

KIF17 Modulates Epileptic Seizures and Membrane Expression of the NMDA Receptor Subunit NR2B

**Yan Liu¹ · Xin Tian¹ · Pingyang Ke¹ · Juan Gu¹ · Yuanlin Ma¹ · Yi Guo¹ ·
Xin Xu¹ · Yuanyuan Chen¹ · Min Yang¹ · Xuefeng Wang¹ · Fei Xiao¹**

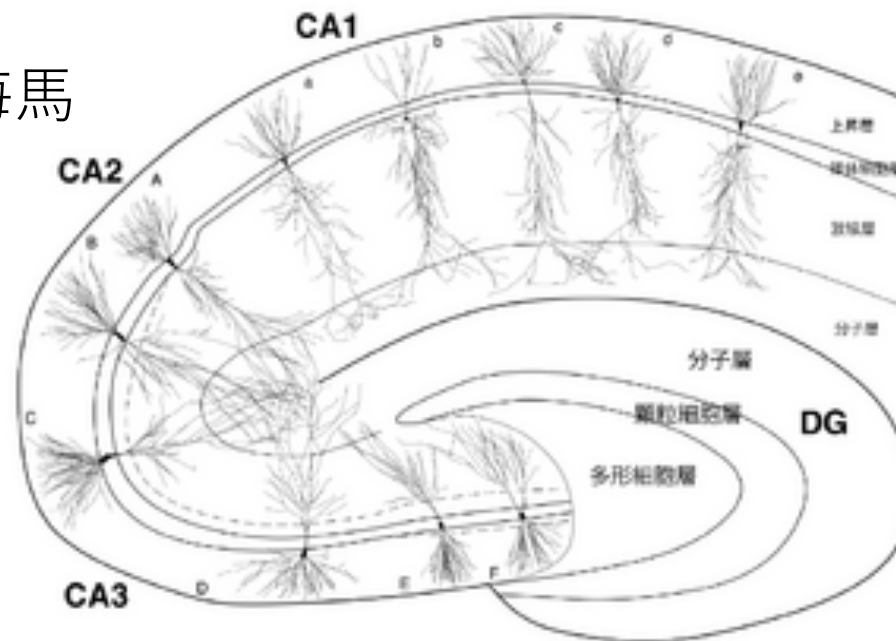
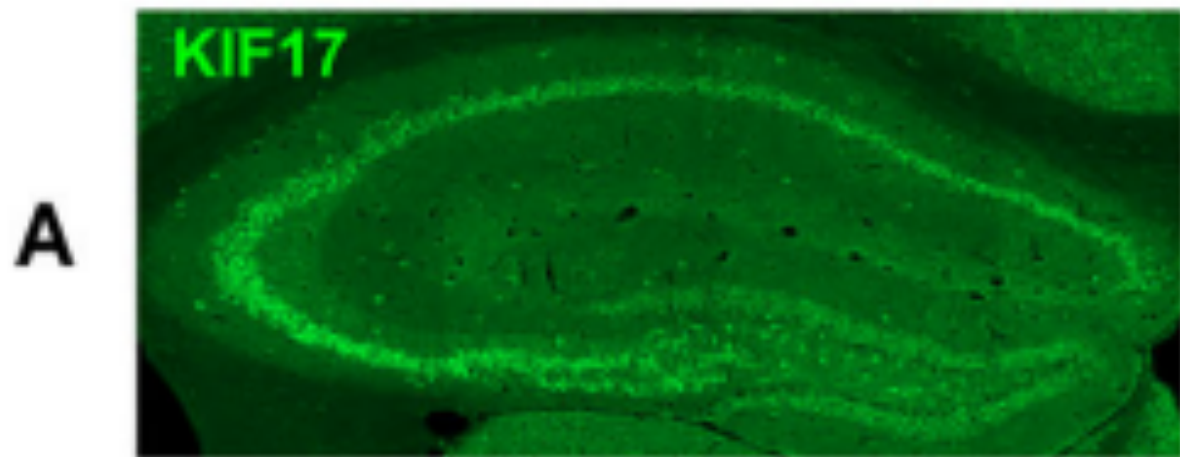
KIF17はてんかん発作とNMDA受容体サブユニット
NR2Bの細胞膜発現を調節する

Abstract

- KIF17 was mainly expressed in neurons and its expression was increased in epileptic brain tissue.
- In the kainic acid (KA)-induced epilepsy mouse model, KIF17 overexpression increased the severity of epileptic activity, whereas KIF17 knockdown had the opposite effect.
- In electrophysiological tests, KIF17 regulated excitatory synaptic transmission, potentially due to KIF17-mediated NR2B membrane expression.
- This report provides the first demonstration that KIF17 is modified by SUMOylation (SUMO, small ubiquitin-like modifier), which plays a vital role in the stabilization and maintenance of KIF17 in epilepsy.

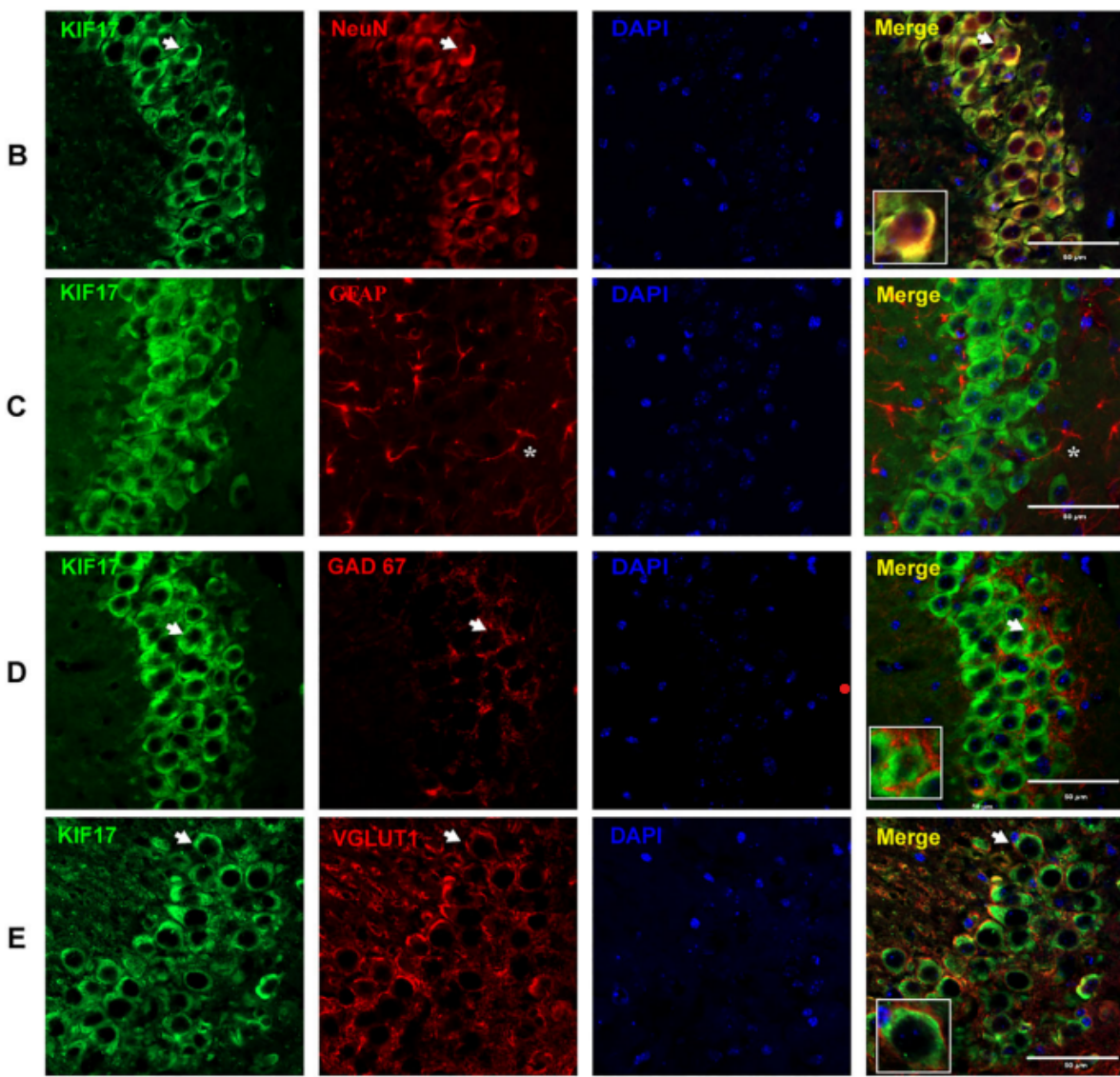
Results

カイニン酸誘発てんかんモデルマウス海馬



錐体細胞と歯状回でKIF17高発現

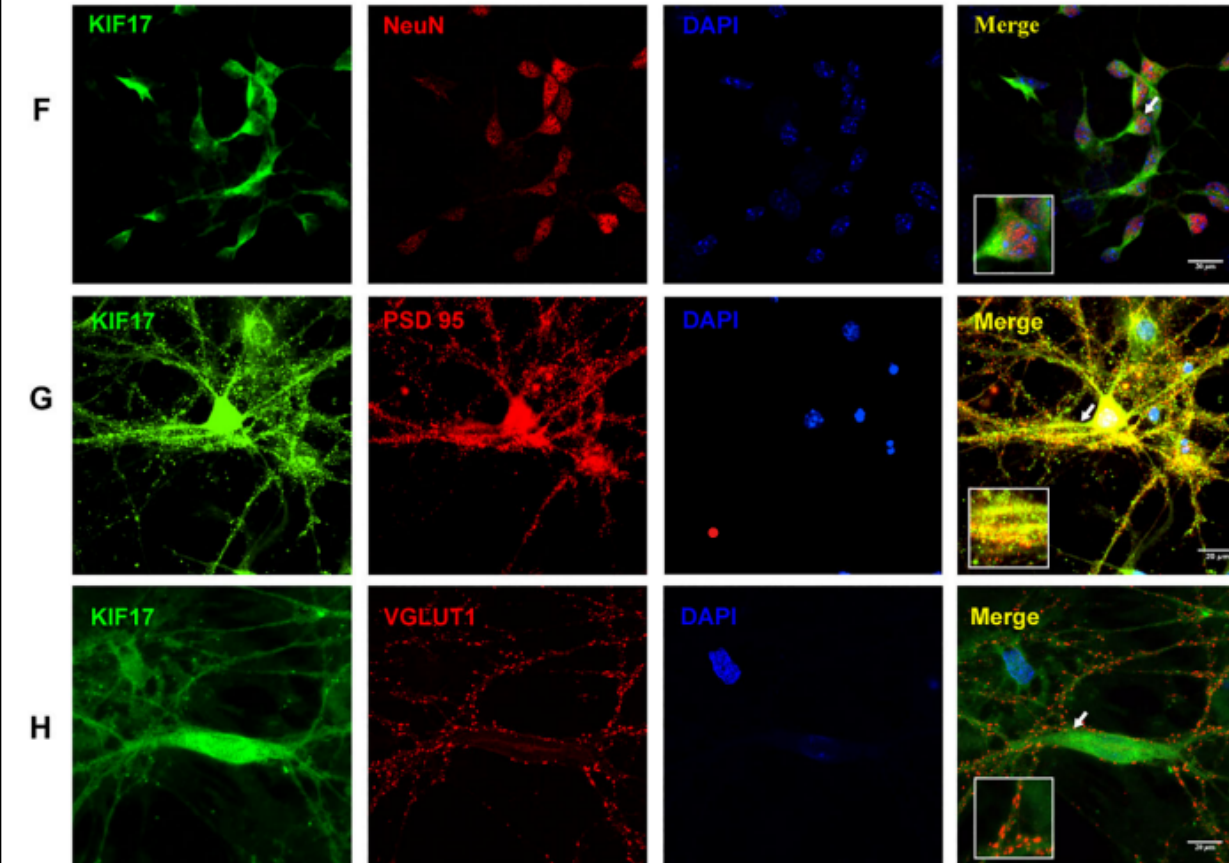
てんかんモデルマウス海馬CA3



KIF17は**NeuN**(神経細胞マーカー)と共局在し、**GFAP**(アストロサイトマーカー)とは共局在しない (Fig.1B,C)

KIF17は**GAD67**(GABAニューロンマーカー)や**VGLUT1**(グルタミン酸ニューロンマーカー)と共局在する (Fig.1D,E)

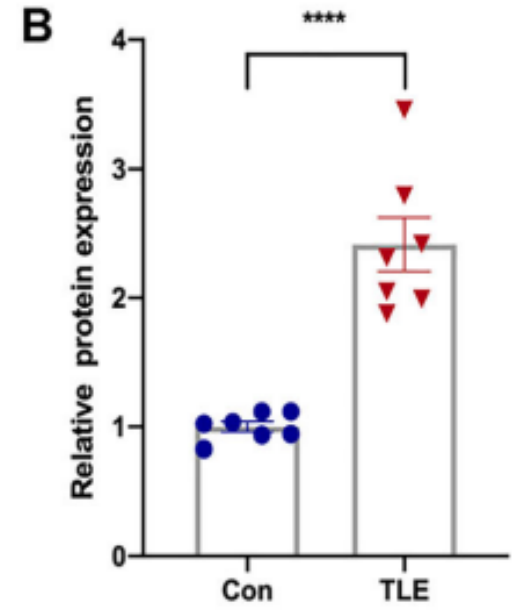
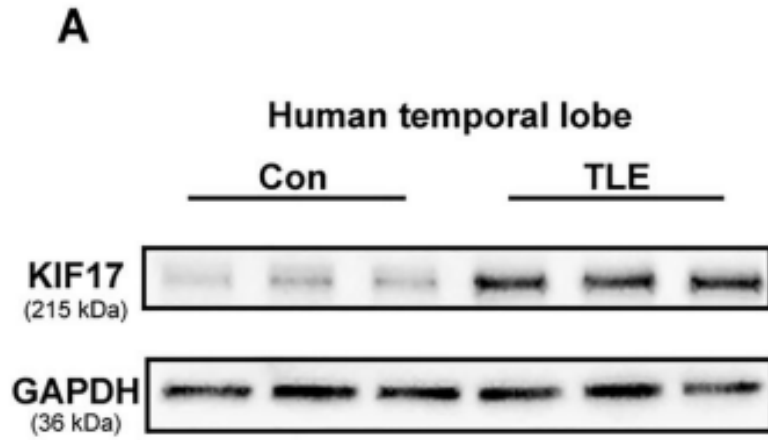
てんかんモデルマウス海馬初代培養神経細胞



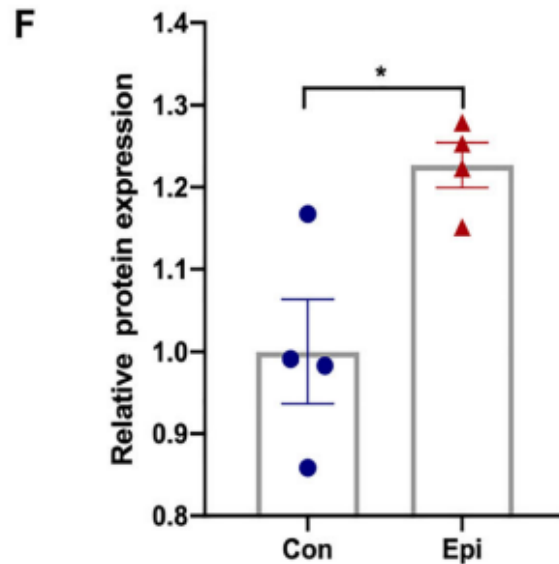
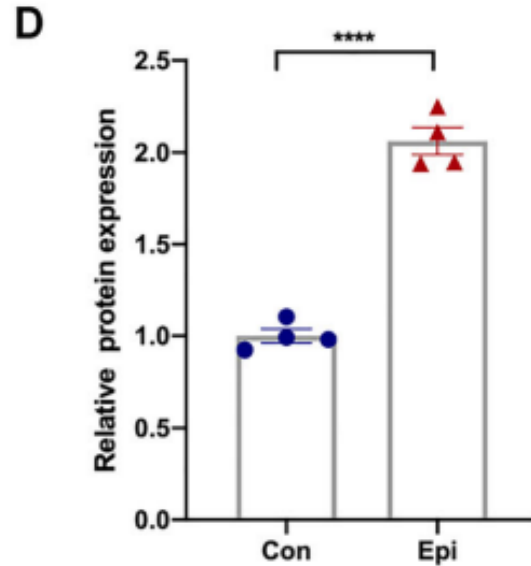
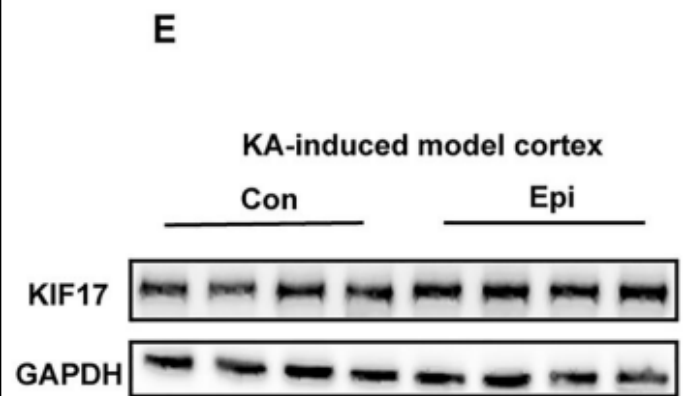
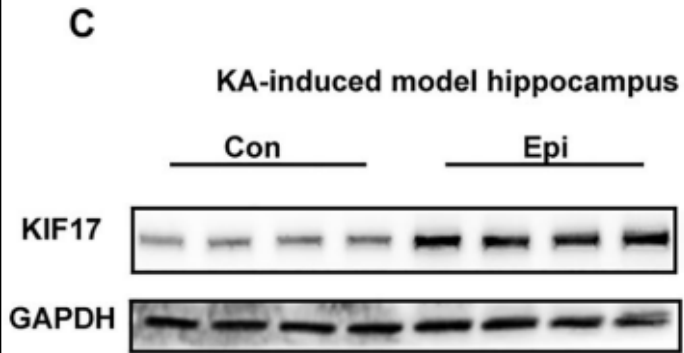
KIF17は
NeuN(神経細胞マーカー)や
PSD95(シナプス後部マーカー)と
共局在し、
**VGLUT1(グルタミン酸ニューロン
マーカー)**とは限定的に共局在する
(Fig.1F,G,H)

KA誘発てんかんモデルマウスの
免疫蛍光染色の結果

KIF17は**グルタミン酸作動性ニューロン**や
GABA作動性ニューロンなどの**神経細胞**、
特にその**シナプス後部**に発現している



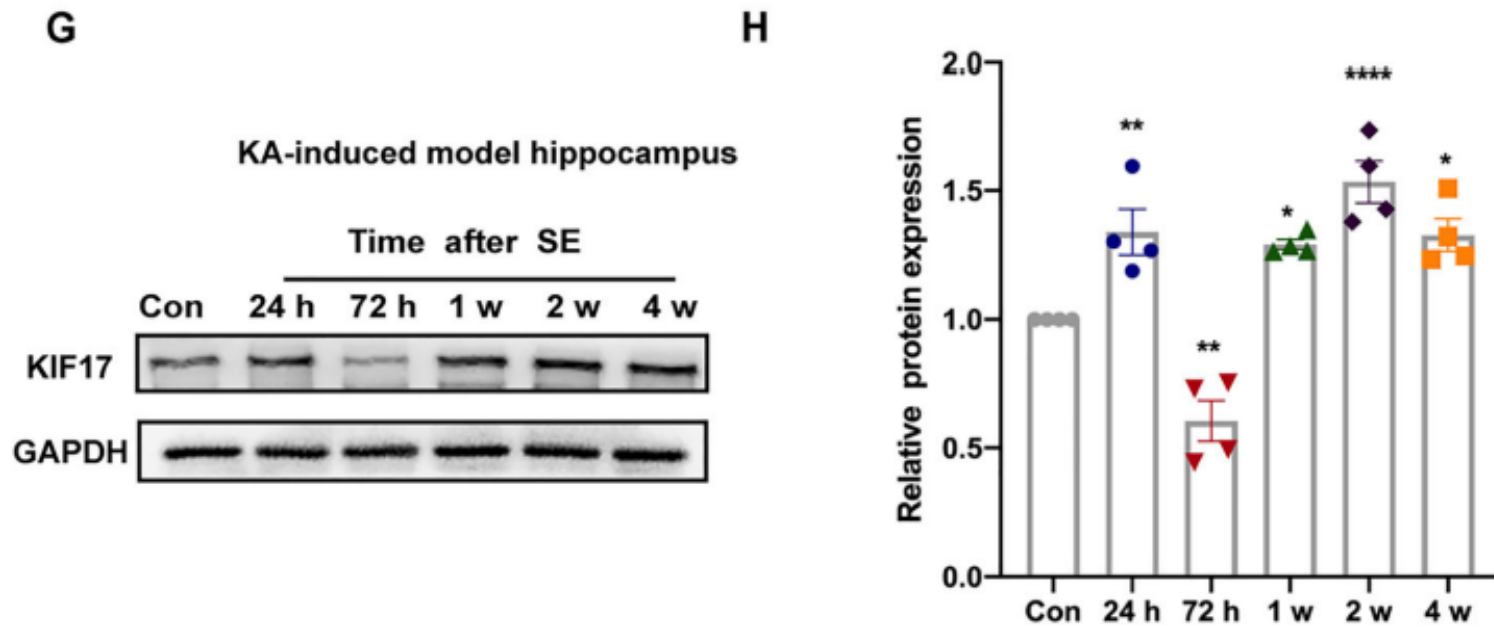
側頭葉てんかん(TLE)患者の脳では対照群と比較してKIF17の発現が上昇していた (Fig.2A,B)



KA誘発てんかんモデルマウスの海馬と大脳皮質で**KIF17の発現が亢進した**

特に**海馬での発現亢進が顕著だった**

(Fig.2C~F)



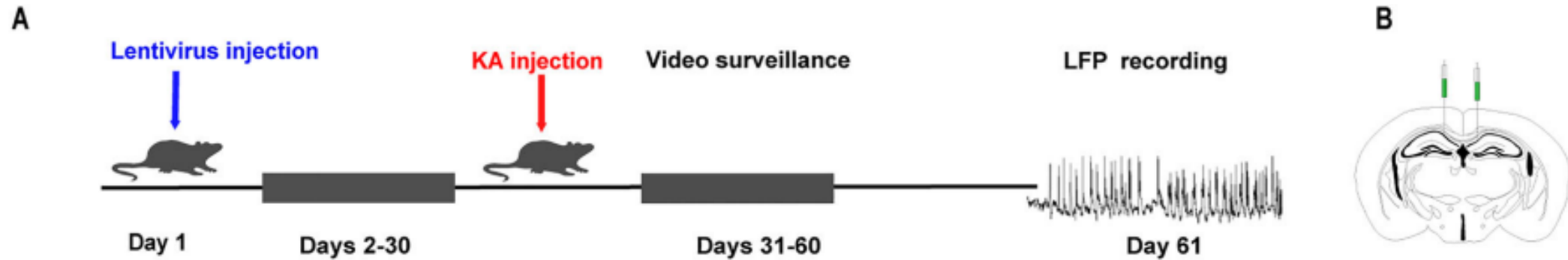
・てんかん発作後のマウス海馬のKIF17発現量変化

KIF17の発現量は**てんかん重積状態(SE)後初日から増加し始め、14日後にピーク**に達した

しかし、KIF17の発現量は**SE後3日には減少**した

→KIF17の発現は**慢性のてんかんで有意に増加**している

(Fig.2G,H)

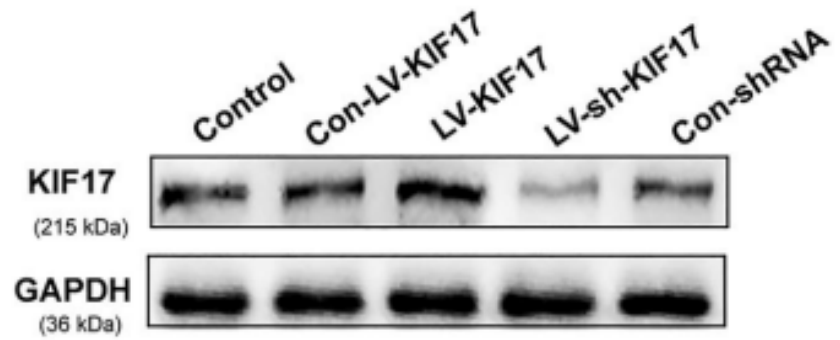


LV-KIF-17を注入してKIF17の発現を促進
 LV-sh-KIF17を注入してKIF17の発現を阻害
 (RNAi)

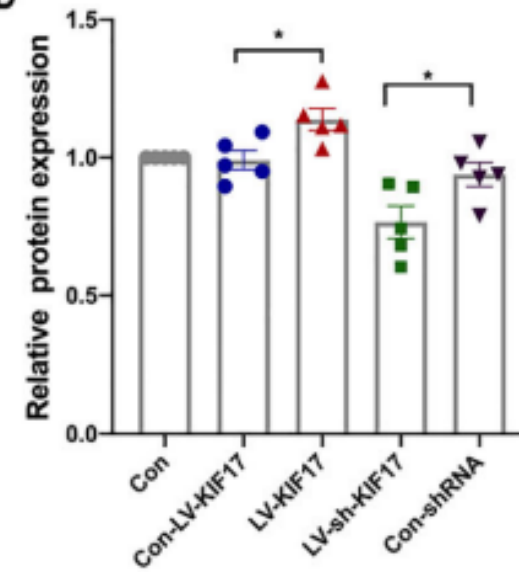
→その後海馬にKAを注入しててんかんを誘発

→行動記録、局所電場電位(LFP)記録

C

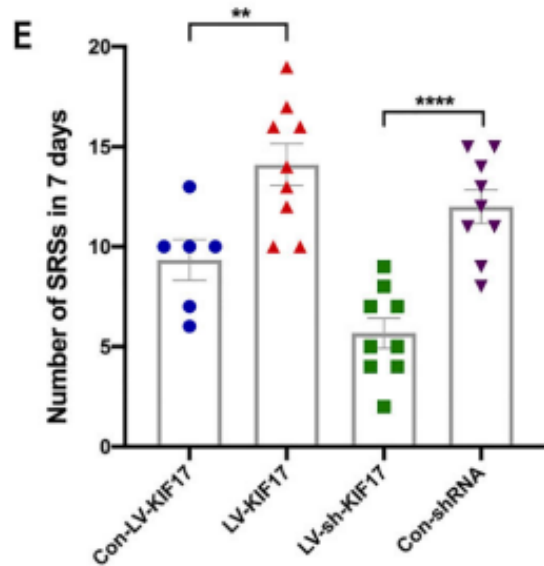


D



LV-KIF17群のKIF17発現は上昇

LV-sh-KIF17群のKIF17発現は低下

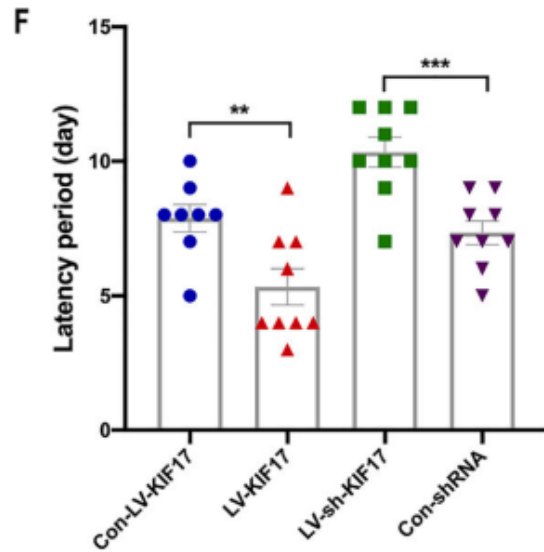


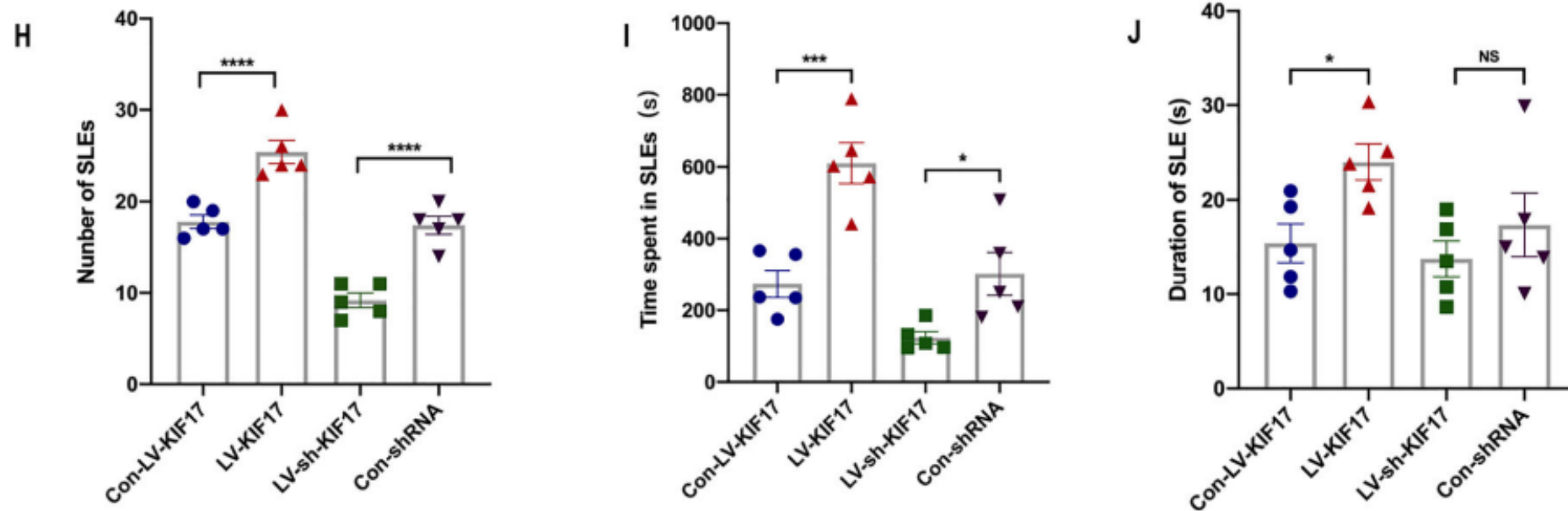
- SEの7日後の自発発作(SRS)数とSRS潜時

LV-KIF17群は**SRS発生が増加し、SRS潜時が短い**

LV-sh-KIF17群は**SRS発生が減少し、SRS潜時が長い**

(Fig.3E,F)



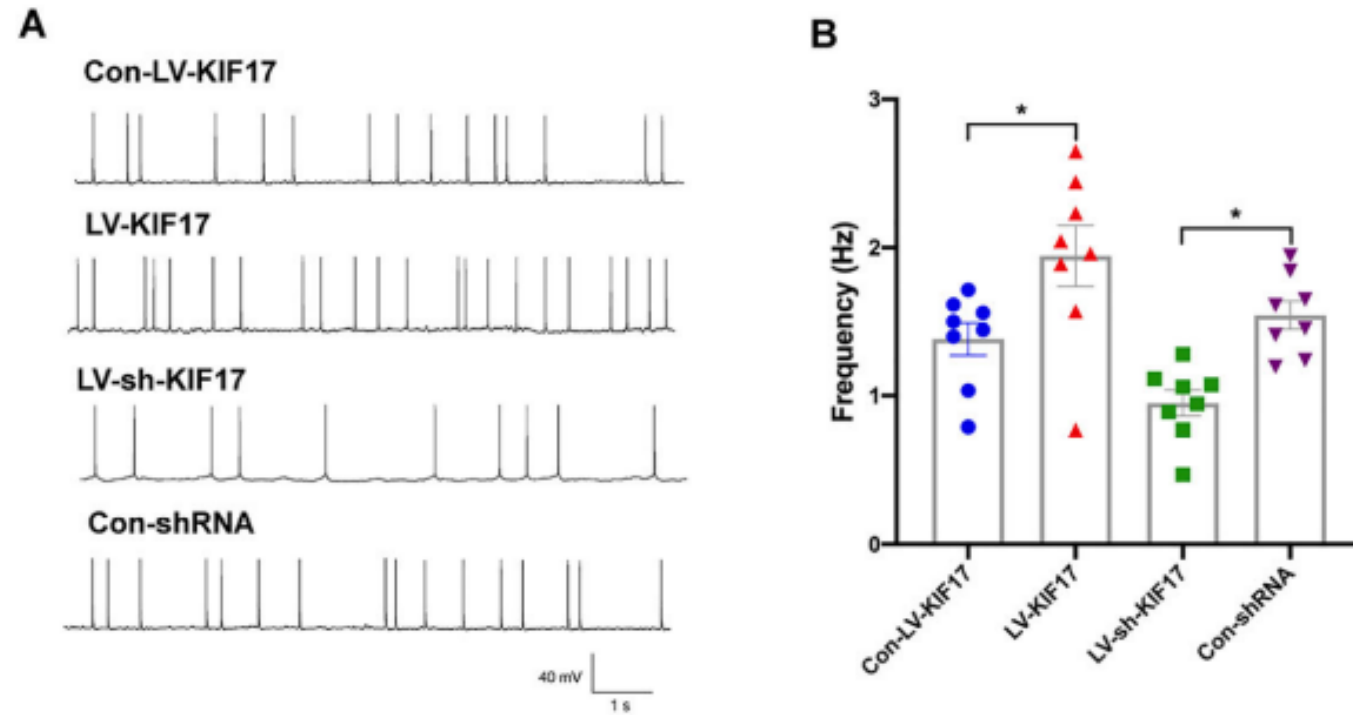


SEから1か月後に全ての群のLFPを記録。30分間の発作様事象(SLE)を解析

LV-KIF17群ではSLEの頻度、SLEを経験する総時間、SLEの持続時間全て増加

LV-sh-KIF17群ではSLEの頻度、SLEを経験する総時間は減少、SLEの持続時間は対照群と比べて変化なし

(Fig.3H,I,J)



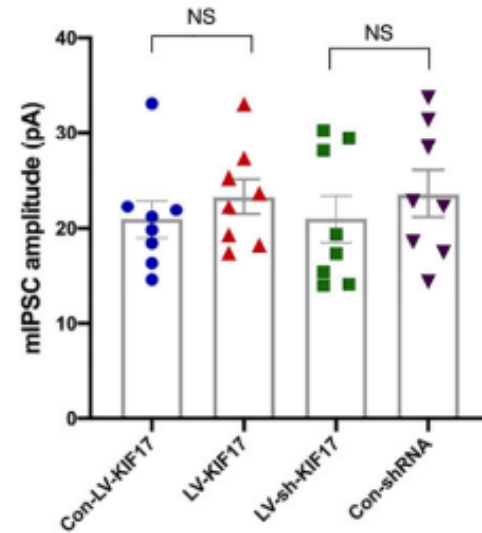
・ sAP(自発的活動電位)

LV-KIF17群は有意に**高いsAP頻度**

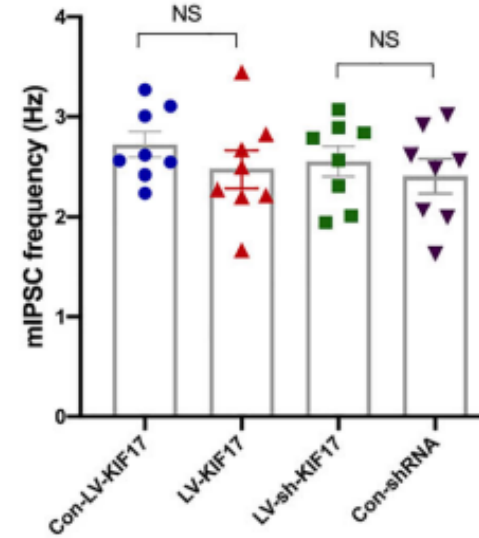
LV-sh-KIF17群は有意に**低いsAP頻度**

(Fig4A,B)

D



E

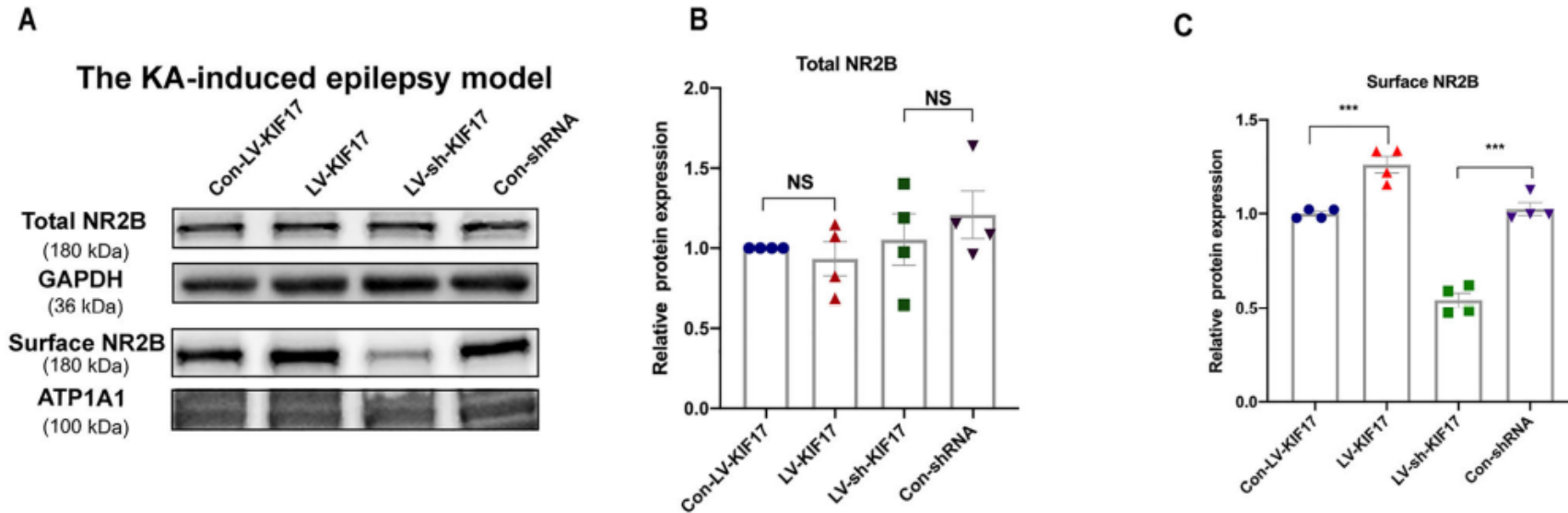


・ mIPSC(微小抑制性シナプス後電流)

LV-KIF17群でもLV-sh-KIF17群でも頻度や
振幅に変化なし

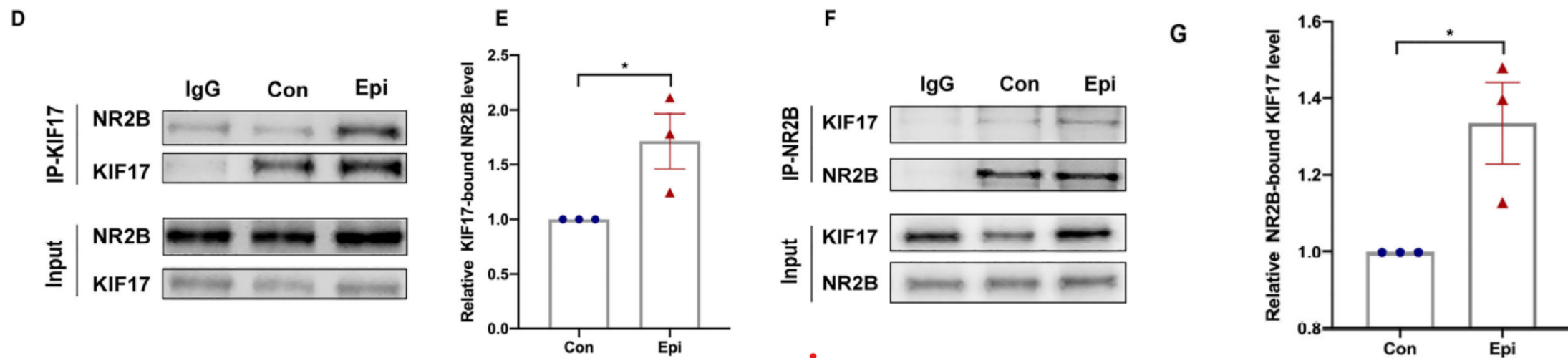
(Fig4D,E)

レンチウイルス介入後マウス海馬の**総NR2B量**と**膜NR2B量**



LV-KIF17群でもLV-sh-KIF17群でもNR2Bの総タンパク量に変化なし。しかし、
LV-KIF17群の**膜NR2B量は増加**
LV-sh-KIF17群の**膜NR2B量は減少**

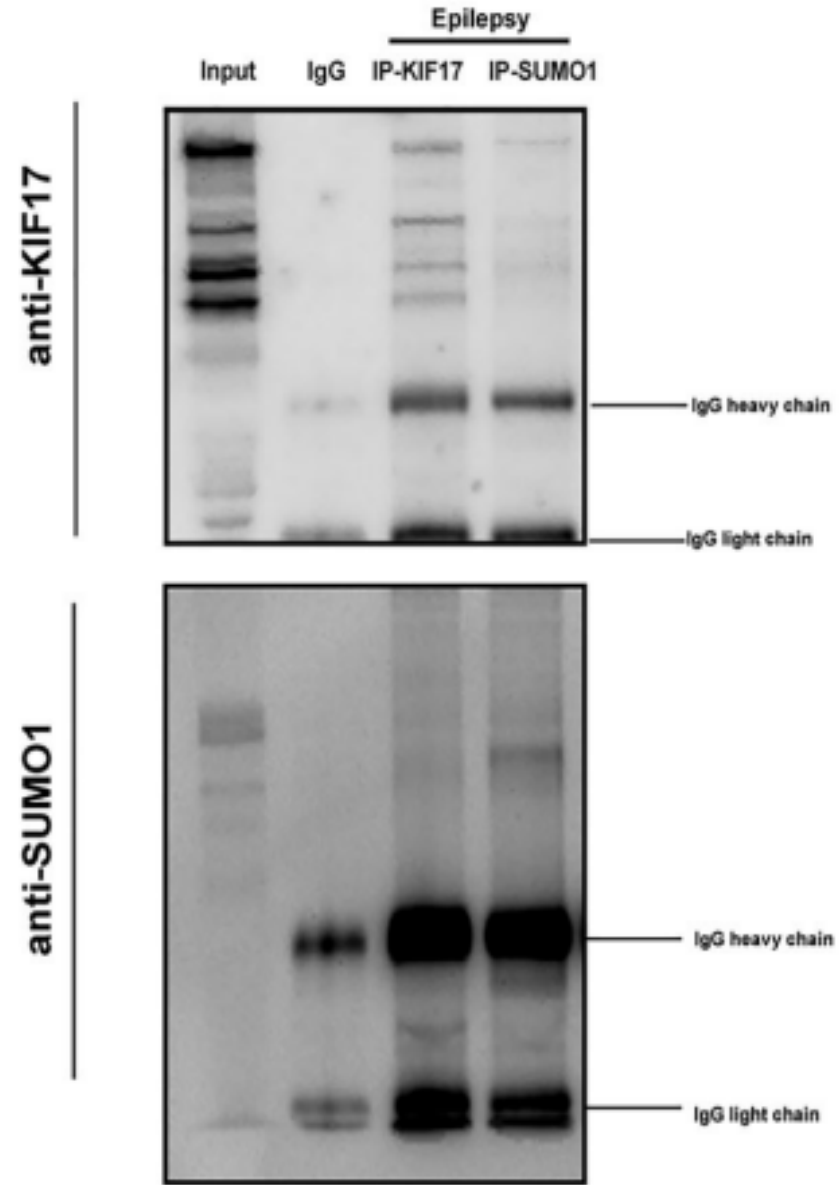
てんかんモデルマウスのKIF17/NR2B免疫複合体の数(共免疫沈降法)



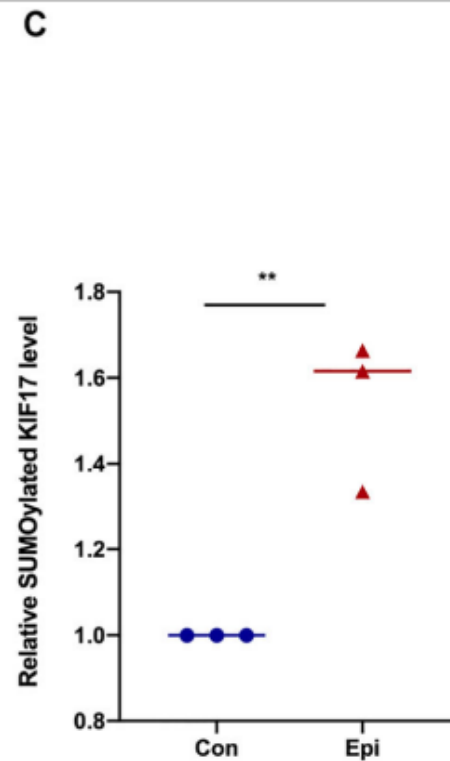
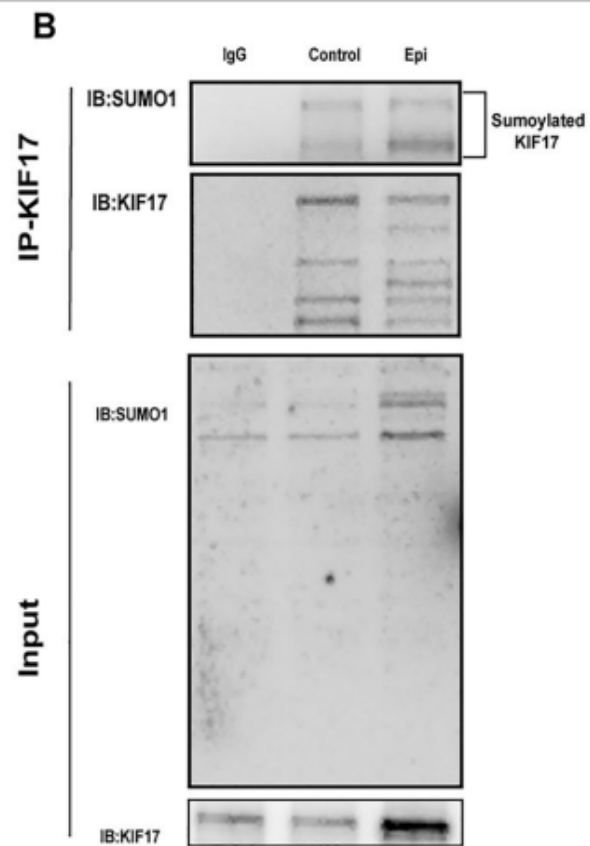
KIF17とNR2Bの相互作用はてんかんモデルマウス海馬で有意に高い

→**KIF17の増加**がてんかん患者での**NR2B膜輸送を増加**させることを示唆

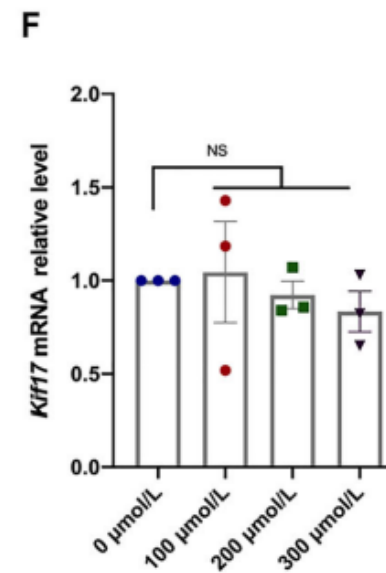
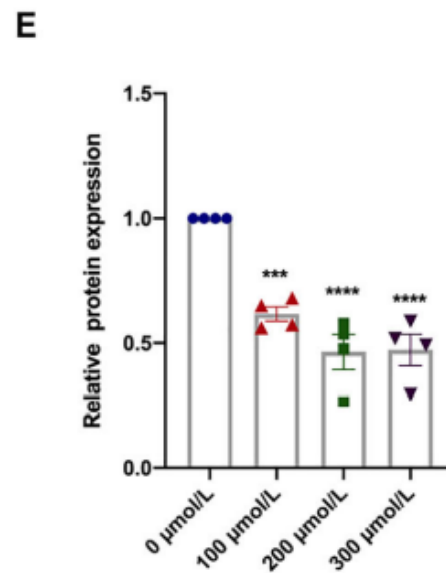
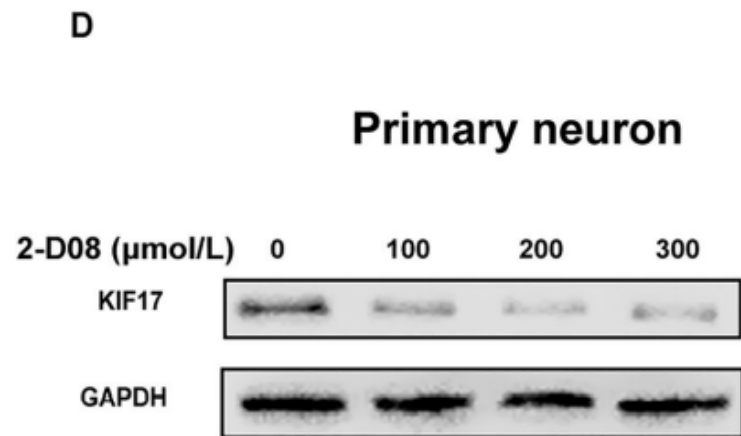
KIF17はNR2Bの輸送を調節して神経細胞細胞膜のNR2B量を変化させ、てんかんにおける興奮性の変化を媒介？

A

てんかんモデルマウスの海馬では
KIF17とSUMO1が相互作用している

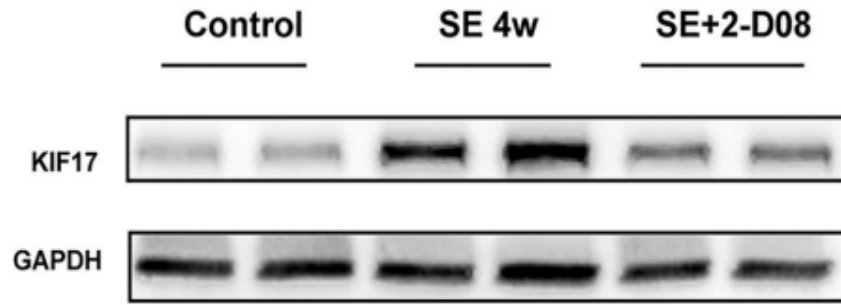


SUMO1を介したKIF17のSUMO化レベルが慢性てんかん患者の海馬で高い

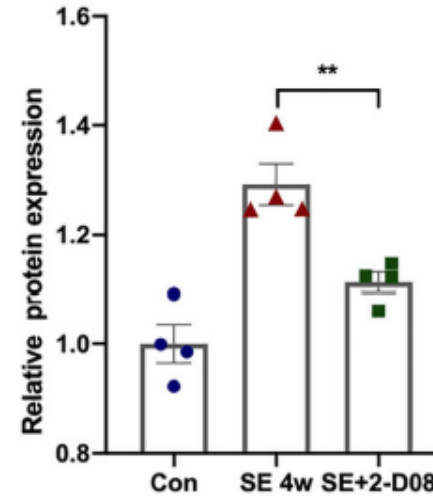


SUMO化された阻害剤2-D08は容量依存的にKIF17のタンパク発現量を低下させたが、mRNAレベルは低下させなかった

G



H



2-D08を海馬定位注射すると、てんかんモデルマウスでKIF17の発現が有意に低下した
 →in vivo およびin vitroの両実験から、KIF17タンパク質のレベルはそのSUMO化レベルと正の相関があり、KIF17タンパク質のSUMO化によりてんかん発作を持続させることが示唆された