

## 神経回路を正しく形成するための新たな仕組みを解明 ～ヘパラン硫酸糖鎖の脱硫酸化による制御～

### 研究成果のポイント

1. 神経回路が正しく形成されるためには、脱硫酸化酵素 Sulf1 と Sulf2 によるヘパラン硫酸糖鎖<sup>(注1)</sup>の脱硫酸化が必要であることを発見しました。
2. 脱硫酸化が起こらないマウスでは、皮質脊髄路の形成が異常になることを明らかにしました。
3. 本研究の成果によって神経回路形成メカニズムの理解がいつそう深まることが期待されます。

国立大学法人筑波大学医学医療系 岡田拓也助教、榊和子講師、榊正幸教授の研究グループは、細胞外でヘパラン硫酸糖鎖を脱硫酸化する酵素Sulf1とSulf2の両遺伝子を破壊したダブルノックアウトマウスを用いて、神経回路形成を制御する新たなメカニズムを解明しました。

脳が正常に機能するためには、膨大な数の神経細胞が神経回路を正確に形成する必要があります。「神経回路がどのようにしてできるのか」は、神経発生学における最も重要な問題であり、それを制御する多くの分子が発見されてきましたが、全容の解明には今なお至っていません。

ヘパラン硫酸糖鎖は、糖鎖内部の硫酸基を介して細胞外で様々な分子と結合し、その働きを調節することが知られています。ダブルノックアウトマウスの脳では、神経軸索が伸びていく経路にあるヘパラン硫酸糖鎖が過剰に硫酸化された状態になり、そこに神経軸索の走行を制御する分子Slit2が多量に結合して働き過ぎる結果、皮質脊髄路の形成に異常が生じることが分かりました。

ヘパラン硫酸糖鎖の脱硫酸化による神経回路形成の制御という新たな仕組みの発見によって、神経回路形成メカニズムの全容解明につながることを期待されます。

本研究の成果は、2017年10月23日付で「Scientific Reports」誌に掲載されました。

- \* 本研究は、日本学術振興会・科学研究費補助金(課題番号 12210003、17024006、22123006、24110502、25293065)、公益財団法人 水谷糖質科学振興財団の助成によって実施されました。

### 研究の背景

神経回路が形成されるにあたっては、その過程で、神経細胞が細長い突起(軸索)を標的細胞に向かって伸長させます。その際、神経軸索が標的細胞まで正しく伸長するためには、様々な軸索ガイダンス分子<sup>(注2)</sup>の働きが不可欠です。細胞外に存在するヘパラン硫酸糖鎖は、糖鎖内部の硫酸基を介して軸索ガイダンス分子と相互作用し、それらの働きを適切に調節します。これまで、軸索ガイダンス分子との相互作用に必要な硫酸化パターンの形成には、糖鎖合成の過程で硫酸基を付加する硫酸基転移酵素だけが関与すると考えられてきました。

近年、細胞外でヘパラン硫酸を脱硫酸化する二種類の酵素Sulfatase 1(Sulf1)とSulfatase 2(Sulf2)が発見されたことで、ヘパラン硫酸の硫酸化パターンの形成には硫酸化と脱硫酸化の両方が重要である可能性が示唆され

ました。これまでの研究で、硫酸基転移酵素遺伝子の変異体で神経回路形成異常が生じることが分かっていますが、ヘパラン硫酸の脱硫酸化が神経回路形成に果たす役割は不明でした。

### 研究内容と成果

本研究では、神経回路形成におけるヘパラン硫酸の脱硫酸化の役割を解明するために、Sulf1とSulf2の両遺伝子を破壊したダブルノックアウトマウスを作製しました。発生期の脳を調べたところ、ダブルノックアウトマウスでは、皮質脊髄路<sup>(注3)</sup>の軸索が中脳の側面を背側に向かって伸長する異常が観察されました。ダブルノックアウトマウスでは、神経軸索が伸びていく経路で過剰な硫酸化を持つヘパラン硫酸が増え、ここに軸索反発分子Slit2が結合して局所的に異常な集積が起こることが分かり、皮質脊髄路の軸索走行異常が引き起こされる仕組みを証明することが出来ました。正常マウスでは、Sulf1とSulf2がヘパラン硫酸を脱硫酸化することにより、Slit2の適切な分布を調節していると考えられます。

以上の結果から、正常な皮質脊髄路の形成には、Sulf1とSulf2によってヘパラン硫酸が適度に脱硫酸されることが重要であることが明らかとなりました。このことから、細胞外でヘパラン硫酸を介して軸索ガイダンス分子の分布や濃度を制御することにより神経軸索の伸長を制御する可能性が示唆されました。本研究の成果は、神経回路形成を制御する分子メカニズムの解明に向けて重要な知見であると考えられます。

### 今後の展開

本研究で用いたダブルノックアウトマウスでは、皮質脊髄路以外の神経回路形成異常も観察されています。今後、その原因を探求することによって、ヘパラン硫酸の脱硫酸化の役割をより深く理解できると考えられます。また、損傷された神経軸索が再生する時に細胞外環境を変えることによって再生を促進させる方法に応用される可能性も考えられます。

### 参考図

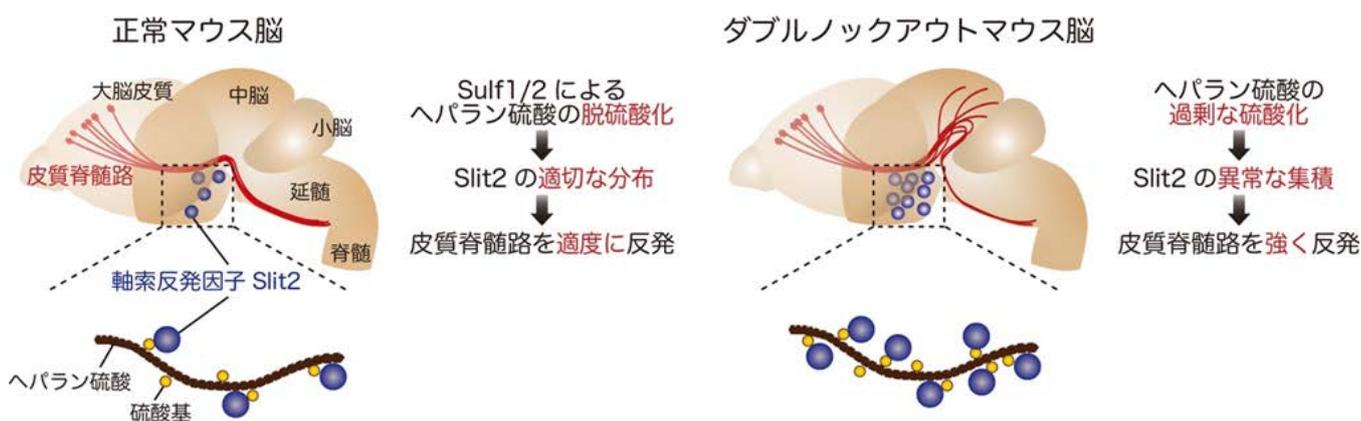


図 正常マウスでは、視床下部(破線で囲んだ領域)に存在するヘパラン硫酸を Sulf1/2 が脱硫酸化することで、反発性の軸索ガイダンス分子 Slit2 の分布が適切に調節され、皮質脊髄路軸索が正しく走行する。一方、ダブルノックアウトマウスでは、過剰に硫酸化されたヘパラン硫酸に Slit2 が多量に結合してしまう。その結果、皮質脊髄路軸索が強い反発を受け背側に向かって異常に伸長する。

### 用語解説

注1) ヘパラン硫酸糖鎖

グルクロン酸またはイズロン酸と N-アセチルグルコサミンからなる二糖単位が 50~100 回繰り返した糖鎖で、生

体内ではタンパク質と結合した糖タンパク質として存在している。体内に広く存在し、細胞外で様々な分子と相互作用することにより、多様な生理機能を発揮する。ヘパラン硫酸内部には硫酸化され得る部位が多数存在するが、硫酸化は糖鎖全体として均一に起こるわけではなく、硫酸化パターンの違いによってどのようなシグナル分子とどの程度の親和性で結合するのかが異なる。

注2) 軸索ガイダンス分子

神経軸索に作用し、標的細胞に向かって正しく伸長できるようにガイドする分子。軸索を誘引するものと反発するものがある。

注3) 皮質脊髄路

大脳皮質運動野から脊髄まで伸長する神経軸索の走行路。運動を制御している。

掲載論文

【題名】 Desulfation of Heparan Sulfate by Sulf1 and Sulf2 Is Required for Corticospinal Tract Formation  
(皮質脊髄路の形成には Sulf1 と Sulf2 によるヘパラン硫酸の脱硫酸化が必要である)

【著者名】 Takuya Okada<sup>†</sup>, Kazuko Keino-Masu<sup>†</sup>, Satoshi Nagamine, Fuyuki Kametani, Tatsuyuki Ohto, Masato Hasegawa, Toin H. van Kuppevelt, Satoshi Kunita, Satoru Takahashi, Masayuki Masu  
(<sup>†</sup>貢献度が同等の筆頭著者)

【掲載誌】 Scientific Reports  
DOI:10.1038/s41598-017-14185-3

問い合わせ先

榊 正幸(ますまさゆき)  
筑波大学 医学医療系 生命医科学域 分子神経生物学(教授)  
〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1