

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成29年3月10日現在

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

Integrated studies of regulation of neuronal function
and development by kinesin superfamily motors, KIFs

課題番号：16H06372

廣川 信隆 (HIROKAWA NOBUTAKA)

東京大学・大学院医学系研究科・特任教授



研究の概要

私達が同定した Kinesin superfamily 分子群(KIFs)は、細胞内輸送機構を担い細胞の機能、形作り、生存の為に必須である。本課題では、1) KIFs の機能と、その特にリン酸化による制御機構、2) KIFs の神経可塑性、記憶・学習などの脳高次機能、および神経機能の制御機構、3) KIFs による発生制御の分子機構を解明する

研究分野：細胞生物学

キーワード：運動・輸送、脳・神経系の情報処理、構造生物学、細胞骨格・運動

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要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、生存の為に必須である。私達はこの輸送機構の主役である微小管をレールとする Kinesin superfamily 分子群(KIFs)を発見し、哺乳類の全遺伝子 45 個を同定し、KIFs が、多様な機能分子を輸送し分けるだけでなく脳の高次機能、神経回路網形成、体の左右非対称性の決定、腸管神経系の発生の制御、腫瘍の抑制など驚くべき重要な生命現象を司っている事を解明し、さらにその障害は、神経変性症、癲癇、不安神経症、腫瘍、II 型糖尿病等の疾患の原因となる事を明らかにした。この様にモーター分子群 KIFs は、細胞機能の根幹を担うと同時に様々な基本的生命現象を司っておりこの研究は、広く分子細胞生物学、神経科学、発生生物学、生物物理学に留まらず、疾患の病態解明の臨床医学を含む広範な学問分野に非常に大きな学術的意義を有する。

2. 研究の目的

本研究は、私達が発見した哺乳類の Kinesin superfamily molecular motors, KIFs につき以下の未知の重要な課題を解明し、国際的に先駆的研究を推進する事を目的とする。1) KIFs の機能とその制御機構 A)特に主要な KIF である KIF5 と KIF3/KAP3 複合体の

作動及びカーゴ輸送におけるリン酸化による制御機構 B) 微小管脱重合能のある KIF2A と KIF19A による微小管脱重合機構
2) KIFs の神経可塑性、記憶・学習等の高次機能、及び神経機能の制御機構 A) KIF21B, KIF3B, 及び KIF17 の神経可塑性と記憶・学習の制御機構 B) KIF1A, KIF26 の疼痛シグナル伝達における機能
3) KIFs による発生制御の分子機構 A) KIF2A の胎児期及び出生後の脳形成及びその障害による小頭症と癲癇の分子機構 B) KIF3B の形態形成因子 (Morphogen) 勾配形成における新しい役割

3. 研究の方法

分子細胞生物学、定量的質量分析法、生化学、分子遺伝学、電気生理学、超高解像度光学顕微鏡法、構造生物学等の学際的方法論を駆使する。

4. これまでの成果

1) KIFs の機能とその制御機構の解明
A) 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。
定量的質量分析法等の先駆的実験系により in vivo の KIFs のリン酸化を網羅的・定量的に測定する手法を確立し、さらにそれぞれのリン酸化部位を区別してその責任 Kinase を同定し上流のシグナルを明らかにする手法駆使して KIF5/KLC 及び KIF3/KAP3 の主なリン酸化部位と責任 kinase を同定した。その機能的意義を解析している。
B) 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。KIF2A に関しては、ATP を加水分解して効率良く微小管を脱重合する仕組みをゲルろ過法・超遠心分析・光散乱法・X 線結晶解析などの生化学的手法を融合することにより解き明かした。(投稿準備中)。線毛内微小管上を動き、線毛頂部で微小管を脱重合することにより線毛の長さを制御する KIF19A の運動と微小管脱重合の機能の機構を、X 線結晶解析とクライオ電子顕微鏡を組み合わせて解明した。(Wang D. et. al. *eLife* 2016)

2) KIFs の神経可塑性、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) 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) における役割の解明 KIF21B が Rac1GEF タンパク質と結合してその機能を動的に阻害することで、LTD 刺激時の Rac1 活性化を収束させ樹状突起スパインの形態・機能変化を生じることを同定した。(投稿準備中)

A) 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

KIF3B のヘテロ KO マウスは、自閉症・発達障害様の症状を示した。この分子機構として KIF3B が NR2A/APC/PSD95 複合体と結合しこれを輸送・安定化することで、シナプス形成ならびに神経可塑性に必須な役割を果たしていることを同定した。(投稿準備中)

A) c) 視覚野の臨界期神経可塑性と KIFs の機能の解明

皮質における神経可塑性の優れたモデル系とされる臨界期において単眼遮蔽を行い、神経可塑性において重要ないくつかの KIFs についてその発現量を解析したところ、特定の KIF について発現レベルの変動があることが分かってきた。

A) d) 記憶想起過程における KIF17 の機能の解明

KIF17 に注目し、記憶獲得・保持・想起という流れの中でどのような役割を担うのかについて解析している。記憶想起の際、神経活動を契機とした系によって一度 KIF17 の分解が起こり、その後既存の KIF17mRNA 翻訳によって KIF17 発現量が回復するということが分かった。

B) 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

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た。この分子機構として、KIF1A が NGF 受容体 TrkA を輸送し PI3K シグナリングを増強することによって、温痛覚を感受する一次感覚神経細胞の生存ならびに機能に必須であることが明らかとなった。(Tanaka et al. *Neuron* 2016) 更に KIF1A の輸送活性がカーゴの small GTPase ARL-8 により制御され

る事を解明し論文として発表した。(Niwa et al. *Cell Rep* 2016)

B) 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

KIF26A の KO マウスの行動解析により、痛覚過敏ならびに痛覚反応時間の顕著な延長が観察された。KIF26A がインテグリンシグナル伝達機構を阻害することにより、神経軸索の分枝・伸長を抑制するとともに、カルシウムの細胞外排出を促して神経細胞の興奮を収束させる機構が明らかとなった。(投稿準備中)

3) KIFs による発生制御の分子機構の解明

A) KIF2A の出生後の海馬神経回脳形成及びその障害による癲癇の分子機構の解明

KIF2A を生後に脳特異に欠損させることにより KIF2A が生後の海馬において、歯状回顆粒細胞の軸索の側枝抑制だけでなく、樹状突起の伸長抑制もすることで、海馬の回路形成に重要な働きをしていることが示された。(revision 中)

B) 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

KIF3B の 3loxP マウスを作成したところ、KIF3B のタンパク発現が胎児全身組織で顕著に低下し高頻度に多指症を生じこの分子機構を解明した。(投稿準備中)

5. 今後の計画

順調に研究が進んでいるので予定通り研究計画を進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 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* 5:e18101, 1-24. DOI:10.7554/eLife.18101.2016.
- ③ Niwa S., Lipton DM., Morikawa M., Zhao C., Hirokawa N., Lu H., and Shen K., Autoinhibition of neuronal kinesin UNC-104/KIF1A regulates the size and density of synapses. *Cell Rep* 16:2129-2141, 2016.

ホームページ

<http://cb.m.u-tokyo.ac.jp>