

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29年 4月 13日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 群馬大学・医学系研究科
 職 名 准教授
 研究代表者名 安田 浩樹

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:281010)

1. 共同利用研究 課題名	PKN によるグルタミン酸トランスポーター機能制御メカニズムの解析			
2. 共同利用研究 目的	ストレスによって、通常 PKN1に制御されている神経型グルタミン酸トランスポーター excitatory amino acid transporter 3 (EAAT3) 機能が抑制され、気分中枢における興奮性が亢進してうつや不安を惹起すると考えているが、本研究課題では主にストレスによる PKN1機能低下メカニズムを検討する。			
3. 共同利用研究 期間	平成 28年 7月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 安田 浩樹	群馬大学医学系研究科	准教授	研究の立案・遂行	
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御研究部 門・生体膜機能研究分野	氏 名	向井 秀幸

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:281010)

6. 共同利用研究計画

本研究課題では、水泳ストレスが神経型グルタミン酸トランスポーター・EAAT3 機能低下を起こすメカニズムについて、特に PKN1 活性低下の関与を検討する。

①ストレスによる EAAT3 蛋白発現および細胞表面発現の検討

本年度は予備実験として、ストレスによる EAAT3 機能低下メカニズムについては、(1)マウス海馬 EAAT3 が水泳ストレスによって発現低下が生じるか、あるいは(2)細胞膜表面へのトラフィッキングの異常が生じているか、神戸大学にて向井准教授が生化学的に検討する。

②EAAT3 機能低下における PKN1 の関与

PKN1a ノックアウトマウスに水泳負荷を行い、海馬 EAAT3 発現が野生型より低下しているか、あるいは細胞膜表面へのトラフィッキングに差があるか、神戸大学にて生化学的に検討する。また、水泳ストレスにより PKN1 活性が変化するか検討する。

③EAAT3 活性低下におけるアラキドン酸の関与

アラキドン酸合成阻害する消炎剤が、ストレスによる海馬歯状回顆粒細胞興奮を促進するか、申請者が電気生理学的に検討するとともに、EAAT3 発現を制御するか、さらに PKN1 ノックアウトマウスで消炎剤の EAAT3 発現に対する効果が消失するか、神戸大学にて生化学的に検討する。

7. 共同利用研究の成果

本年度は上記①、②に関して知見が得られた。

①ストレスによる EAAT3 蛋白発現および細胞表面発現の検討

水泳ストレスを1日15分 5日間負荷した野生型マウスから海馬を摘出し、EAAT3 蛋白をウェスタンブロットしたところ、コントロール野生型マウスより蛋白発現が減少していた。また、ストレス負荷した野生型マウス海馬からスライス標本作製し、ビオチン化剤によって細胞膜表面蛋白をビオチン化した上で、ビオチン化 EAAT3 蛋白をウェスタンブロットしたところ、コントロール野生型マウスより、細胞表面 EAAT3 が減少していた。

②EAAT3 機能低下における PKN1 の関与

次に、PKN1a ノックアウトマウス海馬 EAAT3 蛋白を定量したところ、野生型マウスより発現量が少ないことを見いだした。次に PKN1a ノックアウトマウスに水泳負荷した後、海馬 EAAT3 蛋白を定量したところ、コントロール PKN1a ノックアウトマウスと差は見られなかったことから、ストレス負荷による EAAT3 減少は PKN1 活性低下による可能性が示唆された。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくと記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出して下さい。)

Sally Danno, Koji Kubouchi, Mona Mehruba, Manabu Abe, Rie Natsume, Kenji

Sakimura, Satoshi Eguchi, Masahiro Oka, Masanori Hirashima, Hiroki Yasuda, and Hideyuki Mukai

PKN2 is essential for mouse embryonic development and proliferation of mouse Fibroblasts.

Genes to Cell, 2017 22(2): 220-236.

竹林 輝、野田 陽平、吉崎 尚良、向井 秀幸、早野 俊哉

プロテインキナーゼ N(PKN) による細胞分裂期進行の制御

第 39 回日本分子生物学会年会 平成 28 年 11 月 30 日(横浜)

團野 紗莉、崎村 建司、江口 賢史、Mona Mehruba、窪内 康二、向井 秀幸

タンパク質リン酸化酵素 PKN2 はマウスの初期発生に必須である。

第 39 回日本分子生物学会年会 平成 28 年 12 月 1 日(横浜)

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。