

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月17日現在

体液恒常性を司る脳内機構の研究

Study of brain mechanisms controlling body-fluid homeostasis

課題番号：24220010

野田 昌晴 (NODA MASAHARU)

基礎生物学研究所・統合神経生物学研究部門・教授



研究の概要

ヒトを含む哺乳動物はその生命維持のために体液（血液、脳脊髄液等）の塩濃度を一定に保つ必要がある。そのため、脳において、常に体液中の Na^+ レベルと浸透圧の変動を監視するとともに、塩分/水分の経口摂取と腎臓における排泄/再吸収の制御を統合的に行っている。本研究は、体液恒常性を司る脳内機構の全容の解明を目指す。

研究分野：総合領域 脳神経科学 神経科学一般

キーワード：体液、恒常性、イオンチャンネル

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、これまでにナトリウムチャンネルの一種である Na_x が、平常時の体液 Na^+ レベル（ $\sim 145\text{mM}$ ）からの数 mM 程度の上昇を感知して開口する Na^+ レベルセンサーであることを明らかにするとともに、センサー分子を発現する細胞種、センシングを担う中枢部位、センサー分子によって感知された体液情報が神経活動に変換される機構等を明らかにしてきた（Nature Neurosci. 2002, Neuron 2007, 2010, J. Neurosci. 2000, 2004 など）。 Na_x 遺伝子欠損マウス（ $\text{Na}_x\text{-KO}$ マウス）は脱水状態でも塩分摂取を抑制しないという異常行動を示す。これは体液 Na センサー分子の実体を初めて明らかにした成果である。申請者らはこのように体液恒常性に関する脳研究において、長く世界をリードしてきた。

2. 研究の目的

本研究では、これらの成果に基づいて、(I) 体液情報の感知部位である感覚性脳室周囲器官の構造（細胞構成と相互関係）、(II) 塩分・水分摂取行動制御に至る神経路の同定、(III) Na^+ レベルのセンシングに基づく塩分摂取行動の制御機構、(IV) 浸透圧センシングに基づく飲水行動制御機構、の4つの課題を設定し、もって体液恒常性を司る脳内機構の全容の解明を目指す。

3. 研究の方法

(I) 感覚性脳室周囲器官においてマーカー分子の発現を指標に細胞の分類・同定を行う。
(II) 神経経路の特異的標識により、体液恒常

性に関わる神経回路を解析する。(III) 分子・細胞レベルの解析と $\text{Na}_x\text{-KO}$ マウスを用いた行動解析を組み合わせ、体液 Na^+ レベルのセンシングに基づく塩分摂取行動の制御機構の詳細を明らかにする。(IV) 浸透圧センサー候補分子であるTRPチャンネルの遺伝子欠損マウスの解析を通じ、体液浸透圧のセンシングに基づく飲水行動制御機構の解明を進める。

4. これまでの成果（未発表のものについては割愛した）

i) エンドセリンによる Na_x の感度調節機構の解明

Na_x が活性化する Na^+ 濃度の閾値は*in vitro*では約 150mM である。一方、体液の Na^+ 濃度は通常 $135\sim 145\text{mM}$ 付近に保持されている。我々は Na_x が、*in vivo*ではなんらかの因子によって、生理的範囲の Na^+ 濃度変化を感知できるように調節されていると推定した。

感覚性脳室周囲器官の一つであり、 Na_x による体液 Na^+ レベルセンシングの中枢である脳弓下器官(SFO)は、血圧調節ホルモンであるアンジオテンシン II やエンドセリン類の受容体が多く発現している場所でもある。そこで、これらのホルモンの中に、 Na_x の Na^+ 濃度感受性に影響を与えるものはないかと調べたところ、エンドセリン(ET)が用量依存的にこれを高めることが明らかになった。SFOにはET-3が発現しており、その受容体である ET_BR が、 Na_x を発現するグリア細胞に共発現していることを見出した。 ET_BR はGタンパク質共役型受容体であり、その下流でタンパク質のリン酸化を介した信号伝達が行われる。

薬理的解析の結果、ET-3 による Na_x の活性化には PKC (protein kinase C) および ERK1/2 (extracellular signal regulated kinase 1/2) の活性化が必要であることがわかった。

脱水状態の動物に水と食塩水を自由に摂取させると、水を大量に摂取するのに対し、食塩水を回避するという行動を示すが、 Na_x -KO マウスはこれを回避しない。あらかじめ ET_BR の阻害剤を脳室内に投与したマウスについて、この脱水時の塩分摂取行動を解析したところ、 Na_x -KO に近い塩分の過剰摂取行動を示し、エンドセリンシグナルが脳内 Na^+ センシングに重要な役割を果たしていることが確認された。以上の成果は、Cell Metab 誌に発表したが、掲載誌の Issue Highlights として Cell プレスの Web サイトにおいて紹介された。

ii) 神経傷害部位における Na_x の生理的役割の解明

Na_x が神経は、末梢神経系では非ミエリン化シュワン細胞 (non-myelinating Schwann cells) に発現している。しかし、その機能と役割は不明であった。坐骨神経切断後の Na_x の発現を切断部位の近位側と遠位側で調べたところ、切断後 1 週間以内に発現は失われ、その後 2 週間かけて近位側で回復してくることがわかった。神経機能の回復を調べたところ、野生型マウスに比べ、 Na_x -KO マウスでは大幅に遅れていた。しかし、切断部位へ乳酸を持続的に投与すると、 Na_x -KO マウスは野生型に近いレベルまで回復した。逆に、野生型マウスの切断部位において乳酸の放出/取り込みを阻害すると回復が遅れた。

詳細な解析から、末梢神経切断後、非ミエリン化シュワン細胞の ET_BR が ET-1 により活性化され、 Na_x が開口することが判った。シュワン細胞からは Na^+ 流入に依存して乳酸の放出が起こり、この乳酸が供給されることにより、軸索の再伸長が促されていることが明らかになった。本成果は、Eur J Neurosci 誌に発表した。

iii) Na_x 結合タンパク質の探索と Na_x の細胞膜での安定化機構の解明

Na_x の C 末端にある PSD-95/Disc-large/ZO-1 (PDZ) 結合モチーフに結合する PDZ タンパク質を探索し、多数の結合分子を見出した。その一つ SAP97 は SFO の Na_x を発現するグリア細胞に発現しており、 Na_x の細胞膜上での安定化に寄与していることが明らかになった。本成果は、FEBS Lett 誌に発表した。また、神経細胞では、SAP97 の代わりに、PSD95 がその任に当たっていることが判明した(論文投稿中)。

5. 今後の計画

i) SFO に存在するニューロンをマーカー分子の発現を指標に同定し、その投射先を解析すると共に、その神経回路が水分/塩分摂取行動の制御において果たす役割を解明する。

ii) 浸透圧センサー候補分子の TRP チャンネル遺伝子欠損マウスの水分摂取行動を詳細に解析する。

iii) 体液情報の感知部位である感覚性脳室周囲器官には、未知の体液センサーが発現していると推定されることから、感覚性脳室周囲器官に特異的に発現する分子の中からセンサー機能を有する分子を探索する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Noda M, Hiyama TY. (2015) Sodium sensing in the brain. Pflügers Arch. – Eur J Physiol 467, 465-474.

Noda M, Hiyama TY. (2014) The Na_x Channel: What It Is and What It Does. Neuroscientist. Jun 24. pii: 1073858414541009. [Epub ahead of print]

Unezaki S, Katano T, Hiyama TY, Tu NH, Yoshii S, Noda M, Ito S. (2014) Involvement of Na_x sodium channel in peripheral nerve regeneration via lactate signaling. Eur J Neurosci. 39, 720-729.

Noda M, Sakuta H. (2013) Central regulation of body-fluid homeostasis. Trends Neurosci. 36, 661-673.

Hiyama TY, Yoshida M, Matsumoto M, Suzuki R, Matsuda T, Watanabe E, Noda M. (2013) Endothelin-3 expression in the subfornical organ enhances the sensitivity of Na_x , the brain sodium-level sensor, to suppress salt intake. Cell Metab. 17, 507-519.

Matsumoto M, Fujikawa A, Suzuki R, Shimizu H, Kuboyama K, Hiyama TY, Hall RA, Noda M. (2012) SAP97 promotes the stability of Na_x channels at the plasma membrane. FEBS Lett. 586, 3805-3812.

和文総説

野田昌晴 (2013) 脳弓下器官に存在する体液濃度センサーの感度はエンドセリン-3により増強されている. 実験医学31, 2268-2271.

ホームページ等

基礎生物学研究所プレスリリース (2013 年 3 月 29 日) 体液 Na^+ 濃度センサーの調節機構の解明 ~脳内エンドセリン-3 の役割が明らかに~

<http://www.nibb.ac.jp/pressroom/news/2013/03/29.html>

(科学新聞 2013 年 4 月 19 日掲載)

受賞

平成 25 年度文部科学大臣表彰 若手科学者賞 (檜山武史)