

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2011～2015

課題番号：23110005

研究課題名（和文）神経成長円錐の応答性を指標とした糖鎖機能ドメインの解析

研究課題名（英文）Analyses of the functional domains in sugar chains using neuronal growth cones

研究代表者

戸島 拓郎（TOJIMA, Takuro）

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：00373332

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 76,400,000円

研究成果の概要（和文）：糖鎖による生命活動の制御様式として、糖鎖がコアタンパク質を介さずに直接的なリガンドとして特異的な受容体を活性化するという新概念が脚光を浴びている。本課題では、神経軸索の成長円錐の応答性を指標として、生理活性を持つ糖鎖機能ドメインとその受容体、さらにその下流で惹起される一連の細胞内シグナル伝達経路を解析した。その結果、コンドロイチン硫酸とケラタン硫酸が両方向性の軸索ガイダンス因子として機能することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Proteoglycans are extracellular macromolecules composed of a core protein and one or more covalently attached glycosaminoglycan (GAG) sugar chain(s). Recent discoveries of cell-surface GAG receptors led us to propose a novel concept that sugar chains act as physiological ligands that evoke various cellular responses. However, little is known about the intracellular signaling mechanisms downstream of GAG receptors. In this study, we examined whether chondroitin sulfate (CS) and keratan sulfate (KS) GAG chains affect motilities of neuronal growth cones and what signaling mechanisms mediate the growth cone behaviors. We found that extracellular gradients of CS-E and high-sulfated KS repelled growth cones of dorsal root ganglion neurons. The repulsion was dependent on intracellular calcium, and converted into attraction in the presence of higher concentration of cAMP. These results indicate that GAG chains act as bidirectional axon guidance cues in the developing nervous system.

研究分野：神経科学

キーワード：コンドロイチン硫酸 ケラタン硫酸 軸索ガイダンス 成長円錐 cAMP カルシウム

## 1. 研究開始当初の背景

糖鎖は、タンパク質や脂質と結合した形で細胞外基質や細胞表面に大量に存在している。糖鎖による生命活動の制御様式として、細胞間隙を埋める物理障壁やタンパク質-タンパク質間相互作用の補助因子としての役割などが古くから知られている。最近、受容体チロシンホスファターゼ $\sigma$  (PTP $\sigma$ )、leukocyte common antigen-related (LAR)、contactin-1 (CNTN-1) 等の糖鎖受容体が次々に発見され、糖鎖がコアタンパク質を介さずに直接的なリガンドとして特異的な受容体を活性化するという、新しい糖鎖の作用機序が脚光を浴びるようになった。しかしながら、糖鎖受容体下流の細胞内シグナル伝達の詳細は不明である。さらに、長く複雑な構造をとる糖鎖のどの領域がリガンドとして機能しうるのかについてもほとんど解っていない。

糖鎖機能ドメイン探索のために、神経軸索突起の先端部分に存在するアメーバ様の構造物である成長円錐は格好のモデルとなる。なぜなら成長円錐は、発生期において糖鎖を含む細胞外環境因子の空間情報を感知して方向転換(誘引/反発)することで軸索を標的まで牽引する働きを持つためである。この「軸索ガイダンス」と呼ばれる現象が神経回路形成における最も重要な素過程の一つである。また成体神経組織においても、損傷部位に沈着する糖鎖が成長円錐の運動性を停止させる軸索再生阻害因子として働くことも良く知られているため、成長円錐が糖鎖を受容する機構の全貌が明らかになれば、脊髄損傷などの臨床治療法の開発に繋がる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、長大な糖鎖配列内に存在し、生理活性を持つ最小機能単位を「糖鎖機能ドメイン」と名付け、これにより惹起される神経活動の制御機構を解明することを目標として掲げた。具体的には、成長円錐の応答性を指標として、様々な糖鎖機能ドメインおよびその受容体を探索し、それらにより惹起される一連の細胞内シグナル伝達経路を同定し、最終的に成長円錐の運動性(誘引・反発・伸長停止など)を臨機応変に調節する仕組みを解析した。

## 2. 研究の方法

本研究で扱う糖鎖としては、損傷部位に沈着することが良く知られているコンドロイチン硫酸(CS)とケラタン硫酸(KS)の2種のグリコサミノグリカン糖鎖に焦点を絞った。CS鎖はグルクロン酸(GlcA)とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)の2糖繰り返し構造から成り、その硫酸化パターンによ

りCS-A、CS-C、CS-D、CS-Eの4種に分類される。CS-AはGalNAcの4位、CS-CはGalNAcの6位、CS-DはGlcAの2位とGalNAcの6位、CS-EはGalNAcの4位と6位が硫酸化されている。一方KS鎖は、ガラクトース(Gal)とN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)の2糖繰り返し構造から成り、GalとGlcNAcの両方または片方の6位が硫酸化された構造をとる(それぞれ高硫酸化KS、低硫酸化KS)。これら硫酸化構造の異なるCS・KSサブタイプを糖鎖機能ドメインの有効候補として検証した。

これらの糖鎖を成長円錐に作用させるために微細ガラスピペットを用いた(ピペットアッセイ)。この方法では、目的の糖鎖溶液を充填した微細ガラスピペットに周期的(2 Hz)なパルス状の空気圧をかけることで、細胞体から離れた1つの成長円錐に対してのみ、任意の方向性とタイミングで糖鎖濃度勾配を作用させることができる。ニワトリ胚脊髄後根神経節細胞を分散培養し、伸長してきた軸索の成長円錐に対して様々なCSまたはKS糖鎖を作用させ、それに対する成長円錐の応答性(誘引または反発)を解析した。続いて、糖鎖に対する特異的な受容体を、機能阻害抗体/ペプチドを用いて検証した。さらに、その下流で誘起される細胞内セカンドメッセンジャーシグナルを薬理学的手法およびイメージング法により検証した。

## 4. 研究成果

### (1) CSによる軸索ガイダンス機構

まず始めにCSについて実験を行った。ピペットアッセイにより培養下においてCS-Eの濃度勾配を作製し、これに対する成長円錐の応答性を解析した。その結果、CS-Eは細胞内セカンドメッセンジャーを介して成長円錐を誘引または反発する活性を持つ、「両方向性」の軸索ガイダンス因子として働くことが明らかになった。具体的には、成長円錐内のcAMP濃度が高い状態ではCS-Eは誘引因子として働き、逆にcAMP濃度が低い状態では反発因子として働いた。細胞内カルシウムシグナルは誘引・反発のどちらにも必要であったが、開口するカルシウムチャネルの種類は誘引時・反発時において異なっていた。続いて、CS-Eに対する成長円錐上の受容体を薬理学的手法および抗体染色法を用いて探索した。その結果、誘引時と反発時では異なる組み合わせのCS受容体が機能することを示唆するデータを得た。これらのことから、cAMPシグナル下流において糖鎖受容体の成長円錐表面への挿入/除去が制御されている可能性が示唆された。

また、様々な鎖長のCS-E糖鎖(2糖、4糖、6糖、8糖)を有機合成し、これを成長円錐に作用させることで、成長円錐の誘引と反発を引き起こすために十分な最短長を検討した。その結果、誘引と反発では必要な鎖

長が異なっていた。このことは、誘引と反発で異なる受容体セットが機能していることを支持する結果である。

## (2) KS による軸索ガイダンス機構

続いて、KS について実験を行った。ピペットアッセイにより、高硫酸化 KS が成長円錐に対する反発性ガイダンス因子として機能することが明らかになった。一方で低硫酸化 KS には軸索ガイダンス活性は見られなかった。高硫酸化 KS に対する反発は、細胞内 cAMP を上昇させることで誘引に転換した。さらに、これら誘引と反発はどちらもカルシウム依存性であったが、開口するカルシウムチャネルの組合せが誘引時・反発時で異なっていた。また、超高感度カルシウム感受性蛍光色素 GCaMP6s を用いて、高硫酸化 KS 投与に応じた成長円錐内カルシウム濃度上昇を可視化することに成功した。

以上の結果をまとめると、CS-E および高硫酸化 KS はどちらも cAMP 依存的な両方向性軸索ガイダンス因子として働くことが示された。今後は、CS/KS 合成酵素欠損マウスを用いて、組織内における CS/KS の軸索ガイダンス活性について検証して行く予定である。

## (3) パキシリンのリン酸化による軸索再生機構

成体中枢神経系の損傷部位に沈着する CSPG / KSPG 濃度勾配を上る方向に伸長してきた再生軸索の成長円錐は dystrophic endball と呼ばれる病的構造体を呈して伸長を停止する。本項目では、培養皿上に接着性の CSPG 濃度勾配を作製し、これに遭遇した成体ラット由来の脊髄後根神経節細胞の軸索先端が dystrophic endball に姿を変えることを見出した。この dystrophic endball は、接着斑構成タンパク質であるパキシリンのリン酸化模倣体を導入することで前進能力を回復した。パキシリンのリン酸化は、cAMP シグナルの下流において制御を受けることも明らかになった。さらに、生体マウスにリン酸化模倣型パキシリン遺伝子を導入した結果、視神経損傷部位での軸索再生が有意に改善した。

これらの実験結果により、CS / KS に対する軸索再生戦略のために、パキシリンのリン酸化を活性化する方法が有効であることが動物個体レベルでも確かめられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 33 件)

- (1) 戸島拓郎, 上口裕之 .(2016) 損傷した神経回路は修復できるか. こころの科学 (印刷中)(査読無)
- (2) Akiyama H, Fukuda T, Tojima T, Nikolaev V, and Kamiguchi H (2016) Cyclic nucleotide control of microtubule dynamics for

axon guidance. *J Neurosci*. 36: 5636-5649. (査読有) doi:10.1523/JNEUROSCI.3596-15.2016.

- (3) Wada F, Nakata A, Tatsu Y, Ooashi N, Fukuda T, Nabetani T, Kamiguchi H. (2016) Myosin Va and endoplasmic reticulum calcium channel complex regulates membrane export during axon guidance. *Cell Rep*. 15: 1329-44. (査読有) doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.021.
- (4) Minoura I, Takazaki H, Ayukawa R, Saruta C, Hachikubo Y, Uchimura S, Hida T, Kamiguchi H, Shimogori T, Muto E. (2016) Reversal of axonal growth defects in an extraocular fibrosis model by engineering the kinesin-microtubule interface. *Nat Commun*. 7: 10058. (査読有) doi: 10.1038/ncomms10058.
- (5) Tanabe N, Kuboyama T, Kazuma K, Konno K, Tohda C. (2016) The extract of roots of *Sophora flavescens* enhances the recovery of motor function by axonal growth in mice with a spinal cord injury. *Front Pharmacol*. 6: 326 (査読有) doi: 10.3389/fphar.2015.00326.
- (6) Guy AT, Nagatsuka Y, Ooashi N, Inoue M, Nakata A, Greimel P, Inoue A, Nabetani T, Murayama A, Ohta K, Ito Y, Aoki J, Hirabayashi Y, Kamiguchi H. (2015) Glycerophospholipid regulation of modality-specific sensory axon guidance in the spinal cord. *Science*. 349: 974-977. (査読有) doi: 10.1126/science.aab3516.
- (7) Tojima T, Kamiguchi H. (2015) Exocytic and endocytic membrane trafficking in axon development. *Dev Growth Diff*. 57: 291-304. (査読有) doi: 10.1111/dgd.12218.
- (8) Akiyama H, Kamiguchi H (2015) Second messenger networks for accurate growth cone guidance. *Dev Neurobiol*. 75: 411-422. (査読有) doi: 10.1002/dneu.22157.
- (9) Yang ZY, Kuboyama T, Kazuma K, Konno K, Tohda C. (2015) Active constituents from *Drynaria fortunei* Rhizomes on the attenuation of A $\beta$ 25-35-induced axonal atrophy. *J Nat Prod*. 78, 2297-2300. (査読有) doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00290.
- (10) Shigyo M, Kuboyama T, Sawai Y, Tada-Umezaki M, Tohda C. (2015) Extracellular vimentin interacts with insulin-like growth factor 1 receptor to promote axonal growth. *Sci Rep*. 5: 12055. (査読有) doi: 10.1038/srep12055.
- (11) Kuboyama T, Lee YA, Nishiko H, Tohda C. (2015) Inhibition of clathrin-mediated endocytosis prevents amyloid  $\beta$ -induced axonal damage. *Neurobiol Aging*. 36: 1808-1819. (査読有) doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.02.005.
- (12) Watari H, Shigyo M, Tanabe N, Tohda M, Cho KH, Kyung PS, Jung WS, Shimada Y, Shibahara N, Kuboyama T, Tohda C. (2015) Comparing the effects of Kamikihito in Japan and Kami-Guibi-Tang in Korea on memory enhancement: working towards the development of a global study. *Phytother Res*. 29: 351-356. (査読有) doi: 10.1002/ptr.5250.

(13) 戸島拓郎, 上口裕之. (2015) 成長円錐はどのように動くのか. *Clinical Neuroscience*. 33: 474-475. (査読無)

(14) Tojima T, Itofusa R, Kamiguchi H. (2014) Steering neuronal growth cones by shifting the imbalance between exocytosis and endocytosis. *J Neurosci*. 34: 7165-7178. (査読有) doi: 10.1523/JNEUROSCI.5261-13.2014.

(15) Shigyo M, Tanabe N, Kuboyama T, Choi SH, Tohda C. (2014) New reliable scoring system, Toyama Mouse Score, to evaluate locomotor function following spinal cord injury in mice. *BMC Res Notes*. 7: 332. (査読有) doi: 10.1186/1756-0500-7-332.

(16) Kuboyama T, Luo X, Park K, Blackmore MG, Tojima T, Tohda C, Bixby JL, Lemmon VP, Kamiguchi H. (2013) Paxillin phosphorylation counteracts proteoglycan-mediated inhibition of axon regeneration. *Exp Neurol*. 248: 157-169. (査読有) doi: 10.1016/j.expneurol.2013.06.011.

(17) Fujita A, Koinuma S, Yasuda S, Nagai H, Kamiguchi H, Wada N, Nakamura T. (2013) GTP Hydrolysis of TC10 promotes neurite outgrowth through exocytic fusion of Rab11- and L1-containing vesicles by releasing exocyst component Exo70. *PLoS One*. 8: e79689. (査読有) doi: 10.1371/journal.pone.0079689.

(18) Joddar B, Guy AT, Kamiguchi H, Ito Y. (2013) Spatial gradients of chemotropic factors from immobilized patterns to guide axonal growth and regeneration. *Biomaterials*. 34: 9593-601. (査読有) doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.019.

(19) Teshigawara K, Kuboyama T, Shigyo M, Nagata A, Sugimoto K, Matsuya Y, Tohda C. (2013) A novel compound, Denosomin ameliorates spinal cord injury via axonal growth associated with astrocyte-secreted vimentin. *Br J Pharmacol*. 168: 903-919. (査読有) doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.02211.x.

(20) 戸島拓郎, 上口裕之. (2013) サイクリック AMP. *脳科学辞典* <http://bsd.neuroinf.jp/wiki/サイクリックAMP> (査読有)

(21) Takuro Tojima. (2012) Intracellular signaling and membrane trafficking control bidirectional growth cone guidance. *Neurosci Res*. 73: 269-274. (査読有) doi: 10.1016/j.neures.2012.05.010.

(22) Aoyagi Y, Yano-Mitsui M, Miyadera T, Tsukagoshi K, Kamiguchi H. (2012) Control of neural signal propagation in neuron by three terminal electrodes method. *Electronics Lett*. 48: 1093-1095. (査読有)

(23) Takano T, Tomomura M, Yoshioka N, Tsutsumi K, Terasawa Y, Saito T, Kawano H, Kamiguchi H, Fukuda M, Hisanaga S. (2012) LMTK1/AATYK1 is a novel regulator of axonal outgrowth that acts via Rab11 in a Cdk5-dependent manner. *J Neurosci*. 32:

6587-6599. (査読有) doi: 10.1523/JNEUROSCI.5317-11.2012.

(24) Nakayama T, Kamiguchi H, Akagawa K. (2012) Syntaxin 1C, a soluble form of syntaxin, attenuates membrane recycling by destabilizing microtubules. *J Cell Sci*. 125: 817-830. (査読有) doi: 10.1242/jcs.081943.

(25) Tohda C, Urano T, Umezaki M, Nemere I, Kuboyama T. (2012) Diosgenin is an exogenous activator of 1,25D(3)-MARRS/Pdia3/ERp57 and improves Alzheimer's disease pathologies in 5XFAD mice. *Sci Rep*. 2: 535. (査読有) doi: 10.1038/srep00535.

(26) 秋山博紀, 戸島拓郎, 上口裕之. (2012) 神経軸索突起の進路決定メカニズム. *生化学* 84: 848-853. (査読無)

(27) Tojima T, Hines JH, Henley JR, Kamiguchi H. (2011) Second messengers and membrane trafficking direct and organize growth cone steering. *Nat Rev Neurosci*. 12: 191-203. (査読有) doi: 10.1038/nrn2996.

(28) Nakamuta S, Funahashi Y, Namba T, Arimura N, Picciotto MR, Tokumitsu H, Soderling TR, Sakakibara A, Miyata T, Kamiguchi H, Kaibuchi K. (2011) Local application of neurotrophins specifies axons through inositol 1,4,5-trisphosphate, calcium, and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinases. *Sci Signal*. 4: ra76. (査読有) doi: 10.1126/scisignal.2002011.

(29) Itofusa R, Kamiguchi H. (2011) Polarizing membrane dynamics and adhesion for growth cone navigation. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 48: 332-338. (査読有)

(30) Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, Yoshimura T, Kaibuchi K, Goshima Y, Hoshino M, Kamiguchi H, Miki H. (2011) Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. *Sci Signal*. 4: ra26. (査読有) doi: 10.1126/scisignal.2001127.

(31) Tohda C, Nakada R, Urano T, Okonogi A, Kuboyama T. (2011) Kamikihi-to (KKT) rescues axonal and synaptic degeneration associated with memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease, 5XFAD. *Int J Neurosci*. 121: 641-648. (査読有) doi: 10.3109/00207454.2011.602809.

(32) Tohda C, Kuboyama T. (2011) Current and future therapeutic strategies for functional repair of spinal cord injury. *Pharmacol Ther*. 132: 57-71. (査読有) doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.05.006.

(33) 戸島拓郎, 秋山博紀, 上口裕之. (2011) 神経軸索突起をターゲットへ導く細胞内メカニズム. *生物物理* 51: 214-217. (査読有)

[学会発表](計 33 件)

(1) Takuro Tojima. Signaling mechanisms of axon guidance induced by

glycosaminoglycans. The 3rd International Symposium on Glyco-Neuroscience, 淡路島夢舞台国際会議場 (兵庫県淡路市), 2016 年 1 月 14 日

(2) 秋山博紀, 福田徹子, 戸島拓郎, 上口裕之. サイクリックヌクレオチドは微小管依存的な先端端突出の制御を介して軸索の伸長方向を決定する. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2015), 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市), 2015 年 12 月 1 日

(3) 戸島拓郎. グリコサミノグリカンと軸索ガイダンス. 日本医療研究開発機構 (AMED) 研究費・難治性疾患実用化研究事業「筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 新規治療法開発をめざした病態解明」班ワークショップ, 都市センターホテル (東京都千代田区), 2015 年 9 月 25 日

(4) 戸島拓郎. グリコサミノグリカンによる神経軸索突起の誘導制御. 第 34 回日本糖質学会, 東京大学 (東京都文京区), 2015 年 8 月 2 日

(5) 戸島拓郎. グリコサミノグリカンによる軸索ガイダンスの制御機構. 第 38 回日本神経科学大会, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市), 2015 年 7 月 29 日

(6) 寺崎朝子, 佐々木貴広, 石川達也, 中川裕之, 秋山博紀, 戸島拓郎, 上口裕之. 神経細胞の運動における lasp-2 の actin 結合領域の機能. 第 67 回日本細胞生物学会大会, タワーホール船堀 (東京江戸川区), 2015 年 7 月 1 日

(7) 糸総るり香, 戸島拓郎, 上口裕之. 神経軸索ガイダンスを駆動する膜トラフィックの制御機構. 平成 26 年度包括脳ネットワーク冬のワークショップ, 東京医科歯科大学 (東京都文京区), 2014 年 12 月 11 日

(8) Tojima T. Control of neuronal growth cone navigation by chondroitin sulfate. Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, Honolulu (USA), 2014 年 11 月 16 日

(9) 秋山博紀, 福田徹子, 戸島拓郎, 上口裕之. サイクリックヌクレオチドは微小管依存的な小胞輸送の調節を介して軸索進路を決定する. 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2014 年 9 月 11 日

(10) 糸総るり香, 戸島拓郎, 上口裕之. 膜輸送の不均衡化による神経軸索ガイダンス. 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2014 年 9 月 11 日

(11) 戸島拓郎. 神経軸索ガイダンスを制御する糖鎖作動原理. 第 87 回日本生化学会大会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2014 年 10 月 15 日

(12) 中村真男, 田村純一, 北川裕之, 戸島拓郎, 上口裕之. 神経突起ガイダンスを担うコンドロイチン硫酸 E の受容機構. 第 33 回日本糖質学会年会, 名古屋大学 (愛知県名

古屋市), 2014 年 8 月 10 日

(13) 戸島拓郎. 神経成長円錐ガイダンスを制御するシグナル伝達機構. 第 66 回日本細胞生物学会大会, 奈良県新公会堂 (奈良県奈良市), 2014 年 6 月 11 日

(14) 戸島拓郎. 神経軸索ガイダンスを駆動するシグナル伝達機構. 第 8 回メカノセンシング研究会, 理化学研究所 (兵庫県神戸市), 2014 年 3 月 18 日

(15) Tojima T. Signaling mechanisms of neuronal growth cone guidance induced by chondroitin sulfate. International Symposium on Glyco-Neuroscience, 淡路島夢舞台国際会議場 (兵庫県淡路市), 2014 年 1 月 9 日

(16) 糸総るり香, 戸島拓郎, 上口裕之. エクソサイトーシスとエンドサイトーシスのバランス調節による神経軸索ガイダンス制御. 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市), 2013 年 12 月 3 日

(17) 戸島拓郎. 神経軸索ガイダンスを制御するシグナル伝達クロストーク. 第 86 回日本生化学会大会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2013 年 9 月 13 日

(18) 戸島拓郎. 軸索ガイダンスを制御する糖鎖受容機構の解明. 平成 25 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2013 年 9 月 1 日

(19) Nakamura M, Tamura J, Kitagawa H, Tojima T, Kamiguchi H. Signaling mechanism of bidirectional axon guidance induced by chondroitin sulfate-E. 平成 25 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2013 年 9 月 1 日

(20) 糸総るり香, 戸島拓郎, 上口裕之. 軸索ガイダンスを制御するエクソサイトーシスとエンドサイトーシスのバランス調節経路. 平成 25 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2013 年 9 月 1 日

(21) 中村真男, 田村純一, 北川裕之, 戸島拓郎, 上口裕之. コンドロイチン硫酸による反発性神経軸索ガイダンスの調節機構. 第 32 回日本糖質学会年会, 大阪国際交流センター (大阪府大阪市), 2013 年 8 月 5 日

(22) 中村真男, 田村純一, 北川裕之, 戸島拓郎, 上口裕之. コンドロイチン硫酸による軸索伸長と誘導の制御機構. 第 36 回日本神経科学大会第 56 回日本神経化学会大会第 23 回日本神経回路学会大会合同大会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2013 年 6 月 20 日

(23) 糸総るり香, 戸島拓郎, 上口裕之. 膜トラフィックの不均衡による成長円錐ガイダンスの制御機構. 第 36 回日本神経科学大会第 56 回日本神経化学会大会第 23 回日本神経回路学会大会合同大会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2013 年 6 月 20 日

(24) 秋山博紀, 福田徹子, 戸島拓郎, 上

口裕之・カルシウムおよびサイクリックヌクレオチドはそれぞれ異なる v-SNARE を介して成長円錐の進路を決定する。第 36 回日本神経科学大会第 56 回日本神経化学学会大会第 23 回日本神経回路学会大会合同大会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2013 年 6 月 20 日

(25) 秋山博紀, 福田徹子, 戸島拓郎, 上口裕之。cAMP/cGMP による微小管依存的細胞輸送の拮抗制御の成長円錐ガイダンスにおける役割。第 35 回日本神経科学大会, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2012 年 9 月 18 日

(26) 戸島拓郎。神経成長円錐の応答性を指標とした糖鎖機能ドメインの解析, 包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 仙台国際センター (宮城県仙台市), 2012 年 7 月 25 日

(27) 中村真男, 戸島拓郎, 上口裕之。神経軸索伸長を制御するコンドロイチン硫酸サブタイプの解析。仙台国際センター (宮城県仙台市), 2012 年 7 月 26 日

(28) 戸島拓郎, 糸総るり香, 上口裕之。神経成長円錐ガイダンスを制御するクラスリン依存性エンドサイトーシス調節経路。2012 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 仙台国際センター (宮城県仙台市), 2012 年 7 月 26 日

(29) Tojima T, Itofusa R, Kamiguchi H. Ca<sup>2+</sup> signaling and membrane trafficking mediate neuronal growth cone guidance. Joint Meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists & The 64th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市), 2012 年 5 月 30 日

(30) 戸島拓郎, 糸総るり香, 上口裕之。神経軸索ガイダンスの方向極性を決定するカルシウム依存性エンドサイトーシス制御, 第 34 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2011 年 9 月 14 日

(31) 戸島拓郎, 糸総るり香, 上口裕之。神経軸索ガイダンスを制御するエンドサイトーシス調節経路: CaM キナーゼ II とカルシニューリンの拮抗作用。第 63 回日本細胞生物学会大会, 北海道大学 (北海道札幌市), 2011 年 6 月 27 日

(32) Akiyama H, Tojima T, Kamiguchi H. Attractive axon guidance requires phosphatidylinositol 3-kinase-dependent membrane trafficking in the growth cone. 8th IBRO World Congress of Neuroscience, Florence (Italy), 2011 年 7 月 14 日

(33) Tojima T, Itofusa R, Kamiguchi H. The signaling pathways controlling clathrin-mediated endocytosis for bidirectional growth cone guidance. 8th IBRO World Congress of Neuroscience, Florence, (Italy), 2011 年 7 月 14 日

〔図書〕(計 2 件)

(1) Itofusa R, Tojima T, Kamiguchi H. (2016) Visualization of clathrin-mediated endocytosis during Semaphorin-guided axonal growth. *Methods Mol Biol.* (in press)

(2) Akiyama H, Kamiguchi H. (2014) Analysis of calcium signals in steering neuronal growth cones in vitro. *Methods Mol Biol.* 1162: 17-27.

〔その他〕

(1) 戸島拓郎の研究者個人ホームページ: <http://tojimat.web.fc2.com/index.html>

(2) 理化学研究所脳科学総合研究センター神経成長機構研究チームのホームページ: [http://www.riken.jp/research/labs/bsi/neur\\_growth\\_mech/](http://www.riken.jp/research/labs/bsi/neur_growth_mech/)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

戸島 拓郎 (TOJIMA, Takuro)  
理化学研究所・脳科学総合研究センター・  
研究員  
研究者番号: 00373332

### (2) 連携研究者

上口 裕之 (KAMIGUCHI, Hiroyuki)  
理化学研究所・脳科学総合研究センター・  
シニアチームリーダー  
研究者番号: 10233933

### (3) 連携研究者

久保山 友晴 (KUBOYAMA, Tomoharu)  
富山大学和漢医薬学総合研究所・助教  
研究者番号: 10415151