

令和元年6月3日現在

機関番号：10105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20841

研究課題名(和文) 神経細胞接着分子NCAMの糖鎖修飾の日内変化と嗅覚感度のサーカディアンリズム

研究課題名(英文) Relationship between diurnal changes of glycosylation of NCAM and circadian rhythm of olfaction

研究代表者

近藤 大輔 (Kondoh, Daisuke)

帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：90708364

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、脳内で日内変化する糖鎖をスクリーニングし、ニューロンの軸索伸長を調節している糖鎖 α 1-2フコース構造に着目した。マウスの嗅覚系は一般的な主嗅覚系とフェロモンなどを受容する鋤鼻系とに分かれるが、主嗅覚系に存在する神経接着分子(NCAM)に付加される α 1-2フコース量が日内変化していることを発見した。また、主嗅覚系の α 1-2Fuc量は加齢性に減少することを確認した。その一方で鋤鼻系では、 α 1-2Fuc量の日内変化および加齢性変化が生じていないことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって初めて、脳内における糖鎖修飾が日内変化しているということが明らかになった。糖鎖修飾はタンパク質の機能を調節しており、これまでに脳の発生に重要な役割を果たすことが知られてきたが、軸索伸長を制御する糖鎖構造が日内変化および加齢性変化しているという本研究は、知覚や行動制御といった神経機能の制御にも糖鎖修飾が重要であることを示唆している。この成果は、神経科学分野に糖鎖修飾の重要性を提唱するものである。

研究成果の概要(英文)：According to screening of glycans that change in a diurnal manner, we focused on α 1-2 fucose (α 1-2Fuc) glycan that mediates neurite outgrowth. We revealed that the amount of α 1-2Fuc attached to the neuronal cell adhesion molecule (NCAM) diurnally changes in mouse main olfactory system. In addition, the amount of α 1-2Fuc in main olfactory system decreased with age. On the other hand, neither diurnal or age-related changes are not found in mouse vomeronasal system that mainly detects pheromones.

研究分野：神経科学

キーワード：糖鎖 嗅覚系 日内変化 加齢性変化 レクチン 鋤鼻器 神経系

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 糖鎖は、タンパク質に付加されることでそのタンパク質の機能を調節する分子であり、脳内では神経細胞の可塑性に大きく影響する。すなわち、糖鎖構造の変化はシナプス形成や細胞間隙の距離などの微細構造を変化させ、神経細胞の分化や刺激伝導を調節している。

(2) 多くの哺乳類種は嗅覚を用いて周辺環境を理解している。嗅覚感度には時計遺伝子によって制御されるサーカディアンリズムが存在し、嗅球内に存在する二次嗅覚ニューロンの発火頻度も日内変化していることが知られているが、そのメカニズムは未だ不明である。

(3) 申請者はこれまでに、糖鎖工学分野の著名な研究者との共同研究によって、マウスの嗅球における糖鎖構造を網羅的に解析し、時計遺伝子の制御下で、軸索伸長を調節することが知られる糖鎖 a1-2 フコースを含む、いくつかの糖鎖構造が日内変化していることを発見した。

2. 研究の目的

(1) 糖鎖 a1-2 フコース構造の日内変化が生じる分子メカニズムを詳細に解明する。

(2) 中枢神経系において、神経接着分子 NCAM に付加される糖鎖 a1-2 フコース量が日内変化する生理的な意義を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) マウスの嗅覚中枢(嗅球)および嗅覚器(嗅粘膜および鋤鼻器)における糖鎖 a1-2 フコース構造の局在を、a1-2 フコースに特異的に結合することが知られるレクチン UEA-I を用いた組織化学によって明らかにする。

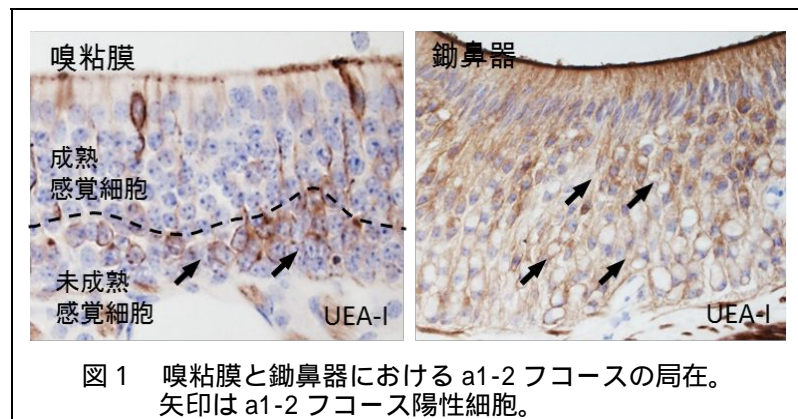
(2) ICR マウスおよび時計遺伝子欠損マウスを、明期:暗期 = 12 時間:12 時間の条件下で 1 週間以上飼育した後、1 日 4 時刻点で脳を採材し、糖鎖 a1-2 フコース構造の日内変化を制御するフコシル化関連酵素を分子生物学的手法で同定する。

(3) ICR マウスの 1 ヶ月齢、3 ヶ月齢、8 ヶ月齢、24 日月齢における、嗅覚器および嗅球内の a1-2 フコースを発現する感覚細胞数および嗅系球体数を比較し、加齢性変化の有無を確認する。

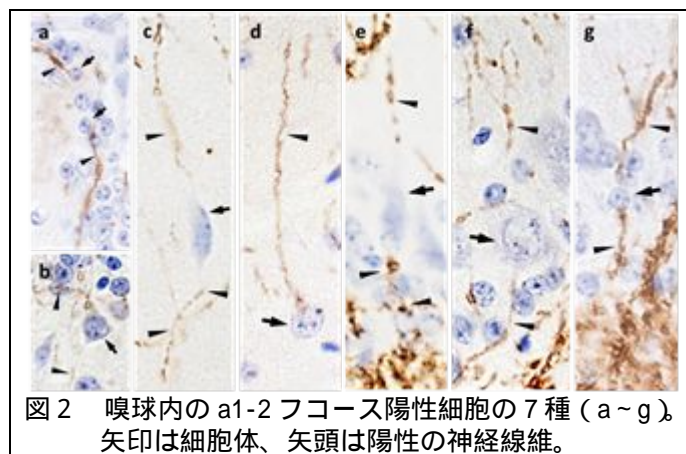
4. 研究成果

(1) マウス嗅覚器および嗅球において、a1-2 フコースの局在を同定

ICR マウス 3 ヶ月齢の嗅粘膜において、a1-2 フコースは未成熟な感覚細胞に局限して発現していた(図 1)。その一方で、鋤鼻器では全ての感覚細胞に a1-2 フコースが発現した。このことは嗅覚に関する感覚細胞に発現する a1-2 フコースの役割が、主嗅覚系(嗅粘膜)と鋤鼻系(鋤鼻器)とで異なっていることを示唆している。



加えて、嗅球内において a1-2 フコースを発現している細胞として、嗅系球体以外に 7 種の細胞を同定した(図 2)。全ての細胞で a1-2 フコースは神経線維に局限していたため、この糖鎖構造が軸索および樹状突起の伸長や機能調節に関連している可能性が示唆された。またこれらの細胞種はそれぞれ機能が異なることから、糖鎖 a1-2 フコース量の変化が及ぼす影響は多岐に渡ることが推測された。



(2) 嗅球内の糖鎖 a1-2 フコース量が日内変化する領域と関連酵素の同定

ICR マウス 3 ヶ月齢を用いた解析により、明期と暗期では嗅球内の神経接着分子 NCAM に結合する糖鎖 a1-2 フコース量が変化していることを明らかにした。加えて、この a1-2 フコース量が日内変化する領域は嗅覚の2次投射神経が集合する外側嗅索であることを発見した。この日内変化は、時計遺伝子欠損マウスでは有意に認められなかった(図3)

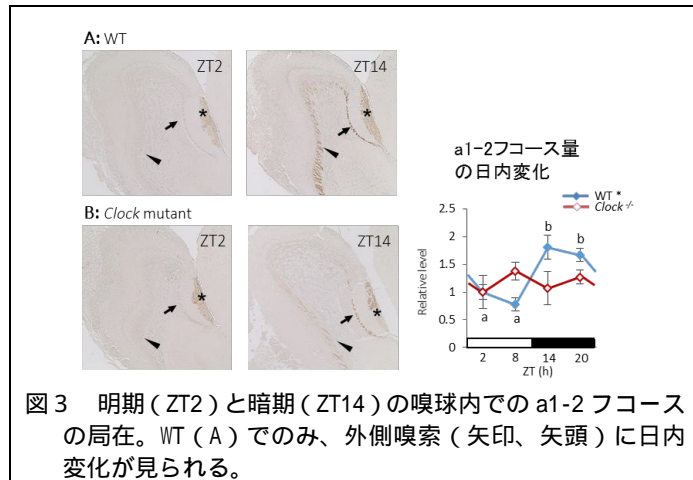


図3 明期 (ZT2) と暗期 (ZT14) の嗅球内での a1-2 フコースの局在。WT (A) でのみ、外側嗅索 (矢印、矢頭) に日内変化が見られる。

次に a1-2 フコースの日内変化を引き起こす酵素の同定を試みた。嗅球に発現する a1-2 フコース関連酵素として FUT1、FUT2、FUCA1 の3つを同定した。嗅系球体以外に7種の細胞を同定した。qPCR を用いた解析により、FUT1 の発現量が日内変動しており、FUT2 および FUCA1 の発現量は一定であることが明らかになった。また FUT1 の日内変動は時計遺伝子欠損動物では消失した(図4)。以上の結果から、NCAM に付加される糖鎖 a1-2 フコース量の日内変化は、時計遺伝子の支配下で FUT1 発現量が日内変動することによって生じることが確認された。

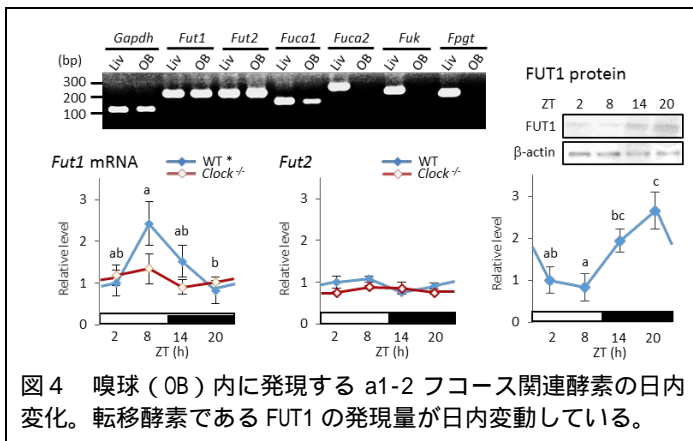


図4 嗅球 (OB) 内に発現する a1-2 フコース関連酵素の日内変化。転移酵素である FUT1 の発現量が日内変動している。

(3) マウスの嗅覚器および嗅球内における a1-2 フコース陽性細胞・嗅系球体の加齢性変化

(1)の成果に関する実験を行う中で、糖鎖 a1-2 フコースを発現する細胞数、および嗅球内の嗅系球体の数が月齢によって異なっている可能性が示されたため、4つの月齢群に関して詳細に解析した。

その結果、a1-2 フコースを発現する嗅粘膜の感覚細胞数は、加齢に伴って減少していた(図5)。同様に、主嗅覚系の1次中枢である主嗅球においても、a1-2 フコースを発現する嗅系球体数が加齢性に減少した(図6)。その一方で、鋤鼻系を構成する鋤鼻器では全ての月齢で全ての感覚細胞が a1-2 フコースを発現しており、また1次中枢の副嗅球においても、全ての嗅系球体が a1-2 フコースを発現していた。

これらの結果から、a1-2 フコースの機能は主嗅覚系と鋤鼻系とで異なることが示唆された。

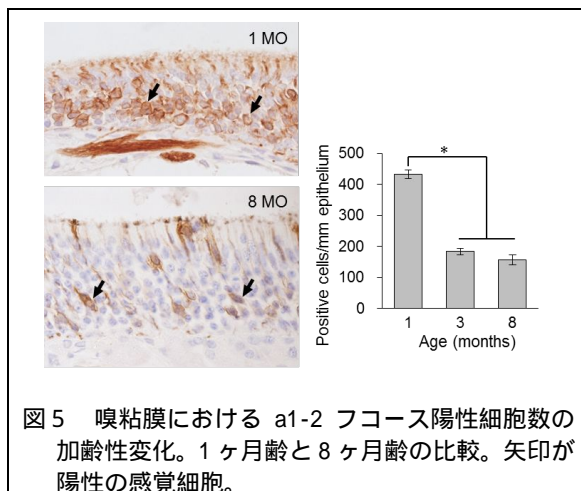


図5 嗅粘膜における a1-2 フコース陽性細胞数の加齢性変化。1 ヶ月齢と 8 ヶ月齢の比較。矢印が陽性の感覚細胞。

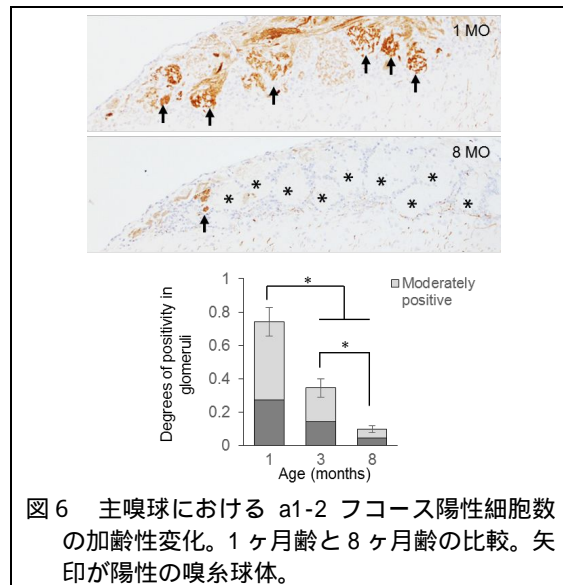


図6 主嗅球における a1-2 フコース陽性細胞数の加齢性変化。1 ヶ月齢と 8 ヶ月齢の比較。矢印が陽性の嗅系球体。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Daisuke Kondoh, Akihiro Kamikawa, Motoki Sasaki, Nobuo Kitamura, Localization of 1-2 fucose glycan in the mouse olfactory pathway, Cells Tissues Organs, 査読有、vol.203、2017、20-28
doi : 10.1159/000447009

近藤 大輔、神経系における糖鎖構造の変化、BIO Clinica、査読無、vol. 32、2017、65-67

Daisuke Kondoh, Understanding how glycosylation changes in concert with the circadian rhythm, Impact, 査読無、vol. 2019、2019、36-37
doi : 10.21820/23987073.2019.2.36

〔学会発表〕(計 件)

近藤 大輔、佐々木 基樹、北村 延夫、マウス嗅覚系における a1-2 フコース修飾の局在解析、日本解剖学会第 61 回東北・北海道連合支部学術集会、2015

近藤 大輔、佐々木 基樹、北村 延夫、ICR マウスの嗅覚系における糖鎖 a1-2 フコース局在の月齢依存的変化、第 158 回日本獣医学会学術集会、2015

Daisuke Kondoh, Motoki Sasaki, Nobuo Kitamura, Histochemical localization of a glycan structure governed by molecular clock in the mouse olfactory system, 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 2016

近藤 大輔、佐々木 基樹、北村 延夫、マウス嗅皮質領域における層構造の多様性、日本解剖学会第 62 回東北・北海道連合支部学術集会、2016

近藤 大輔、佐々木 基樹、北村 延夫、マウス主嗅球におけるレクチン UEA-I 陽性系球体は加齢に伴い減少する、第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2017

近藤 大輔、神経系の糖鎖構造の生理的变化 ~レクチンは糖鎖の変化を教えてくれる~、第 24 回日本獣医解剖学会サテライトフォーラム(招待講演)、2017

近藤 大輔、糖鎖 a1-2Fuc を発現する嗅覚ニューロンは主嗅覚系でのみ加齢性に減少する、日本解剖学会第 64 回東北・北海道連合支部学術集会、2018

〔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〕

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大石 勝隆

ローマ字氏名：(OISHI, katsutaka)

研究協力者氏名：平林 淳

ローマ字氏名：(HIRABAYASHI, jun)

研究協力者氏名：北村 延夫

ローマ字氏名：(KITAMURA, nobuo)

研究協力者氏名：佐々木 基樹

ローマ字氏名：(SASAKI, motoki)

研究協力者氏名：石井 利明

ローマ字氏名：(ISHII, toshiaki)

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。