

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 5月22日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700392

研究課題名（和文） 精神疾患関連遺伝子群の担うシナプス形成の分子機構の解明

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of synapse formation by mental disorder-related gene products

研究代表者

吉田 知之 (YOSHIDA TOMOYUKI)

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：90372367

研究成果の概要（和文）：X染色体連鎖型知的障害・自閉症の原因遺伝子産物である Interleukin-1 receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1) を培養神経細胞に発現させるとシナプス密度が増加し、一方、ノックダウンするとシナプス密度が減少した。シナプス後終末に存在する IL1RAPL1 はシナプス前終末の受容体型チロシン脱リン酸化酵素 PTP δ とトランスシナプティックに結合し、興奮性シナプスを誘導することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：IL-1 receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1) is responsible for X-linked mental retardation and autism. Expression of IL1RAPL1 in cultured cortical neurons enhanced synapse formation while knockdown of IL1RAPL1 suppressed synaptogenesis. Postsynaptic IL1RAPL1 mediated excitatory synapse formation through trans-synaptic interaction with presynaptic protein tyrosine phosphatase (PTP) δ .

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：発生・分化・老化

1. 研究開始当初の背景

神経細胞間のシナプスの形成と再編は脳の発達に伴い神経回路が作られる際、記憶学習の際に起こる極めて重要なイベントであるにもかかわらず、その分子機構はいまだ不明の部分が多かった。近年、知的障害、自閉

症、統合失調症などの神経回路網の形成とシナプス機能の異常に起因すると考えられる神経発達障害や精神疾患の原因遺伝子や関連遺伝子が急速に同定され、シナプス形成に関わる分子群のリストが出来つつある。一方で急速に同定される疾患原因遺伝子や関連

遺伝子産物の機能解析はあまり進んでいなかった。X 染色体連鎖型知的障害・自閉症の原因遺伝子産物である Interleukin-1 receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1)は IL-1 受容体ファミリーに属するオーファン受容体であったが、ゼブラフィッシュ胚を用いたロックダウン実験から IL1RAPL1 の機能阻害はシナプス形成を障害することが判っていた。

2. 研究の目的

神経発達障害や精神疾患の原因遺伝子や関連遺伝子産物の中にはシナプスの形成と再編に重要な役割を担うものが多数含まれると考えられる。そこで本研究では精神疾患関連遺伝子群より、シナプス形成を誘導する活性を持つ接着分子をスクリーンし、それらの関わるシナプス形成の調節機構を明らかにすることを目的とした。

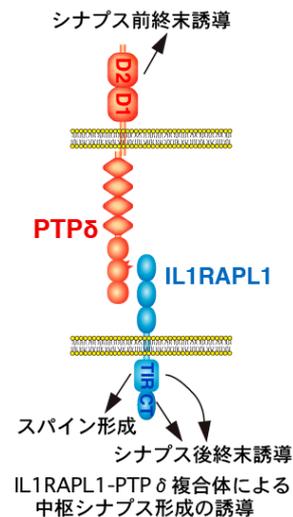
3. 研究の方法

家族性ノンシンドロミック型精神遅滞の原因遺伝子、自閉症、統合失調症原因及び関連遺伝子としてデータベース及び文献で報告されている遺伝子群に関して、文献検索、タンパク質の構造予測等により神経細胞に発現し、シナプスに局在すると考えられる膜分子のリストを作成する。これらのシナプス形成誘導分子の候補を繊維芽細胞に発現させ、海馬及び大脳皮質培養神経細胞と共培養する。その後、シナプス前終末マーカータンパク質(Bassoon 等)及びシナプス後終末マーカータンパク質(PSD95, GluR 等)に対する抗体で染色し、繊維芽細胞に接する神経細胞にシナプス前終末及び後終末が誘導されるか否かを観察する。また、シナプス前部や後部を誘導する活性を有するシナプス接着分子(シナプスオーガナイザー)に関してはその結合相手をアフィニティークロマトグラフィー等で同定する。

4. 研究成果

精神疾患関連タンパク質のうち Interleukin-1 receptor accessory protein-like 1(IL1RAPL1)は培養海馬、及び大脳皮質神経細胞においてシナプス後部に存在することが免疫染色により明らかになった。また、IL1RAPL1 を培養神経細胞に発現させるとスパイン密度、シナプス密度(Bassoon シグナル)ともに増加することがわかった。更に、培養神経細胞において2本鎖 RNA を用いて IL1RAPL1 をロックダウンするとスパイン密度、シナプス密度が減少した。IL1RAPL1 を繊維芽細胞に発現させ、海馬及び大脳皮質培養神経細胞と共培養すると、繊維芽細胞の周りにシナプス前終末マーカータンパク質である Bassoon が集積することが観

察された。すなわち、IL1RAPL1 はシナプス前終末を誘導するシナプスオーガナイザーであることが明らかとなった。更に、IL1RAPL1 は興奮性シナプス前終末を特異的に誘導することが明らかになった。このシナプス前終末の誘導活性には IL1RAPL1 の細胞外領域のみで十分であることが明らかとなった。そこで、IL1RAPL1 の細胞外領域をベイトとしてアフィニティークロマトグラフィーを行い、受容体型チロシン脱リン酸化酵素(PTP) δ を同定した。PTP δ の細胞外領域のイムノグロブリンドメインには 3, 6, 9 及び 4 アミノ酸より構成されるミニエクソンペプチドの挿入の有無によるスプライスバリエーションが存在することを明らかにした。IL1RAPL1 はミニエクソンペプチドの挿入された PTP δ バリエーションにのみ特異的に結合した。さらに IL1RAPL1 を発現する繊維芽細胞と PTP δ 欠損マウス由来の培養神経細胞を共培養すると IL1RAPL1 のシナプス前終末の誘導能は完全に消失した。一方、IL1RAPL1 によるスパイン形成とシナプス後終末の誘導も PTP δ 依存的



であることが明らかになった。即ち IL1RAPL1 は PTP δ とトランスシナプティック複合体を形成し、シナプス形成を誘導することが示された。IL1RAPL1 遺伝子の変異に起因する知的障害や自閉症の発病にはシナプス形成の異常が関与することが示唆された。

統合失調症の関連遺伝子産物である GluR δ 1 は小脳プルキンエ細胞に特異的に発現する GluR δ 2 と共にグルタミン酸受容体 δ ファミリーを構成する。シナプス後部の GluR δ 2 は分泌タンパク質である Cbln1 を介してシナプス前部の Neurexin と結合してプルキンエ細胞-平行線維シナプスの形成を担うことを私達は既に報告した。GluR δ 1 の細胞外領域を固定したビーズと大脳皮質神経細胞を共培養するとごく一部のビーズに抑制性のシナプス前終末が誘導された。この抑制性シナプス前終末の誘導活性は培地中に Cbln1, Cbln2 を加えることによって増強された。また、GluR δ 1 によるシナプス前終末の誘導活性は Neurexin の細胞外ドメインを培地中に加えることで抑制された。これらのこ

とから、統合失調症関連タンパク質 GluR δ 1 は Cbln1,2 を介して Neurexin と結合することによって主に抑制性シナプスの形成に関与することが示唆された。

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 8 件)

- ① Yasumura M, Yoshida T, Lee S, Uemura T, Joo J, Mishina M. (2012) Glutamate receptor δ 1 induces preferentially inhibitory presynaptic differentiation of cortical neurons by interacting with neurexins through cerebellin precursor protein subtypes. *The Journal of Neurochemistry* 121, 705-716. 査読有. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07631.x.
- ② Lee S, Uemura T, Yoshida T, Mishina M. (2012) GluR δ 2 assembles four neurexins into trans-synaptic triad to trigger synapse formation. *The Journal of Neuroscience* 32, 4688-4701. 査読有. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5584-11.2012
- ③ Yoshida T, Shiroshima T, Lee S, Yasumura M, Uemura T, Chen X, Iwakura Y, Mishina M. (2012) Interleukin-1 receptor accessory protein organizes neuronal synaptogenesis as a cell adhesion molecule. *The Journal of Neuroscience* 32, 2588-2600. 査読有. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4637-11.2012
- ④ Chen X, Yoshida T, Sagara H, Mikami Y, Mishina M. (2011) Protein tyrosine phosphatase σ regulates the synapse number of zebrafish olfactory sensory neurons. *The Journal of Neurochemistry* 119, 532-543. 査読有. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07411.x.
- ⑤ Yoshida T, Yasumura M, Uemura T, Lee S, Ra M, Taguchi R, Iwakura Y, Mishina M. (2011) IL-1 receptor accessory protein-like 1 associated with mental retardation and autism mediates synapse formation by *trans*-synaptic interaction with protein tyrosine phosphatase δ . *The Journal of Neuroscience* 31, 13485-13499. 査読有. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2136-11.2011

⑥ Joo J, Lee S, Uemura T, Yoshida T, Yasumura M, Watanabe M, Mishina M. (2011) Differential interactions of cerebellin precursor protein (Cbln) subtypes and neurexin variants for synapse formation of cortical neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 406, 627-632. 査読有. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.02.108

⑦ Taniguchi M, Masuda T, Mikami Y, Kimura M, Yoshida T, Mishina M, Shimizu T. (2011) Identification and characterization of a novel zebrafish semaphorin. *Neuroscience Letters* 488, 215-220. 査読有. doi: 10.1016/j.neulet.2010.11.032

⑧ Uemura T, Lee S, Yasumura M, Takeuchi T, Yoshida T, Ra M, Taguchi R, Sakimura K, Mishina M. (2010) *Trans*-synaptic interaction of GluR δ 2 and neurexin through Cbln1 mediates synapse formation in the cerebellum. *Cell* 141, 1068-1079. 査読有. doi: 10.1016/j.cell.2010.04.035

[学会発表] (計 25 件)

- ① 林崇、吉田知之、三品昌美. 知的障害・自閉症関連蛋白質 IL1RAPL1 による興奮性シナプスでの AMPA 型グルタミン酸受容体局在・輸送機構の調節. 第 85 回日本薬理学会年会. 2012 年 3 月 16 日 (京都国際会議場、京都府)
- ② 吉田知之、安村美里、植村健、李聖眞、羅紋眞、田口良、岩倉洋一郎、三品昌美. 精神遅滞、自閉症の原因遺伝子産物 IL1RAPL1 は PTP δ とトランスシナプティック複合体を形成して興奮性シナプス形成を誘導する. 第 85 回日本薬理学会年会. 2012 年 3 月 16 日 (京都国際会議場、京都府)
- ③ 李聖眞、植村健、吉田知之、三品昌美. GluR δ 2 は Neurexin を四量体化する事によってシナプス形成を誘導する. 第 85 回日本薬理学会年会. 2012 年 3 月 14 日 (京都国際会議場、京都府)
- ④ 安村美里、吉田知之、李聖眞、植村健、朱宰烈、三品昌美. Glutamate receptor δ 1 preferentially stimulates inhibitory synapse formation of cortical neurons. Society for Neuroscience 41th Annual Meeting. 2011 年 11 月 14 日 (ウォルター

ワシントン コンベンションセンター、アメリカ合衆国)

- ⑤ 李聖眞、植村健、吉田知之、三品昌美. Tetrameric GluRδ2 for cerebellar synapse formation. Society for Neuroscience 41th Annual Meeting. 2011年11月14日 (ウォルター ワシントン コンベンションセンター、アメリカ合衆国)
- ⑥ 三品昌美、吉田知之、安村美里、植村健、李聖眞. IL1RAPL1 Associated with Mental Retardation and Autism Organizes Synapse Formation through Trans-Synaptic Interaction with PTPδ. Cell Symposia: Autism Spectrum Disorders: From Mechanisms to Therapies. 2011年11月12日 (ウォルター ワシントン コンベンションセンター、アメリカ合衆国)
- ⑦ 李聖眞、植村健、吉田知之、三品昌美. Interaction among GluRδ2, Cbln1 and NRXN1 β in the trans-synaptic triad essential for cerebellar synapse formation. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑧ 安村美里、吉田知之、李聖眞、植村健、朱宰烈、三品昌美. Trans-synaptic interaction of Glutamate receptor δ1 and neurexins through Cbln subtypes induces preferentially inhibitory presynaptic differentiation of cortical neurons. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑨ 吉田知之、安村美里、植村健、李聖眞、羅紋眞、田口良、岩倉洋一郎、三品昌美. IL1RAPL1 associated with mental retardation and autism organizes synaptogenesis through trans-synaptic interaction with PTPδ. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑩ 朱宰烈、李聖眞、植村健、吉田知之、安村美里、渡辺雅彦、三品昌美. Presynaptic differentiation of cortical neurons by cerebellin precursor protein (Cbln) subtypes and Neurexin variants interaction. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑪ 陳西貴、吉田知之、相良洋、三上義礼、三品昌美. Regulation of synapse number by protein tyrosine phosphatase σ. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑫ 植村健、李聖眞、安村美里、吉田知之、三品昌美. Trans-synaptic triad of postsynaptic GluRδ2, Cbln1, and presynaptic NRXN essential for cerebellar synapse formation. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑬ 城島知子、吉田知之、李聖眞、安村美里、三品昌美. Mini-exon peptides of protein tyrosine phosphatase δ determine the interaction with IL1RAPL1 for synapse formation. The 4th Molecular and cellular cognition society-ASIA Symposium. 2011年9月19日 (ソウル大学、韓国)
- ⑭ 吉田知之、安村美里、三品昌美. 精神遅滞・自閉症関連タンパク質IL1RAPL1はシナプス形成誘導因子である. 第34回日本神経科学大会. 2011年9月17日 (パシフィコ横浜、神奈川県)
- ⑮ 朱宰烈、李聖眞、植村健、吉田知之、安村美里、渡辺雅彦、三品昌美. 大脳のCblnサブタイプはneurexinの特異的バリエーションと相互作用することにプレシナプスの分化を誘導する. 第34回日本神経科学大会. 2011年9月16日 (パシフィコ横浜、神奈川県)
- ⑯ 安村美里、吉田知之、李聖眞、朱宰烈、植村健、三品昌美. グルタミン酸受容体 δ 1はCblnサブタイプを介してNeurexinと相互作用することで、大脳皮質の抑制性プレシナプスの分化をより強く誘導する. 第34回日本神経科学大会. 2011年9月15日 (パシフィコ横浜、神奈川県)
- ⑰ 陳西貴、吉田知之、相良洋、三上義礼、三品昌美. PTP σはゼブラフィッシュ嗅神経細胞軸索終末のシナプスの数を調節する. 第34回日本神経科学大会. 2011年9月15日 (パシフィコ横浜、神奈川県)

⑮ 植村健、李聖眞、安村美里、吉田知之、三品昌美. グルタミン酸受容体 $\delta 2$ は Cbln1 を介して α -および β -neurexin と結合し小脳シナプス形成を調節する. 第34回日本神経科学大会. 2011年9月15日 (パシフィコ横浜、神奈川県)

⑯ 安村美里、吉田知之、李聖眞、朱宰烈、植村健、三品昌美. グルタミン酸受容体 $\delta 1$ との結合の親和性は Cbln ファミリー間で差がある. 第 84 回日本薬理学会年会. 2011年3月24日(紙上開催)

⑰ 植村健、李聖眞、安村美里、竹内倫徳、吉田知之、羅紋眞、田口良、崎村建司、三品昌美. GluR $\delta 2$ -Cbln1-NRXN 三者複合体による小脳シナプス形成の調節. 第 84 回日本薬理学会年会. 2011年3月24日(紙上開催)

⑱ 陳西貴、吉田知之、三品昌美. PTP σ はシナプス前終末へのシナプス小胞の集積を調節する. 第 84 回日本薬理学会年会. 2011年3月23日(紙上開催)

⑲ 吉田知之、三品昌美. 精神遅滞・自閉症関連タンパク質 IL1RAPL1 によるシナプス形成の調節. 第 84 回日本薬理学会年会. 2011年3月22日(紙上開催)

㉑ 朱宰烈、李聖眞、植村健、吉田知之、安村美里、三品昌美. 大脳皮質ニューロンのプレシナプスの分化誘導における Cbln サブタイプと neurexin バリエーションの相互作用. 第 84 回日本薬理学会年会. 2011年3月22日(紙上開催)

㉒ 吉田知之、三品昌美. IL1RAPL1 involved in mental retardation and autism regulates synapse formation. 第 33 回日本神経科学大会. 2010年9月4日(神戸コンベンションセンター、兵庫県)

㉓ 植村健、李聖眞、安村美里、吉田知之、羅紋眞、田口良、三品昌美. Glutamate receptor $\delta 2$ regulates cerebellar synapse formation by interacting with presynaptic Neurexin through Cbln1. 第 33 回日本神経科学大会. 2010年9月3日(神戸コンベンションセンター、兵庫県)

[その他]

ホームページ

<http://www.pharmacol2.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 知之 (YOSHIDA TOMOYUKI)
東京大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：90372367

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし