

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 10 月 5 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2014

課題番号：23591524

研究課題名(和文)ニューログリカンCによる神経機能の制御

研究課題名(英文)The effects of neuroglycan C on neuronal network 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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ニューログリカンCは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であり、向精神薬で中枢神経での発現量が上昇することが報告されている。本研究はニューログリカンCとFGFの一部が結合すること、さらに向精神薬の投与後に脳内で両分子が増加していることを明らかにした。さらに発現変化を示す脳内の領域を調べるため、向精神薬の投与後に幾つかの神経核でFGFファミリー分子の発現を検討し、側坐核や線条体でFGFの発現が増強していることをみいだした。FGFはシナプスの機能を成熟させることが報告されている。したがって今回の結果は、向精神薬の投与で特定の神経核の回路が変化していることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Neuroglycan C is a brain specific chondroitin sulfate proteoglycan, which locates at dendritic spines. In this study, we revealed that Neuroglycan C interacts with some of molecules of FGF, fibroblast growth factor family. We observed that the expression levels of both Neuroglycan C and its binding partner, FGFs are enhanced by drug in the some of nucleus in the brain including the nucleus accumbens, which is known to be closely related to methamphetamine addiction. Interestingly, it has been demonstrated that some of FGFs has significant effects on presynaptic formation of both glutamatergic and GABAergic neurons. Moreover, Neuroglycan C can form molecular complex with the FGF, we thus speculate that up-regulated FGFs could be accumulated at spines with Neuroglycan C expressed on post synaptic neuronal membranes to promote neural circuit formation in these nuclei.

研究分野：小児科

キーワード：プロテオグリカン

1. 研究開始当初の背景

ニューログリカンC (NeuroglycanC) は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でコカインやメタンフェタミンで発現量が上昇するという報告がある。また、ノックアウトマウスの解析から、ニューログリカンC はプレシナプスの機能に関与することが示唆されている。一方で、我々はニューログリカンCが繊維芽細胞増殖因子 FGF ファミリー分子の一つである bFGF と結合することを見出していた。

2. 研究の目的

本研究では、向精神薬により脳内での発現に影響の出る FGF を同定する。FGF の一部はシナプス形成に関与することが知られているため、向精神薬による神経症状への関与や精神疾患との関連が示唆されている。また、他の FGF ファミリーの分子とニューログリカンCの結合に関して検討を行い、向精神薬によるニューログリカンC/FGF 複合体の発現変化を知る。その上で、これらの分子の発現変化の意義を探る。

3. 研究の方法

質量分析によりニューログリカンCに結合する候補分子を同定していた。そこで、ニューログリカンCとともに細胞に発現させ免疫染色や免疫沈降法を用いた実験を行い、それらの結合を確認した。さらに、その結合の生物学的意義を明らかにするために、抗精神薬をラットに投与し、ニューログリカンC結合分子の脳内での発現量の変化を幾つかの神経核で調べた。

4. 研究成果

ニューログリカンCは、幾つかの FGF と結合することが生化学的に確認された。またラットを用いて、これらの FGF を含む分子の向精神薬による発現変化を調べた結果、側坐核を含む幾つかの神経核で発現の上昇がみられた。そこで、さらに初代培養神経細胞とニューログリカンCを発現させた株化細胞を共培養しニューログリカンC結合分子を作用させたところ、シナプス構造の変化を示唆する結果を得ることができた。

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 6件)

Machida J, Nishiyama T, Kishino H, Yamaguchi S, Kimura M, Shibata A, Tatematsu T, Kamamoto M, Yamamoto K, Makino S, Miyachi H, Shimozato K, Tokita Y. (2014) Genetic Epidemiology

of Tooth Agenesis in Japan: A Population-and Family-based Study. *Clin Genet.* DOI: 10.1111/cge.12456.

Yamaguchi S, Machida J, Kamamoto M, Kimura M, Shibata A, Tatematsu T, Miyachi H, Higashi Y, Jezewski PA, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y. (2014) Characterization of novel MSX1 mutations identified in Japanese patients with nonsyndromic tooth agenesis. *PLOS ONE.* 9, e102944. DOI: 10.1371/journal.pone.0102944

Kimura M, Tokita Y., Machida J, Shibata A, Tatematsu T, Tsurusaki Y, Miyake M, Saito H, Miyachi H, Shimozato K, Matsumoto N, Nakashima M. (2014) A Novel PITX2 Mutation Causing Iris Hypoplasia. *Hum Genome Variation.* 1, Article number: 14005. DOI: 10.1038/hgv.2014.5.

Kimura M, Machida J, Yamaguchi S, Shibata A, Miyachi H, Jezewski PA, Nakayama A, Higashi Y, Shimozato K, Tokita Y. (2014) Novel nonsense mutation in MSX1 in familial nonsyndromic oligodontia: subcellular localization and role of homeodomain/MH4. *Euro J Ora Sci.* 122, 15-20. DOI: 10.1111/eos.12105

Sagawa H, Terasaki H, Nakamura M, Nakanishi K, Tokita Y., Watanabe M. (2013) Regeneration of Optic Nerve Fibers with Unoprostone, Prostaglandin-related Antiglaucoma Drug, in Adult Cats. *Jpn J Ophthalmol.* 58, 100-109. DOI

10.1007/s10384-013-0282-4
Mastushita M, Kitoh H, Kaneko H, Mishima K, Itoh Y, Tokita Y., Ishiguro N. (2013) A novel in-frame deletion of

the RUNX2 gene causes a classic form of cleidocranial dysplasia. *J Bone Miner Metab.* 32:96-99. DOI: 10.1007/s00774-013-0456-7.

[学会発表](計 7件)

Machida J, Tatematsu T, Shibata A, Kimura M, Yamaguchi S, Abe Y, Yasui K, Kitagawa A, Makino S, Miyachi H, Shimozato K, Nishiyama T, Tokita Y. Candidate gene analysis of non-syndromic tooth agenesis in Japanese. **Annual meeting of American society of human genetics.** 2014.10.22-26. (San Diego, USA)

Shibata A, Machida J, Yamaguchi S, Kimura M, Tatematsu T, Miyachi H, Higashi Y, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y. Novel mutation in RUNX2/CBF-alpha-1 with alanine tract expansion from Japanese cleidocranial dysplasia patient. **Annual meeting of American society of human genetics.** (San Diego) 2014.10. 22-26.

Yamaguchi S, Machida J, Kamamoto M, Kimura M, Shibata A, Tatematsu T, Miyachi H, Higashi Y, Jezewski PA, Nakayama A, Shimozato K, Tokita Y. Novel MSX1 Mutations in Japanese Tooth Agenesis Patients. **Annual meeting of American society of human genetics.** (Boston) 2013.10.22-26.

Machida J, Nishiyama T, Yamaguchi S, Kimura M, Shibata A, Tatematsu T, Abe Y, Makino S, Miyachi H, Shimozato K, Tokita Y. Population based study of permanent teeth agenesis in Japanese. **Annual meeting of American society of human**

genetics. (Boston) 2013.10.22-26.

Machida J, Nishiyama T, Kamamoto M, Yamaguchi S, Kimura M, Shibata A, Yamamoto K, Makino S, Miyachi H, Shimozato K, Tokita Y. Population based study of permanent teeth agenesis in Japanese. European human genetics conference 2013. (Paris) 2013.6.8-12

Machida J, Nishiyama T, Kamamoto M, Yamaguchi S, Kimura M, Shibata A, Yamamoto K, Makino S, Miyachi H, Shimozato K, Tokita Y. (2012) Population based study of permanent teeth agenesis in Japanese schoolchildren. **Annual meeting of American society of human genetics.** (San Francisco) 2012.11.6-10.

Kimura M, Nagao T, Machida J, Yamaguchi S, Shibata A, Takeuchi G, Miyachi H, Shimozato K, Tokita Y. (2012) A recurrent mutation of keratin 4 gene causing white sponge nevus in a Japanese family. **Annual meeting of American society of human genetics.** (San Francisco) 2012.11.6-10.

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：

国内外の別：

〔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 (Yoshihito TOKITA)
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：