

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2010
課題番号：19500327
研究課題名（和文） 神経細胞の小胞体ストレスにおけるシタキシン5アイソフォームの役割

研究課題名（英文） Role of Syntaxin5 isoforms in neuronal cells under ER stress

研究代表者

須賀 圭 (SUGA KEI)
杏林大学・医学部・助教
研究者番号：30306675

研究代表者の専門分野：神経生化学、神経科学、細胞生物学
科研費の分科・細目：神経化学・神経薬理学
キーワード：神経科学、脳・神経、ストレス、脳神経疾患、syntaxin

1. 研究計画の概要

本研究は、細胞内小胞輸送や形質膜輸送を制御するSyxファミリーの中において、特異な機能を有することを示して来たSyx5アイソフォームに着目し、神経細胞のERストレスに伴う膜蛋白質輸送・糖鎖修飾・ゴルジ装置構造変化におけるSyx5の役割を明らかにするのが目的である。Syx5アイソフォームの役割の差異も想定しつつ、ERストレス時におけるSyx5アイソフォーム自身の発現量・局在の変化に焦点を当てて検討する。また、Syx5アイソフォームの発現量を人為的に変化させた系において、その効果を膜蛋白質の輸送・糖鎖修飾・ゴルジ体構造のダイナミクスと共に検証する。またSyx5と結合してSNARE複合体を形成するGolgi-SNARE、それら複合体形成の調節因子であるSM蛋白によるSyx5アイソフォームの機能修飾までも視野に入れて解析する。生化学的解析と生細胞におけるダイナミクスを統合して解析することにより、神経細胞のERストレスにおいて、Syx5アイソフォームを中心とした分子群がどのような機序で膜蛋白質の糖鎖修飾を含めた正常な生合成・細胞内輸送の過程に関与するのか、そしてERストレスが細胞全体にどのように波及していくのかを時空間的に明らかにする。

2. 研究の進捗状況

現在まで株化培養神経細胞・初代培養海馬神経細胞に ER ストレス負荷を与えた系において、Syx5 アイソフォームの発現および細胞内動態の変化に焦点を当てて解析した。免疫

化学的手法により Syx5 アイソフォームの細胞内局在を検討したところ、ER ストレス負荷を与えた細胞において Syx5 アイソフォームは斑点状に局在し、Syx5 アイソフォームの発現を knock-down した時にも同様に見られるいわゆる Golgi fragmentation が観察された。Syx5 アイソフォームの役割の差異も考慮しながら、詳細に検討したところ、・APP 等の膜蛋白質の細胞内輸送などの過程において Syx5 アイソフォームの役割の差を示した (Suga K., *et al.*, *J. Biochemistry* 2009)。また様々な培養細胞ならびに初代培養海馬神経細胞において Tunicamycin (Tm) や Tg (ER 内 Ca^{2+} ホメオスタシスの攪乱) や BFA (ER-ゴルジ間の小胞輸送を阻害する毒素) 処理することにより ER ストレス負荷を行うと、Syx5 アイソフォームの発現量が増加することを見出した (Suga K., *et al.*, *in preparation*)。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。その理由としては、(1) 本研究計画初年度と重複して所属学部における講義を担当することになり、教育面のエフォート率が高くなったこと。(2) 研究計画遂行中であって、意外にも・APP 等の膜蛋白質の細胞内輸送やプロセッシングへの Syx5 アイソフォームの効果が異なることを見出したので、それら結果を論文としたが、投稿から受理されるまでに予想以上に多くの時間が経過したことが挙げられる。現在 Syx5 アイソフォームの発現量を人為的に変化させた系において、その効果を生化学的解析と膜蛋白質の輸送・糖鎖修飾・ゴルジ体構造のダイナミクスと共に検証している。

4. 今後の研究の推進方策

今後は Syx5 と結合して SNARE 複合体を形成する Golgi-SNARE ならびにそれら複合体形成の調節因子である SM 蛋白による Syx5 アイソフォームの機能修飾までも視野に入れて解析する予定である。それらを検証することにより、Syx5 アイソフォームを中心とした分子群がどのような機序で膜蛋白質の糖鎖修飾を含めた正常な生合成・細胞内輸送の過程に関与するのか、そして ER ストレスが細胞全体にどのように波及していくのかを時空間的に明らかできると考えている。

5. 代表的な研究成果

(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 7 件)

(1) K. Suga, A. Saito, T. Tomiyama, H. Mori, K. Akagawa

The Syntaxin5 isoforms Syx5 and Syx5L have distinct effects on the processing of APP

J. Biochem. 査読有, Vol. 146, No. 6 2009, 905-915

(2) K. Tanaka, T. Iijima, T. Mishima, K. Suga, K. Akagawa, Y. Iwao

Ca²⁺ buffering capacity of mitochondria after oxygen-glucose deprivation in hippocampal neurons

Neurochem. Res. 査読有, Vol. 34, 2009, 221-226

(3) K. Kasai, K. Suga, T. Izumi, K. Akagawa
Syntaxin8 has two functionally distinct di-leucine based motif

Cell. Mol. Biol. Lett. 査読有, Vol. 13, 2008, 144-154

(4) T. Iijima, K. Tanaka, S. Matsubara, S. Kawakami, T. Mishima, K. Suga, K. Akagawa, Y. Iwao

Calcium loading capacity and morphological changes in mitochondria in an ischemic preconditioned model
Neurosci. Lett. 査読有, Vol. 448, 2008, 268-272

[学会発表] (計 5 件)

(1) 須賀 圭, 齋藤 綾子, 富山 貴美, 森 啓, 赤川 公朗
小胞体とゴルジ体での APP のプロセッシングと細胞内輸送における Syntaxin5 アイソフォームの役割
第52回日本神経化学学会大会、2009年6月22日、伊香保

[その他]

所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するウェブページURL:
http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/faculty/medicine/labo/cell_physiology.html