

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：糖修飾システムによる神経機能の発現・制御

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

平林 義雄 ((独)理化学研究所脳科学総合研究センター神経膜機能研究チーム チームリーダー)

主たる共同研究者

伊東 信 (九州大学大学院農学研究院 教授)

加藤 啓子 (大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 准教授)

3. 研究実施概要

多様な膜糖脂質の機能、特に中枢神経系での生理機能を明らかにするためには、脂質分子のグルコース化の機構を知ることが極めて重要である。セラミドのグルコース化に関わるグルコシルセラミド合成酵素 GlcT-1 の個体レベルでの機能を、マウス、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュを用いて解析した。その結果、1) GlcT-1 によるグスシルセラミドの産生は、体全体のエネルギー代謝(グルコースとトリグリセリド)のホメオスタシス維持機構に関わっていた。2) GlcT-1 プルキンエ細胞特異的ノックアウトマウスは、ニューロンの細胞体や樹状突起の形態には変化が無く、軸索を取り囲むミエリンの構造(特にパラノーダル領域周辺)に大きな異常が認められた。ニューロンの糖脂質は、軸索・ミエリン間の相互作用に関わり、ミエリンの形態と機能維持に必須であることが示された。3)伊東グループは、グルコシルセラミド及びグルコシルセラミド合成酵素活性の微量定量法を開発するとともに、ゼブラフィッシュの初期発生の解析系を使うことにより、意外なことに、グルコシルセラミドは外胚葉からの神経細胞ではなく、中胚葉に由来する脊索の形成という胚発生の非常に早い段階で、グルコシルセラミドそのものが直接関与していることを見いだした。グルコシルセラミドはグルコセブレロシダーゼによりグルコースが外された後、セラミダーゼによってスフィンゴシン塩基と脂肪酸に分解代謝される。伊東らは、新しい非リソソーム性グルコセブレロシダーゼとして Klotho-related protein (KLrP)を同定するとともに、その結晶構造を解明した。さらに、脊椎動物の形質膜II型糖タンパク質として存在する中性セラミダーゼを見出し、その緑膿菌オルソログの結晶構造解析に成功した。その結果、本酵素は Zn イオンを活性中心に持つ金属酵素であることを世界で初めて示した。

一方、胎児脳組織より全く新しいタイプのグルコース化脂質を発見し、その構造をホスファチジル β グルコシド (PtdGlc) (飽和脂肪酸は 18:0/20:0 のみで構成)と決定した。PtdGlc は胎児期の神経幹細胞、アストログリア系譜の細胞膜表面に発現していた。さらに、成体脳においても神経幹細胞に存在しており、新しい幹細胞表面マーカー分子であった。PtdGlc は、既知のスフィンゴ糖脂質とは独立した脂質ラフトを形成し、神経幹細胞からアストログリア系譜への細胞分化に関わっていた。また、ラジアルグリア細胞より産生されるリゾ体 PtdGlc は、強力な成長円錐反発因子活性を有しており、非タンパク質性成分によるニューロン軸索の移動制御分子の可能性が示唆された。この結果は PtdGlc-脂質ラフトが、神経回路ネットワーク形成や神経再生に重要な役割を演じていることを示唆していた。

ショウジョウバエを使ってグルコシルセラミドとエネルギー代謝制御との関連を研究する過程で、体内中のグルコースと脂質代謝ホメオスタシスに関わる7回膜貫通型糖タンパク質の存在を見いだした。ショウジョウバエでは Boss として知られていたが、その欠損変異体は体のサイズが小さく、体液中のグルコース・脂質量が増加していた。また、飢餓ストレスに脆弱であり、飢餓状況下で脂肪体に蓄積する脂質(トリグリセリド)の速やかな消失を伴い、個体死に至ることから、脂質代謝のホメオスタシス維持機構に関わる重要な膜構成分子であることを明らかにした。Boss はスフィンゴ糖脂質・ラフトに存在し、細胞外グルコースに応答する受容体である可能性を提唱した。

脳では複数のシアル酸転移酵素が存在するが、シアル酸による末端糖鎖修飾の生理学的意義

は不明な点を多く残している。加藤グループは側頭葉てんかんモデルマウスを用いた実験により、てんかん発作発症過程に連動して脳内成長ホルモンと ST3Gal IV の特異的発現亢進を見いだした。シアル酸転移反応が、てんかん発症に直接関わるのかどうかを検討する目的で ST3Gal IV 欠損マウスを作成した。このノックアウトマウスは、てんかん刺激に対して抵抗性を示し、てんかん発作を獲得しない事がわかった。この結果は、ST3Gal IV によるシアル酸修飾が、てんかん発症に必須であることを示していた。さらに ST3Gal IV 欠損マウスは、気分障害・睡眠障害を伴う生体リズム不全を示し、血中の成長ホルモンと Igf1 の分泌量の減少を伴う成長阻害を示した。これは、成長ホルモンの分泌が、ST3Gal IV の発現量に影響を受けることを示唆すると共に、生体リズム調節に、ST3Gal IV によるシアル酸修飾が必須である事が示唆された。

以上、主に糖鎖合成の最初と最後のステップに関わる合成・分解酵素を標的とした研究から、脳内での糖鎖合成は、神経ネットワーク形成から高次機能に至る広範囲にわたって重要な役割を演じていることが明らかとなった。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

胎児脳組織より全く新しいタイプのグルコース化脂質を発見し、その構造をフォスファチジル β グルコシド (PtdGlc) と決定した。PtdGlc が胎児期の神経幹細胞、アストログリア系譜の細胞膜表面に発現しており、成体脳においても神経幹細胞に存在して、新しい神経幹細胞マーカーであることを見出した。また、神経幹細胞からアストログリア系譜への細胞分化に関わっていることを見出し、そのリゾ体は強力な成長円錐反発因子活性を有しており、ニューロン軸索の移動制御分子の可能性が示唆された。この結果は PtdGlc-脂質ラフトが、神経回路ネットワーク形成や神経再生に重要な役割を演じている可能性を見出した。

グルコシルセラミド(GlcCer)合成酵素のプルキンエ細胞特異的 KO マウスの解析から、ニューロンの糖脂質は、軸索・ミエリン間の相互作用に関わり、ミエリンの形態と機能維持に必須であることを示した。伊東グループは、GlcCer は中胚葉に由来する脊索の形成に直接関与していることを見出した。

ショウジョウバエを使ってグルコシル化セラミドとエネルギー代謝制御との関連を研究する過程で、体内中のグルコースと脂質代謝ホメオスタシスに関わる7回膜貫通型糖タンパク質 (BOSS/GPRC5B) を見出し、これが脂質代謝のホメオスタシス維持機構に関わる重要な膜構成分子であることを明らかにした。

伊東グループは、新しい非リソソーム性グルコセレブロンダーゼとして KLRP を同定すると共に、その結晶構造を解明した。さらに脊椎動物の形態膜 II 型糖タンパク質として存在するセラミダーゼを見出し、その緑膿菌オルソログの結晶解析に成功した。

論文発表は 19 件でやや少ないが、未発表の成果もいくつかあり、今後の発表が期待できる。研究の性格から特許は期待できないが、国内5件、海外1件を出願している。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

極めて独自性の高い研究であり他に類を見ない。機能が明確になることにより、今後大きな社会的インパクトが期待される。

フォスファチジルグリコシドのリゾ体の利用はニューロン軸索の伸長阻害活性を示すことから、臨床応用できる可能性がある。

エネルギー代謝での BOSS/GPRC5B の役割がわかると、糖尿病などの疾患との関わりが期待され、社会的インパクトは極めて大きいと思われる。

4-3. 総合的評価

当初の研究計画は焦点があまり明確でなく多少の懸念もあったが、研究代表者独特の優れた感性により、高い研究成果を残した。

3つのグループ間の研究内容に相互関係はなく共同研究もなされていないが、代表者の研究はグルコースを中心にして、新奇糖脂質フォスファチジルグルコシドの発見とその生理機能解析、グルコシルセラミド合成酵素

KO マウスの解析、グルコース応答性 BOSS/GPRC5B の発見など大変ユニークな研究成果を挙げ、今後の大きな展開が期待される。

以上