

中枢神経系細胞間ネットワークにおけるシグナル機構の 可視化解析

Imaging analysis of signaling mechanisms
in the central nervous system cell-cell networks

飯野 正光 (IINO MASAMITSU)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

Ca²⁺シグナルの未知機能探索とシグナル分子可視化研究を通して中枢神経ネットワーク機能研究を進め、基本機構に関する発見を行い一部は論文発表を行った。特に、脳内のグルタミン酸動態可視化に初めて成功し、グルタミン酸シグナルの時空間動態を明らかにした。また、一酸化窒素によるCa²⁺動員機構を明らかにし、シナプス可塑性と神経細胞死への関与を示した。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：中枢神経、受容体、チャネル、シグナル情報伝達系

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系では、神経およびグリア細胞間のネットワークが形成されており、ネットワークの基本機能解明が必須である。特に、これらの細胞は複雑な形態をもつことから、シグナル分子可視化法は機能解析に極めて重要である。また、Ca²⁺シグナルは重要な中枢神経系機能に関与するが、Ca²⁺の未知機能は多数残されており、これを明らかにすることにより、ネットワーク機能を新たな側面から展望できる。

2. 研究の目的

研究代表者の従来 of 成果を発展させ、Ca²⁺シグナルの未知機能解明とシグナル分子可視化研究を介して中枢神経ネットワーク機能研究を格段に進める。

3. 研究の方法

神経間および神経・グリア間相互作用に焦点を絞り以下の研究を推進する。

1) IP₃-Ca²⁺シグナルの新機能探索：IP₃脱リン酸化酵素などを用いCa²⁺シグナルの新機能探索をネットワーク機構解析に展開する。

2) グルタミン酸動態解析：新規グルタミン酸プローブを用いた可視化解析により、グルタミン酸シグナル動態を明らかにする。

3) NOシグナル・Ca²⁺シグナル連関機構：NOによるCa²⁺機構シグナル機構について、分子機構と(病態)生理的意義を明らかにする。

4. これまでの成果

1) IP₃-Ca²⁺シグナルの新機能探索

グリア細胞によるシナプス維持機構 小脳バグマングリア(アストロサイト)では平行線維の入力に依存して、グルタミン酸トランスporter発現が制御されており、平行線維・プルキンエ細胞シナプスにおけるグルタミン酸除去効率を介してシナプス伝達を制御することを明らかにした(Eur J Neurosci, 2010)。

グリア細胞による神経細胞保護作用 脳に対する様々な傷害に対して、アストロサイトではCa²⁺依存性にN-カドヘリンの翻訳が調節され、reactive astrogliosisを惹起し、神経細胞の保護に関与することを明らかにした。学会発表を行い、論文発表の準備を進めている。

シナプスの機能維持機構解析 大脳シナプスで入力依存的に機能維持が行われていることを、大脳皮質感覚野において明らかにした。学会発表を行い、論文発表の準備を進めている。

ミエリン形成機構 生後発達期に神経活動が増すことが、ATPを介して末梢神経の髄鞘化を促すことを示す結果を得た。学会発表を行い、論文発表の準備を進めている。

2) グルタミン酸動態解析

新たなグルタミン酸プローブ (EOS) を用い、細胞間ネットワークにおけるグルタミン酸シグナルの可視化解析を試みた。その結果、小脳スライス標本において平行線維刺激によるグルタミン酸スピルオーバーの可視化測定を行うことに成功した。さらに、本研究をラット生体脳内測定へと拡張し、感覚入力によりグルタミン酸スピルオーバーが起きることも証明した。以上の成果についてすでに論文を発表した (PNAS, 2010)。本成果は、グルタミン酸シグナルがどのような時空間分布をとって伝達を行っているかについて、直接的な解析に初めて成功したのものとして高い意義がある。

3) NOシグナル・Ca²⁺シグナル関連機構

小脳皮質ではNOシグナルが平行線維→プルキンエ細胞シナプスの長期増強を誘発する。NOから長期増強に至る過程を追及したところ、平行線維から放出されたNOが後シナプスにおいてリアノジン受容体をS-ニトロソ化により活性化し、NOによるCa²⁺放出 (NICR, NO-induced Ca²⁺ release) によりプルキンエ細胞樹状突起において限局したCa²⁺濃度上昇を起こして、小脳シナプス長期増強を惹起することが明らかとなった。さらに、NICRは、小脳に限らず大脳においても起こることが示され、疾患との関連を示す結果を得ることができた。すなわち、NICRを抑制するダントロレンは、中大脳動脈閉塞モデルにおいてNO産生に伴う脳梗塞を軽減することが明らかとなり、培養神経細胞におけるNOによる細胞死にNICRが関与することが示された。以上、新たなCa²⁺シグナル機構の発見となる成果を得て論文発表を行った (EMBO J, 2012)。

本研究成果は、次の2点において重要な成果である。(1) 従来の知見では、リアノジン受容体によるCa²⁺放出は近接する電位依存性Ca²⁺チャネルによる制御を受けて活性化が制御されることのみが生理的制御機構として知られていた。今回の成果は、NOというガス状シグナル分子により、S-ニトロソ化というタンパク質修飾を介する新たなCa²⁺シグナル経路を中枢神経系で明らかにしたものであり、全く新たなコンセプトを提示するものである。(2) NOは脳虚血障害を含めた様々な病態に関連することが知られ

ている。本研究成果は、NOによるCa²⁺放出機構が神経細胞死に関与することを示す新知見を提供しており、新たな治療戦略の可能性を提案するものである。

5. 今後の計画

研究は当初の計画通り順調に進んでいる。神経細胞とグリア細胞の新たな機能相関を明らかにした論文準備中の課題などについては、研究期間中に論文発表を行う。また、予定よりも早く進展した課題については、新たな研究目標を設定して研究を進めていきたい。以上により中枢神経ネットワーク機能研究を格段に進め、ブレークスルーとなる成果をさらに追加する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1) Kakizawa, S., Yamazawa, T., Chen, Y., Ito, A., Murayama, T., Oyamada, H., Kurebayashi, N., Sato, O., Watanabe, M., Mori, N., Oguchi, K., Sakurai, T., Takeshima, H., Saito, N. and Iino, M. Nitric oxide-induced calcium release via ryanodine receptors regulates neuronal function. **EMBO J.** 31, 417-428, 2012.
- 2) Okubo, Y., Kanemaru, K. and Iino, M. Imaging of Ca²⁺ and related signaling molecules and investigation of their functions in the brain. **Antioxid Redox Signal.** 14, 1303-1314, 2011.
- 3) Okubo, Y. and Iino, M. Visualization of glutamate as a volume transmitter. **J. Physiol.** 589, 481-488, 2011.
- 4) Mashimo, M., Okubo, Y., Yamazawa, T., Yamasaki, M., Watanabe, M., Murayama, T. and Iino, M. Inositol 1,4,5-trisphosphate signaling maintains the activity of glutamate uptake in Bergmann glia. **Eur. J. Neurosci.** 32, 1668-1677, 2010.
- 5) Okubo, Y., Sekiya, H., Namiki, S., Sakamoto, H., Iinuma, S., Yamasaki, M., Watanabe, M., Hirose, K. and Iino, M. Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 107, 6526-6531, 2010.

ホームページ等

<http://calcium.cmp.m.u-tokyo.ac.jp/>