

令和元年5月23日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07056

研究課題名(和文) 軸索、樹状突起における物流(選択的小胞輸送)機構

研究課題名(英文) The mechanism of axon-dendrite logistics (selective trafficking)

研究代表者

小倉 顕一 (Ogura, Ken-ichi)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：20326028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：神経細胞は、細胞体、出力を担う軸索、入力を担う樹状突起の3つの異なる領域からなる。軸索、樹状突起には、それぞれ、細胞体からの選択的輸送システムがあり、各構成分子が異なる。この選択的輸送システムは、神経細胞の機能上重要であるが、その分子機構はほとんど明らかとなっていない。私は、モデル生物である線虫*C. elegans*において、UNC-51(進化的に保存されたセリン/スレオニンキナーゼ)およびその結合分子UNC-14(RUNドメインを含むタンパク質)が、神経細胞の極性形成因子UNC-33/CRMP2の軸索特異的輸送に重要であることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経細胞の軸索と樹状突起における選択的輸送機構は、ほとんどわかっていない。私はUNC-51およびその結合分子UNC-14が、神経細胞の極性形成因子UNC-33/CRMP2の軸索特異的輸送に重要であることを見出した。これは、学術的意義が大きい。

一方、UNC-51は、神経軸索の再生に必要であるとともに、ヒト相同分子ULK4は、統合失調症の原因遺伝子である。軸索再生機構には不明の点が多く、また、統合失調症の発症機構はほとんどわかっていない。本研究成果から、軸索再生、及び、統合失調症と物流との機能関連の発見、臨床応用への礎となることが期待される。これは、社会的意義が大きい。

研究成果の概要(英文)： A neural cell contains one cell body, one axon (for output) and dendrites (for input). The structural and functional differences are constructed by axon-dendrite selective trafficking at the neural cell body. The axon-dendrite selective trafficking is quite important for neural function. However, the molecular mechanisms are poorly understood.

I found that UNC-51 (an evolutionally conserved ser/thr kinase) and its binding partner UNC-14 (a RUN domain protein) were required for axon specific trafficking of UNC-33/CRMP2 that is important for neural polarity.

研究分野：分子神経生物学

キーワード：C. elegans 軸索 樹状突起 選択的輸送 極性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経細胞はその形態上、細胞体、軸索、樹状突起の3つの異なる領域からなる。軸索は、比較的長い通常1本の神経突起からなり、出力を担う。樹状突起は、比較的短いが分岐を伴う多くの神経突起からなり、入力を担う。軸索と樹状突起は、その領域の違いのみならず、細胞内分子輸送において高度に選択性を持つ。例えば、軸索には、出力を担うためのプレシナプス構成分子、神経伝達分子などが選択的に輸送される。一方、樹状突起には、入力を担うポストシナプス構成分子、神経伝達分子受容体などが選択的に輸送される。これらの分子は神経細胞の機能上、重要な役割を担うことから、軸索、樹状突起への選択的な分子輸送は、神経細胞の機能上極めて重要であると言える。これらの分子輸送は、神経細胞体にあるゴルジ体からの物流（選択的小胞輸送）機構により制御されることが知られるが、その分子機構はほとんど明らかとなっていない (Lasiecka and Winckler, 2011)。我々は、軸索、樹状突起における物流機構を明らかにする目的で、線虫 *C. elegans* の PVD 神経細胞において、本来、軸索に選択的に輸送されるシナプス小胞前駆体の局在に異常を持つ変異体のスクリーニングを行った。その結果、*unc-51* 変異体において、シナプス小胞前駆体の局在が異常となることを発見した (*unc-51*、小倉ら未発表)。 *unc-51* 変異体では、本来、軸索に選択的に輸送されるシナプス小胞前駆体が、樹状突起にも輸送される。

UNC-51 は酵母からヒトまで、進化的に保存されたセリン/スレオニンキナーゼであり (Ogura et al., 1994) 細胞内小胞輸送を制御することが報告されている (Ogura et al., 2006)。UNC-51 は、神経軸索の再生に必要であることが知られており (Chen et al., 2011)、ヒト相同分子 ULK4 は、統合失調症の原因遺伝子として報告されている (Lang et al., 2014)。しかしながら、シナプス小胞前駆体の物流（選択的小胞輸送）に関する報告例はなく、UNC-51 の分子機能もよくわかっていない。細胞自律性解析の結果、UNC-51 は PDV 神経細胞内で機能することがわかった。

UNC-51 には結合分子として UNC-14 (RUN ドメインタンパク質) が知られており (Ogura et al., 1997)、*unc-14* 変異体においても、*unc-51* 変異体と同様のシナプス小胞前駆体の局在異常を発見した。一方、UNC-51 の機能を調べる目的で、新たに結合分子を同定したところ、進化的に保存された UNC-73 を同定した。UNC-73 は、低分子 G タンパク質 Rac の活性化因子であり (Steven et al., 1998) Rac はアクチンの脱重合を制御することが知られる。我々は、Rac の活性化能のない *unc-73* 変異体において、*unc-51* 変異体と同様のシナプス小胞前駆体の局在異常を発見した。加えて、*unc-51*、*unc-14*、*unc-73* 遺伝子間において、遺伝的相互作用を見出した。これらの結果は、UNC-51 とその結合分子 UNC-14、UNC-73 が協調して、Rac を介して、シナプス小胞前駆体の局在を制御していることを示唆する (小倉ら未発表)。

シナプス小胞前駆体は、神経細胞体でゴルジ体から小胞として放出された後、進化的に保存されたキネシンモーター分子である UNC-104/KIF1A に特異的に結合し、軸索へ輸送され、最終的にシナプスに運搬される (Hirokawa and Takemura, 2005)。すなわち、*unc-104* 変異体の PVD 神経細胞では、シナプス小胞前駆体はシナプスのある軸索に運ばれず、細胞体に留まる (樹状突起にも運ばれない)。神経細胞内には多種多様のモーター分子があるが、なぜ、シナプス小胞前駆体が UNC-104/KIF1A によって特異的に輸送されるのか、その分子機構はわかっていない。

UNC-51、UNC-14、UNC-73 とキネシンモーター分子 UNC-104/KIF1A との機能関連を調べる目的で、各2重変異体 *unc-51; unc-104*、*unc-14; unc-104*、*unc-73; unc-104* におけるシナプス小胞前駆体の局在を調べた。その結果、これらの2重変異体でもシナプス小胞前駆体が、樹状突起に異常に輸送されることがわかった。これらの結果は、*unc-51*、*unc-14*、*unc-73* 変異体では、

シナプス小胞前駆体が、UNC-104/KIF1A ではなく、未知の樹状突起選択的モーター分子により、樹状突起にも輸送されていることを示す。総合すると、UNC-51 とその結合分子 UNC-14、UNC-73 は協調して、低分子 G タンパク質 Rac を介して、(アクチン制御により?)シナプス小胞前駆体の樹状突起への輸送を、抑制していることを示す(小倉ら未発表)。しかしながら、UNC-104/KIF1A を含めて、これらの分子の、シナプス小胞前駆体の物流における役割はよくわかっていない。

引用文献 : Lang et al., J. Cell Sci. 127:630-640(2014). Chen et al., Neuron 71:1043-1057(2011). Lasiecka and Winckler, Mol. Cell Neurosci. 48:278-287(2011). Ogura et al., Development 133:3441-3450(2006). Hirokawa and Takemura, Nat. Rev. Neurosci. 6:201-214(2005). Steven et al., Cell 92:785-795(1998). Ogura et al., Genes Dev. 11:1801-1811(1997). Ogura et al., Genes Dev. 8:2389-4000(1994).

2 . 研究の目的

神経細胞は、細胞体、出力を担う軸索、入力を担う樹状突起の3つの異なる領域からなる。軸索、樹状突起には、それぞれ、細胞体からの物流(選択的小胞輸送)システムがあり、各構成分子が異なる。この物流システムは、神経細胞の機能上重要であるが、その分子機構はほとんど明らかとなっていない。我々は、モデル生物である線虫 *C. elegans* において、UNC-51 (進化的に保存されたセリン/スレオニンキナーゼ)およびその結合分子が、シナプス小胞前駆体の物流に重要であることを発見した。本研究では、遺伝的、細胞生物学的研究に適した線虫 *C. elegans* を用いて、軸索、樹状突起における物流(選択的小胞輸送)機構を明らかにする。この物流機構はほとんど明らかとなっていないことから、本研究から、今までにない新規発見が期待できる。

3 . 研究の方法

軸索、樹状突起における物流(選択的小胞輸送)機構を解明するため、遺伝的、細胞生物学的、生化学的手法を用いて、シナプス小胞前駆体の物流における、UNC-51、UNC-14、UNC-73、Rac、UNC-104 の役割を明らかにする。一方、軸索、樹状突起における物流機構の全貌を解明するため、これらの物流に異常を持つ変異体を網羅的に分離し、原因遺伝子を同定する。

4 . 研究成果

神経細胞は、細胞体、出力を担う軸索、入力を担う樹状突起の3つの異なる領域からなる。軸索、樹状突起には、それぞれ、細胞体からの選択的輸送システムがあり、各構成分子が異なる。この選択的輸送システムは、神経細胞の機能上重要であるが、その分子機構はほとんど明らかとなっていない。私は、モデル生物である線虫 *C. elegans* において、UNC-51 (進化的に保存されたセリン/スレオニンキナーゼ)およびその結合分子 UNC-14 (RUN ドメインを含むタンパク質)が、神経細胞の極性形成因子 UNC-33/CRMP2 の軸索特異的輸送に重要であることを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 6件)

20nd International C. elegans Conference (2015)

Ken-ichi Ogura (発表者) and Yoshio Goshima

A conserved ser/thr kinase UNC-51 and its binding partners are required for axon-dendrite logistics (selective trafficking) in *Caenorhabditis elegans*.

第38回日本分子生物学会年会(2015年)

小倉顕一(発表者) 五嶋良郎

線虫 *C. elegans* において、オートファジー関連キナーゼである UNC-51 とその結合分子は軸索と樹状突起における物流(選択的輸送)を制御する。

第39回日本分子生物学会年会(2016年)

小倉顕一(発表者)

C. elegans の UNC-51 (autophagy related ser/thr kinase) とその結合分子 UNC-14 (RUN domain protein)、UNC-73 (Rac GEF) は、軸索・樹状突起の極性形成および選択的輸送に必要である。

21nd International C. elegans Conference (2017)

Ken-ichi Ogura (発表者)

A conserved ser/thr kinase UNC-51 and its binding partner UNC-14 are required for axon-dendrite polarity in *Caenorhabditis elegans*.

第40回日本分子生物学会年会(2017年)

小倉顕一(発表者)

C. elegans の UNC-51 (ser/thr kinase) とその結合分子 UNC-14 (RUN domain protein) は、UNC-33/CRMP の細胞内局在を制御することにより軸索・樹状突起の極性形成を制御する。

第41回日本分子生物学会年会(2018年)

小倉顕一(発表者)

C. elegans における軸索・樹状突起の極性形成および選択的輸送機構

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。