

様式 C - 7 - 1

平成30年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	鳥山 道則		

1. 研究種目名 若手研究(A) 2. 課題番号 17H05003

3. 研究課題名 一次繊毛による新たな神経回路形成機構の解明

4. 研究期間 平成29年度～令和元年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

一次繊毛は細胞膜から突出する突起状の小器官であり、細胞外からのシグナルの受容と細胞内への伝達を行う「アンテナ」のような機能を持つ。一次繊毛を介した細胞外からのシグナルの受容は、遺伝子発現の制御を経て組織形成、恒常性の維持など正常な生体機能に必須である。神経細胞も他の細胞と同様に一次繊毛を形成することがわかっているものの、その形成に関わる分子機構および生理的意義は不明な点が多い。本研究では、神経細胞における一次繊毛の形成機構の解析および神経細胞における一次繊毛の役割の解明を目標に研究を進めた。2018年度も前年度に引き続き、神経細胞の一次繊毛形成を制御する細胞外分子の同定および一次繊毛形成に必要とされる細胞内のシグナル伝達機構の解析を行った。これまでに神経成長因子に属するNGF、BDNF、NT-3や誘因性軸索ガイダンス分子であるNetrin-1、さらにDHA（ドコサヘキサエン酸）やEPA（エイコサペンタエン酸）などのオメガ3脂肪酸が神経細胞の一次繊毛形成を促進し、一次繊毛が長く伸長することを見出した。一方でWntの阻害因子であるDKK1は一次繊毛形成を抑制した結果、一次繊毛の長さが短くなることを明らかにした。特に、不飽和脂肪酸による一次繊毛の形成を促進する細胞内シグナル伝達機構として、細胞内カルシウム濃度上昇と、脱リン酸化酵素カルシニューリンの活性化、さらに転写因子NFAT（Nuclear factor of activated T-cells）の活性化が一次繊毛形成に必要とされることを見出した。加えて、RNAシーケンス法により不飽和脂肪酸の刺激により発現量が変動する遺伝子群の同定も完了した。

7. キーワード

一次繊毛 神経回路網形成 不飽和脂肪酸

8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
今年度は、これまで不明であった神経細胞における一次繊毛の形成機構の解析を目標に、一次繊毛形成を促進する細胞外分子および細胞内におけるシグナル伝達機構の解析を行った。その結果、一次繊毛形成を促進する因子として神経成長因子や不飽和脂肪酸を同定するとともに、一次繊毛形成を抑制する因子の同定にも成功した。さらに、細胞外からの不飽和脂肪酸の刺激により発現量が変動する遺伝子群の同定にも成功した。このように、これまで不明であった神経細胞における一次繊毛形成を制御するシグナル伝達機構および遺伝子を同定できたことから、本研究は順調に進展していると考えている。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

今後の方策として、神経成長因子やオメガ3脂肪酸の刺激に応答し、伸長した一次繊毛のシグナル受容能の解析を中心の研究を進める。さらに、不飽和脂肪酸の刺激に応答し発現量が変動する遺伝子の解析も進め、神経細胞における一次繊毛の生理機能を明らかにする。

1) 一次繊毛の伸長による細胞外シグナルの受容能の解析

Shh (ソニックヘッジホッグ) のシグナル伝達には、一次繊毛の機能が必要とされることが解っている。そこで、一次繊毛の長さの違いによる、Shhの受容と下流シグナルの活性化を培養神経細胞を用いて解析を行う。方法として、一次繊毛形成を促進する神経成長因子や不飽和脂肪酸で神経細胞を前処理し、一次繊毛を伸長させる。その後Shhで神経細胞を刺激し、定量的RT-PCR法やWestern blot法によりShhの下流で発現量が変動する遺伝子群 (Gli1, Ptch1など) の発現量を解析する。

2) 一次繊毛形成を制御する新規遺伝子の同定と機能解析

RNAシーケンス法により同定された遺伝子群には、すでに一次繊毛の機能に関する分子が含まれており、更なる解析により一次繊毛形成を制御する遺伝子の同定が期待される。そこで候補遺伝子のcDNAクローニングと培養神経細胞内での強制発現あるいはRNAi法やCRISPR/Cas9法を用いた遺伝子発現の阻害実験を行い、免疫染色法を用いた解析から一次繊毛の形成がどのように変化するか明らかにする。

10. 研究発表 (平成30年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計1件 (うち査読付論文 1件 / うち国際共著論文 1件 / うちオープンアクセス 1件)

1. 著者名 Kentarou Baba, Wataru Yoshida, Michinori Toriyama, Tadayuki Shimada, Colleen F Manning, Michiko Saito, Kenji Kohno, James S Trimmer, Rikiya Watanabe, Naoyuki Inagaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Gradient-reading and mechano-effector machinery for netrin-1-induced axon guidance.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e34593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.34593	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Michinori Toriyama
2. 発表標題 Brain development and function by fatty acids
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences 2018 (4th ISCPMS 2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinichiro Suzuki, Kento Karita, Naoyuki Inagaki, Michinori Toriyama
2. 発表標題 神経機能を制御するDHAの新規作用機序の解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kento Karita, Shinichiro Suzuki, Naoyuki Inagaki, Michinori Toriyama
2. 発表標題 A Novel Function of Docosahexaenoic Acid (DHA) for Neuronal Primary Cilia Formation
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鳥山道則、苅田憲人、鈴木慎一郎、稲垣直之
2. 発表標題 オメガ3脂肪酸が制御する神経細胞の一次繊毛形成機構の解析
3. 学会等名 第60回日本脂質生物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

-