

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
グループ共同研究実施報告書 [研究分野：①]

1. グループ共同研究代表者

所属機関・職名・氏名
岡山大学大学院医歯学総合研究科・教授・竹居孝二

2. 研究課題名

(和文) AMPA 受容体エンドサイトーシスの分子メカニズム
(英文) Molecular mechanisms of AMPA receptor endocytosis

3. 日本側グループ組織 (代表者及び分担者の所属・職・氏名)

代表者：岡山大学大学院医歯学総合研究科・教授・竹居孝二
分担者：岡山大学大学院医歯学総合研究科・講師・絹田正裕
分担者：岡山大学大学院医歯学総合研究科・助手・山田浩司

4. 米国側グループ組織 (代表者及び分担者の所属・職・氏名)

代表者：イェール大学医学部細胞生物学講座・教授・ピエトロ=デカメリ
分担者：同講座・ポストドクトラルフェロー・ギルバート=パオーロ

5. 研究期間 平成14年4月1日～平成17年3月31日 (3年間)

6. 研究の概要、成果及び意義 (1000字)

AMPA受容体の細胞内局在とエンドサイトーシス：神経シナプスと同様、神経内分泌細胞（膝β細胞MIN6-m9）にAMPA受容体が発現することをウエスタンブロットにより見いだした。この細胞におけるAMPA受容体の細胞内局在を、蛍光免疫染色および免疫電顕法を用いて精査したところ、予想された細胞表面だけでなく細胞内にエンドゾームへの局在が観察された。この細胞におけるAMPA受容体のエンドサイトーシスを調べるために、細胞表面の膜タンパクをビオチンでラベルした後、AMPAで刺激した。細胞表面のビオチンを不活性化した後、細胞を融解、細胞内に取込まれたビオチン化タンパクをアビジンビーズで沈降し、ウエスタンブロットニングにより、AMPA型受容体がAMPA刺激によりエンドサイトーシスされることが明らかとなった。また、この取込みは、AMPAの競合的アンタゴニストによって阻害された。AMPA刺激は細胞外ナトリウムを細胞内流入により膜脱分極を誘発するが、この脱分極刺激によるAMPA型受容体のエンドサイトーシスが起きていることを明らかにした。(Yamada et al. in preparation)。

Amphiphysin 1 の機能解析：エンドサイトーシス小胞形成を *in vitro* で再構成する実験系を用いて、Amphiphysin の機能解析を行った。Dynamin は GTP 存在下に人工脂質膜（リポソーム）から小胞を形成するが、Amphiphysin 1 により Dynamin の小胞形成活性が上昇した。Amphiphysin 1 ノックアウトマウス（米国側グループ組織により作製）の脳細胞質を用いた実験でも、同様の結論が得られた。さらに、Amphiphysin 1 が Dynamin の GTP 活性を上昇させることを明らかにした (Yoshida et al EMBO J. 2004)。

以上により AMPA 受容体のエンドサイトーシスのメカニズムの一端を明らかにしたが、これは AMPA 受容体エンドサイトーシスを介するシナプス伝達の長期抑圧現象の理解に多大な知見をもたらすものである

7. その他 (実施上の問題点、特記事項等)

本事業により本共同研究を大いに推進することが可能であった。感謝いたします。

◎参考資料があれば、添付ください。