

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01380

研究課題名(和文)細胞内シグナルによる神経活動と情動行動・学習の制御機構の解明

研究課題名(英文) Study on regulatory mechanism of neural activity and emotional behavior by intracellular signals

研究代表者

貝淵 弘三 (Kaibuchi, Kozo)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00169377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、独自に開発したリン酸化プロテオミクス法を駆使して、ニューロモジュレーター(ドーパミン、アデノシン、アセチルコリン)やグルタミン酸の下流で、リン酸化される蛋白質を包括的に同定し、神経細胞の興奮性やシナプス可塑性、遺伝子発現を制御する細胞内シグナル伝達機構を分子レベルで明らかにした。さらに、これらの神経活動と情動行動・学習との関連を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルタミン酸やニューロモジュレーター(ドーパミン、アデノシン、アセチルコリン)の下流で働くキナーゼの主要な基質が明らかになり、神経細胞の興奮性やシナプス可塑性、遺伝子発現の制御機構が明らかになった。さらに、これらの神経活動と情動行動・学習との関連が明らかになった。これらの成果は基礎神経科学において重要というだけでなく、様々な精神・神経疾患の病態解明や診断・治療法の確立等の医学分野に貢献する可能性が高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we comprehensively identified proteins that are phosphorylated downstream of neuromodulators (dopamine, adenosine, acetylcholine) and glutamate using our proprietary phospho-proteomics method. We have elucidated the intracellular signal transduction that regulates neuronal excitatory, synaptic plasticity, and gene expression at the molecular level, and also elucidated the regulatory mechanism of emotional behavior and its learning & memory.

研究分野：生化学・薬理学・神経科学

キーワード：細胞内シグナル リン酸化プロテオミクス解析 ニューロモジュレーター 情動行動 学習・記憶  
神経活動 シナプス可塑性 遺伝子発現

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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

情動とは、喜び、怒り、悲しみ、恐怖、不安というような激しい感情の動きである。情動はまた、様々な精神疾患や神経疾患との関わりが既に知られている。快・不快などの情動に関する神経基盤では、大脳基底核と前頭前皮質、扁桃体や海馬などの関連領域で形成される神経回路(大脳皮質-大脳基底核ループ)が重要な役割を果たしている。報酬や嫌悪刺激およびその予測誤差は腹側被蓋野のドーパミン神経細胞の発火頻度を変え、側坐核に情報を伝える。また、海馬や扁桃体、前頭前皮質から、グルタミン酸神経伝達を介して側坐核に情報が伝わる。側坐核にはドーパミン D1 受容体 (D1R) を発現する中型有棘神経細胞、ドーパミン D2 受容体 (D2R) を発現する中型有棘神経細胞、GABA およびアセチルコリン作動性介在神経細胞が存在し、約 90%は中型有棘細胞で占められている。D1R-中型有棘神経細胞は中脳(黒質/腹側被蓋野)へ、D2R-中型有棘神経細胞は腹側淡蒼球に特徴的な神経軸索の投射パターンを示すことから、これら中型有棘細胞は、複数の神経入力を統合して適切に行動を選択できるように情報を出力するインテグレーターとして機能している。

神経回路における情報伝達には、2種類の神経伝達物質群が異なった様式で働いている。1つは、グルタミン酸や GABA に代表される神経伝達物質群で、主にシナプス上のイオンチャンネルを受容体として速いタイムコース(数ミリ秒のオーダー)で電気信号を伝えることで活動電位を生成し、神経回路を直接動かしている。一方で、ドーパミン、アセチルコリン、アデノシンなどのニューロモジュレーターは、G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) を介して比較的ゆっくりとしたタイムコース(数秒から数分のオーダー)で細胞内シグナルを動かし、PKA、MAPK、PKC、CaMKII、Rhoキナーゼなどの種々の蛋白質リン酸化酵素(キナーゼ)を活性化させる。その結果、様々な基質蛋白質のリン酸化を促進することで、神経細胞の興奮性や可塑性、遺伝子発現を調節して情動行動や学習・記憶を制御すると考えられている。研究代表者らは、新たに開発したリン酸化プロテオミクス法により、マウスの側坐核で起こるリン酸化反応を網羅的に解析し、ドーパミンの下流でリン酸化される蛋白質を 100 種類以上同定した(Amano et al. J Cell Biol 2015; Nagai et al. Neuron 2016)。それらの情報を基に、ドーパミンが中型有棘神経細胞の D1R-プロテインキナーゼ A (PKA) 経路を介して低分子量 G 蛋白質 Rap1 を活性化することを明らかにした。これら一連の成果は、ドーパミンが快情動行動を生み出すしくみを分子レベルで初めて明らかにした(Nagai et al. Trends Pharmacol Sci 2016)。一方で、その他の神経伝達物質(アデノシン、アセチルコリンやグルタミン酸等)の細胞内シグナル伝達経路は未だ不明な点が多い。情動異常を呈する統合失調症やうつ病を含む精神疾患は、社会経済的損失が極めて甚大であることから、解決すべき医療課題に位置づけられているものの、如何なる細胞内シグナル伝達が精神疾患の病態に関与しているのかについて、十分に理解できていない現状では、正しい治療標的や処方戦略について科学的な判断が困難である。故にニューロモジュレーターに関わる情動の分子基盤研究への取り組みは生命科学のみならず医療への貢献も高くその解明が望まれている。

## 2. 研究の目的

研究代表者らは新規のリン酸化プロテオミクス法を開発し、ドーパミンの下流で誘発されるリン酸化シグナルを包括的に解明してきた。各種キナーゼの活性とその基質のリン酸化を可視化できる抗リン酸化抗体やキナーゼの活性を制御する分子ツールも多数開発してきた。本研究では情動行動とその学習に関連するリン酸化シグナルを網羅的に解析し、その作用を簡易にモニター・分子操作する系を開発する。さらに、リン酸化シグナルによる神経細胞の興奮性や可塑性の制御機構を解明し、情動行動・学習との関連を明らかにする。

## 3. 研究の方法

情動行動を規定する分子基盤の解明にあたり、以下の研究課題に取り組んだ。

- (1) リン酸化プロテオミクスによる神経伝達物質のリン酸化シグナル解析
- (2) リン酸化シグナル伝達の時空間的モニタリング法の開発
- (3) リン酸化シグナル分子の分子操作法の開発
- (4) 神経細胞の膜興奮性を制御する機構の解析
- (5) シナプス可塑性の制御機構の解析
- (6) 神経可塑性に関与する遺伝子発現機構の解析

## 4. 研究成果

- (1) リン酸化プロテオミクスによる神経伝達物質のリン酸化シグナル解析

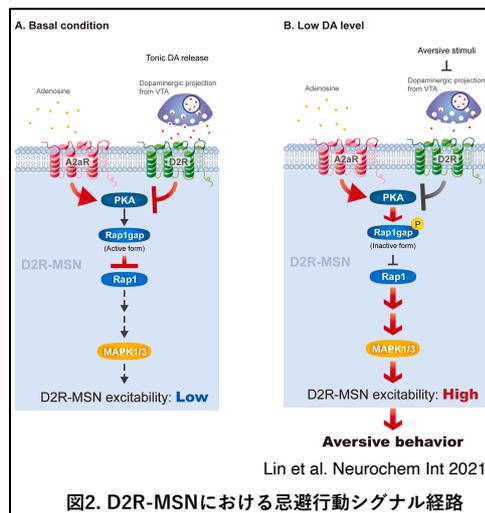
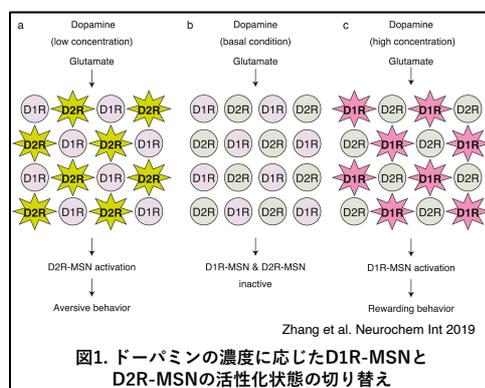
### ① ドーパミン (D2R) とアデノシンのリン酸化シグナル解析

ドーパミンは運動機能、意欲や快感に関連する行動を担っている神経伝達物質で、パーキンソン病や統合失調症などの精神・神経疾患の病態と深い関わりがある。ドーパミンの下流の細胞内シグナルでは、プロテインキナーゼ A (PKA) が重要な役割を果たすことは分かっていたが、その詳細なメカニズムについては不明の部分も多く残されている。線条体には、 $G_{\text{olf}}$  と共役したドーパミン D1 受容体を発現する中型有棘細胞 (D1R-MSN) と、 $G_i$  と共役した D2 受容体を発現する D2R-

MSN が存在し、それぞれ報酬行動と忌避行動に関与することが知られている。これまでに研究代表者らは、D1R の下流シグナルを解析し、PKA の下流で Rap1→MAPK シグナルが D1R-MSN の興奮性を増強することで報酬関連行動を制御していることを明らかにしてきた (Nagai et al. Neuron 2016)。一方、ドーパミンは D2R-MSN の活動を抑制することから D2R-MSN を活性化させる機構がドーパミンの他に存在すると考えられている。D2R-MSN は  $G_{o1f}$  に共役するアデノシン A2A 受容体の特異的に発現しているため、D2R-MSN の活性化を担うニューロモデレーターとしてアデノシンが有力な候補である。これらの知見から大脳基底核の活動はドーパミンとアデノシンのバランスにより規定されていると推測されるが詳細な機構については不明である。本研究では、アデノシンの下流でリン酸化されるリン酸化基質とそのリン酸化サイトを同定するために、線条体スライス培養を用いて、A2AR 作動薬 (CGS21680) による刺激を行なった。プロテオミクス解析の結果、アデノシン受容体作動薬刺激によりリン酸化される蛋白質を 34 種類得た。その中には PKA の既知の基質である Rap1GAP も含まれていた。Rap1GAP S563 のリン酸化を認識するリン酸化抗体を作製し、線状体スライス培養を用い A2AR 作動薬 (CGS21680) または、D2R 作動薬 (Quinpirole) で処置し、Rap1GAP のリン酸化の変動をモニターした。CGS21680 を処置したスライスでは Rap1GAP のリン酸化が増加し、このリン酸化の増加は Quinpirole の前処置によって抑制された。次に A2AR 刺激に伴う Rap1gap のリン酸化が *in vivo* でも観察されるかどうかを検討した。A2AR 作動薬を投与したマウスの側坐核では、Rap1gap S563 のリン酸化が僅かに増加したが、優位な変化は認められなかった。一方、D2R 拮抗薬を投与したマウスでは、側坐核の Rap1gap のリン酸化が D2R-MSN で顕著に増加し、この D2R 拮抗薬の作用は A2AR 拮抗薬の前処置により完全に抑制された。以上の結果を基に数理モデルを構築し、以下のモデルを提唱した。(a) D2R に比較して D1R はドーパミンに対する親和性が低い。そのため通常状態のドーパミン濃度は、D2R のみを活性化して D2R-MSN の活動を抑制する。(b) ドーパミン濃度が高い状態では、D1R と D2R の両方が刺激されるために D1R-MSN は活性化し、D2R-MSN は抑制される。(c) D1R と D2R に対して作用を示さない低いドーパミン濃度の状態では、アデノシンが A2AR を恒常的に刺激しているため D2R-MSN のみが活性化する。したがって、ドーパミンはアデノシンの協働を伴う事で D1R-MSN と D2R-MSN の興奮性のバランスを制御することが示唆された (Zhang et al. Neurochem Int 2019) (図 1)。このモデルでは、ドーパミン濃度が低下すると基底濃度のアデノシンにより D2R-MSN において PKA 経路が活性化することが示されたが、これを検証するために、実際に忌避関連記憶・学習行動とシグナル経路の解析を行った。マウスに電気ショック (忌避刺激) を与えると、D2R-MSN で PKA の基質のリン酸化が亢進したが、A2AR アンタゴニスト前投与によりこのリン酸化は抑制された。また、暗室進入時に電気ショックを与え暗室と恐怖を関連付けて記憶させる受動的回避試験において、A2AR アンタゴニストにより忌避関連行動が抑制された。アデノ随伴ウイルスにより D2R-MSN に活性型 Rap1、PKA、MEK1 を発現させると忌避関連行動は亢進し、一方で Rap1GAP、ドミナントネガティブ (dn) PKA、あるいは dnMEK1 を発現させると抑制された。さらに、光遺伝学的手法により腹側被蓋野から側坐核 D2R-MSN に投射するドーパミン神経を抑制すると忌避行動が惹起されるが、この行動は D2R-MSN に Rap1GAP や dnPKA を発現させることで抑制された。以上の結果より、マウス忌避関連行動を制御するリン酸化シグナルが実証された (Lin et al. Neurochem Int 2021) (図 2)。

## ②アセチルコリンのリン酸化シグナル解析

恐怖や嫌悪を含む不快情動に暴露されるとアセチルコリンの分泌が促進されることが知られている。側坐核においてアセチルコリンはムスカリン M1 受容体 (M1R) を通じて PKC 活性を惹起させることで、D2R-MSN の興奮性を上げることが示唆されているが、D2R-MSN の興奮性の制御に関する細胞内シグナル伝達機構は未だ理解できていない。本研究では、M1R/PKC 経路により制御されるリン酸化蛋白質とそのリン酸化サイトを同定するために、線条体スライス培養法を用いて、コリン作動薬 (Carbachol) や PKC 活性化剤 (PEP-005) による処置を行った。プロテオミクス解析の結果、M1R/PKC 経路により制御される 100 種類以上のリン酸化蛋白質を同定した。そして、リン酸化蛋白質の 1 つである  $\beta$  PIX は PKC によってリン酸化されることで、Rac/PAK1 経路を活



性化させることを見出した。マウスに電気ショック(忌避刺激)を与えると、D2R-MSNでPAK1の基質のリン酸化が亢進したが、M1R特異的阻害剤(VU0255035)の前投与によりこのリン酸化は抑制された。アデノ随伴ウイルスによりD2R-MSNに活性型PAK1を発現させると忌避関連行動は亢進し、一方でドミナントネガティブ(dn)PAK1を発現させると抑制された。従って、アセチルコリンはD2R-MSNでM1R→PKC→Rac→PAK1経路を活性化し忌避関連行動を制御することが示唆された(Yamahashi et al. in revision) (図3)。

### ③グルタミン酸のリン酸化シグナル解析

グルタミン酸は、AMPA型およびNMDA型グルタミン酸受容体を介して膜電位を調節すると共に、Ca<sup>2+</sup>流入を介してCaMK IIやPKCのキナーゼを活性化する。これらのキナーゼは様々な基質をリン酸化することで、樹状突起スパインの形態可塑性やそれに引き続く長期増強を誘発し、学習・記憶の形成に寄与すると考えられている。しかしながら、これらのキナーゼがどのような基質をリン酸化するのかは完全には理解されていないため、シナプス可塑性の制御機構については依然として不明な点が多い。本研究では、グルタミン酸の下流でリン酸化されるリン酸化基質とそのリン酸化サイトを同定するために、線条体スライス培養法を用いて、高カリウム(KCl)やNMDA受容体作動薬(NMDA)による処置を行った。プロテオミクス解析の結果、KClやNMDAによってリン酸化が亢進する300種以上のリン酸化蛋白質を同定した。パスイエ解析により、Rhoファミリー低分子量G蛋白質の関連経路を含む数種類のシグナル伝達経路を同定した。

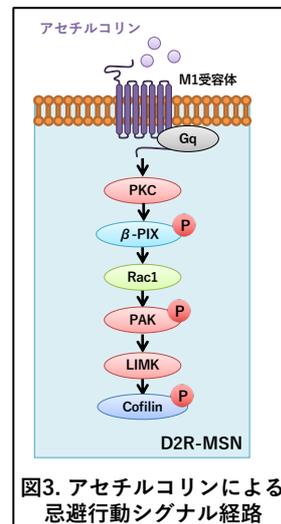


図3. アセチルコリンによる忌避行動シグナル経路

### (2) リン酸化シグナル伝達の時空間的モニタリング法の開発

研究代表者は独自に開発したキナーゼ相互作用基質スクリーニング法(KISS法)により、Rho-kinaseに特異的な基質を100種類以上同定し、リン酸化サイトの正確なコンセンサス配列を決定している。この情報を基に、Rho-kinaseの活性をモニターするFRETプローブを共同開発した(Li et al. Cell Struct Funct 2017)。

蛋白質キナーゼはリン酸化部位周辺配列に加えて何らかの他の基質情報を認識していると推察される。MAPKファミリーは触媒領域の活性中心でリン酸化部位(PS)を認識すると共に、ドッキングサイト(DS)と呼ばれる領域でも基質のドッキングモチーフ(DM)と呼ばれる配列を認識することが知られているが、Rho-kinase、PKA、PKNにもこのような機構があると考え、Rho-kinaseとその基質MYPT1をモデルとして、DM領域を特定した(図4)。そしてMYPT1由来のDM/PS配列ペプチドが*in vitro*でRho-kinaseの活性を特異的に阻害することを見出した。本阻害ペプチドを光感受性ドメインへ融合することで、新たなRho-kinaseの光制御型ツールのプロトタイプを確立した。

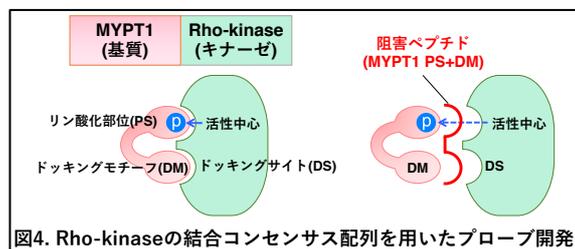


図4. Rho-kinaseの結合コンセンサス配列を用いたプローブ開発

### (3) リン酸化シグナル分子の分子操作法の開発

Rho-kinaseについて、LOV-trap法によって光依存的にRho-kinaseを活性化および阻害できる系を連携研究者のKlaus Hahn教授と共同開発した(Takano et al. Nat Commun 2017)。LOV-Trap法では、光によって構造が変化するLOVドメインと、そのdark stateの構造を認識する人工蛋白質(Zdk)を用いた。Rho-kinaseをZdkと融合させ、一方でLOVドメインをミトコンドリア膜上に発現させる。光照射前はLOV-Zdk複合体が形成され、Rho-kinaseはミトコンドリア膜上に強制的にTrapされるが、光照射によってLOVの構造が変化するとZdk-Rho-kinase融合体が細胞質に遊離しRho-kinaseの活性を調節する。LOV-trap-Rho-kinaseを用いて、Rho-kinaseを細胞体のみで光活性化させると、未成熟な神経突起のみが退縮することを示した(Takano et al. Nat Commun 2017) (図5)。

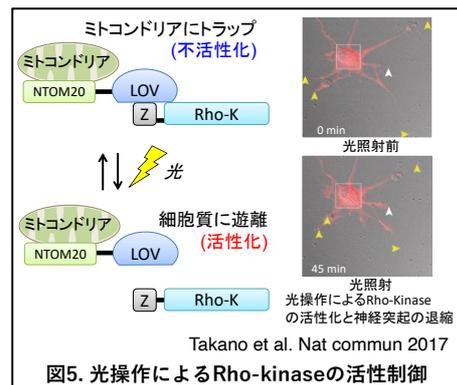


図5. 光操作によるRho-kinaseの活性制御

様々なリン酸化酵素はその制御領域に偽基質配列を持ち、酵素の活性中心を塞ぐことで通常活性が抑制されている。連携研究者のKlaus Hahn教授はすでにPKAの偽基質配列とLOVを融合させたphotoactivatable PKA inhibitor(PA-PKI)を作製しており、光依存的にLOVの構造が変化することでPKIが露出し、内在性のPKA活性が阻害されることを示している。この技術を用い、CaMK IIとPKCの偽基質配列を用いてそれぞれの光感受性のCaMK II inhibitor(PA-CN19)とPKC inhibitor(PA-ZIP)のプロトタイプを作製した。

### (4) 神経細胞の膜興奮性を制御する機構の解析

研究代表者らはDIRの活性化によりリン酸化レベルが変動する電位依存性カリウムチャンネル

KCNQ2 を同定するとともに、リン酸化の生理的意義を解明するため、電気生理学的解析を行った (図 6)。マウス側坐核の急性スライスを用いたパッチクランプ解析から D1R の活性化が KCNQ 依存性電流 (KCNQ カレント) を減少させること。また、カエル卵母細胞を用いたイオンチャネル機能解析において Raf キナーゼで活性化した MAPK カスケードが KCNQ2/3 ヘテロチャネルの開口特性を変化 (電位依存的なチャネル開口率の正電位への活性シフト) させること、MEK 阻害剤 U0126 の共投与が上述の活性シフトを抑制することを見出した。これらの結果は D1R シグナル伝達が KCNQ2 のリン酸化を介して神経膜興奮性を制御していることを示唆した。

### (5) シナプス可塑性の制御機構の解析

上述したグルタミン酸のリン酸化プロテオミクス解析の結果から、Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質の制御蛋白質に着目し解析を行なった。in vitro のリン酸化解析により CaMK II が ARHGEF2 をリン酸化することを見出した。NMDA 受容体刺激により ARHGEF2 のリン酸化が亢進し、CaMK II 阻害剤 (KN-93) や NMDA 受容体阻害剤 (MK-801) の前処置により抑制された。さらに CaMK II による ARHGEF2 のリン酸化がその GEF 活性を増加し、RhoA シグナル伝達経路を活性化することを示した。シナプス後肥厚部の足場蛋白質である SHANK3 は、Rho-Kinase によりリン酸化され、リン酸化依存的に DLGAP3 を介して NMDAR、AMPA と結合することを示した。NMDA 受容体刺激により SHANK3 のリン酸化が亢進し、Rho-Kinase 阻害剤 (Y27632) の前処置により抑制された。マウスに電気ショック (忌避刺激) を与えると、Rho-Kinase の基質の SHANK3 や MYPT1 のリン酸化が亢進したが、Rho-Kinase 阻害剤 (Fasudil) 前投与によりこのリン酸化は抑制された。また、受動的回避試験において、Fasudil の腹腔内投与により忌避関連行動が抑制された。さらに、アデノ随伴ウイルスにより D2R-MSN にドミナントネガティブ (dn) Rho-Kinase を発現させると忌避関連行動は抑制された。SHANK3 の SH3-PDZ 領域 (dn 変異体) を発現させると忌避関連行動は抑制された。一方、SH3-PDZ 領域内のリン酸化部位をアラニンに置換したリン酸化部位欠損変異体を発現させると忌避関連行動の抑制は認められなかった。以上の結果より、忌避刺激により、グルタミン酸が前頭皮質から側坐核へ放出されると、D2R-MSN の細胞内で CaMKII→RhoA→Rho-kinase 経路が活性化され、SHANK3 を含む様々な基質が Rho-kinase によってリン酸化されることで忌避関連行動が制御されることを示唆した (図 7)。

### (6) 神経可塑性に関与する遺伝子発現機構の解析

本研究では、ドーパミンによる報酬関連行動に係る遺伝子発現調節機構を解析するため、コカイン投与したマウス脳線条体から転写共役因子 cAMP response element binding protein (CBP) と相互作用する転写因子の探索を行い、CREB、NPAS4、MKL2 など多数の転写因子・転写共役因子を得た。NPAS4 と MKL2 はドーパミンの下流で MAPK によってリン酸化され、リン酸化依存的に CBP と結合することを見出した。NPAS4 は *c-fos* や *Bdnf* 等の神経活動依存的遺伝子発現制御に関与することが知られているが、活性型 MEK や cAMP 活性化剤 (Forskolin) が NPAS4 依存的 *Bdnf* プロモーター活性を亢進し、また野生型 NPAS4 と比して非リン酸化型変異体は低い、リン酸化模倣変異体は高い転写活性を示した。D1R-MSN において特異的に NPAS4 をノックアウトしたところ、コカインによる報酬関連記憶・学習行動はほぼ完全に抑制された。この時、アデノ随伴ウイルスにより野生型 NPAS4 を D1R-MSN に特異的に発現させると報酬関連行動は回復したが、非リン酸化型変異体 NPAS4 ではレスキューされなかった。これらの結果より、線条体 D1R-MSN ではドーパミンの下流で MAPK が転写関連因子 NPAS4 や MKL2 をリン酸化して *Bdnf* 等の遺伝子発現を亢進することで、報酬関連学習・記憶を促進していることが示唆された (Funahashi et al. Cell Rep 2019; Ariza et al. J Neurochem 2021) (図 8)。

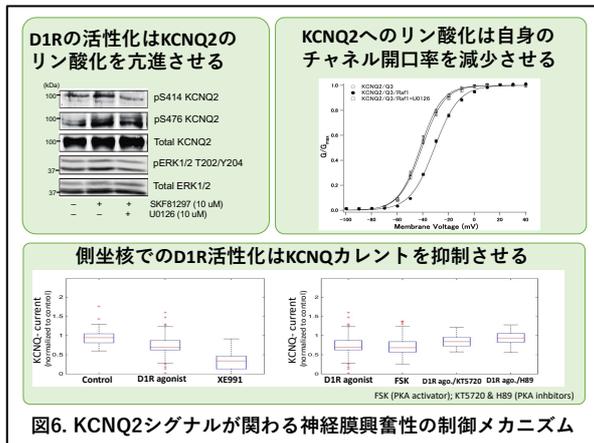


図6. KCNQ2シグナルが関わる神経膜興奮性の制御メカニズム

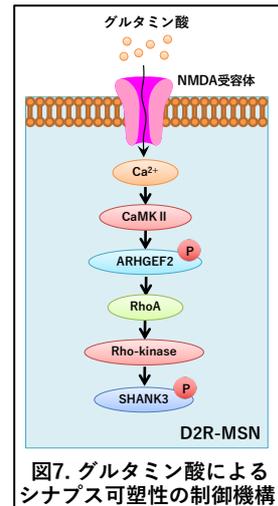
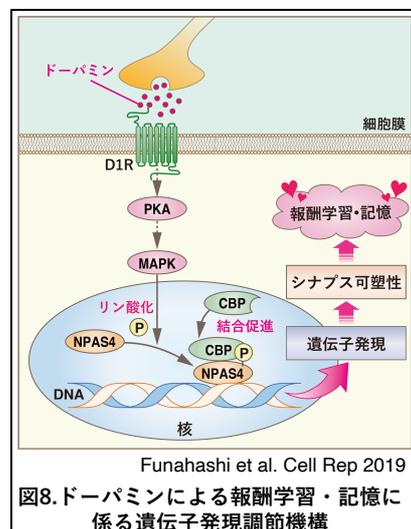


図7. グルタミン酸によるシナプス可塑性の制御機構



Funahashi et al. Cell Rep 2019  
図8. ドーパミンによる報酬学習・記憶に係る遺伝子発現調節機構

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Lin You-Hsin, Yamahashi Yukie, Kuroda Keisuke, Faruk Md. Omar, Zhang Xinjian, Yamada Kiyofumi, Yamanaka Akihiro, Nagai Taku, Kaibuchi Kozo	4. 巻 143
2. 論文標題 Accumbal D2R-medium spiny neurons regulate aversive behaviors through PKA-Rap1 pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 104935 ~ 104935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2020.104935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ariza Anthony, Funahashi Yasuhiro, Kozawa Sachi, Omar Faruk Md., Nagai Taku, Amano Mutsuki, Kaibuchi Kozo	4. 巻 -
2. 論文標題 Dynamic subcellular localization and transcription activity of the SRF cofactor MKL2 in the striatum are regulated by MAPK	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chowdhury Md. Imrul Hasan, Nishioka Tomoki, Mishima Noriko, Ohtsuka Toshihisa, Kaibuchi Kozo, Tsuboi Daisuke	4. 巻 45
2. 論文標題 Prickle2 and Igsf9b Coordinately Regulate the Cytoarchitecture of the Axon Initial Segment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 143 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.20028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chowdhury Md. Imrul Hasan, Nishioka Tomoki, Mishima Noriko, Ohtsuka Toshihisa, Kaibuchi Kozo, Tsuboi Daisuke	4. 巻 45
2. 論文標題 Prickle2 and Igsf9b Coordinately Regulate the Cytoarchitecture of the Axon Initial Segment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 143 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.20028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lin You-Hsin, Yamahashi Yukie, Kuroda Keisuke, Faruk Md. Omar, Zhang Xinjian, Yamada Kiyofumi, Yamanaka Akihiro, Nagai Taku, Kaibuchi Kozo	4. 巻 143
2. 論文標題 Accumbal D2R-medium spiny neurons regulate aversive behaviors through PKA-Rap1 pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 104935 ~ 104935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2020.104935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ariza Anthony, Funahashi Yasuhiro, Kozawa Sachi, Omar Faruk Md., Nagai Taku, Amano Mutsuki, Kaibuchi Kozo	4. 巻 -
2. 論文標題 Dynamic subcellular localization and transcription activity of the SRF cofactor MKL2 in the striatum are regulated by MAPK	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15303	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Funahashi, Takashi Watanabe, Kozo Kaibuchi	4. 巻 63
2. 論文標題 Advances in defining signaling networks for the establishment of neuronal polarity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 76 ~ 87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceb.2019.12.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Funahashi, Anthony Ariza, Ryosuke Emi, Yifan Xu, Wei Shan, Ko Suzuki, Sachi Kozawa, Rijwan Uddin Ahammad, Mengya Wu, Tetsuya Takano, Yoshimitsu Yura, Keisuke Kuroda, Taku Nagai, Mutsuki Amano, Kiyofumi Yamada, Kozo Kaibuchi	4. 巻 29
2. 論文標題 Phosphorylation of Npas4 by MAPK Regulates Reward-Related Gene Expression and Behaviors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 3235 ~ 3252.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.10.116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuya Takano, Yasuhiro Funahashi, Kozo Kaibuchi	4. 巻 7
2. 論文標題 Neuronal Polarity: Positive and Negative Feedback Signals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2019.00069	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Xinjian, Nagai Taku, Ahammad Rijwan Uddin, Kuroda Keisuke, Nakamuta Shinichi, Nakano Takashi, Yukinawa Naoto, Funahashi Yasuhiro, Yamahashi Yukie, Amano Mutsuki, Yoshimoto Junichiro, Yamada Kiyofumi, Kaibuchi Kozo	4. 巻 122
2. 論文標題 Balance between dopamine and adenosine signals regulates the PKA/Rap1 pathway in striatal medium spiny neurons	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 8~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2018.10.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishioka Tomoki, Amano Mutsuki, Funahashi Yasuhiro, Tsuboi Daisuke, Yamahashi Yukie, Kaibuchi Kozo	4. 巻 11
2. 論文標題 In Vivo Identification of Protein Kinase Substrates by Kinase-Oriented Substrate Screening (KIOSS)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Protocols in Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 e60~e60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpch.60	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amano Mutsuki, Nishioka Tomoki, Tsuboi Daisuke, Kuroda Keisuke, Funahashi Yasuhiro, Yamahashi Yukie, Kaibuchi Kozo	4. 巻 165
2. 論文標題 Comprehensive analysis of kinase-oriented phospho-signalling pathways	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 301~307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy115	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li Chunjie, Imanishi Ayako, Komatsu Naoki, Terai Kenta, Amano Mutsuki, Kaibuchi Kozo, Matsuda Michiyuki	4. 巻 42
2. 論文標題 A FRET Biosensor for ROCK Based on a Consensus Substrate Sequence Identified by KISS Technology	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.16016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takano Tetsuya, Wu Mengya, Nakamuta Shinichi, Naoki Honda, Ishizawa Naruki, Namba Takashi, Watanabe Takashi, Xu Chundi, Hamaguchi Tomonari, Yura Yoshimitsu, Amano Mutsuki, Hahn Klaus M., Kaibuchi Kozo	4. 巻 8
2. 論文標題 Discovery of long-range inhibitory signaling to ensure single axon formation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-00044-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

[学会発表] 計21件(うち招待講演 1件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Rijwan Uddin Ahammad, Yasuhiro Funahashi, Xinjian Zhang, Emran Hossen, Md. Omar Faruk, Md Hasanuzzaman Shohag, Yifan Xu, Huanhuan Wang, Shinichi Nakamuta, Keisuke Kuroda, Daisuke Tsuboi, Tomoki Nishioka, Mutsuki Amano, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Phosphoproteomics of NMDA pathway leads to Rho-Kinase mediated synaptic plasticity through Shank3 phosphorylation.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 船橋靖広、Anthony Ariza, 恵美亮佑、伊許凡、偉単、鈴木航、小澤祥、Rijwan Uddin Ahammad、呉夢雅、高野哲也、由良義光、黒田啓介、永井拓、天野睦紀、山田清文、貝淵弘三
2. 発表標題 MAPKによるNpas4リン酸化は報酬関連の遺伝子発現と行動を制御する
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 許伊凡、船橋靖広、永井拓、貝淵弘三
2. 発表標題 プロテインキナーゼAの抑制は、脳の報酬系に影響を与える
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Rijwan Uddin Ahammad, Yasuhiro Funahashi, Emran Hossen, Md. Omar Faruk, Md Hasanuzzaman Shohag, Sachi Kozawa, Hiroki Kato, Shinichi Nakamuta, Tomoki Nishioka, Daisuke Tsuboi, Mutsuki Amano, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Phosphoproteomics of NMDA pathway leads to Rho-Kinase mediated synaptic plasticity through Shank3 phosphorylation.
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会・第19回日本タンパク質科学学会年会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mutsuki Amano, Tomoki Nishioka, Junichiro Yoshimoto, Takayuki Kannon, Shiro Usui, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 KANPHOS Platform: A comprehensive database for kinase-associated neural phosphorylation signaling
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会・第19回日本タンパク質科学学会年会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mutsuki Amano, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 An interactome-based proteomic approach for comprehensive substrate screening of protein kinases
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会 合同大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukie Yamahashi, Sho Iwanaga, Yuya Tokumoto, You-Hsin Lin, Xijian Zhang, Taku Nagai, Daisuke Tsuboi, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 The mode of action of acetylcholine in nucleus accumbens that leads to aversive learning
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 You-Hsin Lin, Taku Nagai, Yukie Yamahashi, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Suppressed dopamine release caused by aversive stimulus activates PKA-Rap1 signaling in accumbal D2R-medium spiny neuron
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mengya Wu, Yasuhiro Funahashi, Tetsuya Takano, Daisuke Tsuboi, Rijwan Uddin Ahammad, Mutsuki Amano, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Discovery of a key missing signaling between RhoA/Rho-kinase and Ras during LTP
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keisuke Kuroda, Mutsuki Amano, Junichiro Yoshimoto, Taku Nagai, Takayuki Kannon, Tomoki Nishioka, Shiro Usui, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 KANPHOS (Kinase-Associated Phospho-Signaling) Platform - A comprehensive database for kinase-associated neural phosphorylation signaling"
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xinjian Zhang, Taku Nagai, Ahammad Rijwan Uddin, Keisuke Kuroda, Takashi Nakano, Junichiro Yoshimoto, Kiyofumi Yamada, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Balance between dopamine and adenosine signals regulates the PKA/Rap1 pathway in striatal medium spiny neurons
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuhiro Funahashi, Anthony Ariza, Ryosuke Emi, Yifan Xu, Shan Wei, Ko Suzuki, Sachi Kozawa, Tetsuya Takano, Yoshimitsu Yura, Keisuke Kuroda, Taku Nagai, Mutsuki Amano, Kiyofumi Yamada, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Phosphorylation of Npas4 by MAPK regulates reward-related gene expression and behaviors
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Tsuboi, Tomoki Nishioka, Takushi Shimomura, Takeshi Otsuka, Yoshihiro Kubo, Yasuo Kawaguchi, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Molecular Mechanism of KCNQ Channels For Reward Behavior
3. 学会等名 Neuro2019 (第42回日本神経科学学会・第62回日本神経化学会大会合同大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mengya Wu, Yasuhiro Funahashi, Tetsuya Takano, Daisuke Tsuboi, Rijwan Uddin Ahammad, Mutsuki Amano, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Discovery of a key missing signaling between RhoA/Rho-kinase and Ras during LTP
3. 学会等名 2019 ISN-ASN meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪井大輔、林祐新、山橋幸恵、黒田啓介、貝淵弘三
2. 発表標題 リン酸化から見た情動の分子基盤
3. 学会等名 第34回日本大脳基底核研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukie Yamahashi, Sho Iwanaga, Yuya Tokumoto, You-Hsin Lin, Xijian Zhang, Taku Nagai, Daisuke Tsuboi, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 The mode of action of acetylcholine in nucleus accumbens that leads to aversive learning
3. 学会等名 第34回日本大脳基底核研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xinjian Zhang, Taku Nagai, Keisuke Kuroda, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Dopamine and adenosine signaling pathways are analyzed in striatal medium spiny neurons using kinase-associated neural phospho-signaling (KANPHOS) database
3. 学会等名 Neuroscience2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Anthony Ariza, Yasuhiro Funahashi, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 MAPK ;mediated phosphorylation of MKL2 regulates nuclear localization and transcriptional activity in striatal neurons
3. 学会等名 Neuroscience2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuhiro Funahashi, Anthony Ariza, Ryosuke Emi, Yifan Xu, Shan Wei, Ko Suzuki, Sachi Kozawa, Rijwan Uddin Ahammad, Mengya Wu, Tetsuya Takano, Yoshimitsu Yura, Keisuke Kuroda, Taku Nagai, Mutsuki Amano, Kiyofumi Yamada, Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Phosphorylation of Npas4 by MAPK regulates reward-related gene expression and behaviors
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 A new database for kinase-oriented phospho-proteomics:KANPHOS
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kozo Kaibuchi
2. 発表標題 Novel dopamine receptor signaling in the striatum and its functional implications
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>名古屋大学大学院医学系研究科 神経情報薬理学講座HP  <a href="https://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/">https://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/</a></p> <p>藤田医科大学 総合医科学研究所 神経・腫瘍のシグナル解析プロジェクト研究部門HP  <a href="http://www.fujita-hu.ac.jp/ICMS/research_category/res06-22054/index.html">http://www.fujita-hu.ac.jp/ICMS/research_category/res06-22054/index.html</a></p>
---

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永井 拓 (Nagai Taku)  (10377426)	藤田医科大学・その他部局等・教授  (33916)	
研究分担者	天野 睦紀 (Amano Mutsuki)  (90304170)	名古屋大学・医学系研究科・准教授  (13901)	
研究分担者	西岡 朋生 (Nishioka Tomoki)  (70435105)	名古屋大学・医学系研究科・助教  (13901)	
研究分担者	黒田 啓介 (Kuroda Keisuke)  (80631431)	名古屋大学・医学系研究科・特任助教  (13901)	
研究分担者	船橋 靖広 (Funahashi Yasuhiro)  (00749913)	藤田医科大学・総合医科学研究所・講師  (33916)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	University of North Carolina Chapel Hill		