

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成16年度採択研究代表者

平林 義雄

(理化学研究所脳科学総合研究センター)

「糖修飾システムによる神経機能の発現・制御」

1. 研究実施の概要

神経組織にはスフィンゴ糖脂質を代表とする糖脂質が豊富に含まれている。構造多様性に富んだ糖鎖を有したスフィンゴ糖脂質は、脳の発達、アルツハイマー病を代表とする神経変性疾患やてんかんに関わる重要な神経膜構成成分であると考えられている。脳組織のスフィンゴ糖脂質の網羅的な化学構造解析の結果、スフィンゴ糖脂質のほとんど全てがグルコシルセラミド(GlcCer)を経て合成されることが示された。従って、GlcCer合成酵素の機能を明らかにすることが、脳のスフィンゴ糖脂質の機能解析のもっとも近道であると考えられる。GlcCer合成酵素遺伝子(Ugcg)のマウスノックアウトは、胎生7.5日で死んでしまうことから、糖脂質合成は個体発生に必須であることが示されてきた。しかし、胎生致死であることから脳でのスフィンゴ糖脂質の機能は、依然として多くの謎に包まれている。神経の神経系には、神経細胞（ニューロン）とグリア細胞の2種類の細胞集団により構成されており、両者のダイナミックな相互作用により、神経系の形態やネットワーク形成、神経細胞の生存と機能維持が保たれている。従って、神経系でのスフィンゴ（糖）脂質の生理機能を明らかにする為には、細胞タイプや脳の領域特異的に目的の遺伝子を、例えばノックアウトすることが必要となってくる。我々のグループでは、L7CreトランスジェニックマウスおよびSpt1c2-floxマウスを確立し、両マウスを交配することにより、小脳プルキンエ細胞特異的にスフィンゴ脂質合成が欠損したマウスを得ることに成功した。このマウスは生存可能であり、行動学習における小脳プルキンエ細胞の役割を解析する上で極めて有用なマウスであることが示されつつある。今後、更にL7CreマウスとUgcg-floxマウスと交配し小脳プルキンエ細胞特異的に糖脂質が欠損したマウスを作成し、両者のマウスの行動、電気生理、生化学的に比較解析することにより、神経系スフィンゴ糖脂質の生理機能と分子メカニズムを明らかにすることを目指す。

初期神経発生におけるGlcCerの機能を理解する上で、遺伝学的解析が容易なショジョウバエや生化学解析が比較的容易で且つ遺伝子技術も適応できるゼブラフィッシュ等のモデル小動物は極めて有効な解析ツールである。伊東グループは、ゼブラフィッシュの初期胚にGlcCer合成遺伝子のアンチセンスモルフォリノオリゴを導入すると、神経管に沿って多数のアポトーシス細胞が出現することを見いだした。この表現型はGlcCerを初期胚にマイク

ロインジェクションすることでは回復できた。今後、既知、新規を含めた様々な糖脂質を初期胚に導入することにより、多様な糖脂質のなかでのどの糖脂質がもっとも神経発生に重要なかが明らかになるものと期待される。更に、神経管形成のどの段階でGlcCer合成が必要なのか、神経管及びその周辺の細胞のシグナリングのどこに異常が生じるのかを検討していく。

加藤グループは、神経可塑性の形成過程とスフィンゴ脂質ラフトあるいはマイクロドメインとの関連を明らかにする目的で、情動学習に関与する扁桃体内に電気刺激を導入し、てんかん発作を誘導したキンドリングモデルマウスを作成した。てんかん誘導前後で生じるスフィンゴ糖脂質ラフトの脳組織からの調整法を確立することができた。ラフトの量的・質的变化を生化学、免疫学、分子遺伝子学的解析を行うための基盤を確立することが出来た。

2. 研究実施体制

平林グループ

- ① 研究分担グループ長：平林 義雄（理化学研究所、脳科学総合研究センター、ユニットリーダー）
- ② 研究項目：神経系におけるスフィンゴ糖脂質および新規糖脂質機能の個体レベルでの解析

伊東グループ

- ① 研究分担グループ長：伊東 信（九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門、教授）
- ② 研究実施項目：ゼブラフィッシュ初期発生系を用いたグルコシルセラミド合成酵素機能の解析

加藤グループ

- ① 研究分担グループ長：加藤 啓子（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科、医学専攻、助教授）
- ② 研究項目：てんかんモデルマウスによる神経可塑性機構の解明

3. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

無し

(2) 特許出願

H16年度特許出願件数：1件（CREST研究期間累積件数：1件）