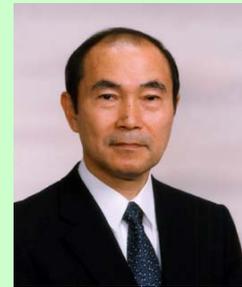


神経可塑性及び脳の発達における IP₃ 受容体 のカルシウムシグナリングの解析

Study of IP₃ receptor/Ca²⁺ signaling in neural plasticity
and brain development and differentiation

御子柴 克彦 (MIKOSHIBA KATSUHIKO)

理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー



研究の概要

細胞は外界からの刺激に対応して細胞内の小胞体内の Ca²⁺を細胞内へ放出させて、様々な細胞内の生理作用をおこす。本研究では多様な細胞で、刺激に応じて複雑な細胞応答を起こすメカニズムにどの様に Ca²⁺が関わっているかを明らかにするために、IP₃ 受容体の構造と機能の解明を行った。特に IP₃ と Ca²⁺が結合する際に構造変化を起こし、イオンチャネルの開口を起こすゲーティング機構の解明に成功しつつある。その結果を踏まえて脳神経系の研究を進め、**IP₃ 受容体が脳の発達及び脳機能発現、更に神経変性にどのように関わっているかを明らかにしている。特にアポトーシスに基づく神経変性に IP₃ 受容体が関わる生化学的メカニズムの解明について多くの成果を得ている。**

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経化学、神経薬理学

キーワード：神経伝達物質・受容体、IP₃、カルシウム振動、神経可塑性

1. 研究開始当初の背景

IP₃ が細胞内の Ca²⁺放出のためのセカンドメッセンジャーであることはよく知られている。1983 年に IP₃ が細胞内の袋から Ca²⁺を出すことが報告されたが、その機構は全く不明であり、全世界中で IP₃ の標的分子を追い求めていた。申請者は行動異常をおこす突然変異マウスを解析して欠落する膜蛋白質 (P400) が IP₃ 受容体であることを発見し、分子量約 31 万の巨大膜蛋白質の全構造を世界ではじめて決定し (*Nature* 1989)、3種のアイソフォーム全構造も決定した (*Cell* 1993, *Receptors & Channels* 1994)。当時、IP₃ 受容体は Ca²⁺チャネルとは別分子と考えられていたが、精製して人工脂質二重膜へ組み込み、チャネルであることを発見した (*Nature* 1989)。

IP₃ 受容体を阻害すると Ca²⁺振動と受精が停止することから、IP₃ 受容体が Ca²⁺振動の発振装置であることを初めて証明した (*Science* 1992)。受精後4細胞期の背側と腹側の決定 (*Science* 1997, *Nature* 2002a) や、神経の突起伸展に関わることを (*Science* 1998) 示した。遺伝子欠損マウスを作製して発育障害や、成体では癲癇発作や小脳失調を示すこと (*Nature* 1996)、学習・行動やシナプス可塑性に異常がおきること (*Nature* 2000)、レドックス(酸化・還元)制御 (*Cell* 2005) や外分泌機能にも関わることを証明した (*Science* 2005)。

2. 研究の目的

細胞は外界からの刺激に対応して細胞内の Ca²⁺の時間的、空間的变化を起こさせる。この Ca²⁺の変化は波として細胞内の様々な生理作用をおこす。本申請では多様な細胞で、刺激に応じて複雑な機能を起こすメカニズムにどの様に Ca²⁺が関わっているかを明らかにする。特に Ca²⁺放出に関わる IP₃ 受容体の機能を明らかにするとともに、IP₃ 受容体が脳の発達及び脳機能発現にどのように関わっているかを明らかにする。特に神経の可塑性にどのような分子機構で関与しているかを明らかにするとともに、その障害がどのようにして起きるかを明らかにしながら、IP₃ 受容体がひきおこす多様な生理機能のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

小胞体のカルシウムチャネルである IP₃ 受容体に焦点をあて、その構造・機能相関の解析を行いながら、IP₃ 受容体の引き起こす多様な生理機能を調べ、種々の細胞機能の発現メカニズムを解明する。この研究のためには生化学的、構造生物学的、遺伝学的、細胞生物学的的手法が重要であり、以下のテーマの下研究を遂行した。

① IP₃ とカルシウムを可視化する技術の開発

- ② IP₃受容体のチャンネル開閉機構の解明
- ③ 3種のIP₃受容体のIP₃結合親和性の決定の分子機構の解明
- ④ IP₃受容体の構造生物学的解析
- ⑤ 新規の代謝系の発見
- ⑥ 内在性ウバインによるカルシウム振動発振及びナトリウム・カリウムポンプ(Na⁺, K⁺-ATPase)とIP₃受容体の結合部位の決定
- ⑦ IP₃受容体を介したBDNF(脳由来神経成長因子)の分泌とニューロンの突起伸展の調節
- ⑧ 阻害剤の開発
- ⑨ IP₃受容体のトラフィッキングの研究
- ⑩ IP₃受容体とヒトの疾患

4. これまでの成果

- ① 細胞のストレス応答機構の分子メカニズムを明らかにし、ストレスによるIP₃受容体の機能破壊が、神経細胞死による脳障害を引き起こすことを解明。(Neuron 2010)
- ② 世界最高の検出感度をもつカルシウムイオンセンサー“カメレオン-Nano”の開発に成功。(Nat Methods, 2010)
- ③ IP₃レセプターは、心不全治療の新しいターゲットであることを発見し、IP₃レセプターを介するカルシウムイオン流出が心肥大の原因を解明。(Circulation Res. 2010)
- ④ 神経細胞の突起が伸びる方向を指示する物質を同定し、再生医療に応用できると期待。(Science Signaling 2009)
- ⑤ 心臓形態形成におけるIP₃レセプターシグナル経路の役割を解明し、先天性心疾患の発症機構の解明に前進。(PLoS ONE 2010)
- ⑥ 抑制性神経伝達を制御する新たな分子メカニズムを発見。(Neuron 2010)
- ⑦ アルコール性急性膵炎の治療に有効なターゲットを発見。(PNAS 2009)
- ⑧ 破骨細胞の新たな分化制御機構を解明。(PNAS 2008)

5. 今後の計画

世界で最初にIP₃受容体のcDNAクローニングやタンパク質解析に成功した為、現在、国内では我々がリードして研究をすすめている。海外では我々が報告した論文のデータを元にして実験計画を練っている段階であるため、オリジナリティーは常に我々にあり、常に先行していると考え、新しく発見したIP₃受容体に結合するタンパク質については、海外のグループも重要と考えているらしく、我々を追従する形で研究が進められている。特にIP₃受容体のIP₃結合部位に結合する新たに発見し命名したIRBIT(IP₃ receptor binding protein released with inositol trisphosphate)はトランスポーターの制御分子として国際的な

注目を浴びている。IP₃受容体の機能を修飾する有機化合物の合成も順調に進んでおり、海外からも多くのリクエストが来ている。当初の設定であった、IP₃受容体がどのようにして多様な機能を有するかは、IP₃受容体が単なるカルシウムチャンネルでないことである。すなわちIP₃受容体はいわゆるスキファールドタンパク質として

Signaling Hubの役割をもっており、約20以上のタンパク質と結合していることである。しかも、各々の細胞で、含まれているタンパク質は異なっているために、細胞毎に多様でユニークな働きを持つものと考えられる。神経以外の組織解析を行い、神経系と他臓器との違いと、共通性を解明する事により、脳神経系研究の為のさらなる研究の発展を目指す。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

平成20年度から現在の発表論文

(62報中5報抜粋)

1. Horikawa K, Yamada Y, Matsuda T, Kobayashi K, Hashimoto M, Matsu-Ura T, Miyawaki A, Michikawa T, Mikoshiha K, Nagai T. Spontaneous network activity visualized by ultrasensitive Ca²⁺ indicators, yellow Cameleon-Nano. **Nat Methods**. 7(9):729-32. (2010)
2. Higo T, Hamada K, Nakamura T, Hattori M, Mikoshiha K. Mechanism of ER stress-induced brain damage by IP₃ receptor. **Neuron** 68(5): 865-878 (2010)(表紙に採用)
3. Bannai H, Lévi S, Schweizer C, Inoue T, Launey T, Racine V, Sibarita JB, Mikoshiha K, Triller A. Activity-dependent tuning of inhibitory neurotransmission based on GABAAR diffusion dynamics. **Neuron** 62(5):670-82. (2009)
4. Akiyama H, Matsu-ura T, Mikoshiha K, and Kamiguchi H., Control of Neuronal Growth Cone Navigation by Asymmetric Inositol 1,4,5-Trisphosphate Signals. **Science Signaling** 2(79):ra34. (2009)
5. Kuroda Y., Hisatsune C., Nakamura T., Matsuo K., Mikoshiha K. Osteoblasts induce Ca²⁺ oscillation-independent NFATc1 activation during osteoclastogenesis **Proc. Natl. Acad. Sci.** 105(25):8643-8648 (2008)

(平成20年度以降の受賞歴)

平成21年内藤記念科学振興賞

平成21年日本学士院賞

平成23年名誉学位(医学) Honorary Doctorate

(Medicine) カロリンスカ研究所(スウェーデン)

ホームページ等

http://www.brain.riken.jp/jp/k_mikoshiha.html