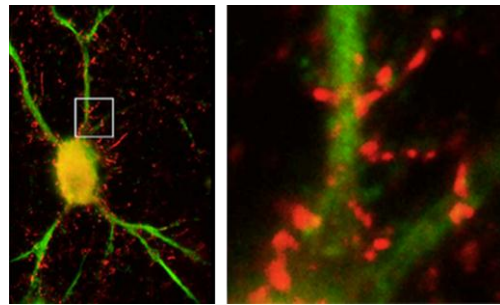
シナプス形成に関与するペプチド性の繊維芽細胞増殖因子 FGF がニューログリカンCに結合することを見出した。FGF は、細胞の増殖を促進する以外に、シナプスにおける神経伝達分子の放出に関与するシナプス小胞の形成を誘導する活性が報告されている。

ニューログリカンCは、樹状突起のフィロポディア部分に局在することから、シナプス形成の際に、軸索と接触し軸索側に小胞を誘導させる機能を担っている可能性が高い。

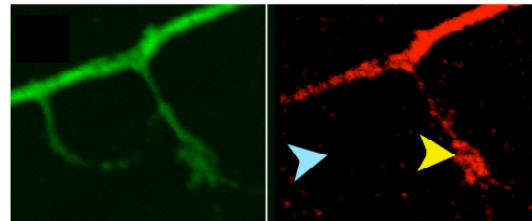
実際、ノックアウトマウスの解析では生後数日間にわたり、プレシナプスの形成不全を示唆する電気生理学的解析結果も報告されている。

また、ニューログリカンCの一塩基多型の解析から、統合失調症との間に有意な関連が見られることも報告されている。さらに、ニューログリカンCが統合失調症様の症状を引き起こす向精神薬の作用により、発現量が

上昇することが報告されている。興味深いことに、ニューログリカンCの発現が上昇する中枢神経の領域はドーパミンの関与する報酬系や、薬物中毒に関与する側坐核や扁桃体であることが報告されている。



初代培養神経細胞の免疫染色  
樹状突起のマーカーMAP2（緑）とニューログリカンC（赤）の局在。



初代培養神経細胞の免疫染色  
樹状突起のマーカーMAP2（緑）と FGF（赤）の局在。黄色の矢頭のフィロポディアには FGF のシグナルが検出された。退縮している青の矢頭のフィロポディアは、FGF は検出されない。

これらの結果から、効率的に FGF によるシナプス形成を作用させるためにニューログリカンCが誘導され、薬物中毒に関与する神経回路の形成や、統合失調などの精神疾患の病態に関与する可能性が示唆される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Kamamoto M, Machida J, Yamaguchi S, Kimura M, Ono T, Jezewski PA, Higashi Y, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y. (2011) Clinical and functional data implicate the Arg(151)Ser variant of MSX1 in Familial Hypodontia. *Euro J Hum Genet.* 19, 844-50. doi:10.1038/ejhg.2011.47
- ② Kamamoto M, Machida J, Miyachi H, Ono T, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y. (2010) A novel mutation in the C-terminal region of RUNX2/CBFA1 distal to the DNA-binding runt domain in a Japanese patient with cleidocranial dysplasia. *Int J Oral Maxillofac Surg.* doi:10.1016/j.ijom.2010.09.025
- ③ Nakanishi K, Tokita Y, Aono S, Ida M, Matsui F, Higashi Y, Oohira A. (2010) Neuroglycan C, a brain-specific chondroitin sulfate proteoglycan, interacts with pleiotrophin, a heparin-binding growth factor. *Neurochem Res.* 35, 1131-7.
- ④ Sato Y, Nakanishi K, Hayakawa M, Kakizawa H, Saito A, Kuroda Y, Ida M, Tokita Y, Aono S, Matsui F, Kojima S, Oohira A. (2008) Reduction of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic rats by intracerebroventricular injection of neural stem/progenitor cells together with chondroitinase ABC. *Reprod Sci.* 15, 613-20. doi:

10.1177/1933719108317299

- ⑤ Ichikawa M, Yoshida J, Saito K, Sagawa H, Tokita Y, Watanabe M. (2008) Differential effects of two ROCK inhibitors, Fasudil and Y-27632, on optic nerve regeneration in adult cats. *Brain Res.* 1201, 23-33. doi: 10.1016/j.brainres.2008.01.063
- ⑥ Sato Y, Nakanishi K, Hayakawa M, Kakizawa H, Saito A, Kuroda Y, Ida M, Tokita Y, Aono S, Matui F, Kojima S, Oohira A. (2008) A highly sulfated chondroitin sulfate preparation, CS-E, prevents excitatory amino acid-induced neuronal cell death. *J Neurochem* 104, 1565-76. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05107.x

[学会発表] (計 2 件)

- ① Jezewski PA, Houseman EA, Kamamoto M, Machida J, Yamaguchi S, Ono T, Higashi Y, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y (2010) Variable Penetrance, Expressivity and Pleiotropy of MSX1 Alleles. **31st Annual David W. Smith Workshop on malformations and morphogenesis.** (Union, Washington State) 2010. 8. 28.
- ② Tokita Y, Aono S, Matsui F, Nakanishi K, Oohira A. (2008) Role of Neuroglycan C, a Brain-specific Proteoglycan, in Neuronal Development. **The 9th Asia-Pacific Microscopy Conference.** (Invited, Jeju, Korea) 2008. 11. 4.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

時 田 義 人 (TOKITA YOSHIHITO)  
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究  
所・周生期学部・主任研究員  
研究者番号：50291175

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：