

公益財団法人富山第一銀行奨学財団  
理事長 金岡 純二 殿

## 助成研究成果概要報告書

|                         |                      |          |
|-------------------------|----------------------|----------|
| 教育機関名 : 富山大学            | 助成金額 : 900           | 千円       |
| 研究代表者 : 吉田知之            | 所属 : 大学院医学薬学研究部 (医学) | 職位 : 准教授 |
| 研究題目 : 新規中枢シナプス形成調節薬の探索 |                      |          |

## 研究概要

神経細胞間シナプスは神経伝達物質の放出と受容に特化した特殊な細胞接着構造体であり、シナプスオーガナイザーと呼ばれる膜受容体様タンパク質の活性化によって分化誘導される。シナプスの形成は脳神経回路網発達時期の最も重要なステップであり、その調節機構の破綻は自閉症、知的障害、統合失調症などの神経発達障害発病の一因となることが明らかとなっている。従って、シナプス形成を調節する薬物は脳神経回路網構築原理を明らかにするための研究ツールとしてだけでなく、神経発達障害を標的とした治療薬の候補として極めて有用と考えられる。本研究では私達が機能同定したいくつかのシナプスオーガナイザーに関して、シナプスオーガナイザー組換えタンパク質を固定化したビーズと神経細胞の間に人工的にシナプスを誘導する実験系を確立し、蛍光標識したシナプスタンパク質の挙動を指標として、ビーズと神経細胞の間に形成されるシナプスの数やシナプスの誘導速度を蛍光変化量として定量的に評価できる薬物スクリーニング系を開発する。更に、この人工シナプス誘導系を用いてシナプス形成を調節する薬物を探索する。

## 成果要約

興奮性シナプス誘導を担うシナプスオーガナイザーである IL1RAPL1 と PTP  $\delta$  の細胞外領域組換えタンパク質を固定した磁気ビーズを作製し、これらのビーズと大脳皮質神経細胞の間で、それぞれシナプス前部及び後部構造の分化を誘導出来ることを確認した。神経細胞軸索に IL1RAPL1 ビーズを接触させると、接触後1時間程度でシナプス前終末マーパートンパク質の集積が始まり、その集積は6時間程でプラトーに達した。ビーズ接触部にはアクティブゾーン、シナプス小胞、ミトコンドリアタンパクの集積が認められ、機能的なシナプス前終末構造が分化誘導されることが示唆された。一方、PTP  $\delta$  ビーズを神経細胞樹状突起に提示すると、提示後3時間程度でシナプス後部マーカータンパク質が集積を始め、12時間程でプラトーに達した。これら一連の実験からシナプスオーガナイザービーズによる人工シナプス誘導のタイムコースが明らかになった。次にこれらのビーズを用いた人工シナプス誘導系のシナプス形成調節薬スクリーニングへの応用性を検討した。シナプス形成調節への関与が示唆される各種栄養因子を培養神経細胞へ添加し、同時にビーズ周囲に誘導されるシナプス前終末及び後終末量をそれぞれのマーカータンパク質の集積量で定量評価した。その結果、いくつかの栄養因子がシナプス前終末、後終末の誘導量を有意に増加させることを見出した。本研究で確立した人工シナプス誘導系が薬物スクリーニングに有効であることが実証された。

|                      |  |   |                             |
|----------------------|--|---|-----------------------------|
| <p>研究成果<br/>発表状況</p> | <p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</p> <p>原著論文 (*責任著者のみ)</p> <p>1. Goto-Ito S, Yamagata A, Sato Y, Uemura T, Shiroshima T, Maeda A, Imai A, Mori H, <b>Yoshida T*</b>, Fukai S*. Structural basis of trans-synaptic interactions between PTP<math>\delta</math> and SALMs for inducing synapse formation. <b>Nat. Commun.</b> 9, 269 (2018).</p> <p>2. Uemura T*, Shiroshima T, Maeda A, Yasumura M, Shimada T, Fukata Y, Fukata M, <b>Yoshida T*</b>. In situ screening for postsynaptic cell adhesion molecules during synapse formation. <b>J. Biochem.</b> 162, 295–302 (2017).</p> <p>学会発表 (シンポジウムのみ)</p> <p>1. <b>吉田知之</b>, 山形敦史, 田端彩子, 和泉宏謙, 城島知子, 金主賢, 深田優子, 深田正紀, 高雄啓三, 森寿, 深井周也. シナプスオーガナイザー遺伝子点変異導入マウスを用いた神経発達障害発症機構の解明. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会 合同年会シンポジウム; 2017 Sep. 28; 札幌.</p> <p>2. <b>吉田知之</b>, 今井-田端彩子, 山形敦史, 伊藤桜子, 城島知子, 森寿, 深井周也. 受容体チロシン脱リン酸化酵素 PTP <math>\delta</math> によるシナプス形成調節. 第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会講演シンポジウム; 2018 Mar. 28; 東京.</p> <p>その他</p> <p>1. <b>吉田知之</b>. マイクロエクソンの選択的スプライシングによるシナプスオーガナイザーの機能調節. 第 342 回大阪大学神経科学懇話会; 2017 Apr. 24; 大阪.</p> <p>2. <b>吉田知之</b>. 中枢シナプス形成を創薬標的とするためのシナプス形成定量評価系の確立. フォーラム富山; 2017 Oct. 19; 富山.</p> <p>3. 新聞発表, 富山新聞「シナプスの形成解明 2 タンパク質結合、2 対必要」2018 1 月 19 日</p> |   |                             |
| <p>経費の<br/>執行状況</p>  | <p>区 分</p> <p>【物品費】</p> <p>【旅費】</p> <p>【謝金】</p> <p>【その他】</p> <p>合計</p>   | <p>執行額 (円)</p> <p>466,082</p> <p>0</p> <p>0</p> <p>433,918</p> <p>900,000 円</p> | <p>備 考</p> <p>動物実験施設利用料</p> |