

# The exchange factor for ARF6(EFA6) family as novel regulators in neuronal dendrites

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/24324">http://hdl.handle.net/2297/24324</a>

【研究紹介】

樹状突起の新たな制御経路としてのADPリボシル化因子6  
グアニンヌクレオチド交換因子EFA6分子ファミリー

The exchange factor for ARF6 (EFA6) family as novel regulators in neuronal dendrites

北里大学医学部解剖学教室

阪上 洋行

はじめに

私は、平成2年に金沢大学医学部を卒業した後、東北大学大学院医学系研究科に進み、平成19年9月より北里大学医学部に赴任し、解剖学の教育と研究に従事しております。本稿では、低分子量Gタンパク質のADPリボシル化因子6 (ARF6) とその特異的な活性化調節因子EFA6に着目した神経細胞の樹状突起における機能解明に関する私たちの研究について紹介します。

神経細胞は、軸索と樹状突起の2種類の突起を持ち、発達過程において伸展と退縮を繰り返し、シナプスを介する複雑な神経回路を形成していく。樹状突起は情報の受け手として、シナプス後膜に神経伝達物質受容体や細胞接着分子などの膜タンパク質を集積させ、その細胞質側には多数のシグナル分子複合体を形成させて、シナプス伝達効率を厳密に制御している。樹状突起の形成を制御する分子機構の解明は、軸索とそれに比べて立ち遅れていたが、細胞骨格による制御機序に関する知見が近年集積した。しかしながら樹状突起の形成には、細胞骨格による運動性の制御とともに細胞表面積の増加に対応して細胞膜成分を供給する細胞内小胞輸送経路が重要な役割と担っているはずであるが、その詳細は不明である。私たちは、このような観点から、ARF6による細胞内小胞輸送経路の樹状突起形成過程における重要性に着目して研究を行っている。

ADPリボシル化因子(ARF)は、細胞内小胞輸送に関与する低分子量Gタンパク質で、6種類のアイソフォームが存在し、構造上の類似性からクラスI (ARF1-3), クラスII (ARF4, 5), クラスIII (ARF6) に分類されている。なかでもクラスIII に属するARF6は、細胞膜とエンドゾーム間の膜小胞輸送や皮質アクチン細胞骨格の再構築を介して、腫瘍細胞の浸潤性・転移能の獲得や神経細胞の突起の形成など形態変化を伴う多彩な細胞機能に関与することより近年注目されている。

ARFは、グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)の作用により、GDP結合型からGTP結合型に変換されて活性化状態になる。哺乳類では14種のGEF分子が同定され、EFA6(exchange factor for ARF6), BRAG(brefeldin A-resistant ARF-GEF), cytohesin, GBF(Golgi-specific brefeldin A-resistance factor), BIG(brefeldin A-inhibited GEF)の5つのファミリーに分類されている。そのうち、EFA6はARF6に対する特異的なGEFとして最初に発見さ

れたものである<sup>2)</sup>。

1. 分子構造

EFA6ファミリーには、4つの分子種 (EFA6A, EFA6B, EFA6C, EFA6D) が含まれる<sup>2)~4)</sup>(図1)。EFA6の構造は、アミノ末端領域以外では非常に保存されており、中央部にGEF活性に必須のSec7ドメインを持つ。さらにそのC末領域には、ホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸(PIP<sub>2</sub>)に高い親和性を持つプレクストリン相同(PH)ドメインが存在し、細胞膜への局在に関与する。さらにコイルドコイル構造が存在し分子相互作用に関与するものと考えられている。

2. 神経系における遺伝子発現

神経系に発現するEFA6A, C, Dの3分子について *in situ* ハイブリダイゼーション法により中枢神経系における発現解析を行った<sup>4)~6)</sup>。その結果、神経細胞に普遍的に発現するARF6に対して、EFA6各分子は時空間的に多様な発現様式を示すことより、ARF6に対する複雑な活性化制御機構の存在が明らかになった(図2)。なかでも興味深いことに、EFA6A mRNAは記憶学習などの高次神経機能に深く関係する海馬の神経細胞において、その細胞体とともに樹状突起に局在する<sup>5)</sup>。これは、細胞体周囲に局限したタンパク質に翻訳される大部分のmRNAに対して、樹状突起のシナプス近傍でタンパク質に翻訳され活性化シナプスへの選択的な供給が可能となり、神経活動依存的なシナプスの長期的な構造や機能の変化に関与するものと考えられ、EFA6Aのシナプス可塑性への機能関与を強く示唆するものである。

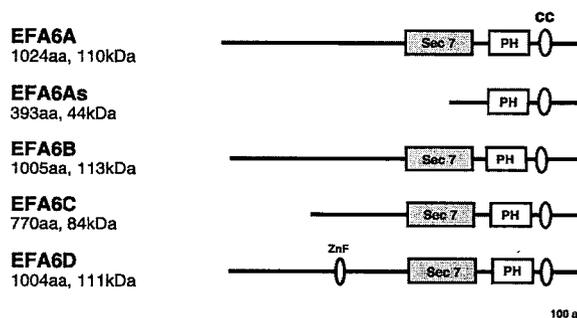


図1 マウスEFA6ファミリーの分子構造  
cc, コイルドコイル; PH, プレクストリン相同領域; ZnF, ジンクフィンガー

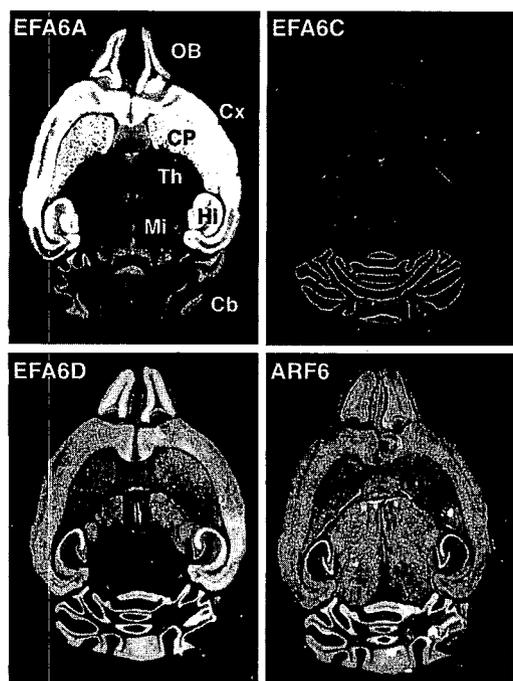


図2 EFA6ファミリー分子とARF6の成熟期マウス脳における遺伝子発現様式 Cb, 小脳皮質; CP, 線条体; Cx, 大脳皮質; Hi, 海馬; Mi, 中脳; OB, 嗅球; Th, 視床 (TJEMより許可を得て自著の図りを改変)

### 3. 神経細胞における細胞内局在

EFA6AとEFA6Cは樹状突起に極性を持って分布する。免疫電顕解析から、EFA6Cが小脳プルキンエ細胞の樹状突起と棘突起に分布し、特にシナプス後肥厚部に豊富に局在することを明らかにした<sup>9)</sup>。また、EFA6Aは、酵母ツーハイブリット法による解析から、樹状突起に局在するアクチン結合タンパク質の $\alpha$ -アクチニンと複合体を形成し<sup>8)</sup>、樹状突起のシナプス後膜のアクチン細胞骨格の近傍でARF6を活性化するものと考えられる。

### 4. 樹状突起、棘突起形成への機能関与

ARF6は細胞内小胞輸送や細胞骨格制御を介して神経細胞の樹状突起の形成を抑制的に調節している<sup>9)</sup>。EFA6Aの海馬での発現が、樹状突起の形成期にあたる生後1-2週齢に一致して著増することより、海馬初代培養神経細胞にGEF不活性型EFA6Aを遺伝子導入し、樹状突起の形成への影響を検討した<sup>9)</sup>。その結果、樹状突起の分岐が著しく誘導され、不活性型ARF6の過剰発現による結果<sup>9)</sup>と酷似することより、EFA6AがARF6の上流活性化制御因子として樹状突起形成に関与するものと考えられた。また、EFA6A-ARF6経路が、樹状突起で興奮性シナプスをつくる棘突起の形成・維持にも関与することが報告され、本経路が樹状突起の形成の種々の段階で機能関与することが明らかになった<sup>10),11)</sup>。

おわりに

樹状突起の形成の障害と精神疾患との関連が指摘され、樹状突起の形成制御機構の解明は発症機序や新たな

治療法の開発の手がかりとなる基礎医学研究と位置づけられる。私たちは、樹状突起におけるEFA6-ARF6経路の役割に着目してきたが、今後、ARF6による樹状突起形成制御の詳細な分子機構の解明が必要である。この点に関して、私たちは、ARF6の下流標的分子として、ミオシンVIIAとカドヘリン・カテニン複合体を結びつける膜タンパク質として知られるVezatin分子の機能関与の可能性を最近報告した<sup>12)</sup>。これらを糸口にさらなる詳細な分子機構の解明を目指したい。

最後に、金沢大学医学部を卒業して20年を過ぎた。これまで東北大学や北里大学などの他学で過ごしてきたが、どの施設においても母校出身者が身近で活躍しておられて様々な面でご支援頂いてきた。他学にいるからこそ、母校の有難味を感じることができる。この場をかりて深く感謝申し上げます。

### 参 考 文 献

- 1) D'Souza-Schorey C, Chavrier P. ARF proteins: roles in membrane traffic and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 347-358, 2006
- 2) Franco M, Peters PJ, et al. EFA6, a sec7 domain-containing exchange factor for ARF6, coordinates membrane recycling and actin cytoskeleton organization. *EMBO J* 18: 1480-1491, 1999
- 3) Derrien V, Couillault C, et al. A conserved C-terminal domain of EFA6-family ARF6-guanine nucleotide exchange factors induces lengthening of microvilli-like membrane protrusions. *J Cell Sci* 115: 2867-2879, 2002
- 4) Sakagami H, Suzuki H, et al. Distinct spatiotemporal expression of EFA6D, a guanine nucleotide exchange factor for ARF6, among the EFA6 family in mouse brain. *Brain Res* 1093: 1-11, 2006
- 5) Sakagami H, Matsuya S, et al. Somatodendritic localization of the mRNA for EFA6A, a guanine nucleotide exchange protein for ARF6, in rat hippocampus and its involvement in dendritic formation. *Eur J Neurosci* 19: 863-870, 2004
- 6) Matsuya S, Sakagami H, et al. Cellular and subcellular localization of EFA6C, a third member of the EFA6 family, in adult mouse Purkinje cells. *J Neurochem* 93: 674-685, 2005
- 7) Sakagami H. The EFA6 family: guanine nucleotide exchange factors for ADP ribosylation factor 6 at neuronal synapses. *Sakagami H. Tohoku J Exp Med* 214: 191-198, 2008
- 8) Sakagami H, Honnma T, et al. Somatodendritic localization of EFA6A, a guanine nucleotide exchange factor for ADP-ribosylation factor 6, and its possible interaction with alpha-actinin in dendritic spines. *Eur J Neurosci* 25: 618-628, 2007
- 9) Hernández-Deviez DJ, Casanova JE, Wilson JM. Regulation of dendritic development by the ARF exchange factor ARNO. *Nat Neurosci* 5: 623-634, 2002
- 10) Choi S, Ko J, et al. ARF6 and EFA6A regulate the development and maintenance of dendritic spines. *J Neurosci* 26: 4811-4819, 2006
- 11) Miyazaki H, Yamazaki M, et al. The small GTPase ADP-ribosylation factor 6 negatively regulates dendritic spine formation. *FEBS Lett* 579: 6834-6838, 2005
- 12) Sanda M, Ohara N, et al. Vezatin, a potential target for ADP-ribosylation factor 6, regulates the dendritic formation of hippocampal neurons. *Neurosci Res* 印刷中 2010