

【領域番号】 3301

【領域略称名】 神経糖鎖生物学

【領域代表者（所属）】 門松健治（名古屋大学大学院・医学系研究科・教授）

1. 何をどこまで明らかにするか

糖鎖構造は複雑であるだけでなく、ダイナミックに変化する。そうすると、タンパク質同士のように相互作用分子とのおおよそ1対1の対応も見いだせない。こうして、糖鎖の構造と機能の多様性のみがクローズアップされ、機構解明の障壁となってきた。一方、これまでほとんど未開拓であった神経における糖鎖研究によって、これまでに見えなかった神経機能制御機構の解明が期待される。そこで、本領域では糖鎖の内包する機能ドメインを機能単位として、糖鎖の作動原理とそれによる神経機能制御機構を解きたいと考えた（図2,3）。

2. 設定した研究の対象

本領域は次の2つを設定目的とした。

- (1)異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。
- (2)当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの。

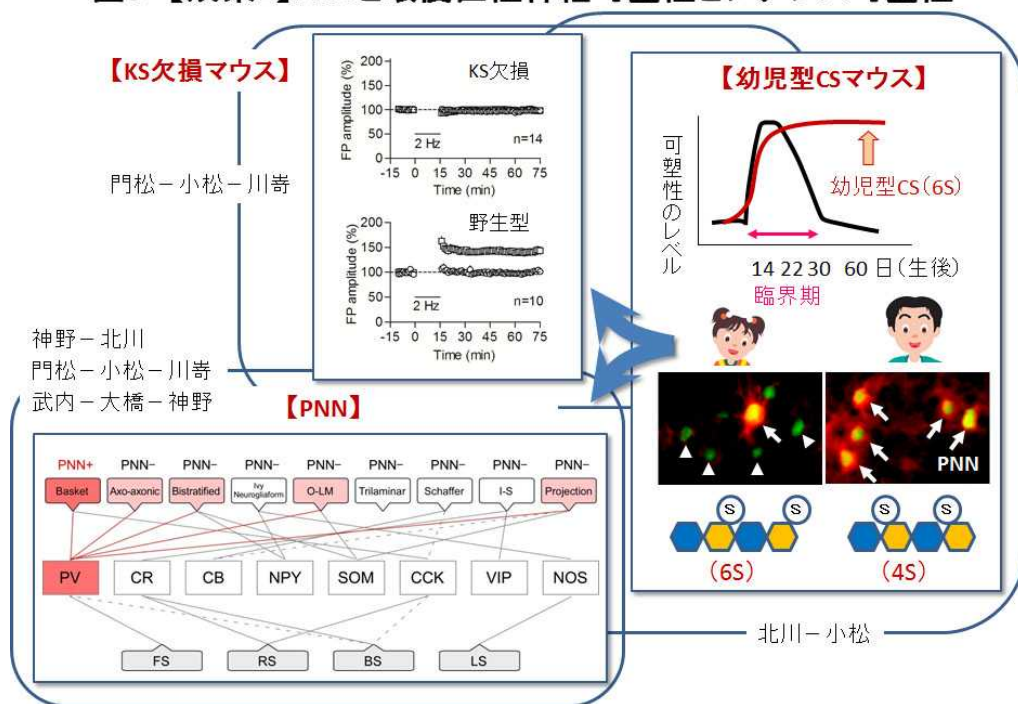
(1)に関しては、まさに連携の実現であり、領域内で如何に融合研究が進んできたかについて下に記述したい。(2)については、例えば、がん、免疫、発生、再生など神経糖鎖以外の領域への波及をめざすものであり、本領域のゴールである糖鎖作動原理の解明および神経活動制御機構の解明によって普遍化できるコンセプトがもたらす効果を指している。その成果を下に記す。

3. 研究の進展状況

A01とA02の各々の研究項目の中で糖鎖と神経の融合研究が進んでいる。一方、A01とA02は例えばAMPA受容体のトラフィックなど神経活動の重要分子の動きを考えるとまさに切っても切り離せない関係にある。以下に述べる研究の進展状況は代表的な融合研究のうちのいくつか過ぎない。また、これらはA01, A02の研究項目をきっかけに始動しつつも、

場合によっては研究項目をまたいだ融合研究に進んだものを含む（図4右も参照されたい）。融合研究は数が増えるだけでは無意味であり、上質の成果を残してこそ価値がある。本領域でそのような融合研究が生まれていることを読み取っていただきたい。

図5 【成果1】PNNと眼優位性神経可塑性とシナプス可塑性

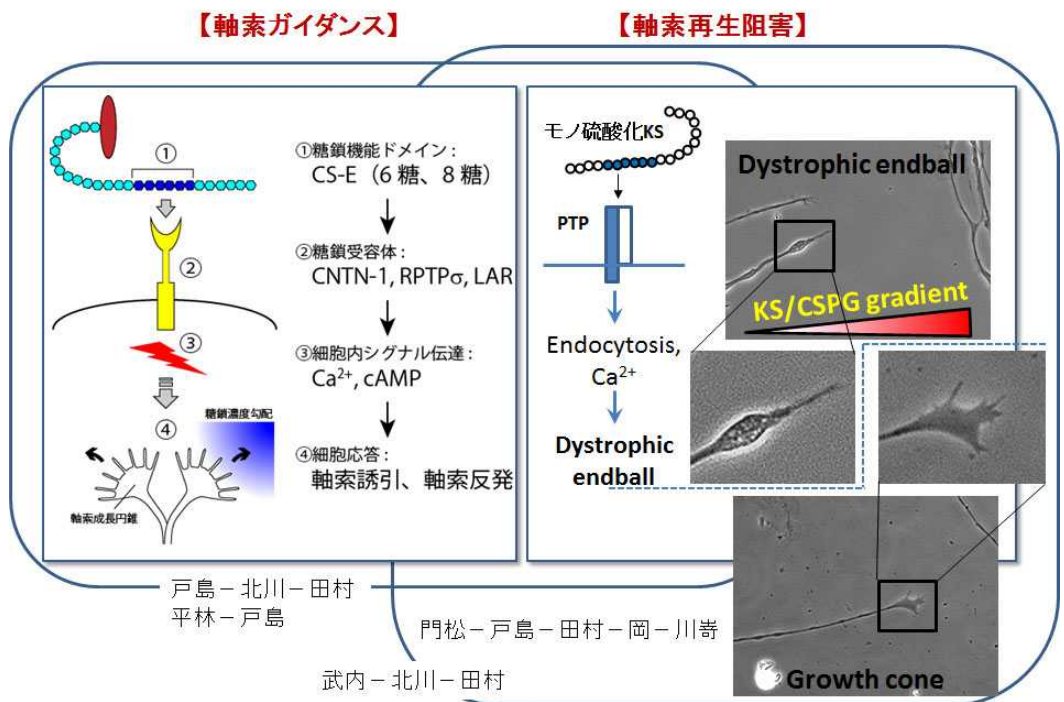


A01 細胞外糖鎖による神経機能制御

【PNN、眼優位性神経可塑性、シナプス可塑性】北川（A01計画）と小松（A01計画）はコンドロイチン硫酸（CS）の硫酸化パターンが可塑性制御に決定的役割を果たすことを見出した（2012年Nat Neurosci）。すなわち、幼児期CSは6Sと呼ばれる硫酸化が多く、この場合、ペリニューロナルネット（PNN）の形成低下が起こり、眼優位性可塑性が起こることを証明した（図5【幼児型CSマウス】）。糖鎖の微細構造の変化が劇的な神経現象を引き起こす代表的な例として歴史に残る発見である。また、PNN形成に4Sを含むCSの機能ドメインが必須であることを示したものであり、神経以外の領域にも応用可能な糖鎖の作用機構を提示できる可能性がある。PNNに関しては**神野（A01公募）**が海馬の長軸に沿った機能分化（背側部の神経回路 = 認知；腹側部の神経回路 = 情動）とPNN形成（背側部で生後大幅に上昇）に強い相関を見出し、認知と情動を担う神経回路は、PNNによる異なる制御を受けている可能性を示唆する成果を得た。**神野**はまた、PNNがPV含有GABAニューロンの中で特定のサブクラスのみで発現していることを見出している（図5【PNN】）。さらに**武内（A01公募）**はヘパラン硫酸（HS）、CSの両方の合成に影響を及ぼすKOマウスにPNN低形成を見出し、**大橋（A01公募）**と共同でその機構を追っている。**門松（A01計画）**と**小松**は、ケラタン硫酸（KS）欠損は臨界期に眼優位性可塑性の異常を呈すること（非遮蔽眼の反応上昇が起こらない）を見出し、それがシナプス長期増強（LTP）にも反映されることを示した（図5【KS欠損マウス】）。このことと、PNNに対する分布の差異（**川崎（A02公募）**の開発した抗KS抗体を用いた）からKSとCSは独立に眼優位性可塑性に関わることが示唆された。

【軸索ガイダンス・再生】戸島（A01計画）は北川（A01計画）、田村（総括班・北川班分担：CSオリゴ糖化学合成）と共同で、CS鎖内に存在する糖鎖機能ドメインとその受容体候補を絞り込むことに成功し、さらに受容体下流で軸索成長円錐の運動性を調節する細胞内シグナル

図6【成果2】軸索ガイダンス・再生



伝達クロストークについても多くの知見を得た（図6【軸索ガイダンス】）。すなわち、高硫酸化CSサブタイプの一つであるCS-Eによる軸索ガイダンスを媒介する受容体としてCNTN-1、RPTPσ、LARを同定し、受容体下流の細胞内シグナル分子としてCa²⁺とcAMPの関与を示した。興味深いことに、軸索の誘引時と反発時では、必要な最短CS-E鎖長、活性化される受容体の組み合わせ、さらには開口するCa²⁺チャネルの種類が全く異なることが明らかになってきた。同一のCS鎖が両方向性のリガンドとして働くための糖鎖機能ドメイン受容機構とシグナル伝達機構が明らかになりつつあることは特筆に値する。「糖鎖がリガンドとして受容体を活性化する」というコンセプトの証明という観点から、他の研究領域への影響の大きい発見となった。**門松（A01計画）**はKSが脊髄損傷後の軸索再生阻害・神経機能回復阻害に決定的な役割を担うことを見出し（2011年J Neurosci）、**戸島、田村**と共同でdystrophic endballの形成にKSが読まれること

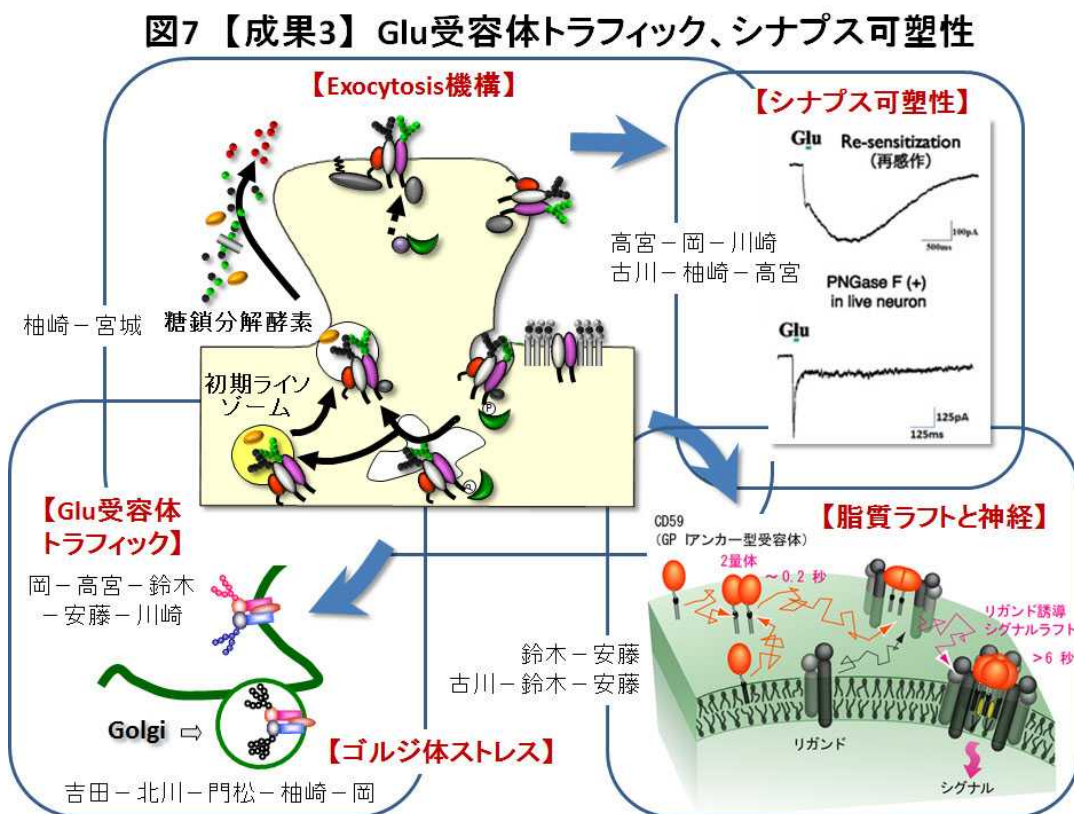
を新たにみつけた (図 6【軸索再生阻害】)。Dystrophic endball は成体神経損傷の際の軸索断端の形状であり、これがプロテオグリカンの濃度勾配を感知する。今回、モノ硫酸化 KS が PTP に読まれることが分かり、またモノ硫酸化 KS を担うプロテオグリカンと PTP の同定にも至った。後者に関しては岡 (A02 計画)、川崎 (A02 公募) との共同で達成できた。これらの発見が、これまで見過ごされてきた growth cone collapse と dystrophic endball との差別化、in vivo での意義、そこへの CS、KS の関与といった観点をクローズアップした意義は大きい。また、武内 (A01 公募) は北川、田村と共同で HS、CS の両方の合成に影響を及ぼす KO マウスが損傷後軸索再生促進の表現型を示すことを見出した。

A02 細胞内・細胞表面糖鎖による神経機能制御

【Glu 受容体トラフィック、シナプス可塑性】 柚崎 (A02 計画) は記憶・学習の基礎過程と考えられている LTP 時に、AMPA 受容体がライソゾーム様細胞内プールから表面輸送されることを見出した。これにより AMPA 受容体そのものの糖鎖に変化が生じるとともに、LTP 刺激時にそのプールから糖鎖分解酵素が分泌され細胞外糖鎖に変化をもたらすという興味深い可能性が示唆された (図 7【Exocytosis 機構】)。これはグルタミン酸受容体トラフィック機構に新たなコンセプトを与える重要な発見である。シアル酸分解酵素の専門家である

宮城 (A02 公募) と共同で解析を進めている。

岡 (A02 計画) は AMPA 受容体 GluA1 および GluA2 を精製し、それぞれの糖鎖付加部位ごとの糖鎖構造を川崎 (総括班・岡班分担：糖鎖構造解析) と共同で決定した。次に各々の糖鎖付加部位ごとの変異を導入したところ、特定の糖鎖付加部



位変異体で細胞表面発現量が大きく減少していることを見つけた (図 7【シナプス可塑性】)。さらに鈴木 (総括班・古川班分担：一分子イメージング) と共同で 1 分子イメージング法を用いて AMPA 受容体の細胞表面上での動きを解析し、受容体合会についてこれまでの常識を覆す新しい知見を得た (図 7【Glu 受容体トラフィック】)。また、高宮 (A02 計画) と岡、さらに川崎 (総括班分担)、鈴木 (総括班分担)、長江 (A02 公募) は糖鎖除去および GluA1 糖鎖付加部位変異体によるチャンネル活性の大きな変化など、グルタミン酸受容体の糖鎖付加の生物学的意義をハイライトする重要な成果を得た (図 7【シナプス可塑性】)。

吉田 (A02 計画) は北川 (A01 計画)、門松 (A01 計画)、柚崎、岡などと共同して、ゴルジ体での糖鎖修飾が関与する恒常性維持機構を見出した (図 7【ゴルジ体ストレス】)。グリア細胞分化に伴って転写因子 TFE3 を介してゴルジ体ストレス応答が活性化される。また、シアル酸トランスポーターの発現抑制などによってゴルジ体内での糖鎖修飾能力不全となると、ゴルジ体ストレス応答が活性化される。吉田は小胞体ストレスの分子機構に大きな足跡を残したが、彼の提唱するゴルジ体ストレスは新たなコンセプトとして

広く生命科学に影響を与える。古川 (A02 計画) は、GM2/GD2 合成酵素遺伝子のトランスジェニックマウス、欠損マウスの記憶・学習異常、LTP 異常を見出し、これまでほとんど研究のない糖脂質のシナプス機能における役割に関して大きな一歩を印した。また、鈴木 (総括班・古川班分担：一分子イメージング)、古川、安藤 (A02 公募：糖鎖化学合成) によって、天然のものと同じように振舞う蛍光プローブを作成することに成功。GM1 などの各々のガングリオシドは同じ糖脂質同士がダイマー化してクラスターを形成することを見出し、糖鎖の特異性およびクラスター形成を初めて可視化した (図 7 【脂質ラフトと神経】)。この成果は神経機能での新発見に繋がるだけでなく、論争の続く脂質ラフトの構造・機能の解明の意味で、広く他の研究領域にも影響を及ぼす。