

神経機能制御における小胞膜輸送システムの関与
Molecular mechanisms for neuronal function
via vesicular trafficking

白根 道子 (SHIRANE MICHIKO)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授



研究の概要

小胞輸送は、膜小胞に特異的な分子を積載し選択的な細胞内輸送を行うシステムである。神経細胞は特殊な形態を形成し特殊な小胞分泌を行うため特殊な輸送システムが存在すると考えられるが、その詳細な機構には未解明な部分が多い。神経突起が形成される際には、細胞膜成分を取り込み、集め、限定方向へ送り出す、膜のリサイクリング機構が促進されるが、われわれはその制御分子の同定と機能解析とにより、神経突起形成に重要な小胞輸送システムの分子機構を明らかにした。さらにそのシステムは、他の神経機能制御にも関与していることが示唆されている。本研究では、神経機能調節における小胞輸送システムの関与について詳細な分子機構を解明し、神経疾患との関連を解明することを目指す。

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：分子・細胞神経科学

1. 研究開始当初の背景

われわれが発見したプロトルーディン（遺伝子名：zfyve27）は、神経細胞内で Rab11 依存的リサイクリングエンドソーム輸送を制御する膜タンパク質である [Shirane and Nakayama, Science, 2006]。また、遺伝性痙性対麻痺（HSP）の患者家系でプロトルーディンの遺伝子変異が報告され、プロトルーディンが神経機能維持に重要であることが示唆されている。HSP の原因遺伝子 (SPG) が多数同定されており、プロトルーディンは SPG33 である。HSP は、細胞内小胞輸送の異常により長い軸索を有する神経細胞、すなわち皮質脊髄路の運動神経が変性する進行性の神経疾患であるが、近年、精神遅滞・痴呆などを伴う HSP の報告が増えつつあり、高次脳機能への関与が示唆されている。

2. 研究の目的

神経機能調節における小胞輸送システムの関与について詳細な分子機構を解明し、神経疾患との関連を解明することを目指す。特に、神経発生、神経機能調節における小胞輸送の関与およびその機構を明らかにする。特に神経細胞の分化、移動、構築、機能制御

に焦点を当て、“FKBP38-プロトルーディン複合体”による制御機構を解明する。それらの機構のヒトの二分脊椎などの神経形成不全や遺伝性痙性対麻痺などの神経疾患の病因への関与を解明し、治療への応用を目指す。

3. 研究の方法

- (1) FKBP38 ノックアウトマウス (KO) を用い、プロテオミクスにより発現変化解析を行い、神経管形成との関連を調べる。また、初代神経培養や組織解剖により、神経外胚葉由来細胞の移動や構築の分子変化を解析する。
- (2) FKBP38KO を用い、FKBP38 とプロトルーディンの制御関係を明らかにする。
- (3) マウス脳組織を用い、プロトルーディン結合脂質を同定し、神経機能への関与を解析する。
- (4) プロトルーディン KO マウス神経細胞における小胞輸送や脂質分布や電気生理学的異常、神経疾患の発症について解析する。
- (5) プロトルーディンのトランスジェニックマウス (Tg) を作製し、Protrudin 複合体解析を行い、神経機能調節における関与を解析する。
- (6) プロトルーディン KO マウスを用い、Rab11 依存的な小胞輸送制御機構と神経機能との関係を明らかにする。特にシナプス制御について解析し、高次脳機能との関係を調べる。

4. これまでの成果

神経における Rab11 依存的リサイクリングエンドソームの機能として、軸索輸送の他に神経シナプス後部の樹状突起スパイン内における AMPA 受容体の輸送調節が知られており、高次脳機能と直接関連する機構として近年注目されている。プロトルーディンは脂質結合モチーフである FYVE ドメインを有しているが、われわれはプロトルーディンの結合脂質として硫酸化糖脂質のスルファチドを発見した。スルファチド欠損マウスも神経麻痺を呈することが報告されている。そしてプロトルーディンとスルファチドの結合が樹状突起スパインにおける小胞輸送システムに重要であることを見いだした。さらに、樹状突起スパインにおけるプロトルーディン・Rab11・スルファチドによる小胞輸送の分子機構と生理的役割について詳細に解析した結果、それらの結合により、LTP シグナル依存的に樹状突起スパインの成熟と AMPA 受容体の輸送が促進されることが明らかになった。その機構に、PKA シグナルが関与していることがわかった。また、プロトルーディン K0 マウスでは LTP の減弱が見られた。

Spastin (=SPG4), Atlastin (=SPG3A), REEP1 (=SPG31) は、HSP の 50% 以上で変異が同定されている 3 大原因遺伝子であるが、最近 3 つに共通する分子メカニズムが報告された。すなわちいずれも ER 膜を湾曲させる作用を有し (membrane curvature)、チューブ状 ER 形成に寄与している。そして、HSP の原因が脂質二重膜の曲率調節に由来する ER 膜構造と深く関与していることが示唆された。本研究により、プロトルーディンは、Spastin、Atlastin と結合する膜タンパク質であることが確認され、さらに、膜トポロジー解析によりプロトルーディン自身も membrane curvature であることが示唆され、HSP の原因解明への手掛かりがつかめた。

5. 今後の計画

現在、プロトルーディンと高次脳機能との関係を解析しており、プロトルーディンノックアウトマウスで LTP の減弱が見られている。さらに LTP シグナル依存的な輸送制御機構が解明されつつある。そこでは細胞内膜系の制御が重要であることが示唆されている。今後、細胞内膜系調節による高次脳機能制御に焦点を当て、神経疾患、精神疾患の原因解明と治療への応用へ繋げていきたい。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

〔発表論文〕

- ① Shirane, M., Ogawa, M., Motoyama, J., Nakayama, K. I.: Regulation of apoptosis and neurite extension by FKBP38 is required for neural tube formation in the mouse. *Genes Cells.*, 13:635-651 (2008) 査読有
- ② Saita S., Shirane M., Natsume T., Iemura S., Nakayama K. I.: Promotion of Neurite Extension by Protrudin Requires Its Interaction with Vesicle-associated Membrane Protein-associated Protein. *J. Biol. Chem.*, 284: 13766-13777 (2009) 査読有
- ③ 白根道子:「リサイクリング小胞輸送による神経突起形成の機構」蛋白質核酸酵素増刊号 メンブレントラフィックの奔流 53: 2202-2206 (2008) 査読無
- ④ 白根道子:「FKBP38 と相互作用するタンパク」生体の科学59: 548-552 (2008) 査読無

〔学会発表〕

- ① Shirane, M. and Nakayama, I.: Protrudin regulates Rab11-dependent synaptic function via interaction with sphingolipid, Hot Spring Harbor Symposium (2010、福岡)
- ② 白根道子、プロトルーディン変異マウスにおける神経疾患と小胞輸送との関連、G 蛋白質シグナル公開シンポジウム (2009、福岡)
- ③ Shirane, M. and Nakayama, I.: Mice deficient in protrudin display spastic paraplegia: implications for neuron-glia interaction via sphingolipid binding, Neuro 2009 (2009、名古屋)
- ④ 白根道子、脂質のトラフィックによる神経機能制御、メンブレントラフィック・細胞内ロジスティクスシンポジウム (2009、東京)
- ⑤ Shirane, M.: Protrudin Interacts with Rab11-GDP and Induces Neurite Formation by Directional Membrane Trafficking, NAIST-GCOE International Symposium (2008、奈良)

〔受賞〕

第6回日本学術振興会賞 受賞 (2010)

ホームページ等

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/saibou/index.html>