

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06145

研究課題名(和文)ヘパラン硫酸脱硫酸化酵素Sulfによるシナプス可塑性調節機構の解析

研究課題名(英文)Regulation of synaptic plasticity by heparan sulfate 6-O sulfatase (Sulf)

研究代表者

神村 圭亮 (KAMIMURA, Keisuke)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・主席研究員

研究者番号：30529524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シナプス可塑性におけるヘパラン硫酸(HS)鎖の微細構造の役割を調べるため、グルタミン酸作動性シナプスのモデルであるショウジョウバエの神経筋接合部に着目し解析を行った。ショウジョウバエでは飢餓状態になると神経筋接合部のシナプス終末の数が増加することが知られている。しかしながらHS鎖の6-O位を脱硫酸化する6-O脱硫酸化酵素(Sulf1)の欠失個体では飢餓状態においてもシナプス終末が増加しないことが分かった。またこの個体では飢餓時に観察されるグルタミン酸受容体GluRIIAの増加が起きなかった。以上の結果から、HS鎖は微細構造を介してシナプスの可塑性を調節することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、ニューレキシンなどのHSPGに加え、いくつかのHS修飾酵素の変異が自閉症及び統合失調症の発症に関与することが報告されている。しかしながら、HS鎖の修飾異常がどのように影響することで疾患の発症に関与するのかわかっていない。したがって、本研究においてHS修飾酵素によるシナプス可塑性調節機構を明らかにしたことは神経・精神疾患治療を目標とした医学的研究においても極めて重要である。

研究成果の概要(英文)：To investigate the role of fine structures of the heparan sulfate (HS) chains in synaptic plasticity, we focused on the neuromuscular junction of *Drosophila*, a model of glutamatergic synapses. In *Drosophila*, starvation is known to increase the number of synaptic terminals at the neuromuscular junction. However, it was found that the number of synaptic boutons did not increase in starved animals lacking the 6-O sulfatase (Sulf1) that desulfates the 6-O position of the HS chain. In addition, the starvation dependent increase of glutamate receptor GluRIIA was inhibited in Sulf1 mutants. These results suggest that fine structures of the HS chains regulate synaptic plasticity.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：ヘパラン硫酸 プロテオグリカン ヘパラン硫酸6-O脱硫酸化酵素 シナプス可塑性 自閉症

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。

1. 研究開始当初の背景

ヘパラン硫酸 (HS) はグルクロン酸とグルコサミンの二糖繰り返し構造を基本骨格とし、HSPG の糖鎖部分として細胞膜表面及び細胞外マトリックスに局在する。これまで HS は、Wnt や FGF 等の分泌性因子を含めた多様な分子と相互作用し、その機能を調節することが知られている。HS がこのような多彩な機能を示す一つの要因は、HS がゴルジ体での生合成時において、エピメル化酵素及び N、2-O、

3-O、6-O 硫酸転移酵素によって不均一な修飾を受け、極めて多様な微細構造を持つためだと考えられている (図 1)。興味深いことに、HS 修飾の大部分はゴルジ体で起きるが、6-O 脱硫酸化酵素 (Sulf) だけは細胞外で機能し、一度硫酸化された HS 中のグルコサミン 6 位の硫酸基を再び取り除くという作用を示す。しかしながら、その生理的意義についてはよく分かっていなかった。

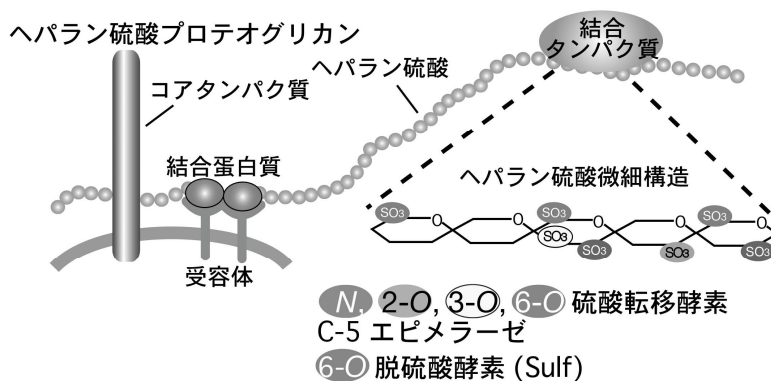


図 1. HSPG と HS 微細構造

り除くという作用を示す。しかしながら、その生理的意義についてはよく分かっていなかった。

一方、これまでの多くの研究から HSPG がシナプス形成に深く関与することが知られている。例えば、アグリンとグリピカンは、それぞれ神経筋接合部と中枢神経シナプスにおいてアセチルコリン受容体及び AMPA 型グルタミン酸受容体の局在を調節し、シナプス形成を促進する (1, 2)。また、HSPG は他にも様々なシナプス分子と相互作用するが、どのような分子メカニズムにより複数のシナプス分子と相互作用するのか、また HS の微細構造は一体どのような役割を果たしているのかという問題に関しては不明である。さらに近年、HS 修飾酵素の異常が知的障害や精神疾患と密接に関連することが報告され、シナプス形成に加え、シナプス可塑性を含めた神経機能における HSPG の役割が注目されている (3, 4)。しかしながら、その作用機序については全く分かっていなかった。

2. 研究の目的

複雑な神経回路網において神経細胞間の繋ぎ目であるシナプスは、学習や経験などの刺激に応じて形態や伝達効率が変化することで脳の高次機能を可能にする。このシナプスの形成及び可塑的变化は、シナプスオーガナイザーと呼ばれる細胞膜表面の分子群や神経伝達物質の受容体によって調節されるが、近年これらの分子が HS 鎖と相互作用することで機能することがわかってきた。しかし何故、タンパク質ではなく糖鎖である HS 鎖が必要なのかという存在意義については良くわかっていない。一方、ヒトにおいて HS 鎖の異常は自閉症や統合失調症等の精神疾患を引き起こす。そこで本研究では、グルタミン酸作動性シナプスのモデルとして知られるショウジョウバエ幼虫の神経筋接合部に着目し、シナプス可塑性における HS 微細構造の役割を明らかにするため、HS 脱硫酸化酵素である Sulf1 の機能を調べる。

3. 研究の方法

本研究では、シナプス可塑性における HS 鎖の微細構造の重要性と作用機序を示すことを目標とする。シナプスにおける HSPG の機能を調べるために、グルタミン酸作動性シナプスのモデルであるショウジョウバエ幼虫の神経筋接合部が示すシナプス可塑性に着目して解析を行う。ショウジョウバエでは幼虫を餌の無い状況や高温下で飼育すると、体内のオクトパミン (脊椎動

物のノルアドレナリンに相当) レベルが上昇する。またシナプス後部におけるグルタミン酸受容体のレベルとシナプス終末の数が増加し、幼虫の移動速度が速くなることが知られている (5, 6)。本研究ではこの様な飢餓状態が誘導する現象に着目し、HS 鎖の微細構造がどのような作用機構によりシナプス可塑性を調節するのかを明らかにする。特に HS 鎖の 6-O 位を脱硫酸化する Sulf の機能に着目し、欠失個体及びノックダウン個体が示す異常を観察する。また組織特異的 (運動神経細胞、筋細胞、及びグリア細胞) RNAi 法を用い、これらの個体が示す異常と欠失変異体の表現型を比較することで修飾酵素が機能する細胞を特定する。

4. 研究成果

Sulf1 欠失個体における神経筋接合部の形態を調べた。その結果、通常飼育時には明らかな形態異常は観察されなかった。そこで *Sulf1* が飢餓依存的なシナプスの可塑性な形態変化に関与する可能性を調べた。その結果、*Sulf1* 欠失個体においては飢餓状態においてもシナプス終末の数が増加しないことが判明した (図 2、またこの時 3-O 硫酸転移酵素に関しても同様の結果を得ている)。また細胞特異的 RNAi 法を用いて解析した結果、*Sulf1* は筋細胞ではなく運動神経において機能することが分かった。飢餓時におけるシナプス終末の増加にはシナプス後部に局在するグルタミン酸受容体サブユニットの一つ GluRIIA の増加が必要である。解析した結果、*Sulf1* が欠失すると飢餓状態においても GluRIIA の増加が起きないことを見出した。以上の結果から、*Sulf1* は、HS 鎖の微細構造を形作ることによってシナプスの可塑性な形態変化を調節することが示唆された。

【引用文献】

- (1) Kamimura K. et al., *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1861, 2442-2446.
- (2) Kamimura K. et al., *J. Cell Biol.*, 2013, 200, 219-233.
- (3) Reuter MS. et al., *Am. J. Med. Genet. A.*, 2014, 164, 2753-2763.
- (4) Lencz T. et al., *Nat. Commun.*, 2013, 4, 2739.
- (5) Koon et al., *Nat. Neurosci.*, 2011, 14, 190-1999
- (6) Kamimura K. et al., *Cell Rep.*, 28(12):3144-3156.

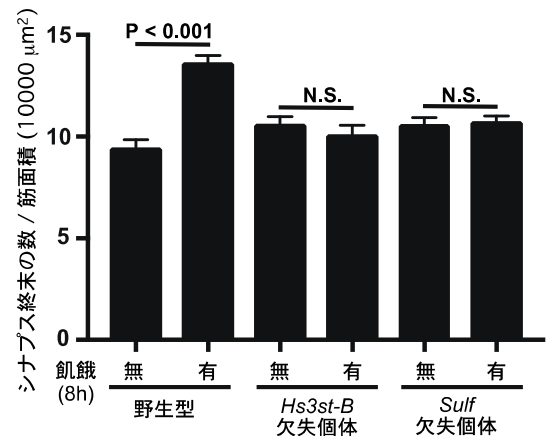


図 2. 飢餓時の HS 修飾酵素欠失個体におけるシナプス終末の形成

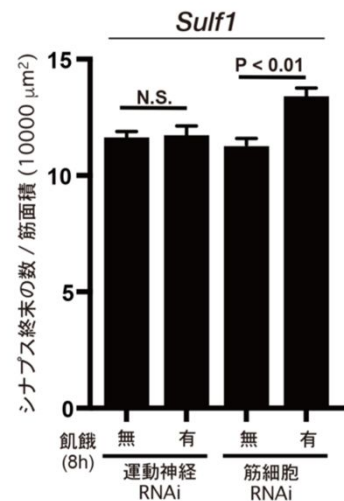


図 3. *Sulf1* RNAi 個体における飢餓依存的シナプス終末の形成

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Keisuke Kamimura, Nobuaki Maeda | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 Glypicans and heparan sulfate in synaptic development. neural plasticity and neurological disorders. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Front. Neural Circuits | 6. 最初と最後の頁 595596 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncir.2021.595596. eCollection 2021. | 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 神村圭亮 | 4. 巻 92 |
| 2. 論文標題 シナプスにおけるグリピカンとニューレキシンのヘパラン硫酸鎖の役割 | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 生化学 | 6. 最初と最後の頁 740-743 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920740 | 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 Keisuke Kamimura, Aiko Odajima, Yuko Ikegawa, Chikako Maru, and Nobuaki Maeda. | 4. 巻 28 (12) |
| 2. 論文標題 The HSPG Glypican Regulates Experience-dependent Synaptic and Behavioral Plasticity by Modulating the Non-canonical BMP Pathway. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Cell Reports | 6. 最初と最後の頁 3144-3156 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.08.032. | 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 Kamimura Keisuke | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 Roles of Glypican and Heparan Sulfate at the Synapses | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology | 6. 最初と最後の頁 E85 ~ E90 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4052/tigg.2017.1E | 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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 神村圭亮、小田嶋愛子、前田信明 |
| 2. 発表標題 グリピカン是非古典的BMP経路を介して経験依存的なシナプスと行動の可塑性を調節する |
| 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 Keisuke Kamimura |
| 2. 発表標題 Drosophila glypican regulates experience-dependent synaptic and behavioral plasticity |
| 3. 学会等名 Proteoglycan Future Leaders Symposium (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Keisuke Kamimura, Aiko Odajima, Nobuaki Maeda |
| 2. 発表標題 The HSPG Glypican Regulates Experience-dependent Synaptic and Behavioral Plasticity by Modulating the Non-canonical BMP Pathway. |
| 3. 学会等名 11th International Conference on Proteoglycans (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 神村圭亮、小田嶋愛子、前田信明 |
| 2. 発表標題 グリピカンは経験依存的なシナプスと行動の可塑性を調節する |
| 3. 学会等名 第42回日本分子生物学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 神村圭亮、小田嶋愛子、丸山千秋 |
| 2. 発表標題 シナプスの可塑的な形態変化におけるヘパラン硫酸微細構造の役割 |
| 3. 学会等名 第40回日本糖質学会年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|--|
| (公財)東京都医学総合研究所 脳神経回路形成プロジェクト https://www.igakuken.or.jp/project/detail/regeneration.html (公財)東京都医学総合研究所、神経回路形成プロジェクト http://www.igakuken.or.jp/regeneration/ 東京都医学総合研究所ホームページ http://www.igakuken.or.jp/project/detail/regeneration.html |
|--|

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 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 |

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 |
|---------|---------|