



## フロンティアと超解像観察を用いた神経成長・再生の分子機構の解明



研究者所属・職名：  
医歯学系（医学部）・教授

ふりがな いがらし みちひろ

氏名：五十嵐 道弘

主な採択課題：

- [基盤研究\(A\)「成長円錐のフロンティアで同定された分子の超解像観察による神経成長の包括的解析」\(2018-2020\)](#)
- [特定領域研究「成長円錐のシナプス形成に関与するCaセンサーの探索と機能解析」\(2005-2009\)](#)
- [基盤研究\(A\)「成長円錐の新規分子マーカー群及び関連分子の機能・動態解析」\(2010-2013\)](#)

分野：神経科学一般、医化学関連

キーワード：成長円錐、タンパク質リン酸化、フロンティア、超解像度顕微鏡、コンドロイチン硫酸

### 課題

- **なぜこの研究をおこなったのか？（研究の背景・目的）**

脳は遺伝子の働きで出生時すでに神経細胞同士のネットワークとして自動的に形成されているが、学習などによってそのネットワークを変える性質を持つ（可塑性）。また脳が損傷、病気でダメージを受けた場合に、修復が行われるがその際にもネットワークは再編される。それらの機構を明らかにするために、成長円錐という、発達期の神経突起（軸索）の先端に形成される運動性に富んだ構造に着目し、ネットワークを作る役割を制御するタンパク質とその働きを見出す研究を行った。

- **研究するにあたっての苦労や工夫（研究の手法）**

哺乳動物脳は神経系のネットワーク発生の研究が主に行われていた線虫やショウジョウバエ、といった無脊椎動物の、シンプルな神経系とは違って、複雑であり関係するタンパク質も多いことが想定される。これを解明するため、包括的にタンパク質を同定するフロンティアの手法を導入することにした。またこの方法で見出した分子群の役割を解析する細胞内イメージングを行ったが、分子が密在して解析が困難だったため、通常の光学顕微鏡より解像力の優れた、超解像度顕微鏡観察を導入した。

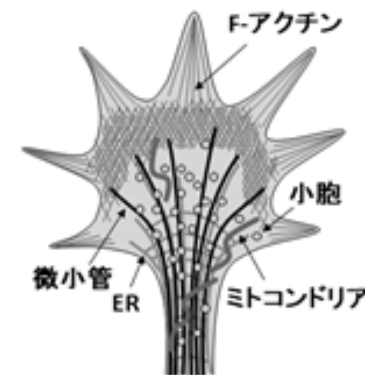


図1 成長円錐のイメージ図



## プロテオミクスと超解像観察を用いた神経成長・再生の分子機構の解明

### 研究成果

#### ●どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

- 1) 成長円錐のプロテオミクスを行い、遺伝子不活化などを組み合わせることで、神経成長に必須の分子群を新たに20種類程度、発見できた。これらは線虫、ショウジョウバエの研究では神経成長との関連が見つからなかった分子群である (PNAS '09)。
- 2) 成長円錐の働きを強く抑制する分子であるコンドロイチン硫酸を合成するのに必要な酵素を欠損させたマウスでは、神経成長（軸索再生）が格段に高まり、神経成長を促進する分子が発現することを見出した (Nature Commun '13)。
- 3) 成長円錐のプロテオミクスで多量に存在することが分かったGPM6aというタンパク質が、脂質ラフトという特別な膜ドメインに存在する時だけ、成長円錐の形成を促進する機構（極性形成）が細胞外からの刺激を受けて、細胞内にあるシグナル伝達分子（細胞外からの刺激に応答するタンパク質）を集合させて生ずることを明らかにした (J Neurosci '17; JBC '17)。
- 4) 成長円錐のプロテオミクスで見出した分子シフトフィジンが、細胞内でアクチン繊維の動きと連動して細胞内に取り込まれ、神経の成長に必須の2つの要素、すなわち膜面積の拡大と細胞骨格の重合をリンクさせる現象であることを、超解像観察によって世界で初めて見出した。またアクチン繊維の一部は3次的に分布することを見出した (Cell Rep '17, J Neurosci '18)。
- 5) タンパク質が情報を伝えて作動する際に起こる最重要の構造変化であるリン酸化を、成長円錐のリン酸化プロテオミクスで見出し、主要なリン酸化が神経成長や再生でも必ず起こっていることを証明した。このリン酸化はJNKという、これまでは細胞死に関するプロテインキナーゼとして知られた分子を介して生じていた。またこれらの大部分は、線虫やショウジョウバエなどでは見出されないものであることをバイオインフォマティクスという情報科学の技術で証明した (iScience '18; Mol Brain '19)。

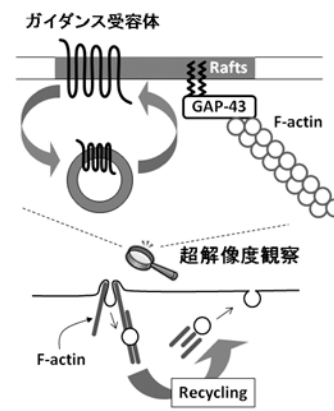


図2 新しく見出した分子機構を取り入れた成長円錐機能のモデル

### 今後の展望

#### ●今後の展望・期待される効果

脳の形成機構である成長円錐を制御することによって、脳を作るメカニズムの解明はもちろんのこと、ダメージを受けた脳を効率的に修復する手段が見出される可能性がある。プロテオミクス、リン酸化プロテオミクスで見出されたタンパク質群は、これまで神経系での役割が解明されていないものが多く、新しい働きを解析したい（例えばJNK活性の制御など）。また超解像観察によって、これら分子群の動態も明確化できたので、これら新技術を両輪として、神経成長の現象を包括的に解明していきたい。

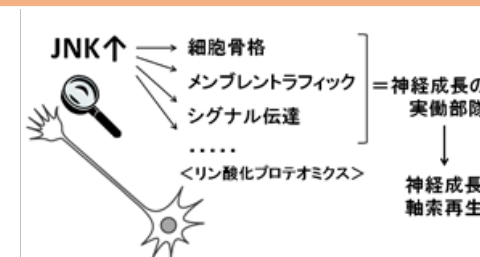


図3 JNKの制御による神経成長・再生機構