

機関番号：34512

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009 年度 ～ 2010 年度

課題番号：21890286

研究課題名（和文）神経可塑性と損傷神経の再生におけるコンドロイチン硫酸の機能解析

研究課題名（英文）Role of chondroitin sulfate in neuronal plasticity and regeneration

研究代表者

宮田 真路 (Miyata Shinji)

神戸薬科大学 薬学部 特別契約研究員

研究者番号：60533792

研究成果の概要（和文）：

神経回路は外界の刺激によって機能的、構造的に変化する性質を持つ。この経験依存的な可塑性は、生後初期の臨界期と呼ばれる時期にのみ存在するが、臨界期の終了を制御する分子機構はよく分かっていない。本研究において、申請者は、脳の主要な細胞外マトリクス成分であるコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成に関わる遺伝子を改変したマウスを用いた研究から新規の神経可塑性の制御機構が明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Cortical plasticity is most evident during a critical period in early life, but the mechanisms that restrict plasticity after the critical period are poorly understood. In this study I show that a structural changes of chondroitin sulfate proteoglycans, components of the brain extracellular matrix, leads to the termination of the critical period.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010 年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：糖鎖生物学

科研費の分科・細目：医歯薬学 生物系薬学

キーワード：コンドロイチン硫酸プロテオグリカン

## 1. 研究開始当初の背景

コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) は、中枢神経系に豊富に存在する細胞外マトリクス成分である。コンドロイチン硫酸 (CS) 分解酵素を用いた研究から、CSPG が「神経可塑性」および「損傷神経の再生」という、異なった場面で重要な役割を果たすことが示唆されているが、その分子機構は分かっていない。

CSPG は細胞増殖因子や細胞外マトリクス成

分などと相互作用することにより、その機能を発揮している。CSPG とタンパク質との結合特異性は、CS の硫酸化修飾によって決定されると考えられている。主要な CS の硫酸化には、CS を構成する N-アセチルガラクトサミン残基の 4 位および 6 位の硫酸化がある。これまでの *in vitro* での研究から、CS の機能は、CS の特徴的な硫酸化構造によって暗号化されていることが示唆されているが、個体レベルでの CS 硫酸化の生物学的意義は不

明である。

## 2. 研究の目的

申請者は、上に挙げた二つの生物学的現象において、共通して CS 硫酸化のダイナミックな変動が起こることに注目し、CS 硫酸化によって「神経可塑性」および「損傷神経の再生」が制御されるという作業仮説を立てた。この仮説を検証するため、CS 硫酸化を担うコンドロイチン 6-O-硫酸基転移酵素 1 (C6ST-1) の過剰発現トランスジェニック (TG) マウスとノックアウト (KO) マウスを用い研究を行う。

(1) 視覚野の眼優位性の可塑性における、CS 硫酸化の機能を解明するため、C6ST-1 遺伝子改変マウスにおいて PNN の形成に異常があるかを調べる。眼優位性の可塑性の獲得に必要な抑制性神経細胞の成熟に関わる液性因子と、PNN に存在する CSPG との相互作用を解析する。C6ST-1 遺伝子改変マウスを用い、抑制性神経細胞の成熟および眼優位性の可塑性に影響を及ぼすかを明らかにする。

(2) 神経損傷時における CS 硫酸化の役割とその作用機序を解明するため C6ST-1 遺伝子改変マウス中枢神経系より単離した CS が後根神経節の神経軸索伸長に及ぼす影響を検討する。さらに、脊髄損傷モデルを用い、C6ST-1 遺伝子改変マウスにおいて神経軸索の再生と、運動能力の改善程度を野生型マウスと比較する。神経損傷時に CS の硫酸化パターンを認識する神経細胞上の受容体を同定する

## 3. 研究の方法

CS 硫酸化の中枢神経系における機能を個体レベルで解明するため、C6ST-1 TG および KO マウスを用い、以下の課題について研究を行う。

(1) 臨界期における経験依存的な PNN の形成に CS 硫酸化が及ぼす影響の解析と PNN に存在する CSPG と相互作用する分子の探索

(2) GABA 作動性抑制性神経細胞の成熟と眼優位性の可塑性における CS 硫酸化の機能解析

(3) 損傷神経の軸索再生における CS 硫酸化の機能解析と CSPG 受容体の同定

## 4. 研究成果

(1) マウス脳の発生過程において、CS 鎖の量は変動しないが、臨界期前後に 6 位の硫酸化が減少し、4 位の硫酸化が増加することを見いだした。

(2) C6ST-1 TGマウスの脳では、野生型と比べ 6 位の硫酸化が増加し、4 位の硫酸化が減少しており、硫酸化パターンの変動が遅れていた。野生型マウスでは、臨界期の開始前に PNN の形成が始まるが、C6ST-1 TG マウスでは PNN の形成が抑えられていた。

(3) C6ST-1 TGマウスは臨界期の終了した成体においても強い可塑性を示した。また、C6ST-1 TG マウスにおいては、抑制性神経細胞の周囲の PNN の形成が不完全であることが分かった。

(4) C6ST-1 TGマウスでは、抑制性神経細胞の成熟に必要なタンパク質の蓄積が低下していた。これらの知見から、CS の硫酸化により抑制性神経細胞の成熟が制御され、その結果、臨界期が終了するという、新規の神経可塑性の制御機構が明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

宮田真路、北川裕之、コンドロイチン硫酸と神経可塑性、脳 21、査読有、14 巻、2011、p16-21

〔学会発表〕(計 3 件)

宮田真路、神経可塑性を制御する細胞外マトリックス形成におけるコンドロイチン硫酸の機能解析、第 29 回日本糖質学会年会、2009 年 9 月 10 日、飛騨世界生活文化センター

宮田真路、大脳皮質の発生に伴う細胞外マトリックス形成におけるコンドロイチン硫酸の機能解析、第 82 回日本生化学会大会、2009 年 10 月 24 日、神戸ポートアイランド

宮田真路、経験依存的な神経可塑性におけるコンドロイチン硫酸の機能、第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会、平成 22 年 12 月 9 日、神戸ポートアイランド

〔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 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://202.69.231.238/~biochem/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮田 真路 (Miyata Shinji)

神戸薬科大学 薬学部 特別契約研究員

研究者番号：60533792

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号