

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		神経細胞における新しい情報伝達機構の細胞生物学的解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Novel Intracellular Signaling Mechanism in Neuron			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) タケダ	名) セン	研究期間 B	2007 ~ 2009 年
	漢字 CB	竹田	扇	報告年度 YR	2009 年
	ローマ字 CZ	TAKEDA	Sen	研究機関名	山梨大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山梨大学大学院医学工学総合研究部 解剖学講座細胞生物学教室 教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、培養海馬神経細胞を用いて神経細胞の一次線毛の構造と機能を解明する事を目的としている。一次線毛は通常不動であり、細胞外の情報を感知するアンテナの役割を果たしていると考えられているが、その機能の詳細は不明である。一次線毛関連分子の異常と関係がある疾患として Bardet-Biedl 症候群があるが、その症例に於ける知的認知機能の低下、中枢性肥満などが一次線毛の機能異常に依って説明することが可能であると考えられる。本研究では、(1) 中枢神経系での一次線毛の分布、(2) 培養神経細胞における線毛形成動態、(3) 培養神経細胞での一次線毛への G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) の輸送、(4) 一次線毛上の受容体刺激時の神経細胞の Ca 濃度変化の解析、を行い一次線毛の脳高次機能への影響を検討した。</p> <p>(1) 中枢神経系に於ける一次線毛の分布を調べる為にマウス成獣を灌流固定し、脳全体を冠状断にし、頭尾軸方向でほぼ真中あたりで神経細胞の一次線毛の分子マーカとして知られている抗 ACIII 抗体と各種 GPCR に対する抗体で二重染色し、その分布を観察した。特に海馬領域、視床下部領域に GPCR 陽性の一次線毛を有する神経細胞が多く存在する事が判った。</p> <p>(2) 培養海馬神経細胞では培養開始後 3 日位より一次線毛の形成が始まり、7 日で 70%程度、10 日で 80%以上の細胞に一次線毛が形成される事が判った。従って刺激実験等は 10 日前後の細胞で行う事を決定した。</p> <p>(3) 培養海馬神経細胞に EGFP::GPCR の発現遺伝子を導入し、受容体の一次線毛への輸送を解析した。ここで解析した3種類の受容体 (MCHR1, SSTR3, 5HTR6) は何れも一次線毛特異的に輸送され、その速度は凡そ速い軸索輸送 (200 nm/day) に相当するものであった。</p> <p>(4) 神経細胞に somatostatin を投与すると、細胞内へのカルシウム流入の抑制が見られ現在その分子機構と、シナプス伝達に与える影響を検討中である。</p> <p>※研究は現在続行中で本報告書は中間報告である。</p>					
キーワード FA	一次線毛	情報伝達	神経細胞	精神疾患	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Visualization of receptor trafficking in neuronal primary cilia							
	著者名 <sup>GA</sup>	Misawa et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Neuroscience Research					
	ページ <sup>GF</sup>	In press	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	9	巻号 <sup>GD</sup>	Supplement
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Physiological role of primary cilia in glial cells as a biosensor for the Hh signaling pathway							
	著者名 <sup>GA</sup>	Yoshimura et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	Neuroscience Research					
	ページ <sup>GF</sup>	In press	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	9	巻号 <sup>GD</sup>	Supplement
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Sensory function of neuronal primary cilia in modulating the neuronal activity (投稿準備中)							
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 This study aims at dissecting the function of neuronal primary cilia at the molecular level. Primary cilium is a ubiquitous organelle that serves as cellular antennae to monitor and transduce the signal from external environment to the cell. However, the exact function of the primary cilia is still largely unknown. Bardet-Biedl syndrome (BBS) is one of the most investigated maladies that involve the primary cilia as a chief etiology. Interestingly, BBS exhibits various neuropsychological symptoms such as mental retardation, cognitive dysfunction and central obesity. In this study, we tried to understand the molecular mechanism of ciliary function by the following steps: (1) Distribution of neuronal primary cilia was examined by applying the specific antibody to the neuronal primary cilia on the coronal section of mouse whole brain. In this study, the density of cells harboring the primary cilia was higher in the hippocampal formations and hypothalamus. (2) Neuronal primary cilia in the cultured hippocampal neuron were observed as early as 3 days in vitro (D. I. V.) and reached almost plateau at 10 D. I. V., when over 80 % of cells displayed primary cilia. (3) EGFP-tagged G-protein coupled receptors were expressed in the cultured hippocampal neuron by transfection of DNA and the dynamics of these receptors were analyzed in vitro. They were translocated in the primary cilia in both centrifugal and centripetal directions. Moreover, the velocity of translocation was estimated to be 200 nm/day, the value being almost correspondent to that of fast axonal transport. (4) Administration of ligands that specifically bind to the GPCR evoked the decreased level of intracellular  $Ca^{2+}$  concentration. This may due to the metabotropic effect of GPCR on the cells. These results implied the functional significance of primary cilia in the neuronal signal transduction.