

課題番号	LS123
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	シナプス伝達制御機構とその破綻によるシナプス疾患の病態機構の解明
研究機関・ 部局・職名	生理学研究所・細胞器官研究系・教授
氏名	深田 正紀

1. 当該年度の研究目的

私達の脳は神経細胞のシナプスという接続部を介して互いに情報を伝達している。この情報伝達の効率は刺激の種類によって柔軟に変化し、記憶や学習の基礎を成している。一方、この制御が破綻すると、神経回路の異常発火やシナプス伝達の低下などの異常を引き起こし、てんかんや認知症等の疾患の一因となる。本研究では私達が独自に発見したシナプス伝達を制御する1) 新規のリガンド・受容体(LGI1/ADAM22)、および2) 新規の酵素群(パルミトイル化脂質修飾酵素 DHHC 蛋白質)を手がかりにシナプス伝達(とりわけ脳の速い興奮性シナプス伝達を司る AMPA 受容体を介したシナプス伝達)の根幹的な制御機構を解明し、精神・神経疾患の病態解明を目指す。さらに、3) AMPA 受容体以外のリガンド作動性イオンチャネルの制御機構を新たな制御分子を同定する。

平成24年度は具体的に以下の点について研究を進めることを目的とした。

- 1) LGI1 による AMPA 受容体制御機構とてんかん発症機序の解明
 - a) ヒト LGI1 変異体の病態機構の解明、b) LGI1 自己抗体の作用機序、
 - c) てんかん発作の原因となる神経回路の同定
- 2) パルミトイル化サイクルによる AMPA 受容体制御機構の解明
 - a) パルミトイル化 PSD-95 動態の可視化、b) 脱パルミトイル化酵素の同定
- 3) AMPA 受容体以外のリガンド作動性興奮性イオンチャネルの制御機構の解明
 - a) 内在性ニューロトキシン関連蛋白質の作用点と生理機能

2. 研究の実施状況

- 1) LGI1 による AMPA 受容体制御機構とてんかん発症機序の解明
 - a) ヒト LGI1 変異体の病態機構の解明

これまでに、私どもはヒトてんかん患者で見られる LGI1 変異体を単離し、それらを分泌不全型、および分泌型に分類し、代表的な分泌不全型変異体と分泌型変異体に対し変異マウス(ヒトてんかんモデルマウス)を作成している。今年度、分泌不全型 LGI1 変異体が蛋白質の構造異常を引き起こし、ERAD 分解系にて速やかに分解されることを見出した。さらに、私どもは蛋白質の構造を修飾する薬剤が変異蛋白質の分泌を改善することを見出した。一方、分泌型 LGI1 変異体は細胞外に分泌されるものの、受容体との結合が特異的に阻害されていることを見出した(投稿中)。

様式19 別紙1

<p>b) LGI1 自己抗体の作用機序の解明</p> <p>今年度は LGI1 が痙攣発作や記憶障害を主訴とする辺縁系脳炎患者の主要な自己抗原であること、およびその作用機序を AMPA 受容体機能の観点から明らかにした（投稿中）。</p> <p>c) てんかん発作の原因となる神経回路の同定</p> <p>LGI1 ノックアウト (KO) マウスの海馬神経細胞種毎に LGI1 を発現させ、LGI1KO マウスの致死性てんかんが救済されるか否かを検討している。</p> <p><u>2) パルミトイル化サイクルによる AMPA 受容体制御機構、およびシナプス後部膜形成機構の解明</u></p> <p>a) パルミトイル化 PSD-95 動態の可視化</p> <p>パルミトイル化 PSD-95 を特異的に認識するバイオセンサーを開発し、パルミトイル化 PSD-95 が一つのスパイン構造内に複数のナノドメインとして存在し、AMPA 受容体をアンカリングしていることを見出した（投稿中）。</p> <p>b) 今年度、私どもは脱パルミトイル化酵素候補遺伝子群の単離に成功した。</p> <p><u>3) AMPA 受容体以外のリガンド作動性興奮性イオンチャネルの制御機構の解明</u></p> <p>前年度までに同定した内在性ニューロトキシン関連蛋白質複合体の生理機能を解析している。</p>

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <p>1. Kusuzawa S, Honda T, Fukata Y, <u>Fukata M</u>, Kanatani S, Tanaka DH, Nakajima K. Leucine-rich glioma inactivated 1 (Lgi1), an epilepsy-related secreted protein, has a nuclear localization signal and localizes to both the cytoplasm and the nucleus of the caudal ganglionic eminence neurons. Eur J Neurosci 2012, 36: 2284-2292</p> <p>2. Lu D, Sun HQ, Wang H, Barylko B, Fukata Y, <u>Fukata M</u>, Albanesi J, Yin HL. Phosphatidylinositol 4-kinase II α is palmitoylated by Golgi-localized palmitoyl transferases in a cholesterol-dependent manner. J Biol Chem 2012, 287: 21856-21865</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <p>1. Yokoi N, <u>Fukata M</u>, Fukata Y. Synaptic plasticity regulated by protein-protein interactions and posttranslational modifications. International Review of Cell & Molecular Biology 2012, 297:1-43</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 9 件</p> <p>1. <u>Fukata M</u> Molecular basis of epilepsy by LGI1 dysfunction Songdo, Korea (2012/6/8) The 5th JES-KES Joint Symposium Organized by Korean Epilepsy Congress</p> <p>2. <u>深田正紀</u> Molecular basis of epilepsy by LGI1 dysfunction 鹿児島(2012/7/10) 鹿児島ニューロフォーラム</p>

<p>鹿児島大学神経内科・老年病学講座主催</p> <p>3. <u>深田正紀</u> Observation of synapse with STED nanoscopy 名古屋(2012/9/18) 第35回日本神経科学大会 日本神経科学学会主催</p> <p>4. Oku S, Takahashi N, Fukata Y, <u>Fukata M.</u> Identification of palmitoyl substrate-enzyme pairs in neurons through in silico genome-wide screening. 名古屋(2012/9/19) 第35回日本神経科学大会 日本神経科学学会主催</p> <p>5. <u>Fukata M.</u>, Fukata Y. Palmitoylating enzyme creates postsynaptic nanodomains 名古屋(2012/9/20) 第35回日本神経科学大会 日本神経科学学会主催</p> <p>6. Yokoi N, <u>Fukata M.</u>, Fukata Y. Molecular mechanisms for the human epilepsy caused by LGI1 mutations. 名古屋(2012/9/21) 第35回日本神経科学大会 日本神経科学学会主催</p> <p>7. Ohkawa T, Fukata Y, Watanabe O, Yokoi N, <u>Fukata M.</u> Modes of action of anti-LGI1 autoantibodies in limbic encephalitis. 名古屋(2012/9/21) 第35回日本神経科学大会 日本神経科学学会主催</p> <p>8. <u>深田正紀</u> LGI1変異によっておこるてんかんの分子病態の解明 仙台(2013/1/21)第8回 東北眼疾患病態研究会 東北大学大学院医学系研究科 神経・感覚器病態学講座主催</p> <p>9. <u>深田正紀</u> 深田優子 LGI1 変異によっておこるてんかんの分子病態の解明 和光(2013/3/14)第6回神経発生討論会 神経発生討論会主催</p> <p>一般向け 計0件</p>

様式19 別紙1

図書 計1件	Oku S, Fukata Y, Fukata M. DHHC proteins. Encyclopedia of Signaling Molecules. 2013 Edited by Choi, S., 1st Edition, Springer. ISBN 978-1-4419-0460-7
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	該当なし。
国民との科学・技術対話の実施状況	出前授業、2012/10/2、岡崎市（岡崎市立竜海中学校） (対象者) 中学生 342 名 (内容)「細胞の動く仕組み」について動画を用いた授業を行い、生命科学に興味を抱いてもらえるような機会となるよう努めた。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	該当なし。
その他	該当なし。

4. その他特記事項

該当なし。

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	133,000,000	93,000,000	20,000,000	20,000,000	0
間接経費	39,900,000	27,900,000	6,000,000	6,000,000	0
合計	172,900,000	120,900,000	26,000,000	26,000,000	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	87,624,167	20,000,000	0	107,624,167	98,616,050	9,008,117	0
間接経費	27,900,000	6,000,000	0	33,900,000	3,986,069	29,913,931	0
合計	115,524,167	26,000,000	0	141,524,167	102,602,119	38,922,048	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	95,541,405	超解像レーザー顕微鏡、顕微鏡用培養装置、実験試薬等
旅費	127,260	研究成果発表旅費(韓国、仙台)
謝金・人件費等	1,259,140	技術支援員人件費
その他	1,688,245	英文校正費、Paradigm MS2保守契約費等
直接経費計	98,616,050	
間接経費計	3,986,069	
合計	102,602,119	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
超解像レーザー顕微鏡	ライカ TCS STED CW	1	80,850,000	80,850,000	2012/5/14	生理学研究所
顕微鏡用培養装置	東海ヒット INUB-GSI-F1	1	1,102,500	1,102,500	2012/5/15	生理学研究所
トランスジェニックマウスの作出	フェニックスバイオ Thy1:LRR3-EPTP1	1	895,492	895,492	2012/5/31	生理学研究所
Anti-LGI1 antibody 他	アブカム ab30868	1	530,061	530,061	2012/7/27	生理学研究所
トランスジェニックマウスの作出	フェニックスバイオ VGAT:rLGI1	1	1,045,117	1,045,117	2012/8/31	生理学研究所
B-27添加物他	ライフテクノロジー	1	554,316	554,316	2012/8/2	生理学研究所