

2020年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	海馬神経細胞のスパインが形成期から成熟期へシフトする分子機構
キーワード	①樹状突起スパイン、②分子スイッチ、③タンパク質リン酸化

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	スガワラ タケユキ 菅原 健之	所属等	北里大学 医学部 解剖学教室 助教
プロフィール	神経細胞の形の美しさに惹かれて神経科学の研究の世界に入りました。特に、脳の高次機能を支える構造的基盤である樹状突起スパインがどのようにして形成・維持・改変されるのか、に興味を持って研究をしています。大学院博士課程および前任地の理化学研究所では特に小脳のプルキンエ細胞を、現在の所属である北里大学では、海馬の神経細胞を対象に研究を進めています。		

1. 研究の概要

我々の脳が高次機能を発揮するには、機能的な神経回路網が構築されることが不可欠である。神経細胞の樹状突起上にはスパインと呼ばれる小さな突起があり、興奮性のシナプスはこのスパインに形成される。スパインは生後の発達過程で活発に形成されるが（スパイン形成期）、その一方で成熟に伴い不要なスパインは除去され、必要なスパインだけが安定な構造として残されるようになる（スパイン成熟期）。このように神経細胞は、発達段階に応じてスパイン形成期から成熟期へと細胞内部の環境をシフトさせることにより、適切なスパインの数や形になるよう制御している。このシフトの過程には神経活動が必要であるが、その詳細な分子メカニズムは明らかにされていない。本研究は、記憶や学習に関わる脳領域である海馬の神経細胞において、スパインの形成期から成熟期へのシフトを担う分子メカニズムを明らかにすることを目標としている。

2. 研究の動機、目的

神経細胞のスパインの形態を規定しているのは、細胞膜とアクチン細胞骨格である。我々は、膜小胞輸送とアクチン細胞骨格の再構成を制御する低分子量Gタンパク質であるArf6を介したシグナル伝達系に着目した研究を行っている。その研究の過程で、海馬の発達に伴い、Arf6を活性化するグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）の一つであるEFA6Aという分子のリン酸化状態が顕著に変化することを見出した。タンパク質リン酸化は基質となる分子の性質を大きく変える極めて重要な翻訳後修飾である。またこれまでの研究から、EFA6A-Arf6経路がスパインの形態形成を制御するシグナル系であることが報告されている。そこで、発達段階や神経活動に応じたEFA6Aのリン酸化状態の変化が、神経細胞をスパイン形成期から成熟期へとシフトさせる切替スイッチになっているのではないかと考え、この仮説を検証することを目的に本研究を計画した。

3. 研究の結果

まず、マウス海馬からEFA6Aタンパク質を抽出し、質量分析を行うことにより、海馬神経細胞に発現しているEFA6Aには複数のリン酸化部位が存在することが分かった。そこで、これらのリン酸化部位のうち、EFA6Aの機能に関与するリン酸化部位の同定を試みた。リン酸化部位となるアミノ酸残基に変異を導入したリン酸化部位変異型EFA6Aを培養細胞に発現させ、

Arf6 を活性化させる能力 (GEF 活性) を解析したところ、あるセリン残基のリン酸化が EFA6A の GEF 活性を変化させることを見出した。次に、EFA6A のこのセリン残基のリン酸化が海馬神経細胞においてどのように制御されているのかをモニターするためのツールとして、このセリン残基がリン酸化された EFA6A を特異的に認識するリン酸化型 EFA6A 特異的抗体を作製した。そして、海馬神経細胞では、神経活動依存的に EFA6A のリン酸化が変化することを明らかにした。以上の結果は、海馬の発達および神経活動の変化に伴い、EFA6A の特定のセリン残基のリン酸化状態がダイナミックに変化し、これが EFA6A の活性については Arf6 の活性を制御していることを示唆している。そして、EFA6A-Arf6 シグナルがスパインを構成する細胞膜とアクチン細胞骨格を制御することから、リン酸化状態に応じた EFA6A-Arf6 シグナルの変化がスパインを形成期から成熟期へとシフトさせる分子スイッチになっている可能性が考えられた。

4. 研究者としてのこれからの展望

神経細胞の樹状突起スパインは、神経回路網を形成する上で極めて重要な構造であることから、その形態形成を司る分子メカニズムについての研究が世界中で精力的に行われてきた。その結果、非常に多くのタンパク質がその関与分子として報告されており、スパインの形態形成を制御する役者はもう十分に出尽くしているのかもしれない。しかしその一方で、それらの役者たちがどのような場面で、どのようなお互いの関係性をもって、どのような役割を演じているのかについては、まだまだ不明な点が多いと思われる。本研究は、発達段階に応じたスパイン形態形成の制御において、EFA6A を介した小胞輸送経路とリン酸化シグナル経路のリンクが重要な働きをしていることを示唆するものである。このようなシグナル経路同士の新たな関係性を明らかにしていくことで、これまで未知であった高次脳機能の発現メカニズムや疾患の病態解明に近づくことを期待している。

5. 社会（寄付者）に対するメッセージ

今回頂いたご支援により、本研究で用いたリン酸化特異的抗体を作成でき、これがなければ得られなかった新規性の高いデータを取得することが出来ました。そして、これらのデータをもとに、さらに研究を進めることが可能となりました。ここに感謝いたします。

本研究のような基礎的な研究は、すぐに医療や創薬に繋がるものではなく、その学術的意義が理解されにくいかもしれません。しかしながら、脳高次機能などの生命活動を可能にするための正常なメカニズムがわかってはじめて、疾患の原因となる異常がどこに起きているのかを理解できるのだと考えています。今後とも臨床研究と共に、それに繋がる可能性を秘めた基礎研究に対するご支援もどうぞよろしくお願い申し上げます。