

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03557

研究課題名(和文)アクチン動態に基づく新たなシナプス可塑性モデル

研究課題名(英文)Actin-based model of synaptic plasticity

研究代表者

白尾 智明(Shirao, Tomoaki)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20171043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：初代培養用海馬解離神経細胞を凍結保存し、以後の実験ではこの同一ロット細胞を融解後使用することにより、初代培養神経細胞実験の再現性を高めることに成功した。各種シナプスタンパク質のスパイン内微小局在解析を超解像顕微鏡で解析し、ドレブリン、PSD-95、CaMKIIのグルタミン酸刺激依存性微小局在動態を明らかとした。さらに、ドレブリンA特異的ノックアウトマウス(DAKO)におけるスパイン動態の変化を蛍光アクチンをKOマウスに発現させることにより、解析した。また、安定化アクチン線維の有無とCaMKIIの動態の関係を解析し、CaMKIIの動態にはアクチン線維の安定性が関与することを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、ドレブリンの結合により作り出される安定化アクチン線維の有無によりスパインの形態変化やスパイン内の機能タンパク質の動態が制御されていることがわかった。この結論から、アルツハイマー病におけるドレブリンの消失がシナプスの全般的機能不全を引き起こし、認知症の発症に深く関連していることが示唆された。ドレブリンの消失を防ぐことにより、将来的に認知症の治療薬を開発できる可能性を強く示唆しており、高齢化社会の到来後も生活の質を保った持続可能な社会を作ることにも貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in improving the reproducibility of the experiment by using the same lot of cryopreserved dissociated neurons for each experiment. Microscopic localization of drebrin, PSD-95, and CaMKII in spine was analyzed by super resolution microscopy using bunker method, and their glutamate-stimulated change in the localization within the dendritic spine. Furthermore, we compared the morphological dynamic changes of spines in between drebrin A-specific knockout mice (DAKO) and wild type mice. In addition, we analyzed the relationship between the stabilized actin filaments bound to drebrin and the dynamics of CaMKII, and clarified that the stability of actin filaments is involved in the dynamics of CaMKII.

研究分野：神経科学

キーワード：アクチン ドレブリン シナプス アルツハイマー病 培養 超微小形態 ライブイメージング

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

海馬 CA1 などにおけるシナプス可塑性に際し、グルタミン酸 NMDA 型受容体や代謝型グルタミン酸受容体の活性化を介して PSD-95 や CaMKII などの scaffold protein の変化、グルタミン酸 AMPA 型受容体のトラフィッキングの変化などが誘導され、シナプスの伝達効率が変わるが、アクチン細胞骨格はこれらのメカニズムにかかわっている。シナプスの長期増強に付随してアクチン線維動態変化がおこるので、種々のアクチン結合タンパク質を介した制御機構が精力的に研究されている。本研究で着目する予定であったコフィリンとドレブリンはアルツハイマー病などにおける認知機能障害との関わりが明らかとなっているアクチン結合タンパク質で、ドレブリンは軽度認知障害 (MCI) の死後脳検査でもすでに減少していることが報告されている (Counts et al. 2012)。コフィリンはアクチン線維の脱重合を促進するが、一方ドレブリンは逆に、脱重合やレッドミリングを抑制し、アクチン動態を安定化する役割がある (Mikati et al. 2013)。ドレブリンは我々が世界に先駆けて発見したタンパク質であるが、樹状突起スパインに存在し、その集積度は神経活動依存的であり、長期増強に際し一過性にスパインヘッドから消失し、その後再び増加する (Mizui et al. 2014)。我々は最近、ドレブリン A 特異的ノックアウト動物を作成、ドレブリン A を含む安定アクチン線維の欠損により LTP に変化が起きることを発見した (LTP: Kojima et al, 201)。

### 2. 研究の目的

海馬 CA1 等に見られるシナプス可塑性では、NMDA 受容体活性化を介して PSD-95 などの scaffold protein の変化、神経伝達物質受容体のトラフィッキングの変化などが誘導され、シナプスの伝達効率が変わるが、この際のアクチン細胞骨格系の制御メカニズムはまだ完全には解明されていない。我々はドレブリン A 特異的ノックアウト動物を作成し、「ドレブリン A を含む安定アクチン線維の欠損によりシナプス可塑性に変化が起きる」ことを発見していたので、本研究では、コフィリンとドレブリンのバランスによって決定されると考えられる安定アクチン線維に着目して、スパイン内アクチン動態モデルを作成し、シナプス可塑性の制御メカニズムに組み込むことにより、シナプス可塑性の全体像の解明に寄与することを目的とした。

本研究計画で一部用いる海馬初代培養神経細胞の実験は、実験ごとに作成される培養細胞の品質にばらつきが出るため、あらかじめ凍結保存した同一ロットの初代培養用神経細胞を準備し、本実験に用いる培養ではすべてこの細胞を融解後、使用することにより、実験の精度と再現性を高めることを目指した。また、海馬初代神経細胞培養で持ちいられる標準的培養法であるいわゆる「バンカー法」を用いて、各種シナプスタンパク質のスパイン内微小局在解析を顕微鏡で解析し、ドレブリン、PSD-95、CaMKII のグルタミン酸刺激依存性微小局在動態を明らかにする。各タンパク質の検出には、ALEXA568 および ALEXA647 で直接標識した特異抗体を使い、アクチン線維は蛍光標識ファロイディンを用いる。また、ドレブリン E および A のターンオーバーの違いとスパイン形態の関係を解析するために、ドレブリンノックアウトマウスのホモ型、ヘテロ型とドレブリン A 特異的ノックアウトマウスにおけるスパイン動態の変化を比較解析する。さらに、安定化アクチン線維の有無と CaMKII の動態の関係を解析し、CaMKII の動態にはアクチン線維の安定性を明らかにする。

### 3. 研究の方法

初代培養海馬神経細胞を用いて、各種シナプスタンパク質のスパイン内微小局在と集積度を顕微鏡観察とハイコンテントイメージング法で測定する。次に、コフィリンとドレブリンのバランスの変化によるアクチン線維のターンオーバーの変化を FRAP (Fluorescence Recovery after Photobleaching) 法で解析する。ミュータントマウスの神経細胞に蛍光蛋白を発現させ、タイムラプスイメージング法でスパインの動態を解析する。以上の結果より、シナプスのアクチン動態モデルに関して考察し、安定化アクチンのスパイン動態及びスパイン内機能蛋白動態に及ぼす影響を明らかにする。

具体的には、初代培養用凍結解離神経細胞の調製をする。マウス海馬から作成した初代培養用解離神経細胞を約 100 万個/バイアルで凍結保存し、以後の実験ではこの細胞を融解後、使用することにより実験の再現性を高める。次に、各種シナプスタンパク質のスパイン内微小局在を解析する。バンカー法を用いて初代培養神経細胞を作成し、ドレブリン、アクチン線維、PSD-95、CaMK II のスパイン内微小局在を顕微鏡で明らかにする。次に、NMDA 受容体活性化前後におけるその局在変化を明らかにする。各タンパク質の検出には、ALEXA568 および ALEXA647 で直接標識した特異抗体を使い、アクチン線維は蛍光標識ファロイディンを用いる。

また、各種シナプスタンパク質のスパイン集積度のハイコンテントイメージング解析を行う。96 ウェルプレートで海馬神経細胞を 21 日間培養し、ドレブリン、PSD-95、CaMK II の集積像数を樹状突起長あたりの密度として測定する。同時に、細胞数、樹状突起の長さも測定する。次に、NMDA 受容体活性化前後におけるその変化を明らかにする。

また、アクチン動態制御に関連したタンパク質発現に異常を持つミュータントマウスのアクチン動態やスパイン形態変化をインビボで解析する。

#### 4. 研究成果

凍結保存をした初代培養神経細胞を用いたことによる実験の再現性の向上やハイコンテントイメージングによるドレブリンクラスター数の解析によるシナプス機能の解析は既に下記2論文に発表した。

Hanamura K, Koganezawa N, Kamiyama K, Tanaka N, Oka T, Yamamura M, Sekino Y, Shirao T. “High-content imaging analysis for detecting the loss of drebrin clusters along dendrites in cultured hippocampal neurons.” *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2018 Sep - Oct;99:106607. doi: 10.1016/j.vascn.2019.106607.

Mitsuoka T, Hanamura K, Koganezawa N, Kikura-Hanajiri R, Sekino Y, Shirao T. “Assessment of NMDA receptor inhibition of phencyclidine analogues using a high-throughput drebrin immunocytochemical assay” *J Pharmacol Toxicol Methods* 2019 May 10:106583. doi: 10.1016/j.vascn.2019.106583.

さらに、Koganezawa N, Shirao T. “Development of an in vitro assay to evaluated higher brain functions for drug discovery” in *Columns, AMED iD3 Catalyst Unit* のホームページ上にも発表した。

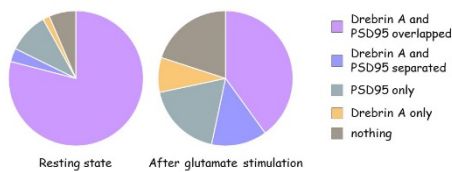
これらの研究成果に加えて、ハイコンテントイメージングでスパインの樹状突起長当たりの生成速度(線密度)を調べたところ、生後1週間程度までは一定値であるが、樹状突起の成長が止まるのに一致して、数が増えることがわかった。この変化はドレブリンEからAにアイソフォームが変化するのに一致して樹状突起の単位長さ当たりのスパイン数が増加すると解釈できた。次に、ドレブリンのアイソフォームによる蛋白動態をFRAPで調べ、ドレブリンAはドレブリンEよりも動態が安定することを見出し、下記論文として発表した。

Hanamura K, Kamata Y, Yamazaki H, Kojima N, Shirao T, “Isoform-dependent regulation of drebrin dynamics in dendritic spines.” *Neuroscience* (2018) 379: 67-76

次に、バンカー法を用いて初代培養神経細胞を作成し、ドレブリン、アクチン線維、PSD-95、CaMK IIのスパイン内微小局在を超解像顕微鏡で解析した結果を下図に示す。

#### シナプスタンパク質局在変化

Synaptic proteins localization within a spine

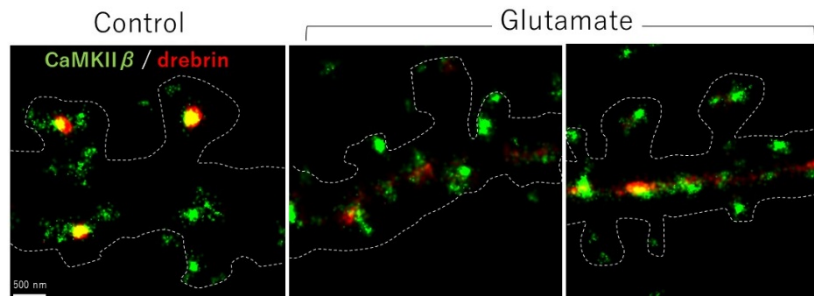


この結果より、グルタミン酸刺激によりスパインが細くなることが知られているが、その際にはDrebrin Aがドレブリン exodus によりスパインから外に出ているだけでなく、スパイン内でも PSD95 と乖離していることが示唆された。また、ドレブリンと CaMKII との関係について解析し、下記の論文を発表した。

Yamazaki H, Sasagawa Y, Yamamoto H, Bito H, Shirao T. “CaMKII $\beta$  is localized in dendritic spines as both drebrin-dependent and drebrin-independent pools” *J. Neurochem.*

(2018) 146:145-159.

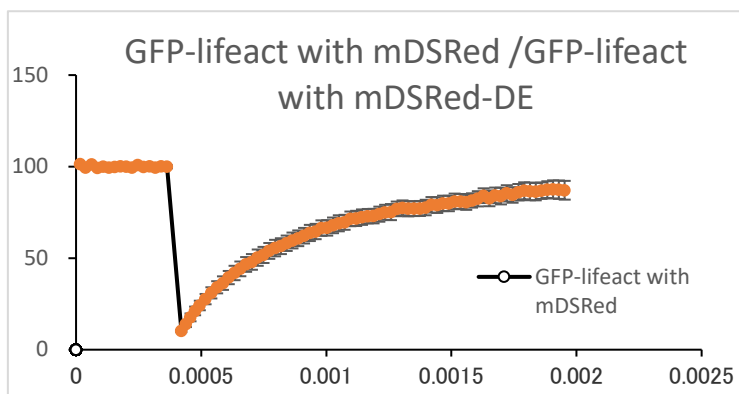
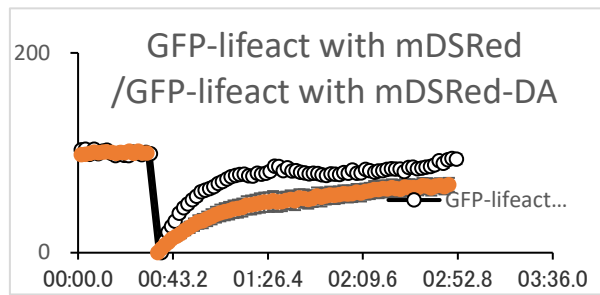
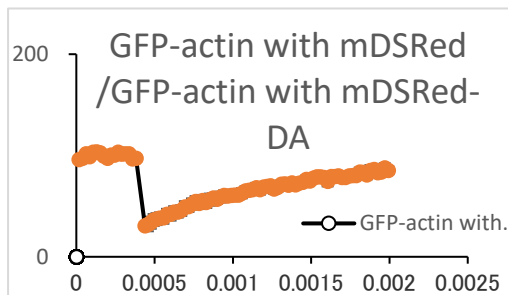
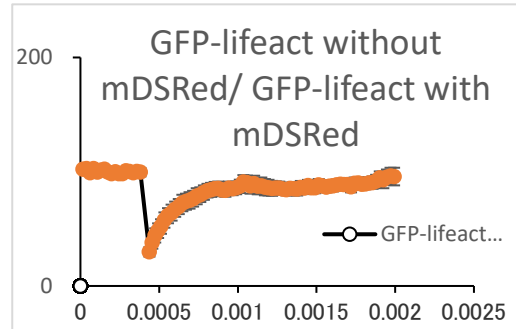
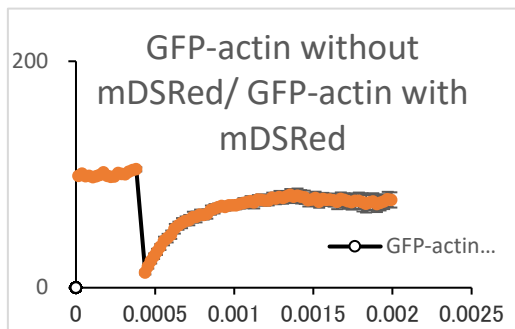
さらに、ドレブリンと CaMKII のスパイン内局在に対するグルタミン酸刺激効果を解析した (下図)



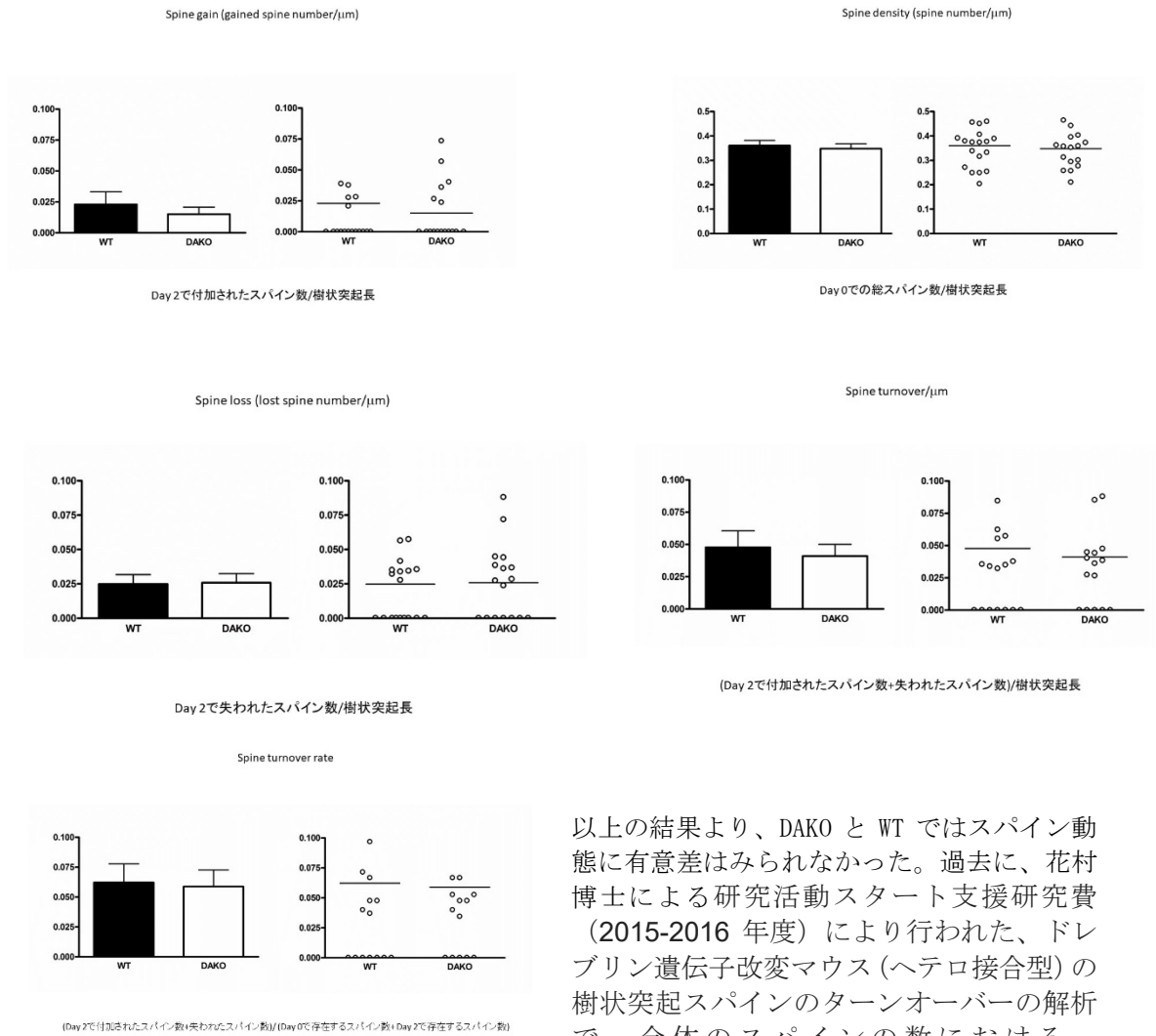
これらの研究成果に加えて、ドレブリンEとドレブリンAの両方を発現しない、ドレブリンノックアウトマウス (DXKO マウス)に GFP-actin、GFP-Lifeact を遺伝子導入することでスパインにおけるアクチンを可視化した。GFP-actin は内在性のアクチンの動態を反映していると考えられるのに対して、Lifeact はF-アクチンに結合するタンパクで、これに蛍光色素 (GFP や mDSRed など) がラベルされて発現することで、生細胞内でのアクチン動態の観察が可能になる。

まず、mDSRed が入ることによる影響がない事を調べるため、培養ニューロンにそれぞれ、GFP-actin、GFP-lifeact を発現させた培養細胞について FRAP を行った。スパインにおける、これらのシグナルはブリーチング直後に大きく下がり、それから約2分でどちらも80%ほどまで回復した。GFP-actin と mDSRed、或いは GFP-Lifeact と mDSRed を共発現させた培養細胞について FRAP を行った。mDsRed を共発現したニューロンにおいても、mDsRed を発現していないニューロンと同様の時間経過で GFP-actin、GFP-Lifeact の蛍光が回復することが明らかとなった。このことを直接に比較することも行ったが、どちらも mDsRed の有無による大きな影響はみられなかった。

次に、樹状突起スパインのアクチン動態に与えるドレブリンの働きを明らかにするため、GFP-actin と mDSRed-DA、GFP-Lifeact と mDSRed-DA を共発現させた培養ニューロン、GFP-actin と mDSRed-DE、GFP-Lifeact と mDSRed-DE を共発現させた培養ニューロンについて FRAP を行った。GFP-lifeact について mDSRed を共発現した場合と mDSRed-DA を共発現した場合の比較では、mDSRed-DA を共発現した方が、退色後の回復率、回復の仕方ともに低くなっていた。GFP-actin、GFP-Lifeact 共に、mDsRed-E を共発現したニューロンに比べて mDSRed-DA を共発現しているニューロンの方が、退色2分後の回復率が低く、回復のスピードが速くなっていた。最後に、ドレブリンの有無が actin、Lifeact の動態に与える影響を直接に比較したところ、mDsRed を共発現した GFP-actin と GFP-Lifeact の間に退色2分後の回復率、回復のスピードともに差があるようであったが、mDSRed-DA や mDSRed-DE を共発現したニューロンにおいては、GFP-actin と GFP-Lifeact の間に、退色2分後の回復率、回復のスピードにあまり差はみられなかった



次に、DAKO マウスのスパイン動態解析を行った。26-52 週齢の DAKO マウスと WT マウスに対して in vivo imaging を行い、2 日おき (Day0、Day2 の 2 回観察) にスパインを観察した (H-line)。得られた数値を DAKO と WT で比較したが、いずれの解析でも有意差はみられなかった。



以上の結果より、DAKO と WT ではスパイン動態に有意差はみられなかった。過去に、花村博士による研究活動スタート支援研究費 (2015-2016 年度) により行われた、ドレブリン遺伝子改変マウス (ヘテロ接合型) の樹状突起スパインのターンオーバーの解析で、全体のスパインの数における、Persistent, Dynamic, Added, Retracted スパ

インの割合を、Thy1-GFP マウス、その DXKO マウスのヘテロ接合型マウスについて解析し、比較した。ドレブリン遺伝子改変マウス (ヘテロ接合型) において、Dynamic スパインの割合が多い傾向などが見られた。したがって、今回の結果と合わせて考えると、ドレブリンの総量が変わらなければ、スパイン動態には影響が現れないことが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 25件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Yin Xiao Li, Jia Qiu Fang, Zhang Guang Ya, Zhang Jian Ping, Shirao Tomoaki, Jiang Cai Xia, Yin Xu Yuan, Liu Yan Song, Chen Peng, Gu Xiao Chu, Qian Zheng Kang, Yin Guang Zhong, Sen Xia Hai, Hui Li	4. 巻 9
2. 論文標題 Association between decreased serum TBIL concentration and immediate memory impairment in schizophrenia patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-38227-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Yasuda Hiroki, Kojima Nobuhiko, Hanamura Kenji, Yamazaki Hiroyuki, Sakimura Kenji, Shirao Tomoaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Drebrin Isoforms Critically Regulate NMDAR- and mGluR-Dependent LTD Induction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2018.00330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hanamura Kenji, Kamata Yousuke, Yamazaki Hiroyuki, Kojima Nobuhiko, Shirao Tomoaki	4. 巻 379
2. 論文標題 Isoform-dependent Regulation of Drebrin Dynamics in Dendritic Spines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 67～76
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2018.02.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miao Shuchuan, Koganezawa Noriko, Hanamura Kenji, Puspitasari Anggraeini, Shirao Tomoaki	4. 巻 68
2. 論文標題 N-methyl-D-aspartate Receptor Mediates X-irradiation-induced Drebrin Decrease in Hippocampus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Kitakanto Medical Journal	6. 最初と最後の頁 111～115
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2974/kmj.68.111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki Hiroyuki, Sasagawa Yoshio, Yamamoto Hideyuki, Bito Haruhiko, Shirao Tomoaki	4. 巻 146
2. 論文標題 CaMKII is localized in dendritic spines as both drebrin-dependent and drebrin-independent pools	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 145 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.14449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li Bin, Ding Siyuan, Feng Ningguo, Mooney Nancie, Ooi Yaw Shin, Ren Lili, Diep Jonathan, Kelly Marcus R., Yasukawa Linda L., Patton John T., Yamazaki Hiroyuki, Shirao Tomoaki, Jackson Peter K., Greenberg Harry B.	4. 巻 114
2. 論文標題 Drebrin restricts rotavirus entry by inhibiting dynamin-mediated endocytosis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 E3642 ~ E3651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1619266114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shirao Tomoaki, Hanamura Kenji, Koganezawa Noriko, Ishizuka Yuta, Yamazaki Hiroyuki, Sekino Yuko	4. 巻 141
2. 論文標題 The role of drebrin in neurons	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 819 ~ 834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.13988	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hanamura Kenji, Washburn Halley R., Sheffler-Collins Sean I., Xia Nan L., Henderson Nathan, Tillu Dipti V., Hassler Shayne, Spellman Daniel S., Zhang Guoan, Neubert Thomas A., Price Theodore J., Dalva Matthew B.	4. 巻 15
2. 論文標題 Extracellular phosphorylation of a receptor tyrosine kinase controls synaptic localization of NMDA receptors and regulates pathological pain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 e2002457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.2002457	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kajita Yuki, Kojima Nobuhiko, Koganezawa Noriko, Yamazaki Hiroyuki, Sakimura Kenji, Shirao Tomoaki	4. 巻 46
2. 論文標題 Drebrin E regulates neuroblast proliferation and chain migration in the adult brain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2214 ~ 2228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13668	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koganezawa Noriko, Hanamura Kenji, Sekino Yuko, Shirao Tomoaki	4. 巻 84
2. 論文標題 The role of drebrin in dendritic spines	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 85 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mcn.2017.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koganezawa Noriko, Hanamura Kenji, Shirao Tomoaki	4. 巻 149
2. 論文標題 Progress in applications of iPSC-derived neurons for evaluation of drugs	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Folia Pharmacologica Japonica	6. 最初と最後の頁 104 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.149.104	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirao Tomoaki, Sekino Yuko	4. 巻 1006
2. 論文標題 General Introduction to Drebrin	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 3 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Sekino Yuko, Koganezawa Noriko, Mizui Toshiyuki, Shirao Tomoaki	4. 巻 1006
2. 論文標題 Role of Drebrin in Synaptic Plasticity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 183 ~ 201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirao Tomoaki, Koganezawa Noriko, Yamazaki Hiroyuki, Hanamura Kenji, Imamura Kazuyuki	4. 巻 1006
2. 論文標題 Localization of Drebrin: Light Microscopy Study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 105 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki Hiroyuki, Shirao Tomoaki	4. 巻 1006
2. 論文標題 Homer, Spikar, and Other Drebrin-Binding Proteins in the Brain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 249 ~ 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_14	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka Yuta, Hanamura Kenji	4. 巻 1006
2. 論文標題 Drebrin in Alzheimer 's Disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 203 ~ 223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_12	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hanamura Kenji	4. 巻 1006
2. 論文標題 Drebrin in Neuronal Migration and Axonal Growth	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 141 ~ 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-4-431-56550-5_9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki Hiroyuki, Sasagawa Yoshio, Yamamoto Hideyuki, Bito Haruhiko, Shirao Tomoaki	4. 巻 146
2. 論文標題 CaMKII is localized in dendritic spines as both drebrin-dependent and drebrin-independent pools	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 145 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.14449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hanamura Kenji, Kamata Yousuke, Yamazaki Hiroyuki, Kojima Nobuhiko, Shirao Tomoaki	4. 巻 379
2. 論文標題 Isoform-dependent Regulation of Drebrin Dynamics in Dendritic Spines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 67 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.02.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Hiroki, Kojima Nobuhiko, Hanamura Kenji, Yamazaki Hiroyuki, Sakimura Kenji, Shirao Tomoaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Drebrin Isoforms Critically Regulate NMDAR- and mGluR-Dependent LTD Induction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yin Xiao Li, Jia Qiu Fang, Zhang Guang Ya, Zhang Jian Ping, Shirao Tomoaki, Jiang Cai Xia, Yin Xu Yuan, Liu Yan Song, Chen Peng, Gu Xiao Chu, Qian Zheng Kang, Yin Guang Zhong, Sen Xia Hai, Hui Li	4. 巻 9
2. 論文標題 Association between decreased serum TBIL concentration and immediate memory impairment in schizophrenia patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-38227-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miki Daisuke, Kobayashi Yuki, Okada Tomoya, Miyamoto Tatuso, Takei Nobuyuki, Sekino Yuko, Koganezawa Noriko, Shirao Tomoaki, Saito Yumiko	4. 巻 44
2. 論文標題 Characterization of Functional Primary Cilia in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neurons	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochemical Research	6. 最初と最後の頁 1736 ~ 1744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11064-019-02806-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mitsuoka Toshinari, Hanamura Kenji, Koganezawa Noriko, Kikura-Hanajiri Ruri, Sekino Yuko, Shirao Tomoaki	4. 巻 99
2. 論文標題 Assessment of NMDA receptor inhibition of phencyclidine analogues using a high-throughput drebrin immunocytochemical assay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological and Toxicological Methods	6. 最初と最後の頁 106583 ~ 106583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vascn.2019.106583	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hanamura Kenji, Koganezawa Noriko, Kamiyama Kazumi, Tanaka Natsume, Oka Takero, Yamamura Mai, Sekino Yuko, Shirao Tomoaki	4. 巻 99
2. 論文標題 High-content imaging analysis for detecting the loss of drebrin clusters along dendrites in cultured hippocampal neurons	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological and Toxicological Methods	6. 最初と最後の頁 106607 ~ 106607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vascn.2019.106607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Puspitasari Anggraeini, Yamazaki Hiroyuki, Kawamura Hidemasa, Nakano Takashi, Takahashi Akihisa, Shirao Tomoaki, Held Kathryn D.	4. 巻 156
2. 論文標題 X-irradiation of developing hippocampal neurons causes changes in neuron population phenotypes, dendritic morphology and synaptic protein expression in surviving neurons at maturity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2019.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計46件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 26件)

1. 発表者名 Noriko Koganezawa and Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Nanoscale organization of synaptic proteins in response to glutamate stimulation
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyuki Yamazaki and Tomoaki Shirao
2. 発表標題 CaMKIIb is localized in dendritic spines as both drebrin-dependent and drebrin-independent pools
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Yuko Sekino and Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-content imaging analysis of the status of synapses using drebrin in cultured neurons
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hiroyuki Yamazaki, Noriko Koganezawa, Nobuhiko Kojima, Hidemasa Kawamura, Aimee Louise McNamara, Jan P Schuemann, Harald Paganetti, Tomoaki Shirao, Takashi Nakano, Kathryn D Held
2. 発表標題 Radiation effects on neurons and its consequences: investigation by in vitro, in vivo and in silico studies
3. 学会等名 The 3rd Meeting of Federati on of Asian Organizations for Radiation Oncology ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hiroyuki Yamazaki, Akihisa Takahashi, Tomoaki Shirao, Takashi Nakano, Kathryn D Held
2. 発表標題 Developing neurons are sensitive to 0.5 Gy and 1 Gy of X-irradiation which also causes a decrease in the number of bystander neurons
3. 学会等名 64th Annual Radiation Research Society Meeting ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shirao T, Yamazaki H, Sekino Y
2. 発表標題 Drebrin binds to CaMKII and forms activity-dependent tripartite interaction between drebrin, CaMKII and F-actin in dendritic spines
3. 学会等名 Society for Neuroscience 47th Annual Meeting ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koganezawa N, Yamazaki H and Shirao T
2. 発表標題 Drebrin depletion affects accumulation of NMDAR subunits and causes less immunoreactivity of MAP2
3. 学会等名 Society for Neuroscience 47th Annual Meeting ( 国際学会 )
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyuki Yamazaki and Tomoaki Shirao
2. 発表標題 CaMKII is localized in dendritic spines as both drebrin-dependent and drebrin-independent pools
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Noriko Koganezawa, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-content imaging analysis of synaptic status in cultured neurons : evaluation of activity-dependent regulation of drebrin clusters along dendrites by NMDA receptors
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Yuko Sekino, Hiroki Yasuda, Nobuhiko Kojima
2. 発表標題 Effect of drebrin knockout on synaptic plasticity
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三木 大輔, 小林 勇喜, 宮本 達雄, 小金澤紀子, 武井 延之, 関野 祐子, 白尾 智明, 斎藤祐見子
2. 発表標題 ヒトiPSC細胞由来神経細胞における非シナプスマーカー一次繊毛の検出
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤祐見子, 三木 大輔, 宮本 達雄, 関野 祐子, 白尾 智明, 小林 勇喜
2. 発表標題 環境センサー「一次繊毛」機能アッセイ系の構築に向けて
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小金澤紀子, 山川 佳苗, 山崎 博幸, 白尾 智明
2. 発表標題 アルツハイマー病のシナプス機能異常を視る: シナプスタンパク質の微小局在変化解析
3. 学会等名 第61回日本神経化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Toshinari Mitsuoka, Ruri Kikura-Hanajiri, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-throughput imaging analysis using cultured neurons for detecting phencyclidine-like substances
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriko Koganezawa, Hiroyuki Yamazaki, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Drebrin depletion affects stability of microtubules in dendrites
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Shuchuan Miao, Natsume Tanaka, Noriko Koganezawa, Anggraeini Puspitasari, Hidetaka Ueno, Takaaki Suzuki, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-throughput imaging analysis for detecting the effects of irradiation on synaptic status
3. 学会等名 The 9th International Society of Radiation Neurobiology Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hiroyuki Yamazaki, Tomoaki Shirao, Kathryn D Held
2. 発表標題 The direct response of immature developing neurons to X-irradiation or C-ion irradiation
3. 学会等名 The 9th International Society of Radiation Neurobiology Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Kenji Hanamura, Nobuhiko Kojima, Hiroki Yasuda, Yuko Sekino
2. 発表標題 LTD is regulated by drebrin isoforms conversion likely due to the difference in the isoform dynamics
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斎藤祐見子, 三木大輔, 岡田智哉, 友恵桜子, 関野祐子, 小金澤紀子, 白尾智明, 小林勇喜
2. 発表標題 一次繊毛局在型GPCRを介した神経細胞繊毛長の調節機構
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 光岡俊成, 花村健次, 関野祐子, 花尻(木倉) 瑠璃, 白尾智明, 池谷裕二
2. 発表標題 NMDA型グルタミン酸受容体阻害作用を持つ危険ドラッグの検出方法の開発研究
3. 学会等名 第18回東京大学 生命科学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Norikok Koganezawa, Tomoaki Shirao, Nobuhiko Kojima, Katharin D Held, AkihisaTakahashi Takashi Nakano
2. 発表標題 Acute effects of low-LET and high-LET radiation on fear memory formation and its underlying mechanisms
3. 学会等名 Fifth International Symposium on Space Radiation and Particle Radiotherapy (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Kenji Hanamura
2. 発表標題 Role of drebrin isoform conversion in synapse formation
3. 学会等名 JCS Journal Meeting, Cellular dynamics: membrane-cytoskeleton interface (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nobuhiko Kojima, Hiroki Yasuda, Kenji Sakimura, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Impact of drebrin-knockout on mGluR5- and NMDAR-dependent LTD induction in the hippocampus
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Noriko Koganezawa, Yukai Chiu, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Nanoscale organization of synaptic proteins
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sunchuan Miao, Noriko Koganezawa, Kenji Hanamura, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Differential changes of drebrin and PSD-95 localization in response to glutamate stimulation
3. 学会等名 The 38th World Congress of the International Union of Physiological Sciences (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Kenji Hanamura, Noriko Koganezawa, Hiroyuki Yamazaki, Yuko Sekino
2. 発表標題 An imaging assay to analyze primary hippocampal neurons for cellular maturation
3. 学会等名 10th Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroyuki Yamazaki, Noriko Koganezawa, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Super-resolution analysis of the interaction between drebrin and CaMKIIbeta in dendritic spines
3. 学会等名 第60回日本神経化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Isoform-dependent regulation of drebrin dynamics in dendritic spines
3. 学会等名 第60回日本神経化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hidemasa Kawamura, Hiroyuki Yamazaki, Yukari Yoshida, Akihisa Takahashi, Tomoaki Shirao, Takashi Nakano, Kathryn D Held
2. 発表標題 Irradiation of immature neurons causes delayed decreases in the number of neurons and postsynaptic protein drebrin
3. 学会等名 The 31st Annual Meeting, Japanese Society for Biological Sciences in Space
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Anggraeini Puspitasari, Noriko Koganezawa, Hidemasa Kawamura, Akihisa Takahashi, Yuko Sekino, Takashi Nakano, Kathy D Held
2. 発表標題 In vivo and in vitro immunochemical assay for CNS synaptic dysfunction by X-irradiation
3. 学会等名 The 17th Annual Meeting of Safety Pharmacology Society (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Noriko Koganezawa, Anggraeini Puspitasari, Shuchuan Miao, Takashi Nakano, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Transient synaptic dysfunction caused by X-irradiation induces acute cognitive deficits
3. 学会等名 The 63rd Annual Meeting of Radiation Research Society (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Noriko Koganezawa, Tomoaki Shirao, Nobuhiko Kojima, Kathy D Held, Akihisa Takahashi, Takashi Nakano
2. 発表標題 Acute effects of low-LET and high-LET radiation on fear memory formation and its underlying mechanisms
3. 学会等名 The 63rd Annual Meeting of Radiation Research Society (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoaki Shirao, Kenji Hanamura, Hiriyoki Yasuda, Yuko Sekino, Nobuhiko Kojima
2. 発表標題 Drebrin plays a role in mGluR5-dependent LTD
3. 学会等名 Society for Neuroscience 46th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Noriko Koganezawa, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Super-resolution imaging of synaptic proteins
3. 学会等名 Society for Neuroscience 46th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Puspitasari A, Koganezawa N, Held KD, Shirao T, Nakano T
2. 発表標題 The cells and cells communication may underlie radiation-induced synaptic dysfunction of mature neurons
3. 学会等名 Society for Neuroscience 46th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 Shuchuan Miao, Noriko Koganezawa, Kenji Hanamura, Tomoaki Shirao
2 . 発表標題 NMDA receptor mediates X-irradiation-induced drebrin decrease in hippocampal dentate gyrus
3 . 学会等名 The 8th International Society of Radiation Neurobiology Conference ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kanae Yamakawa, Noriko Koganezawa, Tomoaki Shirao
2 . 発表標題 Evaluation of neuronal maturation in vitro using high-content imaging
3 . 学会等名 The 8th International Society of Radiation Neurobiology Conference ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Noriko Koganezawa and Tomoaki Shirao
2 . 発表標題 Differential changes of postsynaptic proteins in response to glutamate stimulation
3 . 学会等名 The 8th International Society of Radiation Neurobiology Conference ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hiroyuki Yamazaki, Hidemasa Kawamura, Akihisa Takahashi, Yukari Yoshida, Tomoaki Shirao, Takashi Nakano, Kathryn D Held
2 . 発表標題 X-irradiation of developing neurons causes delayed decrease in cell number and in synaptic related proteins of surviving neurons
3 . 学会等名 The 8th International Society of Radiation Neurobiology Conference ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Noriko Koganezawa, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-content imaging analysis for detecting the status of synapses in cultured hippocampal neurons
3. 学会等名 日本安全性薬理研究会第9回学術年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山川佳苗、小金澤紀子、白尾智明
2. 発表標題 ハイコンテンツイメージング解析法を用いた神経細胞発達過程におけるシナプス機能評価
3. 学会等名 日本安全性薬理研究会第9回学術年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Noriko Koganezawa, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High-content Imaging Analysis For Detecting The Status Of Synapses In Cultured Hippocampal Neurons
3. 学会等名 Society of Toxicology 57th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Hanamura, Toshinari Mitsuoka, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 High content imaging analysis of drebrin clusters along dendrites regulated by NMDA receptor activity
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noriko Koganezawa, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 ドレブリンノックアウトによるMAP2染色性の変化
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Anggraeini Puspitasari, Hiroyuki Yamazaki, Takashi Nakano, Kathryn D Held, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 X-irradiation on Immature Neurons (In Vitro) causes decreases of drebrin at mature stage
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyuki Yasuda, Nobuhiko Kojima, Hiroyuki Yamazaki, Kenji Hanamura, Tomoaki Shirao
2. 発表標題 Drebrins critically regulate mGluR- and NMDAR-dependent LTD induction
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

第一回ドレブリン研究会（第三回伊香保勉強会）開催のお知らせ  
<http://neuro.dept.med.gunma-u.ac.jp/?p=3667>

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	花村 健次  (Hanamura Kenji)  (40361365)	群馬大学・大学院医学系研究科・准教授   (12301)	
研究 分 担 者	山崎 博幸  (Yamazaki Hiroyuki)  (10334137)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教   (12301)	