

【目的】 知的障害は、中枢神経系の発達異常が原因となる疾患で、その有病率は約 1% に達する。知的障害を伴う全身の発達障害の一つに Kaufman oculocerebrofacial syndrome (KOS) があり、ユビキチン化を触媒する E3 リガーゼ遺伝子 *Ube3B* がその原因遺伝子として報告されている。しかしながら、神経細胞での *Ube3B* の機能は不明な点が多い。我々はすでに脳特異的 *Ube3B* 条件付き欠損マウス (*Ube3BbcKO*) を作製した。*Ube3BbcKO* の海馬神経細胞ではシナプス後部が含まれるスパインの数が増加し、スパインヘッドが拡大していた。この結果から、*Ube3B* はスパイン数を減少させてスパインヘッドを縮小させる機能を持つと結論した (下図)。KOS では、スパインを介したシナプス伝達に異常がある可能性が考えられたが、神経細胞での *Ube3B* の機能と KOS の発症機構は十分に明らかになっていない。本研究では、*Ube3B* を介したユビキチン化によるスパイン形成の制御機構を超解像 STED 顕微鏡によって解明する方法の開発を目的とする。

【方法】 本研究が始まる前に、すでに *Ube3B* の基質としてカルシウム・カルモジュリン依存的セリン/スレオニン脱リン酸化酵素 Calcineurin の触媒サブユニットである Ppp3cc を同定していた。しかしながら、そのユビキチン化の生理学的性状解析は不十分であった。本研究では、超解像 STED 顕微鏡を用いて *Ube3B* による Ppp3cc のユビキチン化の生理的意義を明らかにするための手法を立ち上げた。

【結果】 生化学的に *Ube3B* が Ppp3cc に対してプロテアソームに認識されるタイプのポリユビキチン鎖 (K48 鎖) を融合することが明らかになった。この結果から *Ube3B bcKO* の神経細胞では Ppp3cc が分解されないために、その発現量が増加してスパイン数の増加とスパインヘッドの拡大につながる可能性が考えられた。この可能性を検討するために野生型神経細胞にリコンビナントの Ppp3cc を過剰発現させたところ、*Ube3BbcKO* と同様の表現型を示した。この結果を形態学的に詳細に解析する目的で、超解像 STED 顕微鏡を用いてスパインと細胞骨格を観察する実験系を立ち上げることに成功した。本研究で使った超解像 STED 顕微鏡を応用して、神経細胞内の細胞骨格の形態を観察したところ、すでに報告されているように F-アクチンと微小管の微細形態を観察することができた。さらに脳組織内でも細胞骨格の微細形態を観察することに成功した。今後はこれらの手法を *Ube3B bcKO* の解析に使って *Ube3B* と Calcineurin の活性がどのように細胞骨格を制御してスパインと樹状突起の形態形成を制御するか解析していきたい。

Ube3B によるスパイン数とスパイン形態の制御機構

