

マイクロエクソンの取捨選択による中枢シナプス形成の調節

吉田 知之

近年、脊椎動物の神経細胞において選択的にスプライシング調節を受ける3~27ヌクレオチドのマイクロエクソンの存在が明らかになり、神経系で働くタンパク質の機能を修飾する新たな機構として注目されている。受容体チロシン脱リン酸化酵素PTPRDは神経細胞間シナプスの分化誘導を担う主要な細胞接着タンパク質（シナプスオーガナイザー）として知られる。*Ptprd*遺伝子の持つ三つのマイクロエクソンは脳部位や発達時期に応じた選択的スプライシング調節を受けており、それらにコードされるペプチドは、シナプス間隙を挟んで相互作用するさまざまなシナプス後部リガンドとの結合特異性、および、誘導するシナプスの種類と誘導量を調節する。すなわち、*Ptprd*遺伝子のマイクロエクソンの選択的スプライシングコードは脳神経回路構築の設計図として機能する。本稿ではシナプスオーガナイザー遺伝子のマイクロエクソンスプライシングを介した中枢シナプス形成の調節機構について紹介する。

1. はじめに～マイクロエクソンとは～

我々のゲノムDNA中にはマイクロエクソンと呼ばれる3~27ヌクレオチド（nt）程度のきわめて短いエクソンが散在する。ヒトの全遺伝子のうち、1.6%程度の遺伝子がこのようなマイクロエクソンを持つと見積もられている¹⁾。マイクロエクソンはその長さゆえに一般的な長さのエクソンを標的とした通常のエクソン認識機構では認識することができない。近年の高スループットなRNAシーケンス解析等から、マイクロエクソンの多くは進化的にきわめてよく保存された選択的スプライシング制御プログラムに従って、特に脊椎動物の神経系で発現する転写産物に選択的に取り込まれることが明らかになってきた^{2,3)}。興味深いことに、大半のマイクロエクソンの長さは3の倍数であり、これは選択的スプライシングによって、読み枠を壊

すことなくタンパク質の機能を効率よく調節することに寄与している。さらに、マイクロエクソンに由来するペプチドの多くはタンパク質-タンパク質間の相互作用面やその近傍に挿入されるため、わずか1~9アミノ酸ほどの短いペプチドであっても、その選択の有無がタンパク質の機能に与える影響は非常に大きい。このように、マイクロエクソンの選択的スプライシング制御は、神経系で働くタンパク質の機能を効率よく、劇的に修飾する新たな機構として注目されている。本稿では、中枢シナプス形成を担う細胞接着タンパク質（シナプスオーガナイザー）をコードする*Ptprd*遺伝子のマイクロエクソンスプライシングを介した中枢シナプス形成の調節機構について、我々の最近の研究成果を中心に概説する。

2. マイクロエクソンと神経発達

ヒトやマウスの脳神経系において選択的スプライシング制御を受けるマイクロエクソンの数は250~300にのぼる。それらのマイクロエクソン含有遺伝子群には神経発生、神経軸索形成、および、シナプス形成とシナプス機能の調節に関わる遺伝子が特に多く含まれている^{2,3)}。実際に、これらのマイクロエクソンの選択状態はマウス胚性幹細胞がグルタミン酸作動性の神経細胞へ分化誘導される過程で、非選択状態から選択状態へスイッチのように調節を受けることも報告されている²⁾。興味深いことに、これらのマイ

富山大学学術研究部医学系分子神経科学講座（〒930-0194 富山県富山市杉谷2630）

Synaptic target selection regulated by *Ptprd* microexons' splicing
Tomoyuki Yoshida (Department of Molecular Neuroscience, Faculty of Medicine, Academic Assembly, University of Toyama, Sugitani 2630, Toyama 930-0194, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940845

© 2022 公益社団法人日本生化学会

クロエクソン含有遺伝子リストには神経発達障害の一つである自閉スペクトラム症やてんかんに関連する遺伝子群が高頻度に含まれている^{2,4)}。死後脳サンプルを用いた解析から、自閉スペクトラム症患者由来の脳組織では、これらのマイクロエクソンのスキップが高頻度に起きていることが明らかになっている^{2,5,6)}。さらに、これらのマイクロエクソンのスプライシングに関わるスプライシング調節因子の一つとして知られるSRRM4/nSR100のヘテロ欠損マウスは、感覚の過敏や社会性発達の低下などの自閉スペクトラム症に関連する表現型を示すことが明らかになっている⁷⁾。これらのことは、マイクロエクソンの選択的スプライシングプログラムが脳神経系の発生、分化、さらには社会性などの高次脳機能の調節にきわめて重要な役割を担うことを意味している。

3. マイクロエクソンによるシナプスオーガナイザー機能の調節

神経細胞は適切な相手と、適切な場所に、適切なタイミングでシナプスを形成することによって機能的な脳神経ネットワークを構築していく。シナプスは神経伝達物質を放出するシナプス前部と神経伝達物質の受容を担うシナプス後部より構成される細胞接着構造体である。これらのシナプス前部および後部の構造はシナプスオーガナイザーと呼ばれる細胞接着分子間の相互作用によって分化誘導される。シナプスオーガナイザーの定義は、非神経細胞（たとえば線維芽細胞など）に強制発現させ、その細胞

を神経細胞と共培養した際に、神経細胞に対してシナプス前部、あるいはシナプス後部構造を分化誘導する活性を有する膜貫通タンパク質もしくは分泌タンパク質である（図1A）。これまでに、およそ10種類ほどの細胞接着分子ファミリーや、受容体ファミリーがシナプスオーガナイザーとして機能することが報告されている^{8,9)}（図1B）。シナプス前部に発現する主要なシナプスオーガナイザーはニューレキシン（NRXN：哺乳類ではNRXN1, 2, 3の3種類）と2A型受容体チロシン脱リン酸化酵素（2A-RPTP：哺乳類ではPTPRD, PTPRF/LAR, PTPRSの3種類）の二つのファミリーである。一方、シナプス間隙を挟んでNRXNファミリー、2A-RPTPファミリーと結合する結合相手がシナプス後部オーガナイザーとして機能する。NRXNファミリー、2A-RPTPファミリーともに選択的スプライシングによる多様性を持ち、その多様性によってさまざまなシナプス後部オーガナイザーとの特異的な結合を可能にしている。NRXNファミリーは4番目のスプライスサイトに挿入されるエクソン20（マイクロエクソンではない）の有無が、シナプス後部リガンドとの結合特異性の決定および、興奮性・抑制性シナプスのバランスに重要な役割を担うことが知られている。このことについては本特集の飯島先生の稿の2節、3節に詳しく説明されている。2A-RPTPは細胞外領域に三つのイムノグロブリン様（Ig）ドメイン、四つあるいは八つの3型フィブロネクチン（FN）ドメイン、細胞内領域に二つのチロシン脱リン酸化酵素ドメインを持つ（図2A）。シナプス形成が盛んな脳発達期には四つのFNドメインを持つスプライスバリエーションが主に発

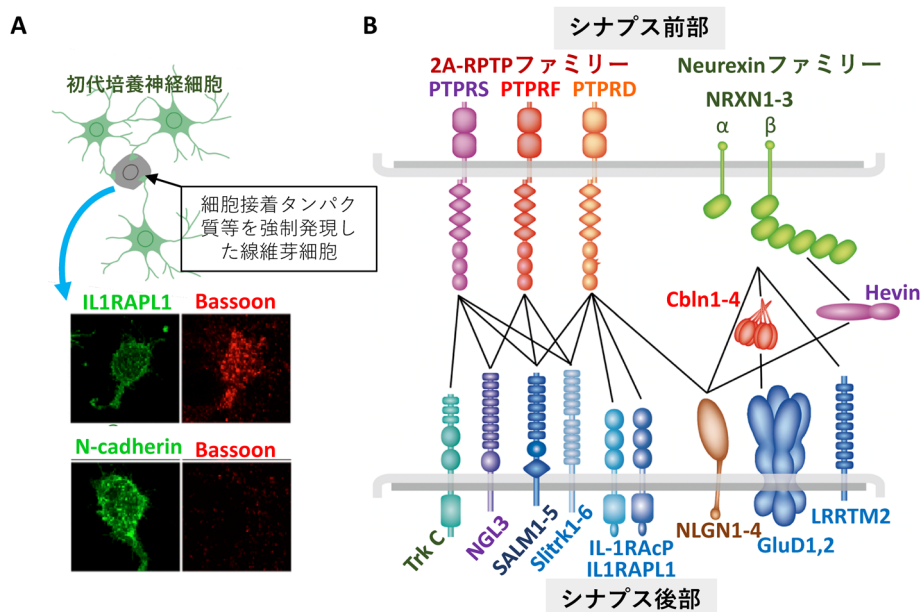


図1 シナプスオーガナイザーの機能と種類

(A) シナプスオーガナイザーの機能。シナプス誘導能を評価する神経細胞-線維芽細胞の共培養系の模式図(上)。IL1RAPL1およびN-cadherinを強制発現させた線維芽細胞とマウス大脳皮質初代培養神経細胞を共培養し、シナプス前部（アクティブゾーン）マーカーのBassoonに対する抗体染色を用いて、シナプス前部誘導能を評価した。N-cadherinを発現させた線維芽細胞周囲にはシナプス前部は誘導されない。(B) シナプス前部および後部の主要なシナプスオーガナイザー。それぞれを結ぶ線は結合関係を示している。

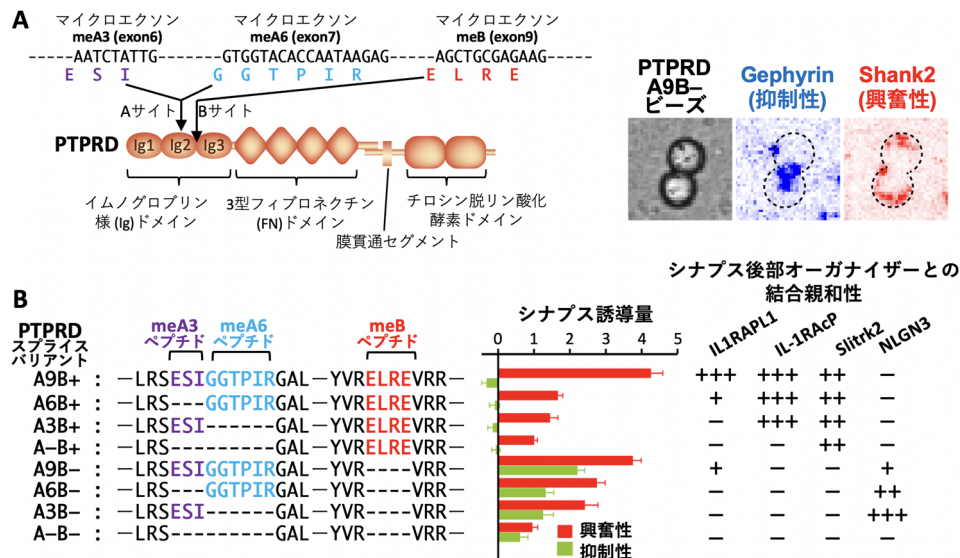


図2 PTPRDタンパク質の構造とマイクロエクソンペプチドの機能
(A) マウス *Ptpr* 遺伝子の三つのマイクロエクソン (me) A3, A6, B の塩基配列, および, 脳発達期に発現する PTPRD タンパク質のドメイン構造 (左). PTPRD A9B- を配置したビーズと神経細胞を共培養すると, ビーズの周囲にシナプス後部が誘導される (右). (B) マイクロエクソン由来ペプチドは PTPRD の Ig ドメインに挿入され, 8 種類のスプライスバリエントを作り出す (左). 8 種類の PTPRD スプライスバリエントのシナプス後部誘導因子との結合特性 (右) およびシナプス誘導特性 (中央). シナプス誘導量 (数) は meA ペプチドの長さに比例する. meB 選択型スプライスバリエントは興奮性シナプスのみを誘導するのに対して meB 非選択型スプライスバリエントは興奮性・抑制性シナプスの両方を誘導する.

現する¹⁰⁾. 2 番目の Ig ドメイン内 (A サイト), および, 2 番目と 3 番目の Ig ドメインの間の境界部分 (B サイト) には選択的スプライシング調節を受けるマイクロエクソンに由来するマイクロエクソンペプチドが挿入され, 多様性が生まれる^{11, 12)}. 本稿で詳述する PTPRD の場合, A サイトにはマイクロエクソン (me) A3 および meA6 にコードされる 3 アミノ酸ペプチド (ESI) および 6 アミノ酸ペプチド (GGTPIR) の挿入の有無による 4 種類の多様性 (A9, A6, A3, および A-) が存在する. さらに, B サイトには meB にコードされる 4 アミノ酸ペプチド (ELRE) の挿入の有無による 2 種類 (B+ および B-) の多様性が存在するため, 合計 8 種類のスプライスバリエントが作り出されることになる (図 2B). 実際, これらの三つのマイクロエクソンの選択的スプライシングによって作り出される 8 種類のスプライスバリエントはいずれも発達期のマウス脳内で発現している¹²⁾ (図 4 参照). 一方, マウス *Ptpr* 遺伝子にも meA3, meA6 および meB が存在し, *Ptprf* 遺伝子には meA6 および meB が存在する. しかしながら, 実際に発達期のマウス脳内で発現する *Ptpr* 遺伝子および *Ptprf* 遺伝子のスプライスバリエントの種類はそれぞれ 2 種類と 4 種類であり, *Ptpr* 遺伝子に比べると少ない¹²⁾. さて, 筆者らはマイクロエクソンの選択的スプライシングが PTPRD タンパク質の持つシナプス誘導能にどのような影響を与えるのかを解析した. リコンビナント PTPRD スプライスバリエントタンパク質を配置したビーズとマウス大脳皮質の初代培養神経細胞を共培養すると, ビーズに接する神経細胞の樹状突起にシナプス後部が分化誘導される (図 2A). 誘導

されるシナプスが興奮性 (グルタミン酸作動性) シナプスであるか抑制性 (GABA 作動性) シナプスであるか, さらに, どのくらいのシナプス数が誘導されるかは, それぞれのシナプス種特異的のマーカ抗体を用いた染色によって評価することができる. 図 2B に示すように, 八つの PTPRD スプライスバリエントを配置したビーズはそれぞれ固有のシナプス誘導特性を持つことがわかる. meB ペプチドを含む PTPRD スプライスバリエントをコートしたビーズは抗 Shank2 抗体で染色される興奮性シナプスのみを誘導するのに対して, meB ペプチドを含まない PTPRD スプライスバリエントは興奮性および抗 Gephyrin 抗体で染色される抑制性シナプスの両方を誘導する. 一方, 抗 Shank2 抗体および抗 Gephyrin 抗体の染色量は A サイトに挿入されるペプチドの長さが長いほど大きくなる. すなわち, わずか 4 アミノ酸の meB ペプチドが興奮性, 抑制性のいずれのシナプスを誘導するかを決定し, meA ペプチドの長さはシナプス誘導量を決定している¹³⁾. したがって, *Ptpr* 遺伝子の三つのマイクロエクソン meA3, meA6, および meB の選択的スプライシングプログラムによって, PTPRD タンパク質の持つシナプス誘導特性, すなわち「どのようなシナプスをどのくらい誘導するか」が決まることになる.

4. マイクロエクソンペプチドの機能構造相関

なぜ, *Ptpr* 遺伝子の三つのマイクロエクソン meA3, meA6, および meB の選択的スプライシングプログラムによって, PTPRD タンパク質の持つシナプス誘導特性が変

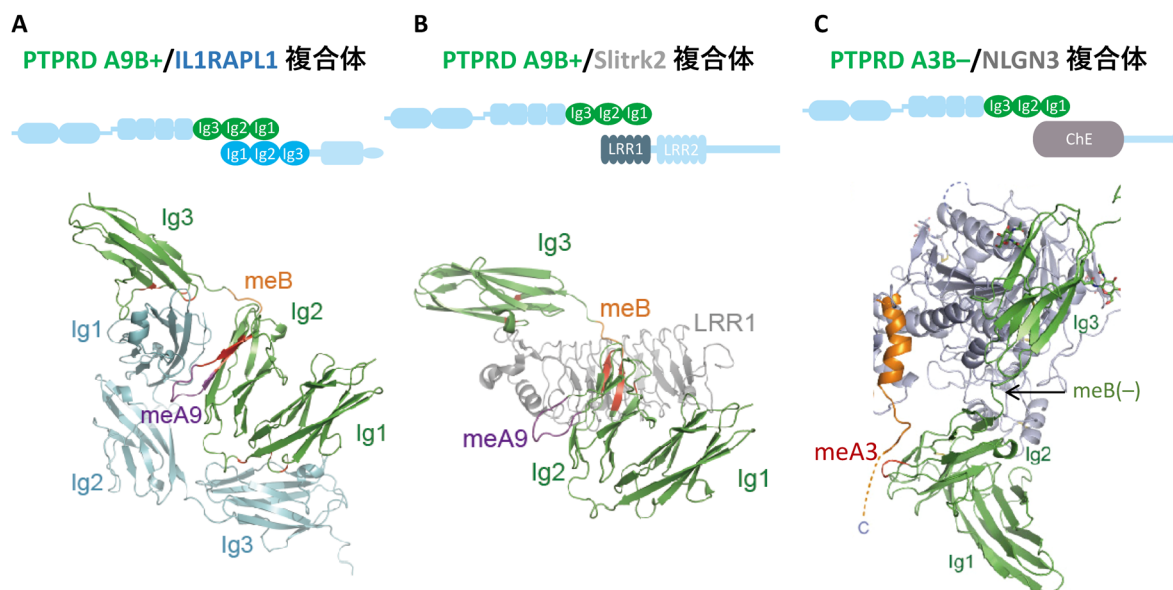


図3 PTPRD Ig ドメインとシナプス後部オーガナイザーの複合体の構造

(A) PTPRD A9B+/IL1RAPL1 複合体の構造. PTPRD の Ig ドメイン (Ig1-3) は IL1RAPL1 の Ig ドメイン (Ig1-3) と結合する. meA9 ペプチドは IL1RAPL1 Ig1 ドメインとの結合面に挿入され, 特異的な結合に寄与する. 一方, meB ペプチドは PTPRD の Ig2 ドメインと Ig3 ドメインが IL1RAPL1 の Ig1 ドメインに同時に結合するためのリンカーとして機能する. (B) PTPRD A9B+/Slitrk2 複合体の構造. PTPRD の Ig ドメイン (Ig1-3) は Slitrk2 の LRR1 ドメインと結合する. meB ペプチドは Slitrk2 の LRR1 ドメインとの結合面の一部を構成し, 特異的な結合に寄与する. (C) PTPRD A3B-/NLGN3 複合体の構造. PTPRD の Ig ドメイン (Ig1-3) は NLGN3 のコリンエステラーゼ (ChE) ドメインと結合する. NLGN3 は meB ペプチドを含まない PTPRD スプライスバリエントに選択的に結合する. meB ペプチドを含まない短いリンカーによって PTPRD の Ig2 および Ig3 ドメインが同時に NLGN3 の ChE ドメインに結合できるようになっている. 一方, meA3 ペプチドは ChE ドメインの C 末端領域との直接結合に寄与している.

わるのか? その答えはマイクロエクソンペプチドの取捨選択がシナプス後部オーガナイザーとの結合特異性と結合親和性を調節することにある. 上述の PTPRD ビーズを用いて神経細胞の樹状突起にシナプス後部を分化誘導させた際に, PTPRD に結合しているシナプス後部リガンドを探索したところ, 各 PTPRD スプライスバリエントに応じて異なるシナプス後部リガンドが結合することが明らかになった^{13, 14}. meB 選択型のスプライスバリエントに対してはインターロイキン-1 受容体ファミリーに属する interleukin-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP), interleukin-1 receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1), および SALM/Lrfrn ファミリー, Slitrk ファミリーが選択的に結合する^{11, 15-20} (図2B). このうち, IL-1RAcP と IL1RAPL1 は興奮性シナプス後部に存在し, 長い meA ペプチドを持つ PTPRD スプライスバリエント (A9B+ や A6B+) に高い親和性を示す. これは, PTPRD の A サイトに挿入される meA ペプチドが長いほど興奮性シナプス後部誘導能が大きくなることによく対応している. 実際に IL1RAPL1 や IL-1RAcP を欠失した神経細胞に対する PTPRD A9B+ ビーズおよび A3B+ ビーズのシナプス後部誘導能は野生型神経細胞に対するその半分以下に減少する^{13, 15, 21}. 一方, meB 非選択型のスプライスバリエントに対してはニューロリジン (NLGN) 3 が選択的に結合する¹³. meB 非選択型のスプライスバリエントによる興奮性および抑制性シナプス後部の誘導能は NLGN3 欠失マウス由来の神経細胞に

対しては完全に消失することから, 機能的にも NLGN3 が meB 非選択型 PTPRD スプライスバリエントのリガンドであることが示されている. 筆者らは, このような PTPRD のマイクロエクソンペプチドによるシナプス後部リガンドに対する結合特異性と結合親和性調節の構造基盤を明らかにするために, PTPRD スプライスバリエントとシナプス後部リガンドとの複合体の X 線結晶構造解析を行った (図3). IL-1 受容体ファミリーに属する IL1RAPL1 および IL-1RAcP の細胞外領域は三つの Ig ドメインより構成され, その1番目の Ig ドメイン (Ig1) が PTPRD の2番目と3番目の Ig ドメイン (Ig2 および Ig3) によって挟み込まれる形で結合する (図3A). このとき, PTPRD Ig2 内の meA9 ペプチド (ESIGGTPIR) を含むループが IL1RAPL1/IL-1RAcP の Ig1 との結合面を構成する. 特に meA9 ペプチド中の9番目のアルギニン残基 (Arg196) は IL1RAPL1 Asp37 側鎖と, 1番目のグルタミン酸残基 (Glu188) の主鎖の窒素原子は IL1RAPL1 Tyr59, Gly58, および IL-1RAcP Phe53 の主鎖の酸素原子と水素結合し, 特異的な結合に大きく寄与している. 一方, meB ペプチドは結合面には存在せず, PTPRD Ig2 および Ig3 が IL1RAPL1/IL-1RAcP の Ig1 をうまく挟み込むためのスペーサーとして寄与している. 実際, meB ペプチド (ELRE) の配列を GSGS の4アミノ酸配列に置換しても IL1RAPL1/IL-1RAcP への結合に大きな影響は認められなかったが, meB ペプチドを三つタンデムにつないだ PTPRD 変異体は IL1RAPL1/IL-1RAcP との結合能, お

よび興奮性シナプス後部誘導能が半減した¹⁶⁾。Slitrkファミリーの細胞外領域は二つのロイシンリッチリピートドメイン (LRR1とLRR2) から構成され、そのうちLRR1がPTPRDのIgドメインと結合する (図3B)。SlitrkファミリーはmeBペプチドを含むPTPRDスプライスバリエーションに選択的に結合するが、meAペプチドには依存しない^{19, 20)}。meBペプチド (ELRE) はまさにLRR1との結合面に存在し、3残基目のアルギニン (Arg236) がSlitrkファミリーでよく保存されたアスパラギン酸残基 (Slitrk1ではAsp163, Slitrk2ではAsp167) と水素結合している。実際にSlitrk2 Asp167をアラニンに置換すると、PTPRDとの結合が障害され、シナプス誘導も起こらなくなる。NLGN3はmeBペプチドを持たず、meAペプチドを含むPRPRDスプライスバリエーション (A9B-, A6B-, A3B-) に選択的に結合する¹³⁾。PTPRDA3B-とNLGN3の複合体中では、NLGN3の細胞外領域を構成するコリンエステラーゼ (ChE) ドメインをPTPRDのIg2とIg3が挟み込むように結合している (図3C)。meA3ペプチドを含むループはChEドメインのカルボキシ末端に位置するMet614およびPhe615と疎水的に結合しており、これらの残基をアラニンに置換したNLGN3変異体はPTPRDとの結合能が激減し、PTPRDを介するシナプス誘導能は消失する¹³⁾。一方、PTPRDのIg2とIg3の間にmeBペプチドを含まないことにより、Ig2とIg3がNLGN3のChEドメインをうまく挟み込むことができるようになっている。このようにPTPRDのmeAおよびmeBペプチドはシナプス後部リガンドとの結合面で直接結合に関わるか、あるいは、Ig2とIg3の間の位置関係を調節して適切な相互作用を創り出すことで、さまざまなシナプス後部オーガナイザーとの特異的な結合を保証し、シナプス標的選別に寄与している。

5. マイクロエクソンのスプライシング調節機構

上述のように、*Ptprd*遺伝子のmeA3, meA6およびmeBにコードされるマイクロエクソンペプチドはシナプス前部オーガナイザータンパク質PTPRDがどのシナプス後部オーガナイザーと結合するのか、すなわち、どの標的とシナプスを形成するのか、を決定するためのプロテインコードとして機能する。したがって、*Ptprd*遺伝子のmeA3, meA6およびmeBの選択的スプライシングの調節プログラムは脳神経回路構築の設計図といえる。我々の脳内に存在する1000億もの神経細胞が適切な相手とシナプスを形成して、機能的な神経ネットワークを形成するためには、*Ptprd*遺伝子のmeA3, meA6およびmeBの選択的スプライシングが脳内の部位、神経細胞の種類、発達時期に応じて厳密に調節を受ける必要がある。実際に、これら三つのマイクロエクソンの選択的スプライシングによって作り出される八つの*Ptprd*スプライスバリエーションの発現比率はマウス脳内の部位ごとに大きく異なる^{12, 22)} (図4)。生後2週齢のマウスでは脳の前後軸に沿って、前方側 (嗅球や大

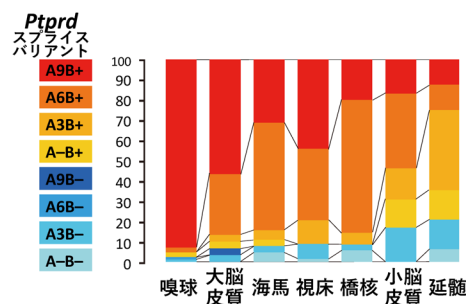


図4 脳内各部位における*Ptprd*スプライスバリエーションの発現比率

マウス*Ptprd*遺伝子の三つのマイクロエクソンの選択的スプライシングによって生じる八つのスプライスバリエーション (転写産物) は、2週齢マウス脳内で部位ごとに固有の比率で発現する。

脳皮質) では三つのマイクロエクソンすべてを選択したA9B+が大半を占めるのに対して、後方側 (小脳や延髄) では各マイクロエクソンの選択比率は減少する傾向にある (図4)。このような脳部位ごとの各スプライスバリエーションの発現パターンにはマウス個体間の差はほとんどない。この八つの*Ptprd*スプライスバリエーションの発現パターンは脳発達に伴っても変化していく。神経細胞で機能する多くのマイクロエクソンの選択的スプライシングは神経活動によって調節を受けることが報告されており⁷⁾、脳発達に伴う*Ptprd*スプライスバリエーションの発現パターン変化の一端は神経活動に依存すると考えられる。*Ptprd*遺伝子の三つのマイクロエクソンの選択的スプライシングがどのようなRNA上のエレメントとスプライシング調節因子によって調節されているかはまだよくわかっていない。Gonatopoulos-Pournatzisらは神経細胞で選択的スプライシング調節を受けることが知られている*Mef2d*および*Shank2*遺伝子のマイクロエクソンを含むミニ遺伝子をレポーターとして、その調節に関わる一連のタンパク質 (SRSF11, RNPS1, SRRM4等) をCRISPR-Cas9による遺伝子破壊スクリーニングによって同定した²³⁾ (図5)。これらのマイクロエクソン調節因子群はマイクロエクソンの上流イントロン中に存在するコンセンサス配列 (UCUCUN₀₋₅₀UGC) に結合し、スプライシングによるマイクロエクソンの選択効率を増加させる。このコンセンサス配列はイントロン性スプライスエンハンサー (ISE: intronic splicing enhancer) として機能する。一方、RNAのポリミジントラクトに結合するPTBP1 (polypyrimidine tract binding protein 1) は一部のマイクロエクソンの選択を抑制する機能を持つことが知られている^{3, 24)}。このISEコンセンサス配列は*Ptprd*遺伝子のmeA3およびmeA6の上流に二つずつ存在し、meB上流には三つ存在する。実際にマウス全脳サンプルにおけるmeBのスプライシングによる選択効率 (96%) はmeA3, meA6のスプライシングによる選択効率 (それぞれ58%と84%) よりも高いことから、このコンセンサス配列が*Ptprd*遺伝子のマイクロエクソンのスプライシング調節に寄与する可能性がある。これを支持するように、SRRM4/nSR100の

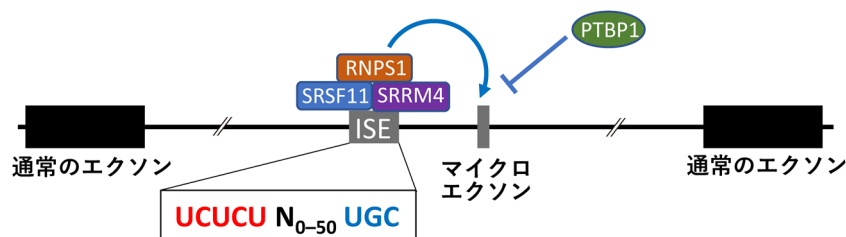


図5 マイクロエクソンのスプライシング制御機構

イントロン性スプライスエンハンサー (ISE) 配列によるマイクロエクソンのスプライシング制御機構。Gonatos-Pournatzisらによって提唱されたISEコンセンサス配列、およびそこに結合してスプライシングを制御するスプライシング因子。

ホモ欠損マウスでは*Ptprd*遺伝子のmeA3およびmeBの選択効率が有意に減少することが報告されている²⁵⁾。また、RBFOXファミリースプライシング因子はさまざまなマイクロエクソンの下流イントロンに存在するUGCAUG配列に結合して、スプライシングによるマイクロエクソンの選択を促進することが報告されている^{3, 26)}。この配列はmeA3の下流イントロンに一つ存在する。しかしながら、PTPRDタンパク質のシナプス誘導能および標的選別能はmeA3, meA6, meBペプチドの組み合わせによって調節されるため、個々のマイクロエクソンの選択調節だけではなく、三つのマイクロエクソンのスプライシングを統合的に制御するような調節機構が必要と考えられる。この調節機構の理解こそが複雑な脳神経回路の構築機構をひも解く手になりになると期待される。

6. おわりに

神経細胞で働くマイクロエクソンの選択的スプライシング調節プログラムは神経発生、神経ネットワーク形成、脳機能発現においてきわめて重要な役割を担うことが明らかになりつつある。また、その調節プログラムの破綻はコミュニケーション能力などヒト特有の高次脳機能の発達障害である自閉スペクトラム症の発病に深く関わることが示唆されている。ヒトと他の哺乳類の間ではゲノム構造や保有する遺伝子レパートリーが高度に保存されており、個々の遺伝子産物のアミノ酸配列もマウスとの間で平均80%以上、チンパンジーとの間で99%が同じである。このような遺伝子配列レベルでの高い保存性にもかかわらず、脳構造と機能の種差が生まれ、ヒトが固有の高次脳機能を獲得できた背景には、本稿で紹介したようなマイクロエクソンの選択調節プログラムの種差が関わるのではないかと考えられる。我々のヒトiPS細胞由来神経細胞を用いた予備実験では、神経活動によるマイクロエクソンの選択的スプライシング調節プログラムがヒト*PTPRD*遺伝子とマウス*Ptprd*遺伝子の間で異なることなどが明らかになっている。今後、ヒトのマイクロエクソンの選択的スプライシング調節プログラムの単一神経細胞レベルでの研究や、他の動物種との比較研究が進むことにより、ヒトの高次脳機能発現を支える複雑な脳神経ネットワークの構築原理の理解が大

きく進むと期待される。また、自閉スペクトラム症などの神経発達障害の治療を目的とした創薬研究において、マイクロエクソンの選択的スプライシング調節プログラムが有力な創薬標的となると期待される。

文 献

- 1) Volfovsky, N., Haas, B.J., & Salzberg, S.L. (2003) Computational discovery of internal micro-exons. *Genome Res.*, **13**(6A), 1216–1221.
- 2) Irimia, M., Weatheritt, R.J., Ellis, J.D., Parikshak, N.N., Gonatos-Pournatzis, T., Babor, M., Quesnel-Vallières, M., Tapial, J., Raj, B., O'Hanlon, D., et al. (2014) A highly conserved program of neuronal microexons is misregulated in autistic brains. *Cell*, **159**, 1511–1523.
- 3) Li, Y.I., Sanchez-Pulido, L., Haerty, W., & Ponting, C.P. (2015) RBFOX and PTBP1 proteins regulate the alternative splicing of micro-exons in human brain transcripts. *Genome Res.*, **25**, 1–13.
- 4) Gonatos-Pournatzis, T. & Blencowe, B.J. (2020) Microexons: At the nexus of nervous system development, behaviour and autism spectrum disorder. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **65**, 22–33.
- 5) Parikshak, N.N., Swarup, V., Belgard, T.G., Irimia, M., Ramaswami, G., Gandal, M.J., Hartl, C., Leppa, V., Ubieto, L.T., Huang, J., et al. (2016) Genome-wide changes in lncRNA, splicing, and regional gene expression patterns in autism. *Nature*, **540**, 423–427.
- 6) Gandal, M.J., Zhang, P., Hadjimichael, E., Walker, R.L., Chen, C., Liu, S., Won, H., van Bakel, H., Varghese, M., Wang, Y., et al.; PsychENCODE Consortium. (2018) Transcriptome-wide isoform-level dysregulation in ASD, schizophrenia, and bipolar disorder. *Science*, **362**, eaat8127.
- 7) Quesnel-Vallières, M., Dargaei, Z., Irimia, M., Gonatos-Pournatzis, T., Ip, J.Y., Wu, M., Sterne-Weiler, T., Nakagawa, S., Woodin, M.A., Blencowe, B.J., et al. (2016) Misregulation of an activity-dependent splicing network as a common mechanism underlying autism spectrum disorders. *Mol. Cell*, **64**, 1023–1034.
- 8) Takahashi, H. & Craig, A.M. (2013) Protein tyrosine phosphatases PTP δ , PTP σ , and LAR: Presynaptic hubs for synapse organization. *Trends Neurosci.*, **36**, 522–534.
- 9) Südhof, T.C. (2017) Synaptic neuroligin complexes: A molecular code for the logic of neural circuits. *Cell*, **171**, 745–769.
- 10) Mizuno, K., Hasegawa, K., Ogimoto, M., Katagiri, T., & Yakura, H. (1994) Developmental regulation of gene expression for the MPTP isoforms in the central nervous system and the immune system. *FEBS Lett.*, **355**, 223–228.
- 11) Pulido, R., Krueger, N.X., Serra-Pagès, C., Saito, H., & Streuli, M. (1995) Molecular characterization of the human transmembrane protein-tyrosine phosphatase. *J. Biol. Chem.*, **270**, 6722–

- 6728.
- 12) Yoshida, T., Yasumura, M., Uemura, T., Lee, S.J., Ra, M., Taguchi, R., Iwakura, Y., & Mishina, M. (2011) IL-1 receptor accessory protein-like 1 associated with mental retardation and autism mediates synapse formation by trans-synaptic interaction with protein tyrosine phosphatase δ . *J. Neurosci.*, **31**, 13485–13499.
 - 13) Yoshida, T., Yamagata, A., Imai, A., Kim, J., Izumi, H., Nakashima, S., Shiroshima, T., Maeda, A., Iwasawa-Okamoto, S., Azechi, K., et al. (2021) Canonical versus non-canonical trans-synaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality in mice. *Nat. Commun.*, **12**, 1848.
 - 14) Uemura, T., Shiroshima, T., Maeda, A., Yasumura, M., Shimada, T., Fukata, Y., Fukata, M., & Yoshida, T. (2017) In situ screening for postsynaptic cell adhesion molecules during synapse formation. *J. Biochem.*, **162**, 295–302.
 - 15) Yoshida, T., Shiroshima, T., Lee, S.J., Yasumura, M., Uemura, T., Chen, X., Iwakura, Y., & Mishina, M. (2012) Interleukin-1 receptor accessory protein organizes neuronal synaptogenesis as a cell adhesion molecule. *J. Neurosci.*, **32**, 2588–2600.
 - 16) Yamagata, A., Yoshida, T., Sato, Y., Goto-Ito, S., Uemura, T., Maeda, A., Shiroshima, T., Iwasawa-Okamoto, S., Mori, H., Mishina, M., et al. (2015) Mechanisms of splicing-dependent trans-synaptic adhesion by PTP δ -IL1RAPL1/IL-1RAcP for synaptic differentiation. *Nat. Commun.*, **6**, 6926.
 - 17) Goto-Ito, S., Yamagata, A., Sato, Y., Uemura, T., Shiroshima, T., Maeda, A., Imai, A., Mori, H., Yoshida, T., & Fukai, S. (2018) Structural basis of trans-synaptic interactions between PTP δ and SALMs for inducing synapse formation. *Nat. Commun.*, **9**, 269.
 - 18) Lin, Z., Liu, J., Ding, H., Xu, F., & Liu, H. (2018) Structural basis of SALM5-induced PTP δ dimerization for synaptic differentiation. *Nat. Commun.*, **9**, 268.
 - 19) Um, J.W., Kim, K.H., Park, B.S., Choi, Y., Kim, D., Kim, C.Y., Kim, S.J., Kim, M., Ko, J.S., Lee, S.G., et al. (2014) Structural basis for LAR-RPTP/Slitrk complex-mediated synaptic adhesion. *Nat. Commun.*, **5**, 5423.
 - 20) Yamagata, A., Sato, Y., Goto-Ito, S., Uemura, T., Maeda, A., Shiroshima, T., Yoshida, T., & Fukai, S. (2015) Structure of Slitrk2-PTP δ complex reveals mechanisms for splicing-dependent trans-synaptic adhesion. *Sci. Rep.*, **5**, 9686.
 - 21) Yasumura, M., Yoshida, T., Yamazaki, M., Abe, M., Natsume, R., Kanno, K., Uemura, T., Takao, K., Sakimura, K., Kikusui, T., et al. (2014) IL1RAPL1 knockout mice show spine density decrease, learning deficiency, hyperactivity and reduced anxiety-like behaviours. *Sci. Rep.*, **4**, 6613.
 - 22) Munezane, H., Oizumi, H., Wakabayashi, T., Nishio, S., Hirasawa, T., Sato, T., Harada, A., Yoshida, T., Eguchi, T., Yamashita, Y., et al. (2019) Roles of Collagen XXV and its putative receptors PTP σ/δ in intramuscular motor innervation and congenital cranial dysinnervation disorder. *Cell Rep.*, **29**, 4362–4376.
 - 23) Gonatopoulos-Pournatzis, T., Wu, M., Braunschweig, U., Roth, J., Han, H., Best, A., Raj, B., Aregger, M., O'Hanlon, D., Ellis, J.D., et al. (2018) Genome-wide CRISPR-Cas9 interrogation of splicing networks reveals a mechanism for recognition of autism-misregulated neuronal microexons. *Mol. Cell*, **72**, 510–524.
 - 24) Xue, Y., Ouyang, K., Huang, J., Zhou, Y., Ouyang, H., Li, H., Wang, G., Wu, Q., Wei, C., Bi, Y., et al. (2013) Direct conversion of fibroblasts to neurons by reprogramming PTB-regulated microRNA circuits. *Cell*, **152**, 82–96.
 - 25) Quesnel-Vallières, M., Irímia, M., Cordes, S.P., & Blencowe, B.J. (2015) Essential roles for the splicing regulator nSR100/SRRM4 during nervous system development. *Genes Dev.*, **29**, 746–759.
 - 26) Weyn-Vanhentenryck, S.M., Mele, A., Yan, Q., Sun, S., Farny, N., Zhang, Z., Xue, C., Herre, M., Silver, P.A., Zhang, M.Q., et al. (2014) HITS-CLIP and integrative modeling define the Rbfox splicing-regulatory network linked to brain development and autism. *Cell Rep.*, **6**, 1139–1152.

著者寸描

●吉田 知之 (よしだ ともゆき)



富山大学学術研究部医学系 准教授。博士 (医学)。

■略歴 1974年山口県に生る。97年東京大学理学部卒業。2003年同大学院医学系研究科博士課程修了。東京大学大学院医学系研究科助教、講師を経て13年より現職。11～15年さきかけ研究員。

■研究テーマと抱負 神経細胞間シナプス形成・再編の分子機構、および、その

破綻に起因する神経発達障害の発病機構をタンパク質構造解析からマウス行動解析までの多階層解析を通して解き明かすことを目指しています。

■ウェブサイト <http://www.med.u-toyama.ac.jp/molneurosci/kousei/pg157.html>

■趣味 釣り, 旅行。