

特集 1 Omics 解析—神経精神疾患基盤解明に向けたマルチプルなアプローチ—**3. プロテオーム解析によるシナプスの成熟および病態の分析**

貝塚 剛志*

抄録：神経細胞間の情報伝達を担うシナプスには多種多様なタンパク質が集積している。特にシナプス後肥厚 (PSD) には 1,000 種類以上のタンパク質が局在し、それらはシナプスの構造や機能において重要な役割を果たしている。質量分析によるプロテオーム解析は PSD に局在するタンパク質群の同定および定量に寄与してきた。近年では、さまざまな生理的条件や精神・神経疾患においてシナプスや PSD のタンパク質組成がどのように変化するかを分析することで、脳機能や疾患の病態の理解をめざす研究が活発に進められている。本稿では、PSD に局在するタンパク質群について概説し、生後発達期および精神疾患における PSD のタンパク質組成の変化について、筆者の最近の成果を含めて解説する。また、これらの知見が精神・神経疾患の基盤解明や新たな治療戦略の構築にどのように貢献し得るかについても議論する。

日本生物学的精神医学会誌 36 (2) : 66-70, 2025

Key words : synapse, dendritic spine, postsynaptic density (PSD), proteomics, autism spectrum disorder (ASD), Rho GTPase, FAM81A

1. シナプスを構成するタンパク質群

脳の中では、多数の神経細胞がさらに多数のシナプスで接続されることで、巨大な神経回路網を形成している。近年の神経科学においては、脳のどの部位とどの部位の神経細胞が接続されているか、という研究が活発に行われているが、これは「どこからどこに」情報が伝達されるかを考えるうえで重要であるといえるだろう。一方、神経細胞をつなぐシナプスの状態を分析することは「いかに」情報が伝達されるかを考えるうえで重要になってくると考えられる。筆者はプロテオーム解析などを用いたシナプスのタンパク質組成の分析により、発達期のシナプスの成熟や精神・神経疾患におけるシナプスの病態を理解することを試みている。

興奮性シナプスの概略を図 1 に示す。シナプス前部には、神経伝達物質を含有するシナプス小胞が存在し、シナプス小胞が結合するアクティブゾーンにおいては、シナプス小胞と細胞膜の融合を担うタンパク質などが局在している。シナプス後部は、

通常樹状突起上に形成されるきのこ状の構造体である樹状突起スパインが担っている。シナプス後部の細胞膜直下には、多くのタンパク質が局在・集積したシナプス後肥厚 (postsynaptic density : PSD) とよばれる構造体が形成されている⁹⁾。PSD には合計 1,000 種類以上のタンパク質が局在しており、これらはシナプスの構造や機能において重要な役割を担っている。

PSD を構成するタンパク質には以下のものが含まれる。(1) グルタミン酸受容体。N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 型受容体、 α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor (AMPA) 型受容体などのイオンチャネル共役型受容体はそれぞれ複数のサブユニットから構成されており、グルタミン酸の結合により陽イオンを流入させることでシナプス後電位を発生させる。(2) 足場タンパク質。postsynaptic density protein 95 (PSD-95) をはじめとする足場タンパク質はグルタミン酸受容体を含むさまざまなタンパク質と結合し、それらの PSD への局在・集積に重要な役割

Proteomic insights into synaptic maturation and pathophysiology

*エディンバラ大学 臨床脳科学センター (英国 エディンバラ EH16 4SB, エディンバラ大学 BioQuarter, Chancellor's Building, 臨床脳科学センター) Takeshi Kaizuka : Centre for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh. Centre for Clinical Brain Sciences, Chancellor's Building, Edinburgh BioQuarter, University of Edinburgh, Edinburgh EH16 4SB, UK

【貝塚 剛志 E-mail : Takeshi.Kaizuka@ed.ac.uk (X (旧 Twitter) : @TakeshiKaizuka)】

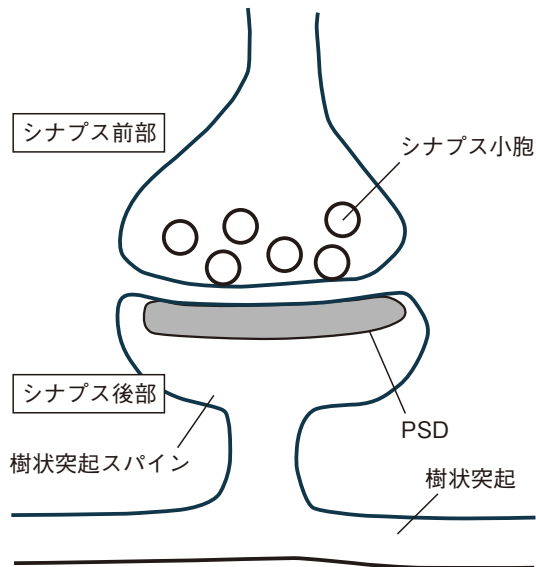


図1 興奮性シナプスの概略図

シナプス前部にはグルタミン酸を含むシナプス小胞が局在している。シナプス後部は樹状突起上に形成されるきのこ型の樹状突起スパインが担っている。樹状突起スパインの細胞膜直下には、タンパク質の集積構造であるシナプス後肥厚 (PSD) が形成されている (Kaizuka T, et al: J Biochem, 163 (3): 447-445, 2018⁹⁾ より引用)。

を果たしている。(3) 接着分子。シナプス後部の細胞膜上に発現する接着分子は、シナプス前部の接着分子と結合することでシナプス接続に寄与している。(4) シグナル伝達酵素。カルシウムシグナル, Rho GTPase シグナルなどの伝達を担う酵素が PSD に局在しており、シナプスの可塑性などに関与している。

PSD は分画遠心法およびショ糖密度勾配遠心法を組み合わせた手法により生化学的に単離することができる⁵⁾。こうして単離・精製した PSD を質量分析によってプロテオーム解析すると、そこに含まれるタンパク質を網羅的に同定することができる。2010 年代初頭に行われたヒトの脳皮質の PSD のプロテオーム解析では、1,461 種類のタンパク質が検出されている¹⁾。その後質量分析技術の発達に伴い、PSD サンプルから検出されるタンパク質数は増加してきているが、筆者がそれぞれのデータセットを統合して検出されているタンパク質を比較したところ、各データで再現よく検出されているタンパク質は 1,300 種類程度であり、これらが PSD の主要な構成因子であると推測された¹¹⁾。なお、PSD には機能未知のタンパク質も含まれている。筆者は最近、多数のプロテオームデータセットで検出されているにもかかわらずその機能が未知のタンパク質群を抽出し、その中でもっとも高頻度に検出されて

いるタンパク質として family with sequence similarity 81 member A (FAM81A) を同定した。詳細な機能解析の結果、FAM81A は PSD およびシナプスのサイズを正に制御する因子であることが明らかになった¹⁰⁾。このようなアプローチにより未知の PSD タンパク質の機能を明らかにしていくことは生化学・神経科学における重要な課題の一つであるといえるだろう。

2. タンパク質組成の変化から理解するシナプスの成熟

生後発達期には、シナプスの数 (密度)、形状、安定性、タンパク質組成の変化が生じることが知られており、これらはシナプスの成熟過程と理解することができる (図 2)。シナプスの数については、まず増加していき、その後「刈りこみ」により減少すると考えられている¹⁴⁾。ただしこれは後述のように、単純な増加・減少というよりも、形成と除去のバランスの変化によるものだと考えられる。形状については、細長い樹状突起スパインが徐々に「きのこ型」のスパインへと成熟していく³⁾。安定性については、不安定だったスパインが徐々に安定化していく³⁾。発達期にはシナプスのタンパク質組成にも変化が生じるが、それについての網羅的な知見はほとんど得られていなかった。そこで筆者らは、生後発達期の複数時点の脳から生化学的に単離した PSD の定量的プロテオーム解析を行い、そのタンパク質組成の変化を明らかにした¹⁰⁾。2 週齢以降のマウスの脳 PSD では顕著な増加、または減少を示すタンパク質がそれぞれ 300 個弱検出された。パスウェイ解析を行うと、これら顕著な増減を示したタンパク質の中にはシナプス形成に関与する因子、Rho GTPase シグナルに関する因子などが濃縮されていた。Rho GTPase シグナルは樹状突起スパインを構成するアクチン骨格の重合・脱重合を制御する主要なシグナルである。幼若マウスと成体マウスの脳から単離したシナプス画分を分析してみると、幼若マウスのシナプスのほうが Rho GTPase シグナルが活発であることがわかった。これらの結果は PSD のタンパク質組成の変化が Rho GTPase シグナルの減衰などを介してシナプスの形状や安定性などの変化に寄与していることを示唆している。

発達期における PSD のタンパク質組成の変化には、遺伝子発現の変化が寄与していることが示唆された。マウスの脳のトランスクリプトームのデータを参照したところ、mRNA 量の変化と PSD におけ

	未成熟	成熟
数 (密度)	▶ 増加	▶ 若干の減少
形状	細長いスパイン	きのこ型のスパイン
安定性	不安定	安定
PSD の組成	▶	300 弱のタンパク質が 増加または減少
Rho GTPase シグナル	active	inactive

図 2 生後発達期におけるシナプスの変化

シナプスの数はまず増加していき、その後「刈りこみ」により減少する。細長い樹状突起スパインはきのこ型のスパインへと成熟し、それに伴って安定化する。PSD では 300 種類弱のタンパク質がそれぞれ増加または減少し、これに伴ってシナプスの Rho GTPase シグナルが抑制される。(文献 3, 10, 14 を元に著者作成)

るタンパク質量の変化にはおおむね正の相関があることがわかった¹¹⁾。ただし、タンパク質の増減は mRNA の増減から 1 週間ないし数週間程度遅れて生じていることもわかった。このタイムラグは、脳におけるタンパク質代謝速度の遅さ⁷⁾で説明ができると考えられる。

ヒトなどの霊長類の脳は、マウスなどの齧歯類と比べ、大きく発達した脳をもっている。両者の脳の間には、大きさはもちろん、分子、細胞、組織レベルでさまざまな違いが見出されている。シナプスのタンパク質組成についていえば、たとえばグルタミン酸受容体や主要足場タンパク質の量がヒトでは少ない、などの知見が得られている²⁾。筆者らは、生後発達期の PSD 組成の変化について、齧歯類と霊長類でどのような違いがあるかを分析した¹¹⁾。この実験では、霊長類のモデル動物であるコモンマーモセットを使用した。出生直後から成体となる 24 カ月齢までのマーモセットの脳から PSD を抽出し、プロテオーム解析を行ったところ、マーモセットの脳では、マウスで生後 2 週齢以降に生じている変化が出生直後から 2 カ月齢という早い時期に生じていることがわかった。ヒトやマカク猿のトランスクリプトームのデータにおいても、出生前後に mRNA の増減が認められていることから、霊長類では出生から短期間のうちに、マウスの脳で生じるシナプスのタンパク質組成が生じると思われる。これは、哺乳類の脳はタンパク質組成の点ではより「早熟」であることを示唆している。なお、筆者ら

の研究と同時期に、米国の Arnold Kriegstein らのグループもマウス、マカク、ヒトの 3 種で同様の PSD プロテオーム解析を行い、Nature 誌に報告している¹⁶⁾。彼らのデータにおいてもマウスでは発達後期に、ヒトとマカクでは出生前後にシナプスのタンパク質の明確なスイッチングが検出されており、大枠の結論としては筆者らの見解と一致している。

3. プロテオームを軸とした シナプス異常の理解

神経疾患や精神疾患においては、シナプスの異常を伴うものがある。たとえば統合失調症、自閉スペクトラム症 (以下自閉症)、アルツハイマー病については、シナプスの数や形態などの異常が報告されている¹⁴⁾。これらの疾患については、シナプスのタンパク質組成についても、何らかの変化・異常をきたしている可能性が考えられる。統合失調症の患者の死後脳から抽出した PSD においては、カルシウムシグナリングに関するタンパク質の増減がみられており、これがシナプスの機能的な異常に関係している可能性が推測されている⁶⁾。自閉症については、患者の死後脳の PSD プロテオーム解析は筆者の知りうる限りまだ行われていないが、モデルマウスを用いた研究は報告されている。FMRP translational regulator 1 (Fmr1) ノックアウトマウスを含む 5 系統の自閉症モデルマウスの海馬の PSD プロテ

オームを解析した研究では、これらのモデルマウスに Rho GTPase シグナリング関連タンパク質の増減などの共通した異常がみられている⁴⁾。Fmr1 ノックアウトマウスのシナプスでは Rho GTPase シグナルが亢進しており、これが樹状突起スパインの数や形態の異常の要因であることが示されている¹⁵⁾。ことを考慮すると、PSD の組成の変化は自閉症モデルマウスにおけるシナプスのシグナル伝達の異常に関係していることが推測される。

自閉症の脳におけるシナプスは、非常に大雑把に言えば「未成熟」な状態であると解釈することができる。たとえば自閉傾向を伴う脆弱 X 症候群の患者、またはそのモデルマウスである Fmr1 ノックアウトマウスでは、樹状突起スパインの数が多く、形が細長く、安定性が低く、Rho シグナルが亢進していることなどが示されている^{8, 15)} が、これらの特徴はより若い時期のシナプス・樹状突起スパインの特徴に合致している。

筆者らは、自閉症では PSD のタンパク質組成も全体的に「未成熟」な状態にあるのではないかと考えた。自閉症患者の脳組織のトランスクリプトームのデータを参照すると、発達期に増加する PSD タンパク質をコードする遺伝子の発現は減少し、減少する PSD タンパク質をコードする遺伝子の発現は増加していることが示唆された¹¹⁾。すなわち自閉症患者の脳では、PSD のタンパク質組成がより幼若な状態に近い「未成熟」な傾向を示していると推測される。宮川剛らのグループも、自閉症においては海馬歯状回などで遺伝子発現のパターンがより未成熟な傾向にあることを示唆している¹³⁾。今回の分析は遺伝子発現のデータからの推測にすぎないが、もし実際の自閉症患者の PSD においても「未成熟」なタンパク質組成の傾向が認められるのであれば、それは自閉症におけるシナプスの病態を理解するうえで重要な手がかりになると考えられる。

4. おわりに

シナプスには多種多様なタンパク質が局在しており、そのタンパク質組成はシナプスの機能的特徴と密接な関係がある。シナプスに着目したプロテオーム解析は精神疾患などの病態を理解するうえで、さらには治療戦略を考案するうえでも重要であると考えられる。筆者らは発達期に増減する PSD タンパク質をコードする遺伝子群について、その上流転写制御因子の候補を複数同定しているが、それらに影響を与えることで、PSD タンパク質をコードする

遺伝子の発現、ひいては PSD タンパク質の組成を正常に戻すことができる可能性を考えている¹¹⁾。たとえば発現が減少する遺伝子のプロモーター配列に結合する因子 bromodomain containing 4 (BRD4) がある。脆弱 X 症候群のモデルである Fmr1 ノックアウトマウスでは BRD4 タンパク質の発現が上昇しているが、このマウスに BRD4 の阻害薬である JQ1 を投与すると転写プロファイルが回復し、樹状突起スパインの過剰形成と社会行動の異常も回復する¹²⁾。もし JQ1 による樹状突起スパインの正常化に PSD のタンパク質組成の正常化が関与しているとすれば、BRD4 を含む PSD タンパク質遺伝子の上流転写制御因子は、PSD タンパク質の組成の正常化を介してシナプスの異常を解消するという意味で、自閉症の治療における標的になりうると思われる。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Bayés A, van de Lagemaat LN, Collins MO, et al (2011) Characterization of the proteome, diseases and evolution of the human postsynaptic density. *Nat Neurosci*, 14 (1) : 19-21.
- 2) Bayés A, Collins MO, Croning MD, et al (2012) Comparative study of human and mouse postsynaptic proteomes finds high compositional conservation and abundance differences for key synaptic proteins. *PLoS One*, 7 (10) : e46683.
- 3) Berry KP and Nedivi E (2017) Spine dynamics : are they all the same? *Neuron*, 96 (1) : 43-55.
- 4) Carbonell AU, Freire-Cobo C, Deyneko IV, et al (2023) Comparing synaptic proteomes across five mouse models for autism reveals converging molecular similarities including deficits in oxidative phosphorylation and Rho GTPase signaling. *Front Aging Neurosci*, 15 : 1152562.
- 5) Carlin RK, Grab DJ, Cohen RS, et al (1980) Isolation and characterization of postsynaptic densities from various brain regions : enrichment of different types of postsynaptic densities. *J Cell Biol*, 86 (3) : 831-845.
- 6) Föcking M, Lopez LM, English JA, et al (2015) Proteomic and genomic evidence implicates the postsynaptic density in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 20 (4) : 424-432.

- 7) Fornasiero EF, Mandad S, Wildhagen H, et al (2018) Precisely measured protein lifetimes in the mouse brain reveal differences across tissues and subcellular fractions. *Nat Commun*, 9 : 4230.
- 8) Irwin SA, Galvez R and Greenough WT (2000) Dendritic spine structural anomalies in fragile-X mental retardation syndrome. *Cereb Cortex*, 10 (10) : 1038-1044.
- 9) Kaizuka T and Takumi T (2018) Postsynaptic density proteins and their involvement in neurodevelopmental disorders. *J Biochem*, 163 (6) : 447-455.
- 10) Kaizuka T, Hirouchi T, Saneyoshi T, et al (2024) FAM81A is a postsynaptic protein that regulates the condensation of postsynaptic proteins via liquid-liquid phase separation. *PLoS Biol*, 22 (3) : e3002006.
- 11) Kaizuka T, Suzuki T, Kishi N, et al (2024) Remodeling of the postsynaptic proteome in male mice and marmosets during synapse development. *Nat Commun*, 15 (1) : 2496.
- 12) Korb E, Herre M, Zucker-Scharff I, et al (2017) Excess translation of epigenetic regulators contributes to fragile X syndrome and is alleviated by Brd4 inhibition. *Cell*, 170 (6) : 1209-1223.
- 13) Murano T, Hagihara H, Tajinda K, et al (2019) Transcriptomic immaturity inducible by neural hyperexcitation is shared by multiple neuropsychiatric disorders. *Commun Biol*, 2 (1) : 32.
- 14) Penzes P, Cahill ME, Jones KA, et al (2011) Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*, 14 (3) : 285-293.
- 15) Pyronneau A, He Q, Hwang JY, et al (2017) Aberrant Rac1-cofilin signaling mediates defects in dendritic spines, synaptic function, and sensory perception in fragile X syndrome. *Sci Signal*, 10 (504) : eaan0852.
- 16) Wang L, Pang K, Zhou L, et al (2023) A cross-species proteomic map reveals neoteny of human synapse development. *Nature*, 622 (7981) : 112-119.

■ ABSTRACT

Proteomic insights into synaptic maturation and pathophysiology

Takeshi Kaizuka

Centre for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh

Synapses, which mediate communication between neurons, include a diverse array of proteins. Among these, the postsynaptic density (PSD) contains over 1,000 distinct proteins that play crucial roles in maintaining synaptic structure and function. Proteomic analyses using mass spectrometry have contributed to the identification and quantification of PSD-localized proteins. In recent years, research has increasingly focused on elucidating how the protein composition of synapses and the PSD changes under various physiological conditions and in neuropsychiatric disorders, with the aim of advancing our understanding of brain function and disease pathophysiology. This review provides an overview of PSD-localized proteins and discusses changes in PSD protein composition during postnatal development and in neuropsychiatric disorders, incorporating recent findings from the authors. Furthermore, I discuss how these insights could contribute to unraveling the molecular basis of neuropsychiatric disorders and developing novel therapeutic strategies.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 36 (2) : 66-70, 2025)