

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：17601
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2017～2019
課題番号：17K08541
研究課題名(和文) 神経シナプス可塑性発現メカニズムの解明

研究課題名(英文) Studing the mechanism of synaptic plasticity

研究代表者

高宮 考悟 (TAKAMIYA, KOGO)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：40283767

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：シナプス可塑性の発現において中心的役割を果たすAMPA型グルタミン酸受容体の修飾によって、神経機能がどのように制御されているのかを解析してきた。特にAMPA型グルタミン酸受容体の細胞外ドメインのN型糖鎖修飾がAMPA型グルタミン酸受容体の機能にどのように影響を与えているかを中心に研究を行った。AMPA型グルタミン酸受容体が糖鎖修飾されることで、神経活動依存的に糖鎖修飾の程度が変化し、これによって神経シナプスにおいて糖鎖修飾がシナプス可塑性を制御していることが判明した。これらの結果にもとづき、糖鎖修飾されていない遺伝子変異マウスを作成し、電気生理学的解析と行動学的解析を中心に実験を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳の主たる興奮性神経伝達機構であるグルタミン酸とその受容体であるグルタミン酸受容体の糖鎖修飾がどのように神経機能を制御しているか、その詳細はわかっていなかった。本研究により主たるグルタミン酸受容体であるAMPA型グルタミン酸受容体の糖鎖修飾による機能調節機能が明らかとなり、それに基づくモデルマウスの作成・解析により学習・記憶や各種精神疾患への関与が明らかとなりつつある。

研究成果の概要(英文)：AMPA type glutamate receptors (AMPA-R) are mainly playing in the expression of synaptic plasticity. We have been analyzing the involvement of protein modification of AMPA-R in neuronal functions. Especially we focus on N-glycosylation of AMPA-R extracellular domain. The occupancy of AMPA-R glycosylation is regulated in activity dependent manner and it regulates synaptic plasticity. Based on our results we generated knock-in mice in which the glycosylation site is modified. And we are performing electrophysiological and behavioral analysis using these mice.

研究分野：神経科学

キーワード：グルタミン酸受容体 シナプス可塑性 糖鎖修飾

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グルタミン酸は、中枢神経系において主な興奮性神経伝達物質であり、そのシナプス後部におけるグルタミン酸受容体は、学習・記憶などを含む多くの神経活動で重要な役割を果たしている。そのなかでも AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA-R) は、主たる早い興奮性神経伝達を担うだけでなく、シナプス可塑性の発現においても中心的役割を果たして学習・記憶などの脳高次神経機能に大きく関与している。

2. 研究の目的

AMPA-R は、4 種類のサブユニットが様々な組み合わせで 4 量体を形成しチャンネルを形成して機能する。本研究では、そのうち学習・記憶の基本的メカニズムであるシナプス可塑性で中心的役割を果たす GluA1 サブユニットの N-型糖鎖修飾に関して、シナプス可塑性の分子メカニズムにおける重要な働きを明らかにする。

3. 研究の方法

マウス脳組織、初代神経培養細胞を用いて各種抗体を用いた生化学的・細胞生物学的解析、新たに糖鎖修飾の有無を認識する抗体を作成して解析を行った(下記研究成果を参照)。さらにそれら解析結果にもとづき CRISPR/CAS9 を用いて糖鎖修飾部位にアミノ酸変異を導入し、糖鎖修飾ができなくなった遺伝子変異マウスを作成し、解析した。

4. 研究成果

これまでに、AMPA-R の 4 種類のサブユニットは、いずれも細胞外に 4-6 ヶ所の N-型糖鎖修飾のコンセンサス部位をもち、それらのほとんどが実際に糖鎖修飾されていることが示唆された。しかしそのうち GluA1 サブユニットの N-型糖鎖修飾部位のうち 1 ヶ所(401 番目のアスパラギン : N401) だけは、糖鎖修飾されているものとされていないものがほぼ半数ずつ存在することがわかった。

これまでの研究で、

GluA1 の N401 が糖鎖修飾されていないチャンネルは、AMPA-R の特徴である脱感作現象(グルタミン酸刺激に急速に反応しチャンネルが開閉するが、長時間の刺激にはそれ以降反応しない)が消失する。

GluA1 の N401 が糖鎖修飾されていないチャンネルはシナプス上で、脂質ラフトに捕捉され細胞内外・表面での移動が障害される。脂質ラフト上では、糖鎖修飾されていないものは、ガングリオシドと直接結合することにより捕捉される。

神経活動に依存して、シナプスにおける脂質ラフトの形成が進行し、同時に N401 の部位が糖鎖修飾されていない GluA1 の形成も促進される。

GluA1 N401 部位に結合するタンパク質 (HSP70) が小胞体において N401 への N-型糖鎖付加に干渉することにより N-型糖鎖修飾されていない GluA1 のプールが形成されることが示唆された。

シナプス可塑性の刺激により糖鎖修飾されていない GluA1 がシナプスへ積極的に挿入さ

れる。

シナプス可塑性刺激により挿入される糖鎖修飾されていない GluA1 は、これらの 4 量体から形成される GluA1 homo-tetramer でグルタミン酸刺激によりカルシウムを含むイオン透過性が増加するチャンネルであり、シナプス可塑性のモデルである長期増強現象の発現に必須の現象であった（以上図 1）。

これらの実験結果にもとづき GluA1 N401 が完全に糖鎖修飾されないノックインマウス（GluA1 N401Q）を作成して現在解析中である。現在までに、遺伝子レベル、タンパク質レベルでノックインマウスが正確に作成されていることを確認した。学習・記憶の基本原則となるシナプス可塑性の異常が電気生理学的に確認された。さらに行動的に、感覚ゲー

ティングの異常、による記憶力の増大やうつ状態、統合失調症の指標である Prepulse inhibition の変化がみとめられた。

本申請研究では、これまで糖鎖構造の特殊性がもつ機能に注目された糖鎖研究とは異なり、上記で得られた研究結果から導き出される GluA1 N401 の N-型糖鎖修飾の“有・無”によってシナプス可塑性制御のスイッチが行われ、学習・記憶など脳高次機能の形成をコントロールしているという概念が確立された。

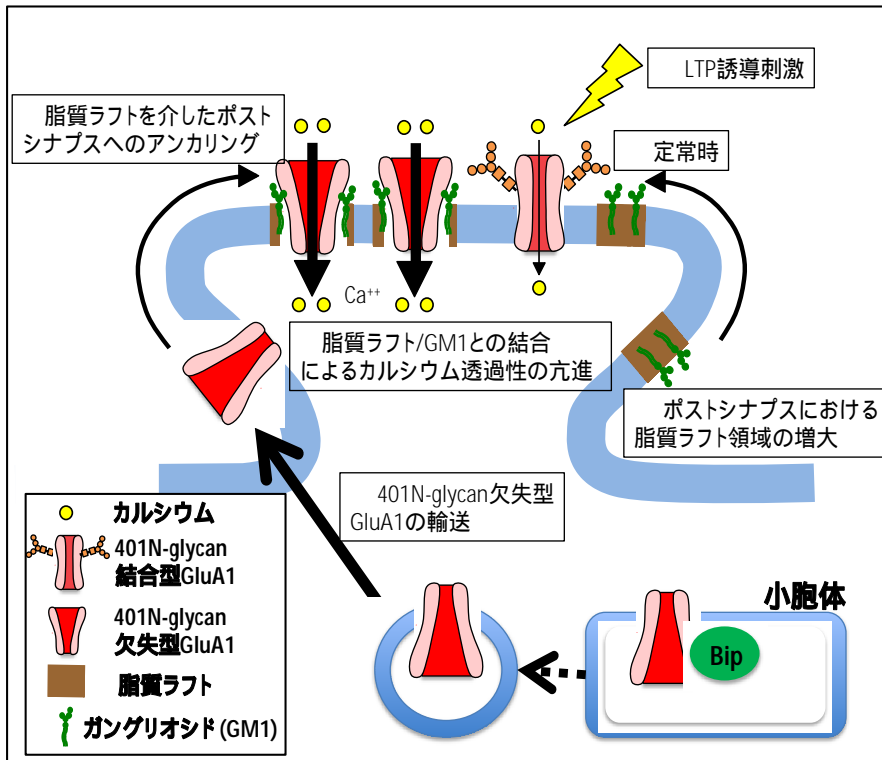


図 1 GluA1 N401 の糖鎖修飾の有無によるシナプス可塑性の制御機構

定常時：ポストシナプス上にはカルシウム透過性の低い糖鎖修飾されていない GluA1 N401 が分布する。LTP が誘発されると、細胞内にプールされている 401N-glycan 欠失型 GluA1 ホモマーがポストシナプスに輸送される。この糖鎖欠失型 GluA1 は、糖鎖修飾の場である ER における、Bip をはじめとする HSP70 ファミリータンパクの 401N 領域への結合を介した 401N 糖鎖修飾の拮抗的な阻害により産生されると考えられる。N401 糖鎖欠失型 GluA1 は、酸性糖脂質の GM1 との結合を介しポストシナプス上の脂質ラフトに局在する。この局在もしくは GM1 との結合により GluA1 ホモマーのチャンネル特性が変化し、より多くのカルシウムイオンを含む陽イオンが細胞内へ透過する。以下従来のメカニズムに従い、カルシウム透過増大にともなうシナプス伝達の亢進がおこる。さらに、LTP 誘発より数時間経過後においては脂

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Munal Babu Kandel, Saki Yamamoto, Ryosuke Midorikawa, Jyoji Morise, Yoshihiko Wakazono, Shogo Oka, Kogo Takamiya	4. 巻 147
2. 論文標題 N-glycosylation of the AMPA-type glutamate receptor regulates cell surface expression and tetramer formation affecting channel function	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 730-747
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jnc.14565	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 Chiu, S. L., G. H. Diering, B. Ye, K. Takamiya, C. M. Chen, Y. Jiang, T. Niranjana, C. E. Schwartz, T. Wang and R. L. Huganir	4. 巻 93
2. 論文標題 GRASP1 Regulates Synaptic Plasticity and Learning through Endosomal Recycling of AMPA Receptors.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 1405-1419
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2017.02.031	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 Morise J, Suzuki KGN, Kitagawa A, Wakazono Y, Takamiya K, Tsunoyama TA, Nemoto YL, Takematsu H, Kusumi A, Oka S.	4. 巻 10
2. 論文標題 AMPA Receptors in the Synapse Turnover by Monomer Diffusion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 5245
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-13229-8.	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 Midorikawa R, Takakura D, Morise J, Wakazono Y, Kawasaki N, Oka S, Takamiya K.	4. 巻 153
2. 論文標題 Monitoring the Glycosylation of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate-type Glutamate Receptors Using Specific Antibodies Reveals a Novel Regulatory Mechanism of N-glycosylation Occupancy by Molecular Chaperones in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 567-585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jnc.14964.	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kandel Munal Babu.
2. 発表標題 N-glycosylation of the AMPA-type glutamate receptor regulates cell surface expression and tetramer formation affecting channel function
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kandel Munal Babu
2. 発表標題 AMPA型グルタミン酸受容体のN型糖鎖修飾は、4量体形成と細胞表面への移送を制御する
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 若園佳彦
2. 発表標題 神経細胞のAMPA受容体の膜移行に対するヒ素化合物の影響 Arsenic and its metabolites affect synaptic plasticity mediated by AMPA type glutamate receptor trafficking in neurons
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 若園佳彦
2. 発表標題 神経細胞におけるAMPA受容体の膜移行に対するヒ素化合物の影響 Arsenic and its metabolites affect synaptic plasticity mediated by AMPA type glutamate receptor trafficking in neurons
3. 学会等名 第85回日本Siri学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若園佳彦
2. 発表標題 AMPA受容体のGluA1ホモマーのN型糖鎖修飾はシナプス可塑性に重要な役割を担う N-glycosylation of homomeric GluA1 AMPA receptor play a key role in synaptic plasticity
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内田琢
2. 発表標題 知的障害を伴う自閉症スペクトラム障害に見られるGluA1遺伝子変異がAMPA受容体に与える影響 Effects of GluA1 gene mutations on the AMPA receptor function found from Autism Spectrum Disorders with severe intellectual disability
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 緑川良介
2. 発表標題 Monitoring the glycosylation of AMPA-type glutamate receptors using specific antibodies reveals a novel regulatory mechanism of N-glycosylation occupancy by molecular chaperones
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----