

令和 4 年 10 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06372

研究課題名(和文)キネシンモーター分子群による脳神経機能および発生の制御の統合的研究

研究課題名(英文)Integrated studies of regulation of neuronal function and development by kinesin superfamily motors, KIFs

研究代表者

廣川 信隆 (HIROKAWA, Nobutaka)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任教授

研究者番号：20010085

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 145,900,000円

研究成果の概要(和文)：モーター分子群Kinesin superfamily (KIF)に関連し(1)作動及びカーゴ輸送のリン酸化による制御機構(2)KIF2AとKIF19Aの微小管脱重合機構(3)KIF21Bの記憶素過程と障害による心的外傷ストレスでの役割(4)KIF3Bの神経可塑性での役割と関連精神疾患の機構(5)視覚野臨界期神経可塑性とKIFsの機能(6)記憶想起過程のKIF17の機能(7)KIF1Aの痛覚制御と欠損時痛覚低下の機構(8)KIF26の痛覚制御と欠損時痛覚過敏の機構(9)KIF2Aの脳形成とその障害による小脳症・癲癇の機構(10)KIF3Bの形態形成因子勾配形成での役割を解明。

研究成果の学術的意義や社会的意義

KIFは、神経細胞を始め全ての細胞で細胞内輸送及び、細胞の形作りに基本的な役割を果たす。本研究は、KIFsの機能の特にリン酸化による制御、KIFによる脳の高次機能及び神経機能の制御と関連疾患、及びKIFによる発生制御と関連疾患について大きな成果を上げその学術的及び社会的意義は非常に大きい。

研究成果の概要(英文)：This project studied and elucidated following mechanisms, fundamental for the life. (1) KIFs' function and regulation. regulation of motility and transportation of cargoes by phosphorylation. microtubule depolymerization and motility by KIF2A and KIF19A. (2) Regulation of synaptic plasticity and neuronal function. a) regulation of synaptic plasticity and fear conditioning by KIF21B. b) regulation of synaptic plasticity and defect of its loss by KIF3B. c) regulation of synaptic plasticity in visual system by KIFs. d) KIF17's function during memory retrieval process. a) KIF1A's function for pain sensation. b) KIF26A's function for regulation of pain response. (3) Regulation of development. regulation of brain wiring by KIF2A and its defect. KIF3B's new function for regulation of development.

研究分野：細胞生物学、神経科学

キーワード：分子モーター 細胞内輸送 微小管 神経機能

1. 研究開始当初の背景

私達の体を構成する神経細胞を始め全ての細胞は、細胞の働きにとり必須な機能蛋白分子を合成後、多種類の膜小器官、蛋白複合体、さらには mRNA 蛋白複合体として細胞内の目的地へ適正な速度で輸送する。この細胞内の輸送は、細胞の機能、形作り、そして生存の為に必須である。私達は、今まで KIFs 遺伝子群の発見、機能の解析、個体レベルの機能解析、作動原理の解析などすべての課題について常に世界をリードする研究を行ってきた。しかしながらまだ機能が解明されていない重要な KIFs が存在し、KIFs の制御機構、KIFs の脳神経機能及び発生の制御等の個体レベルでの新たな機能、KIFs の障害と関連疾患を含む多くの解明すべき課題が存在する。本研究は、下記にあげる未知の課題について世界に先駆けて研究を一層大きく発展させる事を目的とする。

2. 研究の目的

(1) KIFs の機能とその制御機構の解明

KIFs の作動及びカーゴ輸送におけるリン酸化による制御機構の解明。

微小管脱重合能のある KIF2A と KIF19A による微小管脱重合機構の解明

(2) KIFs の神経可塑性、記憶・学習等高次機能、及び神経機能の制御機構の解明

a) KIF21B の記憶の素過程及びその障害による心的外傷ストレス (PTSD) における役割

b) KIF3B の神経可塑性における役割と、その障害による自閉症様症状発症のメカニズムの解明

c) 視覚野の臨界期神経可塑性と KIFs の機能の解明

d) 記憶想起過程における KIF17 の機能の解明

a) KIF1A の疼痛 signal coupling における機能と其の欠損による痛覚低下の分子機構の解明

b) KIF26 の疼痛持続期間制御における機能と其の欠損による痛覚過敏の分子機構の解明

(3) KIFs による発生制御の分子機構の解明

KIF2A の胎児期及び出生後の脳形成及びその障害による小脳症と癲癇の分子機構の解明

KIF3B の形態形成因子 (Morphogen) 勾配形成における新しい役割の解明

3. 研究の方法

上記の課題を解明する為、分子細胞生物学、分子遺伝学、生物物理学、X 線結晶解析学、クライオ電子顕微鏡等を駆使した。

4. 研究成果

(1) KIFs の機能とその制御機構の解明

KIF5 とその軽鎖 (KLC) について、リン酸化部位、責任キナーゼ同定し、全リン酸化地図を作成した。リン酸化依存的に輸送するカーゴを同定した。(Ogawa et al. in preparation) KIF3/KAP3 が MARK キナーゼによりリン酸化制御され、TRIM46 の輸送により軸索起始部の形成する事を解明した。(Ichinose et. al. Cell Rep in revision)

KIF2A の微小管脱重合機構の解明

ATP を加水分解する各段階の ATP アナログを使用して、ゲルろ過法・超遠心分析・光散乱法・X 線結晶解析等を融合し KIF2-Tubulin 複合体の分子量・複合体の変化を解析し、KIF2 の ATP 加水分解による効率的な微小管の脱重合機構を解明した。(Ogawa et al. Cell Rep20:2326-2638, 2017; Ogawa and Hirokawa, Biophys Rev.10:299-306, 2017)

(2) KIFs の記憶・学習等の高次機能、及び神経機能の制御機構の解明

a) KIF21B を欠失したマウスは、恐怖記憶の消去が異常で、LTD が障害され、NMDA 受容体を介したカスケードに異常が見られた。この解析によりシナプス可塑性の新しい分子機構が解明され、PTSD 等の難治性精神疾患治療の道が開かれた。(Morikawa, Mo. et al. Cell Rep 23: 3864-3877, 2018)

b) KIF3 のヘテロ接合体で統合失調症の表現型及び長期増強と長期抑圧に異常が見られた。KIF3 は、NR2A を特異的に輸送し、その神経可塑性で重要な役割を果たしその障害が統合失調症の病態と深く関連する事を解明した。(Alsabban A. and Morikawa M. et al. EMBO J. in revision)

c) 臨界期中の暗黒飼育によって視覚野内の神経活動は減衰し、その後の明環境刺激によって神経活動が元の状態に回復した。同時に KIF5A と GluR1 が特異的に発現量を下げ、光刺激により発現量が回復し、KIF5A が臨界期中の神経可塑性にとり重要な役割を担う事を解明した。(Iwata, S. et al. in preparation)

d) 記憶想起の際、神経活動によりユビキチン・プロテアソーム系による KIF17 の分解が postsynaptic density 内で起こり、樹状突起シャフト内で KIF17 3' UTR 領域を要する局所翻訳により発現量が回復するという KIF17 の新しい機能が解明された。(Iwata, S. et al. in preparation)

a) KIF1A のヘテロ KO マウスの行動解析により、顕著な温痛覚の障害を認め、KIF1A が NGF

受容体 TrkA を輸送し PI3K シグナリングを増強する事により、温痛覚を感受する一次感覚神経細胞の生存と機能に必須である事を解明した。(Tanaka et al. Neuron90:1215-1229, 2016)

b) KIF26A 欠失マウスは、痛覚過敏の症状を示した。SFK/FAK シグナル伝達の亢進による PMCA の不活性化が、疼痛遷延の主要因と考えられ、KIF26A が接着斑キナーゼ(FAK)を末梢感覚神経細胞の深部に係留し、細胞表層の Src ファミリーキナーゼ(SFK)から FAK へのシグナル伝達を阻害し、神経細胞の興奮性にかかわる細胞内 Ca⁺⁺の排出を脱抑制し、疼痛の持続時間を一定の範囲に短縮する事を解明した。(Wang, L. et al. Cell Rep 24: 2894-2907, 2018)

(3)KIFs による発生制御の分子機構の解明

KIF2A が生後の海馬で、歯状回顆粒細胞の軸索の側枝抑制だけでなく、樹状突起の側枝伸長も抑制、海馬の回路形成に重要である事を解明した。生後に KIF2A を欠損した顆粒細胞は、異常に分岐伸長した軸索及び、細胞体から異常伸展した軸索様の突起を、多数形成し異常な神経回路を形成した。この為、海馬に異常な回帰性神経回路が形成され重篤な癲癇発作を呈する機構を解明した。(Homma et al. eLife 7:e30935, 2018)

KIF3B の欠損による多指症を焦点に Shh の勾配形成における KIF3 の役割を解明した。KIF3B 欠損マウスでは Talpid3 の発現が低下し KIF3B は Talpid3 を輸送し、Shh の濃度勾配形成を通して体肢原基の発生を制御する事を解明した。(Wang, S. et al. Dev. Cell 2022)

(4) 予期せぬ新しい成果

KIF1B beta hetero マウスと新しい CMT2A1, kif1b beta Y1087C mutation 患者家系の解析により KIF1B beta の新しいカーゴ、IGFR を同定し、CMT2A1 の病態生理を解明した。(Xu, F. et al. J Cell Biol 217: 3480-3496, 2018)

一分子生物物理、X-ray fiber diffraction, fluorescence speckle microscopy, と cryoEM を組み合わせ、KIF5 が GDP 微小管に結合する事により GDP 微小管 が GTP 微小管様に構造変化し、KIF5 との結合が促進され、これが方向性輸送の強い分子基盤である事を解明した。(Shima, T. et al. J Cell Biol 217: 4164-4183, 2018)

<引用文献>

1. Tanaka, Y., S. Niwa, M. Dong, A. Farkhondeh, L. Wang, R. Zhou, and N. Hirokawa. The molecular motor KIF1A transports the TrkA neurotrophin receptor and is essential for sensory neuron survival and function. Neuron 90: 1215-1229, 2016.
2. Wang, D., R. Nitta, M. Morikawa, H. Yajima, S. Inoue, H. Shigematsu, M. Kikkawa, and N. Hirokawa. Motility and microtubule depolymerization mechanisms of the kinesin-8 motor, KIF19A. eLife <https://elifesciences.org/content/5/e18101> 2016.
3. Niwa, S., DM. Lipton, Ma. Morikawa, Zhao C., N. Hirokawa, H. Lu, and K. Shen. Autoinhibition of a neuronal kinesin UNC-104/KIF1A regulates the size and density of synapses. Cell Rep 16: 2129-2141, 2016.
4. Ogawa, T., S. Saijo, N. Shimizu, X. Jiang, and N. Hirokawa. Mechanism of Catalytic Microtubule Depolymerization via KIF2-Tubulin Transitional Conformation. Cell Rep 20: 2626-2638, 2017.
5. Ogawa, T. and N. Hirokawa. Multiple analyses of protein dynamics in solution. Biophys Rev 10: 299-306, 2018.
6. Homma, N., R. Zhou, M. I. Naseer, A. G Chaudhary, M. H Al-Qahtani, and N. Hirokawa. KIF2A regulates the development of dentate granule cells and postnatal hippocampal wiring. eLife 2018;7:e30935.
7. Wang, L., Y. Tanaka, D. Wang, M. Morikawa, R. Zhou, N. Homma, Y. Miyamoto, and N. Hirokawa. The atypical kinesin KIF26A facilitates termination of nociceptive responses by sequestering focal adhesion kinase. Cell Rep 24: 2894-2907, 2018.
8. Morikawa, Mo., Y. Tanaka, H-S. Cho, M. Yoshihara, and N. Hirokawa. The molecular motor KIF21B mediates synaptic plasticity and fear extinction by terminating Rac1 activation. Cell Rep 23: 3864-3877, 2018.
9. Fang, Xu. H. Takahashi, Y. Tanaka, S. Ichinose, S. Niwa, M.P. Wicklund, and N. Hirokawa. KIF1B mutations detected in hereditary neuropathy impair IGF1R transport and axon growth. J Cell Biol 217: 3480-3496, 2018.
10. Shima, T., Ma. Morikawa, J. Kaneshiro, T. Kambara, S. Kamimura, T. Yagi, H. Iwamoto, S. Uemura, H. Shigematsu, M. Shirouzu, T. Ichimura, T. M. Watanabe, R. Nitta, Y. Okada, and N. Hirokawa. Kinesin-binding-triggered conformation switching of microtubules contributes to polarized transport. J Cell Biol 217: 4164-4183, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. Wang, L., Y. Tanaka, D. Wang, M. Morikawa, R. Zhou, N. Homma, Y. Miyamoto, and N. Hirokawa. The atypical kinesin KIF26A facilitates termination of nociceptive responses by sequestering focal adhesion kinase. *Cell Rep* 24: 2894-2907, 2018.
2. Morikawa, M., Y. Tanaka, H-S. Cho, M. Yoshihara, and N. Hirokawa. The molecular motor KIF21B mediates synaptic plasticity and fear extinction by terminating Rac1 activation. *Cell Rep* 23: 3864-3877, 2018.
3. Tanaka, Y., S. Niwa, M. Dong, A. Farkhondeh, L. Wang, R. Zhou, and N. Hirokawa. The molecular motor KIF1A transports the TrkA neurotrophin receptor and is essential for sensory neuron survival and function. *Neuron* 90: 1215-1229, 2016.

〔学会発表〕(計 40 件)

1. Hirokawa, N. The molecular motors, KIFs and intracellular transport: Regulation of neuronal functions, development and disease. In "International Congress of Cell Biology 2018, -The Dynamic Cell, from molecules and networks to form and function," January 28th, 2018. Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India.
2. 廣川信隆 モーター分子群 KIFs: 細胞内輸送から基本的生命現象と疾患の制御まで。Molecular motors, KIFs: from intracellular transport to regulation of fundamental phenol in life and diseases. (Plenary Lecture) June 14, 2017. 第 69 回日本細胞生物学会大会。仙台国際センター(宮城県仙台市)
3. Hirokawa, N. Molecular motors, KIFs and Regulation of Neuronal Function, Morphogenesis, and Brain Wiring. (Keynote lecture) "Cell biology of the neuron: Polarity, plasticity and regeneration", EMBO Conference. Heraklion, Greece. May 7th, 2017.
4. Hirokawa, N. Molecular motors, KIFs: Regulation of activity dependent trafficking, neuronal function, and development. (Opening lecture) "Synaptic Plasticity versus Stability: - Information Uptake -Processing and Coding-", 37th Blankenese Conference. Hamburg, Germany. May 6th, 2017.
5. Hirokawa, N. Kinesin superfamily molecular motors, KIFs: from regulation of neuronal functions and development to diseases. (Special lecture on July 21st) in "12th International Congress of Cell Biology". Prague Congress Centre, Prague, Czech Republic. July 21-25, 2016.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

新聞報道、ホームページ

(1) Shima et al. *JCB* 2018:

・ May 9, 2019. Faculty 1000 で Jon Howard により紹介され高い評価を受けた。

(2) Morikawa Mo et al. Cell Reports 2018:

・ 日本経済新聞電子版 2018 年 6 月 27 日「東大、分子モーターたんぱく質 KIF21B による恐怖記憶の制御機構を解明」

・ 毎日新聞 2018 年 7 月 2 日(総合)「脳内たんぱく質 恐怖記憶薄める物質、東大チーム発見 PTSD 治療に期待」

(3) Tanaka et al. Neuron 2016:

・ 毎日新聞 2016 年 6 月 7 日 p8(社会)「たんぱく質調節して痛み抑制 東大チームが解明 治療薬開発に期待」

・ 日経産業新聞 2016 年 6 月 15 日 p8「痛み感じる仕組み解明 センサーに運ぶたんぱく 東大特定」 https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/articles/a_00505.html

6. 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田中 庸介

ローマ字氏名：(TANAKA, yosuke)

研究協力者氏名：本間 典子

ローマ字氏名：(HOMMA, noriko)

研究協力者氏名：小川 覚之

ローマ字氏名：(OGAWA, tadayuki)

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。