

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：13201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650194

研究課題名(和文) 脳神経回路網形成の新規モジュレーターとしてのインターロイキンの役割

研究課題名(英文) Roles of interleukin-1 family cytokines and their receptors in neuronal synapse formation

研究代表者

吉田 知之 (Yoshida, Tomoyuki)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：90372367

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：Interleukin-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP)はIL-1ファミリーサイトカイン受容体に共通のシグナル伝達サブユニットである。私達はIL-1RAcPが神経細胞間のシナプス形成を誘導する強い活性を有することを見出した。IL-1RAcPはその細胞外領域で受容体型チロシン脱リン酸化酵素PTPと結合した。IL-1RAcPのシナプス前終末の誘導能はPTP欠損神経細胞に対しては消失したことからシナプス後部のIL-1RAcPはトランスシナプティック細胞接着分子として機能し、シナプス前終末のPTPを介してシナプス形成を調節することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP) is the essential component of receptor complexes mediating immune and inflammatory responses to interleukin-1 family cytokines. Using a fibroblast-neuron mixed culture assay, we found robust synaptogenic activity of IL-1RAcP in cultured cortical neurons. IL-1RAcP interacted with protein tyrosine phosphatase (PTP) delta through the extracellular domain. The synaptogenic activity of IL-1RAcP was diminished in cortical neurons from PTP delta knockout mice. Correspondingly, PTP delta required IL-1RAcP to induce postsynaptic differentiation. Furthermore, the spine densities of cortical and hippocampal pyramidal neurons were reduced in IL-1RAcP knockout mice. These results suggest that IL-1RAcP functions as trans-synaptic cell adhesion molecules in the brain and organize synapse formation through PTP delta.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経化学・神経薬理学

キーワード：シナプス形成 インターロイキン - 1 受容体

## 1. 研究開始当初の背景

IL-1 は最初に発見された免疫細胞の液性制御因子 (インターロイキン) である。現在、ヒトにおいて 11 種類の IL-1 ファミリーサイトカインと 9 種類の IL-1 受容体ファミリーメンバーが報告されている。IL-1 は免疫応答の調節や炎症反応のメディエーターとして中心的役割を担うことがよく知られている。IL-1 ファミリーサイトカインの受容体は構造の良く似たリガンド結合サブユニットとシグナル伝達サブユニット (アクセサリーサブユニット) に分類される。11 種の IL-1 ファミリーは対応したリガンド認識サブユニットに結合し、リガンド-リガンド認識サブユニット複合体が共通のアクセサリーサブユニットをリクルートして細胞内にシグナルを伝えることがわかっている。この IL-1 シグナル伝達の遮断は、リウマチ、痛風、家族性感冒自己炎症性症候群など自己炎症性疾患の最も重要な創薬標的となっており、現在までに様々な治療薬が開発されている。IL-1 とその受容体ファミリーの多くは炎症反応を起こしていない脳内にも発現しており、脳機能への関与が示唆されていた。IL-1 の脳内投与はシナプス可塑性の低下や記憶の低下を引き起こす等の報告がなされていたがそのメカニズムは不明のままであった。我々は大脳皮質培養神経細胞に対してシナプス形成誘導能を持つ分子をスクリーンする過程で IL-1 受容体アクセサリーサブユニットがシナプス前終末の誘導能を持つことを発見した。興味深いことに、IL-1 受容体アクセサリーサブユニットの細胞外ドメインを結合させたビーズも同様にシナプス前終末を誘導する活性を持っていた。即ち、IL-1 受容体アクセサリーサブユニットはシナプス接着分子としての機能を持つことが明らかとなった。この発見から脳内の IL-1 及びその受容体群は従来の炎症メディエーターとしての機能の他にシナプス形成の調節因子として機能するという仮説を持つに至った。

## 2. 研究の目的

IL-1 受容体ファミリー分子と IL-1 ファミリーサイトカインが生理条件下で神経回路網形成の調節に関与するか否かを培養神経細胞及びマウス個体を用いて検証し、更に IL-1 ファミリーサイトカイン及び現在、自己炎症性疾患の治療に用いられているリコンビナント IL-1 受容体アンタゴニスト等の抗炎症性リコンビナントタンパク質が中枢神経回路形成のモジュレーターとして有効か否かを検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 神経細胞と繊維芽細胞の共培養系を用

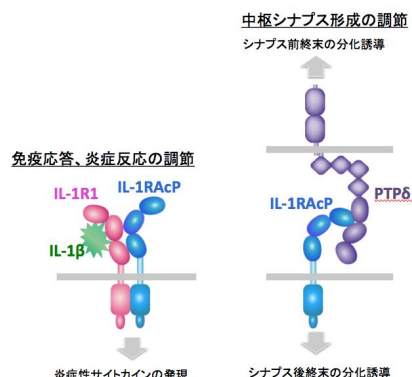
いて IL-1 受容体タンパク質群の中から IL-1 受容体アクセサリーサブユニットと同様にシナプス形成を誘導する活性を有するものをスクリーンする。また IL-1 ファミリーサイトカインがこれらの IL-1 受容体タンパク質群の担うシナプス形成を調節する機能を持つか否かを検証する。

(2) 既にシナプス誘導能を持つことが判っている IL-1 受容体アクセサリーサブユニットのリガンドを候補スクリーニング及びアフィニティー精製によって同定する。

(3) IL-1 受容体アクセサリーサブユニット欠損マウス脳の解剖学的解析を行い、IL-1 受容体アクセサリーサブユニットの中枢シナプス形成の調節における生理的意義を明らかにする。具体的には脳内各部においてシナプス数、スパイン数を計測する。

## 4. 研究成果

IL-1 受容体アクセサリーサブユニット (IL-1RAcP) には細胞内領域の配列の異なる 2 つのアイソフォーム (IL-1RAcP と IL-1RAcPb) が存在し、IL-1RAcP は神経細胞を含む多くの細胞に発現するのに対して、IL-1RAcPb は神経細胞に特異的に発現することが報告されている。この両者の発現を同時に抑制する siRNA を培養神経細胞に導入すると、樹状突起スパイン数と樹状突起に沿ったシナプス前終末マーカー Bassoon プンクタの減少が認められた。siRNA 抵抗性の IL-1RAcP を導入すると Bassoon プンクタ数の回復が認められたが、スパイン数は回復しなかった。一方、siRNA 抵抗性の IL-1RAcPb を導入すると Bassoon プンクタ数とスパイン数双方の回復が認められた。また、IL-1RAcP リガンドとして受容体型チロシン脱リン酸化酵素 PTP を同定した。種々の結合解析から IL-1RAcP-PTP の結合はトランスであり、解離定数は  $0.7 \mu\text{M}$  程度であることが判った。更に、PTP 欠損マウス由来の培養神経細胞に対しては IL-1RAcP のシナプス誘導能が認められなくなることから、PTP が IL-1RAcP のシナプス誘導時の機能的受容体であることが示された (図 1)。



IL-1RAcP ノックアウトマウス脳では海馬 CA1 領域、大脳皮質 2/3 層の錐体細胞の興奮性シナプス後部構造(スパイン)の減少が認められた。これらのことから個体内でも IL-1RAcP がシナプス形成に参与することが示された。

これまで報告されている IL-1 受容体ファミリータンパク質(IL-1R1~IL-1R9)の網羅的シナプス誘導解析から、シナプス誘導能を持つものは IL-1R3 (IL-1RAcP), IL-1R8(IL1RAPL1), IL-1R9(IL1RAPL2)の3分子であることがわかった。いずれも PTP を介して主に興奮性シナプス形成に参与することが分かった。一方、IL-1 ファミリーサイトカインは IL-1RAcP と PTP との結合には大きな影響を与えなかった。

#### 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4件)

1. Hayashi T, Yoshida T, Ra M, Taguchi R, Mishina M. (2013) IL1RAPL1 associated with mental retardation and autism regulates the formation and stabilization of glutamatergic synapses of cortical neurons through RhoA signaling pathway. PLoS One 8, e66254. 査読有
2. Mishina M, Uemura T, Yasumura M, Yoshida T. (2012) Molecular mechanism of parallel fiber-Purkinje cell synapse formation. Frontiers in Neural Circuits 6,90. 査読有
3. Lee SJ, Uemura T, Yoshida T, Mishina M. (2012) GluR 2 assembles four neurexins into trans-synaptic triad to trigger synapse formation. Journal of Neuroscience 32,4688-4701. 査読有
4. Yoshida T, Shiroshima T, Lee SJ, Yasumura M, Uemura T, Chen X, Iwakura Y, Mishina M. (2012) Interleukin-1 receptor accessory protein organizes neuronal synaptogenesis as a cell adhesion molecule. Journal of Neuroscience 32,2588-2600. 査読有

[学会発表](計6件)

1. 林修平, 伊藤智和, 邊見久, 田中亜由美, 吉田知之, 森寿, 吉村徹. D-アスパラギン酸合成酵素とされる哺乳動物 GOT1L1 の酵素活性. 第9回D-アミノ酸研究会学術講演会. 2013年9月5日(関西大学千里山キャンパス、大阪府)
2. 安村美里, 吉田知之, 高雄啓三, 山崎真弥, 阿部学, 植村健, 宮川剛, 崎村建司,

三品昌美. IL1RAPL1 欠損マウスの行動学的解析. 第36回日本神経科学大会. 2013年6月21日(国立京都国際会議場、京都府)

3. 島田忠之, 吉田知之, 山形要人. Neuritin は海馬顆粒細胞における神経活動依存的な軸索分枝の形成を誘導する. 第36回日本神経科学大会. 2013年6月20日(国立京都国際会議場、京都府)
4. 林崇, 吉田知之, 三品昌美. 精神疾患原因遺伝子 IL1RAPL1 による下流 RhoA シグナル系を介したグルタミン酸作動性シナプス制御. 第36回日本神経科学大会. 2013年6月20日(国立京都国際会議場、京都府)
5. 吉田知之, 城島知子, 李聖眞, 安村美里, 植村健, 陳西貴, 岩倉洋一郎, 三品昌美. Interleukin-1 receptor accessory protein functions as a neuronal cell adhesion molecule to organize synaptogenesis. 第35回日本神経科学大会. 2012年09月20日(名古屋国際会議場、愛知県)
6. 植村健, 李聖眞, 吉田知之, 三品昌美. GluR 2 regulates synapse formation by clustering four Neurexins through triad formation. 第35回日本神経科学大会. 2012年09月20日(名古屋国際会議場、愛知県)

[図書](計1件)

Mishina M, Yoshida T, Yasumura M, Uemura T. Cortical Development. Kageyama R, Yamamori T, editors: Springer; 2013. Synapse Formation in the Brain; p229-247.

[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:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/molneurosci/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 知之 (YOSHIDA TOMOYUKI)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・

准教授

研究者番号：90372367

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：