

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 特定領域研究
 研究期間： 2005 ～ 2009
 課題番号： 17024024
 研究課題名（和文） 神経細胞の極性形成機構の解明
 研究課題名（英文） Molecular mechanism underlying neuronal polarity

研究代表者

貝淵 弘三 (Kaibuchi Kozo)
 名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：00169377

研究成果の概要（和文）：本研究では、神経細胞の極性の獲得・維持機構を制御する分子機構の解析を行った。その結果、極性形成分子 CRMP-2 が GSK-3 β によるリン酸化で不活性化されること、CRMP-2 が積み荷受容体としてモーター分子 kinesin と結合し、軸索形成に関わる分子や小胞体を選択的に軸索先端に輸送することを示し、神経細胞の極性形成機構の一旦を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Our project aimed at examining the molecular mechanisms underlying establishment and maintenance of neuronal polarity. We found that GSK-3 β regulates neuronal polarity through the phosphorylation of CRMP-2. CRMP-2 complex directly links Kinesin-1 motor, and this association is required for the anterograde transport of signaling molecules and polarity related proteins-containing vesicles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	3,900,000	0	3,900,000
2006 年度	3,700,000	0	3,700,000
2007 年度	3,500,000	0	3,500,000
2008 年度	3,900,000	0	3,900,000
2009 年度	4,100,000	0	4,100,000
総計	19,100,000	0	19,100,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：極性、軸索、シグナル伝達、CRMP-2、小胞体、細胞外因子

1. 研究開始当初の背景

種々の細胞は固有の機能を発揮するために極性を獲得する。神経細胞は樹状突起から信号を入力して軸索から信号を出力するという極性を有している。細胞内では細胞骨格と小胞輸送が統合的に制御されることによりこれらの細胞が極性化するが、神経細胞においてそのメカニズムは殆ど理解されていなかった。我々は2001年にCRMP-2が神経細胞の極性を制御することを示した。一方で、細胞外因子は細胞極性を誘導することが知ら

れていたが、CRMP-2や細胞外因子がいかに協調して細胞極性を制御するかは不明な点が多く残っていた。

2. 研究の目的

本研究では、神経細胞を用い、CRMP-2や細胞外因子を中心として、細胞極性を制御するシグナル伝達機構を解明することを目的とした。

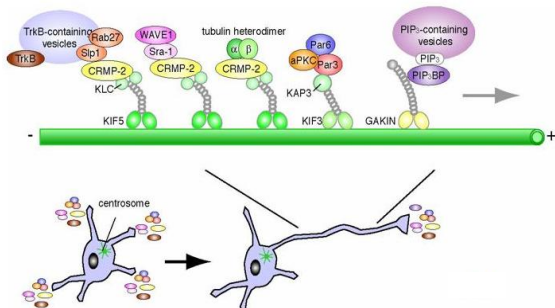
3. 研究の方法

(1) 細胞の極性形成を制御する細胞外シグナルの同定とシグナル伝達の解析

- (2) 小胞輸送と極性形成および遊走の関係
 (3) 細胞外因子による極性誘導機構の解析
 4. 研究成果

(1) CRMP-2 の活性制御機構や作用機構を解析した。CRMP-2 は Numb を介して接着分子 L1 に結合し、成長円錐における L1 のエンドサイトーシスを制御した。CRMP-2 は Sra-1 を介して成長円錐におけるアクチン繊維のリモデリングとラメリポディア形成を制御した。CRMP-2 は成長円錐において、微小管の重合、アクチン繊維のリモデリング、接着分子のエンドサイトーシスを統合的に制御して軸索伸長を制御すると考えられる。一方、CRMP-2 の活性制御因子として、PI(3,4,5)P₃ (PIP₃) に注目した。未成熟な神経突起の先端が細胞外基質ラミニンと接触しインテグリンが活性化されると、接触した神経突起に PIP₃ が急速に濃縮し、その後軸索伸長が誘導された。PI₃ キナーゼを阻害すると軸索伸長が抑制された。ラミニンの下流で PI₃ キナーゼの活性化と PIP₃ の産生が起こり、軸索の誘導を促すと考えられる。PIP₃ は Akt を介して Glycogen synthase kinase-3b (GSK-3β) を負に制御している。さらに我々は GSK-3β が CRMP-2 を直接リン酸化して不活性化することを見出した。以上の知見より PIP₃/Akt/GSK-3β の下流で CRMP-2 の活性が上昇することで突起の伸長を促進することが明らかになった。また、Par 複合体 (Par3/Par6/aPKC) が Kinesin-2 (KIF3) により神経突起の先端に運ばれ、PIP₃ の下流で軸索の運命決定に寄与することを見出した。

(2) 伸長する軸索や遊走する細胞では、突起先端や遊走先端に向かって膜を伸長させ、様々な受容体や接着分子を供給している。このためには選択的かつ極性を持った小胞輸送が必要とされる。CRMP-2 が「積荷 (cargo)」を選別しモーター分子 Kinesin-1 と連結する、「積荷受容体 (cargo receptor)」であるという概念を提唱し、CRMP-2 がチューブリンや Trk 等の特定の分子の軸索への選択的輸送に寄与することを示した。



(3) 神経細胞は生体内で様々な細胞外因子で制御されている。しかしながら、生体内という複雑な組織の中ではその解析が非常に困難である。そこで、細胞の局所への刺激を

与える系を確立し、細胞外因子を探索した。神経栄養因子は未成熟な突起の伸長を促進し、軸索を誘導した。この誘導にはカルシウムが関与しており、その下流のシグナル伝達機構も明らかにした。

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 12 件) (全て査読有)

1. Arimura, N., Hattori, A., Kimura, T., Nakamura, S., Funahashi, Y., Hirotsune, S., Furuta, K., Urano, T., Toyoshima, Y., and Kaibuchi, K. CRMP-2 directly binds to cytoplasmic dynein and interferes with its activity. *Journal of neurochemistry* 111, 380-90 (2009)

2. Arimura, N., Kimura, T., Nakamura, S., Taya, S., Funahashi, Y., Hattori, A., Shimada, A., Mnager, C., Kawabata, S., Fujii, K., Iwamatsu, A., Segal, R.A., Fukuda, M., and Kaibuchi, K. Anterograde transport of TrkB in axons is mediated by direct interaction with Slp1 and Rab27. *Developmental cell* 16, 675-86 (2009)

3. Arimura, N., and Kaibuchi, K. Neuronal polarity: from extracellular signals to intracellular mechanisms. *Nature reviews. Neuroscience* 8, 194-205 (2007)

4. Wang, S., Watanabe, T., Noritake, J., Fukata, M., Yoshimura, T., Itoh, N., Harada, T., Nakagawa, M., Matsuura, Y., Arimura, N., and Kaibuchi, K. IQGAP3, a novel effector of Rac1 and Cdc42, regulates neurite outgrowth. *Journal of cell science* 120, 567-77 (2007)

5. Yoshimura, T., Arimura, N., and Kaibuchi, K. Molecular mechanisms of axon specification and neuronal disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1086, 116-25 (2006)

6. Yoshimura, T., Arimura, N., and Kaibuchi, K. Signaling networks in neuronal polarization. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 26, 10626-30 (2006)

7. Yoshimura, T., Arimura, N., Kawano, Y., Kawabata, S., Wang, S., and Kaibuchi, K. Ras regulates neuronal polarity via the PI3-kinase/Akt/GSK-3beta/CRMP-2 pathway.

Biochemical and biophysical research communications 340, 62-8 (2006)

8. Arimura, N., and Kaibuchi, K., Key regulators in neuronal polarity. *Neuron* 48, 881-4 (2005)

9. Arimura, N., Mnager, C., Kawano, Y., Yoshimura, T., Kawabata, S., Hattori, A., Fukata, Y., Amano, M., Goshima, Y., Inagaki, M., Morone, N., Usukura, J., Kaibuchi, K. Phosphorylation by Rho kinase regulates CRMP-2 activity in growth cones. *Molecular and cellular biology* 25, 9973-84 (2005)

10. Kawano, Y., Yoshimura, T., Tsuboi, D., Kawabata, S., Kaneko-Kawano, T., Shirataki, H., Takenawa, T., and Kaibuchi, K. CRMP-2 is involved in kinesin-1-dependent transport of the Sra-1/WAVE1 complex and axon formation. *Molecular and cellular biology* 25, 9920-35 (2005)

11. Tsuboi, D., Hikita, T., Qadota, H., Amano, M., and Kaibuchi, K. Regulatory machinery of UNC-33 Ce-CRMP localization in neurites during neuronal development in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of neurochemistry* 95, 1629-41 (2005)

12. Kimura, T., Arimura, N., Watanabe, H., Iwamatsu, A., and Kaibuchi, K. Tubulin and CRMP-2 complex is transported via Kinesin-1. *Journal of neurochemistry* 93, 1371-82 (2005)

[学会発表] 件数 (計 39 件)

1. 船橋靖広, 有村奈利子, 中牟田信一, 貝淵弘三, Identification of PI 3-kinase as an Slp1-interacting protein in neuron 第 32 回日本神経科学学会大会, 2009. 9. 18, 名古屋.

2. 中牟田信一, 船橋靖広, 上口裕之, 貝淵弘三, Inositol 1,4,5-trisphosphate induced Ca²⁺ release is involved in neurite outgrowth and neuronal polarization 第 32 回日本神経科学学会大会, 2009. 9. 18, 名古屋.

3. 貝淵弘三, Neuronal polarity: From extracellular signals to intracellular mechanisms 第 32 回日本神経科学学会, 2009. 9. 18, 名古屋.

4. 貝淵弘三, Axon formation and polarized transport 第 52 回日本神経化学学会大会, 2009. 6. 22, 伊香保.

5. 船橋靖広, 有村奈利子, 中牟田信一, 貝淵弘三, Identification of PI 3-kinase as an Slp1-interacting protein in neuron、神経細胞における Slp1 相互作用タンパク質の同定 第 61 回日本細胞生物学会大会, 2009. 6. 3, 名古屋.

6. 中牟田信一, 船橋靖広, 有村奈利子, 上口裕之, 貝淵弘三, The role of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-induced Ca²⁺ release in neuronal polarization and neurite outgrowth 第 61 回日本細胞生物学会大会, 2009. 6. 3, 名古屋.

7. Kaibuchi, K., Axon formation and polarized vesicle transport ESF-EMBO Symposium CELL POLARITY AND MEMBRANE TRAFFIC, 2009. 5. 23, Spain.

8. Kaibuchi, K., Axon formation and polarized vesicle transport 日本分子生物学会年会 日本生化学会大会 合同大会, 2008. 12. 11, 神戸.

9. 船橋靖広, 有村奈利子, 吉村武, 中牟田信一, 貝淵弘三, Identification of Slp1-interacting-proteins in neuron BMB2008 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会, 2008. 12. 10, 神戸.

10. Kaibuchi, K., Axon formation and axonal transport 日本神経化学学会 シンポジウム, 2008. 9. 11, 富山.

11. Kaibuchi, K., Neuronal polarity and small GTPases FASEB summer research conferences, 2008. 7. 16, Vermont, USA.

12. Kaibuchi, K., Neuronal polarity and axonal transport 日本神経科学学会, 2008. 7. 8, 東京.

13. Kaibuchi, K., Neuronal polarity and axonal transport Gordon research conference, 2008. 6. 11, Hong Kong, China.

14. 島田明子, 有村奈利子, 貝淵弘三, Identification of ULK1 as a novel CRMP-2 phosphorylation kinase. BMB2007、第 30 回日本分子生物学会年会, 2007. 12. 11, 横浜.

15. Arimura N., and Kaibuchi, K., CRMP-2 and GSK-3 β regulate anterograde TrkB transport through Slp1. ASCB 47th Annual meeting, 2007.12.1, Washington DC, USA.
16. 有村奈利子, 島田明子, 貝淵弘三, CRMP-2, Slp1 and Rab27B mediate anterograde transport of TrkB. Neuro2007, 2007.9.10, 横浜.
17. 有村奈利子, 吉村武, 貝淵弘三, Rho-kinaseおよびGSK-3 β 阻害剤による軸索伸長制御のメカニズム 第18回日本末梢神経学会, 2007.8.24, 弘前.
18. Arimura N., and Kaibuchi, K., CRMP-2 and Slp1 mediate anterograde transport of TrkB through Kinesin-1. 46th annual meeting of American Society of Cell Biology, 2006.12.9, San Diego.USA
19. 李隼庸, 有村奈利子, 貝淵弘三, Ubiquitination of collapsin response mediator protein-2 participates in neuronal polarization. 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 2006.12.6, 名古屋.
20. 服部敦志, 有村奈利子, 貝淵弘三, The role of CRMP-2 as a novel cytoplasmic dynein interacting molecule. 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 2006.12.6, 名古屋.
21. Yoshimura, T., and Kaibuchi, K., Dynamics of signaling molecules during axon specification. 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2006.11.14, Atlanta.USA
22. Kaibuchi, K., Cytoskeletal Dynamics and Signal Transduction in Neuronal Polarity. 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2006.10.14, Atlanta.
23. Kaibuchi, K., Signaling for neuronal polarization. 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2006.10.14, Atlanta.USA
24. 吉村武, 有村奈利子, 貝淵弘三, Role of Slp, a novel CRMP-2 interacting molecule, in hippocampal neurons. 第49回日本神経化学学会大会, 2006.9.14, 名古屋.
25. 貝淵弘三, Signaling for neuronal polarization. Neuroscience 2006, 2006.7.19, 名古屋.
26. 有村奈利子, 川端紗枝子, 服部敦志, 貝淵弘三, 新規 Collapsin response mediator protein-2 結合蛋白質 synaptotagmin-like protein の海馬神経細胞における機能解析 第29回日本神経科学大会, 2006.6.19, 京都.
27. Kaibuchi, K., and Arimura N., Key regulators in neuronal polarization. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 2006.6.18, Kyoto.
28. Kaibuchi, K., Ras Regulates Neuronal Polarity via PI3-kinase/Akt/GSK-3 β /CRMP-2 pathway. The American Society For Cell Biology 45th Annual Meeting, 2005.12.10, San Francisco.USA
29. Yoshimura, T., and Kaibuchi, K., Neuronal polarity and cytoskeleton. The American Society For Cell Biology 45th Annual Meeting, 2005.12.10, San Francisco.USA
30. 貝淵弘三, 細胞の極性形成と遊走を制御する分子機構の解明 第28回日本分子生物学会年会, 2005.12.7, 福岡.
31. 貝淵弘三, 伝達分子と軸索伸長制御の分子メカニズム シグナル伝達分子と軸索伸長制御の分子メカニズムシグナル, 2005.11.24, 岡崎.
32. Kaibuchi, K., Microtubule dynamics and cell polarity. 9th International Dahlem Symposium on Cellular Signal Recognition and Transduction, 2005.10.13, Berlin.
33. 貝淵弘三, Neuronal polarity and axon formation. 第48回日本神経化学学会年会, 2005.9.28, 福岡.
34. 王淑杰, 渡辺崇, 則武淳, 佐藤和正, 吉村武, 深田正紀, 貝淵弘三, IQGAP3, a novel effector of Rac1 and Cdc42, regulates neurite outgrowth through actin cytoskeleton reorganization. 第48回日本神経化学学会大会, 2005.9.28, 福岡.
35. 吉村武, 貝淵弘三, Ras regulates neuronal polarity via the PI3-kinase/Akt/GSK-3 β /CRMP-2 pathway.

第 48 回日本神経化学会大会, 2005. 9. 28, 福岡.

36. Kaibuchi, K., Role of CRMP-2 in the establishment of neuronal polarity. 20th Biennial Meeting of the ISN, 2005. 8. 21, Innsbruck.

37. 西村隆史, 貝淵弘三, 神経細胞の極性形成における Par 複合体の役割 第 28 回日本神経科学大会, 2005. 7. 26, 横浜.

38. 貝淵弘三, 神経細胞の極性形成機構 日本分子生物学会第 5 回春期シンポジウム, 2005. 5. 15, 新潟.

39. Kaibuchi, K., Signaling for Neuronal Polarity. Keystone Symposia on Cell Migration and Adhesion, 2005. 4. 9, Snowbird, Utah.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

貝淵 弘三 (Kozo Kaibuchi)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 00169377

(2) 研究分担者

有村 奈利子 (Nariko Arimura)

多摩川大学・脳科学研究所・GCOE 准教授

研究者番号: 20420375 (17 年度~20 年度)

森 大輔 (Daisuke Mori)

名古屋大学・大学院医学系研究科・COE 特任講師

研究者番号: 00381997 (21 年度)

西岡朋生 (Tomoki Nishioka)

名古屋大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 70435105 (21 年度)