様式Ｃ-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成　21 年　5 月　7 日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007-2008
課題番号：19500318
研究課題名（和文）　NMDA 受容体チロシンリン酸化および Rho 蛋白質を介した脳高次機能制御の解析
研究課題名（英文）　Regulation of higher brain functions by NMDA receptor phosphorylation and Rho GTPases

研究代表者
氏　名（アルファベット）　中澤　敬信　（Nakazawa Takanobu）
所属機関・所属部局名・職名　東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号 00447335

研究成果の概要：
神経系に高発現する RhoGAP 蛋白質 p250GAP の神経細胞の形態制御における機能について解析を行った。その結果、①p250GAP は神経細胞のスパイン形態制御分子であること②NMDA 型グルタミン酸受容体を介した RhoA の活性調節に重要であること、及び③p250GAP のホモログである TCGAP も神経細胞の形態を制御していることを見出した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総　計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：分子神経学
科研費の分科・細目：神経科学/　神経化学・神経薬理学
キーワード：脳・神経/シグナル伝達/NMDA 受容体/Rho ファミリータンパク質/p250GAP TCGAP/Fyn/チロシンリン酸化

１．研究開始当初の背景

NMDA 型グルタミン酸受容体（以下 NMDA 受容体）のチロシンリン酸化は、NMDA 受容体自身と種々の NMDA 受容体会合分子との会合を調節することによって、脳高次機能の制御を行っていると考えられている。従って、NMDA 受容体のチロシンリン酸化の意義の解明には NMDA 受容体会合分子の同定、及び解析が重要である。研究代表者は、最近の研究により、新規 NMDA 受容体会合分子として p250GAP、及び TCGAP を同定した。p250GAP、TCGAP は Rho ファミリーG 蛋白質に対する GTPase-activating protein (GAP)であり、両分子とも神経系にほぼ特異的に発現している。研究開始当初、p250GAP、及び TCGAP の神経系における機能、もしくは

NMDA 受容体との機能的相関に関してはほとんど未知であった。

２．研究の目的

新規蛋白質である p250GAP、及び TCGAP の神経系における機能解析を、特にスパインの形態の制御に注目して行う。また、p250GAP、及び TCGAP と NMDA 受容体のチロシンリン酸化との機能的相関の解明を目的とした。それら解析を通じて NMDA 受容体のチロシンリン酸化の意義を明らかにすることをめざした。

３．研究の方法

（１）初代培養神経細胞において、p250GAP、及び TCGAP の過剰発現やノックダウンを行ってそれら蛋白質の神経細胞の形態形成における機能を明らかにする。（２）p250GAP、及び TCGAP と NMDA 受容体との機能相関を、両分子の NMDA 受容体と会合できない変異体を用いて解析する。（３）p250GAP、及び TCGAP 欠損マウスを作製し、欠損マウスの表現型を解析する。

４．研究成果

[p250GAP]

（１）レンチウイルスを用いた RNAi ノックダウンにより p250GAP の発現を低下させた neuron では spine の幅の増大が観察された。（２）シンドビスウイルスを用いて p250GAP を過剰発現させた神経細胞では spine の形状が細長くなるなどの異常が観察された。（３）NMDA 受容体刺激による RhoA の活性化に p250GAP は必須な役割を果たしていることを明らかにした。（４）NMDA 受容体刺激によって p250GAP の細胞内局在が調節されていることを明らかにした。以上の結果から、p250GAP が、NMDA 受容体を介した RhoA/spine 形態の制御に重要な役割を担っていることが明らかになった。本研究は、神経細胞のスパイン形態形成における p250GAP の役割を世界に先駆けて明らかにしたものである。

[TCGAP]

（１）TCGAP 欠損マウスを作製した。（２）TCGAP を神経細胞に過剰発現させることによって神経細胞の形態に異常が見られた。（３）HEK293T 細胞において TCGAP を過剰発現させることによってアクチン細胞骨格に異常が見られた。以上の結果から、TCGAP はアクチン細胞骨格を制御することによって、神経細胞の形態を制御していることが示唆された。TCGAP の神経系における機能は未知であり、その解析が待たれている。作製した TCGAP 欠損マウスを用いて、さらに TCGAP の脳機能における役割を明らかにすることが重要であると思われる。

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　6 件）(すべて査読有)

1. Nakazawa T, Kuriu T, Tezuka T, Umemori H, Okabe S, & Yamamoto T. Regulation of dendritic spine morphology by an NMDA receptor-associated RhoGTPase activating protein, p250GAP. ***J. Neurochem.*** 105: 1384-1393 (2008).

2. Goto J, Tezuka T, Nakazawa T, Sagara H, & Yamamoto T. Loss of Fyn tyrosine kinase on the C57BL/6 genetic background causes hydrocephalus with defects in oligodendrocyte development. ***Mol. Cell. Neurosci.*** 38: 203-212 (2008).

3. Isosaka T, Hattori K, Kida S, Kohno T, Nakazawa T, Yamamoto T, Yagi T, & Yuasa

S. Activation of Fyn tyrosine kinase in the mouse dorsal hippocampus is essential for contextual fear conditioning.
Eur J. Neurosci. 28: 973-981 (2008).

4. Yamaguchi R, Wada E, Kamichi S, Yamada D, Maeno H, Delawary M, Nakazawa T, Yamamoto T, & Wada K. Neurotensin type 2 receptor in astrocytes is involved in fear memory in mice.
J. Neurochem. 102, 1669-1676 (2007).

5. Cheng H-YM, Papp JW, Varlamova O, Dziema H, Russell B, Curfman JP, Nakazawa T, Shimizu K, Okamura H, Impey S, & Obrietan K. MicroRNA modulation of circadian-clock period and entrainment.
Neuron 54, 813-829 (2007).

6. Delawary M, Nakazawa T, Tezuka T, Sawa M, Iino Y, Takenawa T, & Yamamoto T. Molecular characterization of a novel RhoGAP, RRC-1 of the nematode *Caenorhabditis elegans.*
Biochem. Biophys. Res. Commun. 357, 377-382 (2007).

〔学会発表〕（計　8 件）

1. **中澤敬信，デラワリミナ，山本雅**
題名：Regulation of amygdala functions by NMDAR tyrosine phosphorylation
学会名：第 30 回日本神経科学学会大会（Neuro2007）
場所：横浜　年月：2007 **年** 9 **月** 10 **日**

2. Nakazawa T, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto T
題名：Regulation of dendritic spine morphology by an NMDA receptor-associated RhoGAP, p250GAP
学会名：37th ANNUAL MEETING Society for Neuroscience
場所：San Diego　**年月：**2007 **年** 11 **月** 6 **日**

3. **中澤敬信, 山本雅**
題名：NMDA **受容体チロシンリン酸化による脳高次機能制御**
学会名：第 30 回日本分子生物学会年会（BMB2007）
場所：横浜　年月：2007 **年** 12 **月** 14 **日**

4. Ito S, Mabuchi T, Matsumura S, Katano T, Okuda-Ashitaka E, Ohnishi T, Kuniri S, Endo H, Nakazawa T, Yamamoto T
題名：Involvement of phosphorylation of NR2B subunit of NMDA receptor at Tyr1472 in maintenance of neuropathic pain
学会名：12th World Congress of Pain
場所：Glasgow **年月：**2008 **年** 8 **月**

5. **中澤敬信、栗生俊彦、岡部繁男、山本雅**
題名：p250GAP, a brain-enriched RhoGAP, in involved in the NMDAR-mediated signaling
学会名：第 31 回日本神経科学学会大会（Neuro2008）
場所：東京　年月：2008 **年** 7 **月**

6. **手塚徹、谷口幸子、中澤敬信、城山優治、真鍋俊也、山本雅**
題名：Involvement of NR2A tyrosine phosphorylation in depression related behaviors

学会名：第 31 回日本神経科学学会大会（Neuro2008）
場所：東京　年月：2008 年 7 月

7. 星名直祐、手塚徹、中澤敬信、横山一剛、山本雅
題名：中枢神経系における新規プロトカドヘリンを介したシグナル伝達機構の解析
学会名：第 31 回日本分子生物学会年会（BMB2008）
場所：神戸　年月：2008 年 12 月 10 日

8. 井上猛、河成鎮、中澤敬信、須藤和夫、山本雅
題名：Characterization of transmembrane kinase BREK/LMTK2 in endocytic membrane trafficking
学会名：第 31 回日本分子生物学会年会（BMB2008）
場所：神戸　年月：2008 年 12 月 12 日

〔図書〕（計　2 件）

1. 中澤敬信　「グルタミン酸受容体のチロシンリン酸化を介する記憶形成の制御」化学と生物、第 45 巻 11 号　（2007 年）
2. 中澤敬信、山本雅　「ＮＭＤＡ受容体のリン酸化による記憶・学習制御」　実験医学、第 25 巻 1 号　（2007 年）

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0 件）

なし

○取得状況（計　0 件）

なし

〔その他〕
ホームページ

http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/gannsig/member/nakazawa/nakazawa.html

６．研究組織
(1)研究代表者

中澤　敬信　（NAKAZAWA TAKANOBU）
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号：00447335

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし