第４領域　（計画班員）			
研究課題名	神経回路形成の動態を制御する新規細胞間シグナルの解析		
研究代表者名	桝　正幸	E-mail	mmasu@md.tsukuba.ac.jp
所属・職名	筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授		
研究分担者名	桝和子、塩見健輔、岡田拓也、長嶺聖史		
分担者所属	筑波大学大学院人間総合科学研究科		

研究成果報告書

神経回路形成過程において、神経細胞は、周囲の細胞や微小環境から、刻々と変化する種々のシグナルを受容し、機能的な回路網を作り上げる。本研究は、我々が単離した新規のスルファターゼ遺伝子（SulfFP1 & SulfFP2）と ENPP2（オートタキシン）遺伝子の機能解析を通じて、細胞外シグナル伝達の要である糖鎖のリモデリングと脂質メディエーターを介した神経回路形成の動的な制御機構を明らかにすることを目的としている。

これまでの主に in vitro の研究から、SulfFP がヘパラン硫酸の６位の硫酸基を中性 pH で特異的に分解するエンドスルファターゼ活性を持つことが明らかにされている。一方、ヘパラン硫酸は、種々の細胞増殖因子や軸索ガイダンス分子と結合し、シグナル伝達に必要であることが多くの例で示され、その重要性が認識されつつある。しかも、リガンドとの結合に特定の硫酸基が必須であり、発生・加齢や発がんに伴って、硫酸化パターンが変化することも知られている。以上の結果から、SulfFP が細胞外でヘパラン硫酸の硫酸化パターンを変化させることにより、ヘパリン結合性分子を介した情報伝達を制御している可能性が示唆されているが、その生理的な役割は未だ明らかにされていない。

そこで、我々は、SulfFP 遺伝子を破壊したノックアウトマウスを作成し、その表現型を調べた。その結果、SulfFP1 と SulfFP2 の単独の破壊では大きな異常が認められなかったが、ダブルノックアウトマウスは生後直ぐに死亡することを見出した。脳の異常について主に形態学的手法を用いて調べた結果、約１割のマウスで著明な水頭症が見られること、それ以外のマウスの脳は一見正常であるが、神経軸索走行を詳しく調べると、一部の軸索走行に異常が認められることを明らかにした。更に、SulfFP ノックアウトマウスの脳から抽出したヘパラン硫酸の二糖組成を解析した結果、予想通り、６-硫酸を含む二糖単位の割合が増加していた。以上の結果から、SulfFP が作り出す正常のヘパラン硫酸の硫酸化パターンが、神経回路形成に重要な鍵になっていることが初めて明らかになった。

ENPP2 は、細胞外でリゾフォスファチジン酸やスフィンゴシン１-リン酸を合成する酵素であり、細胞増殖、分化、生存、移動などを制御すると考えられるが、神経発生や神経機能における働きは不明である。*ENPP2* ノックアウトマウスは、卵黄嚢の血管形成不全により胎生９日頃に死亡するため、それより後に起こる神経発生については十分な検討ができないことが明らかになった。今後、*ENPP2* floxed マウスと *Nestin-Cre* トランスジェニックマウスを交配することにより、脳特異的に *ENPP2* を破壊したマウスを作成し、*ENPP2* 遺伝子の神経発生における役割を明らかにする計画である。