

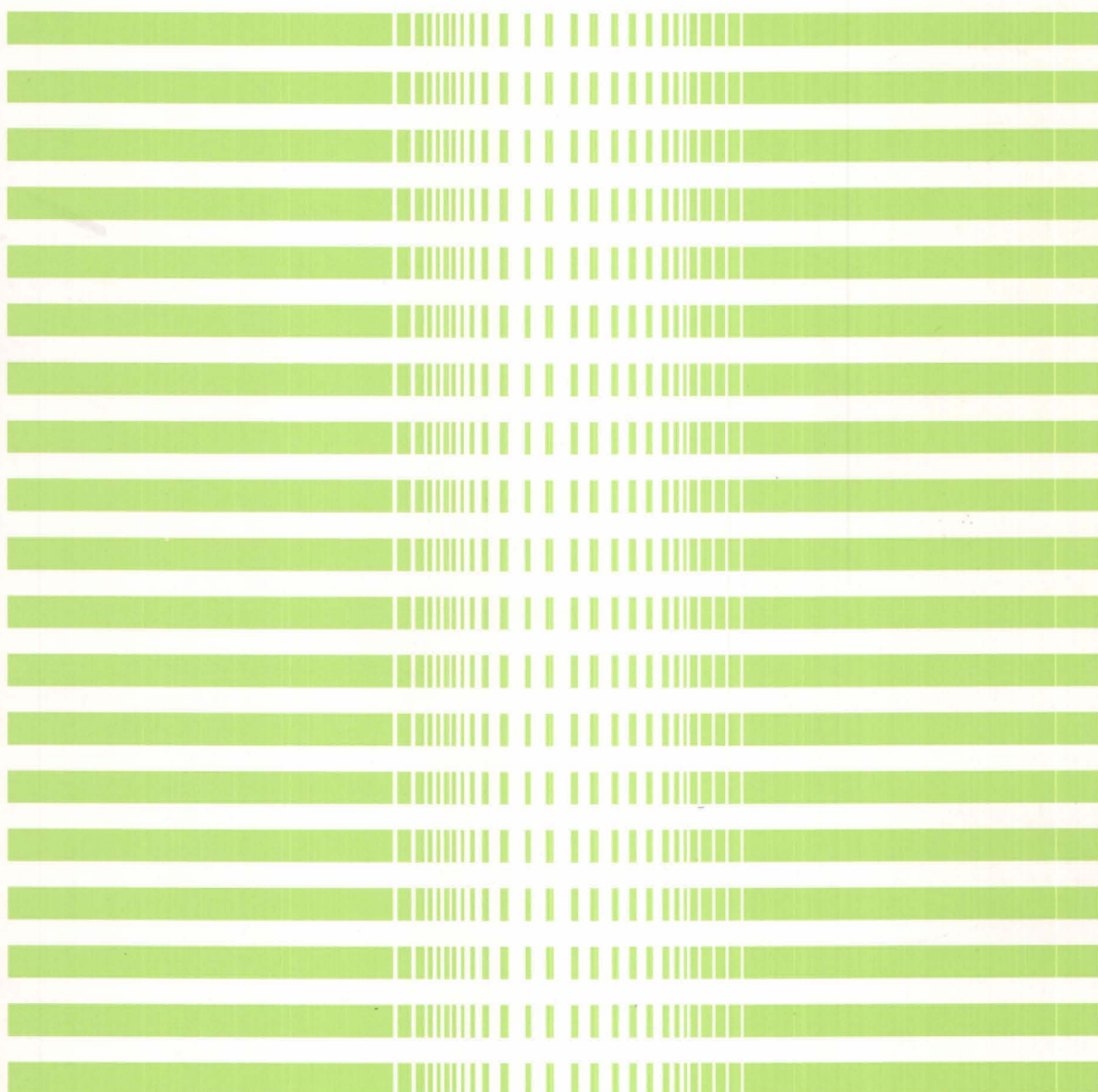
ISSN : 0037-3796



神経化学

Bulletin of the Japanese Society for Neurochemistry

Vol.42 (No. 1), 2003



平成 15 年 3 月

目 次

日本神経化学会奨励賞候補者募集のお知らせ	1
募集要項	
日本神経化学会奨励賞規定	
第46回大会長からの熱いメッセージ	3
辻 省次：第46回日本神経化学会大会長	
お知らせ	5
第46回日本神経化学会（新潟）大会演題募集のお知らせ	
第46回日本神経化学会（新潟）大会について	
会期・会場・大会構成、会長講演・特別講演・シンポジウムの詳細	
演題応募方法、キーワード一覧、参加申し込み方法	
宿泊のご案内	
《郵便振込票》	
日本神経化学会奨励賞選考結果のお知らせ	
ミニレビュー【平成14年度日本神経化学会奨励賞記念レビュー】	31
〈最優秀奨励賞〉	
片山 泰一：家族性アルツハイマー病に関連するプレセニリン1変異体は	
小胞体ストレストランスデューサー群の活性化を阻害する	
〈奨励賞〉	
桂 昌司：薬物依存形成におけるdiazepam binding inhibitor (DBI)	
発現とL型電依存性カルシウムチャネルの機能的関連性	
福嶋 伸之：リゾフォスファチジン酸と神経系細胞のダイナミクス制御	
渡辺 英治：脳のナトリウムレベルセンサー	
委員会だより	89
国際対応委員会：東田陽博	
学会掲示板	94
編集後記	99

日本神経化学会奨励賞候補者募集のお知らせ

日本神経化学会では2000年度より優秀な神経化学若手研究者を対象に、日本神経化学会奨励賞を贈っております。つきましては、下記の事項を注意深く読まれて、奮って応募下さい。

なお、受賞者の発表と授賞式は本年度の第46回日本神経化学会大会の会期中に行われます。最優秀奨励賞受賞者には副賞としてメダルと金十萬円が贈られるほか、「神経化学」誌にご自身が書かれた総説を掲載します。また、次年度の大会でシンポジウムを企画することができます。

(1) 候補者の対象

本学会での会員歴3年以上、研究歴3年以上で、平成15年4月1日現在で満40歳未満の者。

(2) 奨励賞の応募方法

原則的に自薦とします。申請希望者は以下の書類を、平成15年5月30日（必着）までに、下記事務局へ、必ず簡易書留（宅配便も可）にて送付して下さい。尚、応募書類は返却致しません。

- 1) 研究の概要：申請研究の概要を〈研究題目〉〈背景・目的〉〈結果〉〈学術的意義・特色・独創的な点〉に分けてA4用紙2枚以内に記入すること。
- 2) 申請者の略歴：大学卒業からの略歴。学位の種類、取得年月日、取得機関も明示すること。また、過去5年程度の日本神経化学会大会における発表歴を必ず記載すること。
- 3) 業績目録：英文原著、英文総説、和文原著、和文総説に分けて、全著者名、発表年、タイトル、雑誌名、巻、開始および最終ページを記入する。申請者名は太字にするか、下線を引く。学会の抄録や要旨、Proceedingsなどは含めない。業績目録の書き方は "Journal of Neurochemistry" の投稿規定に準じること。
- 4) 選考に関連する主要論文の別刷り：3編を8部づつ。

(3) 選考方法

本年度の選考委員会による書類審査で数名の奨励賞受賞者を選ぶ。第46回日本神経化学会大会会期中に開催される「日本神経化学会奨励賞受賞シンポジウム（一般の参加者にも公開されます）」で研究成果を発表して頂いた後、選考委員会で最優秀奨励賞受賞者を決定します。このため、応募は奨励賞受賞シンポジウムで発表の出来る方に限らせていただきます。

本年度選考委員

池中 一裕（委員長／国立生理研）
井上 和秀（国立医薬品食品衛生研）
仙波りつ子（愛知県コロニー）
西澤 正豊（国際医療福祉大）
福井 裕行（徳島大）
柳澤 勝彦（国立長寿医療センター）
和中 明生（奈良県医大）

*「選考委員の所属する研究室から自薦者が出た場合は、選考委員を辞退すること(奨励賞内規5.)」と定められているため、年度途中で選考委員が変更する場合があります。予めご承知おきください。

(4) 締 切 平成15年5月30日（金）必着

(5) 応募書類の送付先

113-8622 東京都文京区本駒込5-16-9 （財）日本学会事務センター内
日本神経化学会奨励賞選考委員会
TEL.03-5814-5801/FAX.03-5814-5820

日本神経化学会奨励賞規定

日本神経化学会奨励賞は、本会会員で神経化学の進歩に寄与する顕著な研究を発表し、将来の発展を期待される若手研究者個人に対して授与する。

- 1 申請者は会員歴3年以上、研究歴3年以上で申請の暦年度の4月1日現在で満40歳未満の者とする。
- 2 最優秀奨励賞受賞は原則として1件程度とし、賞状および副賞を贈る。
- 3 受賞者は再応募できない。
- 4 奨励賞募集要項は「神経化学」誌に掲載するものとし、申請希望者は本会所定の申請用紙を使用の上、指定期日内に申請するものとする。
- 5 日本神経化学会奨励賞選考委員会については別途定めるものとする。

日本神経化学会奨励賞内規

1 候補者の推薦について

奨励賞募集要項は「神経化学」誌およびホームページに掲載するものとし、申請希望者は本会所定の様式(*)で指定期日内に申請するものとする。原則的に自薦とする。

* 研究の概要：申請研究の概要を〈研究題目〉〈背景・目的〉〈結果〉〈学術的意義・特色・独創的な点に〉分けてA4用紙2枚以内に記入すること。

【その他の提出書類】

- ・申請者の略歴
- ・業績目録：英文原著、英文総説、和文原著、和文総説に分けて記入し、学会の抄録や要旨、Proceedingsなどは記入しない。
- ・選考に関連する主要論文の別刷り。3編を8部ずつ。

2 奨励賞の選考に関しては日本神経化学会奨励賞選考委員会がこれにあたる。

- (1) 選考委員は7名とし、理事会において研究分野、地域性、所属等に偏りが無いことを考慮して評議員から委員を選出し、理事長が委嘱する。選考委員の名前は公表する。
- (2) 委員の任期は2年とし、連続2期までとする。
- (3) 委員は互選により委員長を選出し、理事長がこれを委嘱する。
- (4) 委員会は理事長の諮問に応じて受賞者の選考を行う。
- (5) 選考委員長は選考の経過並びに結果について理事長に報告する。

3 選考方法選考委員会にて書類審査の上、数名の候補者を選ぶ。日本神経化学会奨励賞選考会で業績を発表して頂いた後、選考委員会で受賞者を決定する。

4 日本神経化学会奨励賞の英文名

The Award for Young Investigator of Japanese Society for Neurochemistryとする。

5 その他の申し合わせ事項選考委員の所属する研究室から自薦者が出た場合は、選考委員を辞退すること。

第46回大会長からの熱いメッセージ

第46回日本神経化学会大会長 辻 省 次

(東京大学大学院医学系研究科神経内科学)

第46回日本神経化学会を新潟の地でお世話させていただくことになりました。新潟は、新潟大学脳研究所をはじめとして、脳研究の盛んなところであり、日本の脳研究のメッカであると自負しています。そのような新潟の地で皆様をお迎えすることができることを大変嬉しく思います。新潟で日本神経化学会が開かれるのは1976年の大会以来で、27年ぶりの開催であります。個人的なことで恐縮ではありますが、実は、私が初めて学会発表というものを経験したのは1976年のこの新潟大会でありました。当時、大学を卒業して間もない時期で、十分な研究実績のないままの発表でした。当時の神経化学会は口演を重視する方針で、私の発表も10分の口演時間に加えて、何と10分の討論時間がありました。案の定、口演終了と同時に質問攻めにあい、壇上で立ち往生してしまい大変困ったことを記憶しています。自分にとって、学会発表に対してどのように望むべきかを改めて認識させられた強烈な経験でした。

振り返ってみますと、昨今の学会は、マンモス化し、ポスター発表が中心であります。シンポジウムにしても、いつも同じ顔ぶれの人達をよくお見受けします。神経化学会は、マンモス学会でないのも、比較的小回りの利く学会でもあります。新潟大会をお引き受けするに当たり、初心に返りまして、若い世代の人達の発表をできるだけ多く一般口演に取り込み、討論の時間をできるだけとりたいと考えています。大いに議論をしていただきたいと思います。

新潟大学脳研究所は、脳腫瘍の研究にそのルーツがありますが、脳疾患の診療、研究を原点に発展してきています。特に、長年にわたる臨床の積み重ねがあり、また、現在では日本のどこもやっていないと思いますが、24時間常時スタンバイの病理解剖など、膨大な脳疾患のリソースが集積されています。昨今の日本は、アメリカの真似ばかりして、高速道路をいかに速く走るかだけを考えた研究が幅を利かせていますが、じっくりと将来を見据えて、新たな道を開拓するような研究を大切にすることが大切ではないかと、日頃考えております。新潟での神経化学会がそのようなことに思いを巡らす機会になればと願っています。

神経化学会は、脳機能の物質的基盤を解明し、正常と病態の理解を推進するというポリシーに立っています。新潟大会が、臨床系研究者、基礎系研究者が幅広く活発に交流し大いに議論をする場となるよう企画をさせていただきました。

神経化学会のもう一つのポリシーとして、学会の国際化の推進があげられています。新潟大会でも、国際化の推進をさらにいっそう進めるために、抄録、ポスターを英語で表記すること、シンポジウムにおいても積極的に海外からの招待講演後援者をお招きし、英語のセッションを増やすこと、また、海外、特にアジアから若手研究者の参加を積極的に促すことを目的に、札幌大会に引き続きYoung Investigator Awardを設けてあります。

今回の神経化学会の大きなイベントは、日本生物物理学会との合同開催であります。異なるdisciplineの両学会ですが、物質に基づくという原点を共有しており、今回は、1分子イメー

ジングを軸に、意欲的な合同シンポジウムを企画してみました。同じ会場で開催され、相互の参加は自由にできるようになっておりますので、活発な交流をしていただけますようお願いいたします。

今回の会場は、開業したばかりの新潟コンベンションセンター（朱鷺メッセ）です。懇親会は、日本生物物理学会との合同開催を計画しており、そこでは、新潟の「食」を堪能していただきたいと思っています。本学会員だけでなく、日本生物物理学会の方々とも幅広く交流をしていただき、新たな研究の発展の場になればと希望しております。皆様を新潟でお待ちしています。

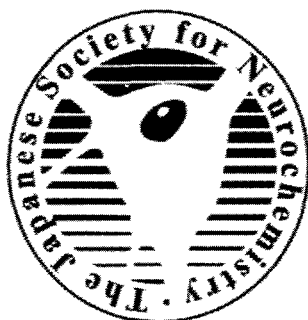
神経化学会演題募集号のお知らせ

第46回日本神経化学会大会（新潟）

会 期 2003年 9 月24（水）～26日（金）

会 場 朱鷺メッセ（新潟コンベンションセンター）

46th JSN



Niigata

第46回日本神経化学会大会（新潟）

大会長 辻 省次

東京大学大学院医学系研究科

<http://brain.bri.niigata-u.ac.jp/~jsn46/index.html>

御案内と演題募集

■第46回日本神経化学学会大会（新潟）について

2003年の第46回日本神経化学学会大会を、2003年春オープン致しました新潟の朱鷺メッセ（新潟コンベンションセンター）にて開催することになりました。今大会は、初めて日本生物物理学会との合同大会になっております。生物物理学会大会は、参加人数が約1,300人という大きな大会であり、本大会では、合同シンポジウム、合同懇親会、コラボレーションサロンなども計画しております。また、両学会のシンポジウムやポスター発表も自由に出入り可能です。大会を通じて白熱した討論や、共同研究などが生まれることを祈念しております。

日本神経化学学会の国際化につきましては、昨年同様一般演題におきますポスターセッションの展示内容はすべて英語にして戴き、また昨年の札幌大会で成功裡に終わりました国際神経化学学会(ISN)主催のシンポジウムを今年も計画しております。更に、昨年に引き続きYoung Investigator Awardを設け、アジア環太平洋神経化学学会の若手会員の旅費などをサポートする予定です。

初秋の新潟で、熱いディスカッションが繰り広げられますよう、是非とも多くの皆様に演題を御提出戴き、また、新潟にご参集戴けますと幸甚に存じます。

■会期・会場

会期：2003年9月24日（水）～9月26日（金）（生物物理学会大会は、9月23日～9月25日）

会場：朱鷺メッセ（新潟コンベンションセンター）

■大会構成

1. 会長講演

辻 省次（東京大・医・神経内科）

2. 特別講演

Prof. Marshall Nirenberg (Laboratory of Biochemical Genetics, NHLBI)

中西重忠教授（京大）

Prof. Steven G. Younkin (Center for Neuroscience, Mayo Clinic Jacksonville)

3. シンポジウム

ISNシンポジウム：1テーマ

生物物理学会との合同シンポジウム：1テーマ

オープンシンポジウム：1テーマ

奨励賞受賞シンポジウム

企画・公募シンポジウム：11テーマ

ランチョン・テクニカルセミナー

4. ミニシンポジウム（一般演題より選択して構成）：8テーマ

5. ポスター発表（一般演題）

6. 懇親会

生物物理学会と合同で開催されます。

- 7. 機器・図書展示
- 8. 市民公開講座

■会長講演

「21世紀の神経疾患研究の展望」

辻 省次（東京大・医・神経内科）

■特別講演

「Molecular mechanism of neural development」

Prof. Marshall Nirenberg (NHLBI)

「神経回路の伝達制御機構」

中西重忠教授（京都大・生命科学）

「Molecular mechanism of Alzheimer disease」

Prof. Steven G. Younkin (Mayo Clinic Jacksonville)

■ISNシンポジウム

テーマ「ポリグルタミン病の治療戦略の可能性を探る」

ポリグルタミン鎖をコードするCAGリピートの異常伸長によって生じる遺伝性神経疾患（ポリグルタミン病）が、現在までにハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、種々の脊髄小脳変性症など少なくとも9疾患で見いだされている。最近のポリグルタミン病の分子病態機序についての進歩によって、これらの疾患の治療についての新しい試みが発展しつつある。このシンポジウムでは、種々の物質を用いた転写の活性化、変異遺伝子によって作られた異常蛋白質の核内輸送の抑制、ポリグルタミン鎖によるコンフォメーション変化により蛋白凝集を抑制する分子をハイスループットでスクリーニングする方法等、新たなポリグルタミン病治療法の開発に焦点を当てる。

1. 「Histone deacetylase inhibitors for polyglutamine diseases.」

Kurt H. Fischbeck (NIH, NINCDS)

2. 「Intervention of nuclear transport of androgen receptor.」

Gen Sobue (Nagoya Univ.)

3. 「Rescue of polyglutamine-mediated cytotoxicity by double-stranded RNA-mediated RNA interference.」

Caplen NJ (NHGRI, Med Genet Branch, NIH)

4. 「High throughput screening for small molecules that suppress conformational changes of polyglutamine stretches.」

Eric E. Wanker (Max Planck Institute for Molecular Biology, Berlin, Germany)

■神経化学会・生物物理学会 合同シンポジウム

「神経というターゲットをどうやって測定し、有用な情報を引き出すか」

コーディネーター 御子柴克彦（東京大・医科研）、相澤洋二（早稲田大・理工）

講演者（五十音順）とタイトル

1. 形と物性のダブルイメージング
猪飼 篤（東京工業大・生命理工学）
2. 1分子法によってはじめて見えてきた、細胞膜上のデジタル式シグナル変換
楠見 明弘（名古屋大・理学研究科生命理学専攻）
3. より高く・より速く・より小さく
寺川 進（浜松医科大・光量子医学研究センター）
4. バイオイメージングプローブはどのように分子設計するのか
長野 哲雄（東京大・薬学系研究科）
5. 細胞内シグナルトランスダクションのイメージング
御子柴克彦（東京大・医科研）
6. ニューロン・グリア相関に関する新しいアプローチ
宮脇 敦史（理化学研・脳科学総合研究センター）
7. 分子・細胞動態の1分子イメージング
柳田 敏雄（大阪大・生命機能研究科）

バイオイメージングは日本が世界に誇る最先端の分野といえる。今回、生物物理学会との合同シンポジウムを企画するに当たり、このバイオイメージングの、神経活動への応用についてのシンポジウムを企画した。生物物理学会からは、現在のバイオイメージングのトップランナーにお越しいただく予定である。新しい試みとして、両学会員の皆様から、この領域に関して希望することについて、演題募集と同時にアンケートを募集し、その内容についても討論できるよう考えている。コーディネーターは、神経化学会からは御子柴先生、生物物理学会からは相沢先生にお願いした。神経活動を、手の中の試験管を生きた神経細胞に移し替え、神経細胞をリアルタイムでどのように可視化し、その本質に迫るか。両学会員の熱い討論の場を提案し、今後の新しい研究のアイデアが芽吹くシンポジウムを目指す。（タイトル、シンポジウムの進行については、アンケート結果に従い若干の変更もあるのでご了承頂きたい）

■オープンシンポジウム

「ヒトはなぜ、その行動をとるのか」

オーガナイザー：武田雅俊（大阪大・医）、三木直正（大阪大・医・薬理）

1. 線虫の「好き」と「嫌い」の分子基盤
森 郁恵（名大・理）
2. 脳機能形成と接着分子
八木 健（大阪大・細胞工学センター）
3. 大脳皮質形成
佐藤 真（福井医科大・解剖2）

4. 性行動を制御する遺伝子群

山元 大輔(早稲田大・人間科学部)

5. 報酬と期待

彦坂 和雄(都神経科学総合研・心理学)

6. 薬物依存形成 モルヒネ・コカインの依存形成の分子メカニズム

三木 直正(大阪大・医・薬理)

■企画シンポジウム

「ユビキチン・プロテアソーム系と神経疾患」

オーガナイザー：和田圭司(国立精神・神経センター)

1. Parkinson's disease and ubiquitin-proteasome system

高橋 良輔(理化学研・脳科学総合研究センター)

2. Ubiquitin-dependent clearance of aggregates in neurodegenerative diseases

中山 敬一(九州大・生体防御医学研)

3. Parkin and Parkinson's disease

服部 信孝(順天堂大・医)

4. de-ubiquitinating enzyme and neurodegeneration

和田 圭司(国立精神・神経センター・神経研)

5. protein aggregation mechanism

Ron Kopito (Stanford University, Stanford, California)

パーキンソン病、ポリグルタミン病などの神経変性疾患ではその発症において蛋白質の凝集という共通事項が明らかになるとともに蛋白質の品質管理機構の一つとしてのユビキチン・プロテアソーム系の重要性に注目が集まっている。本シンポジウムでは神経疾患とユビキチン・プロテアソーム系に関してこれまで先端的な研究を行っている内外の研究者を招き、研究の現状を紹介するとともに治療に向けた将来の展望について論議する。

「コンディショナル遺伝子発現制御法を用いた脳研究」

オーガナイザー：崎村建司(新潟大・脳研)、森 寿(東京大・医)

1. 線条体選択的NMDA受容体欠損マウスの作成と解析

森 寿(東京大・医・分子神経生物・薬理)

2. 海馬CA3領域NMDA受容体の記憶学習に果たす役割

(Roles of hippocampal CA3 NMDA receptors in learning and memory)

中沢 一俊(National Institute of Mental Health, NIH)

3. 「mGluR1遺伝子操作マウスの作成、解析」

饗場 篤(神戸大・医・細胞生物)

4. 背側終脳特異的遺伝子操作法を用いた体性感覚系回路発達機構の解析

岩里 琢治(科学技術振興事業団・さきがけ研究21 / 理化学研・脳科学総合研究センター)

5. 脳部位特異的遺伝子改変システムの開発と脳研究への応用

崎村 建司（新潟大・脳研）

特定の脳領域が記憶、学習などの高次機能に果たす役割を分子的に理解するための非常に有効な方法として、脳領域特異的遺伝子発現制御マウスを用いた研究が展開されている。この方法論は、神経回路網の形成や脳病態の分子機構解析にも有力となる。本シンポジウムでは、実際にこのようなマウス系統を作成し、解析を行っている研究者を迎え、遺伝子発現制御の方法論、有効性、新たに明らかにされた脳機能の分子機構について論議する。

「シナプス機能の分子基盤」

オーガナイザー：阿部輝雄（新潟大）、熊倉鴻之助（上智大）

1. クロム親和細胞における分泌制御

笹川 展幸（上智大）

2. 伝達物質放出におけるシナプトタグミンの役割

Iain Robinson（Case Western University）

3. グルタミン酸受容体の微細マッピング

河西 春郎（岡崎国立共同研究機構生理学研）

4. PSDの分子動態

岡部 繁男（東京医科歯科大）

5. 足場タンパク質の役割

畑 裕（東京医科歯科大）

最近の研究の進展によって、シナプス伝達を中心とするシナプス機能を支える多くのタンパク質が同定されている。シナプス前部および後部にはこれらのタンパク質間に複雑な相互作用カスケードが存在し、神経活動に応じて可塑的に変化すると考えられる。しかし、カスケード中における個々のタンパク質の生理的役割に関する情報は乏しい。このシンポジウムでは伝達物質放出、受容、シグナル伝達系への連絡等に関与するタンパク質分子の構造、機能、動態について最新の研究成果を発表、議論することにより今後の課題をクローズアップする。

「アルツハイマー病研究の最近の進歩」

オーガナイザー：井原康夫（東京大）

1. Functional anatomy of the gamma-secretase complex

Tomita T and Iwatsubo T (University of Tokyo)

2. Relationship between gamma and epsilon cleavage

Morishima M and Ihara Y (University of Tokyo)

3. NSAID as a specific modulator of gamma cleavage

Koo EH (UCSD)

4. Abeta accumulation and decreased activity of neprilysin.

Saido T (RIKEN)

5. Inhibitor of GSKbeta- A possible therapeutic target in Alzheimer's disease

Takashima A (RIKEN)

アミロイド β タンパク ($A\beta$) が蓄積し、神経細胞内にタウが蓄積 (神経原線維変化)、神経細胞が脱落して、痴呆が発症すると考えられている。 $A\beta$ は、その前駆体である膜タンパクが段階的な切断を受けて生じる。最終的な、 $A\beta$ のC末端の切断は膜のちょうど真ん中で起こる (γ cleavage)。本シンポジウムでは、第1に、この膜内切断機構の詳細を検討する。第2に、脳内 $A\beta$ 蓄積におけるneprilysinの役割に焦点をあわせる。第3に、神経原線維変化形成におけるリン酸化の役割に焦点を当てる。全体として、特に創薬のターゲットに関して議論したい。

「成長円錐の分子細胞生物学：軸索成長の制御メカニズムへのアプローチ」

オーガナイザー：五十嵐道弘 (新潟大)、辰巳仁史 (名古屋大)

1. 成長円錐に關与する膜融合の動態

辰巳 仁史 (名古屋大)

2. 成長円錐におけるアクチン繊維の動的変化

加藤 薫 (産業技術総合研)

3. プロテオーム解析による成長円錐機能へのアプローチ

梅野 哲哉 (新潟大)

4. 「微小管脱重合蛋白質SCG10の軸索成長に關する役割」

Gabrielle Grenningloh, PhD (Univ Lausanne, Switzerland)

成長円錐は神経細胞の突起時に形成され、シナプス形成に決定的に重要な役割を果たす。この部位をめぐって、軸索成長とガイダンスを調節する分子群がごく一部ではあるが、明らかになってきた。これらのうち、細胞内情報伝達、特に細胞骨格系と膜融合に關する情報伝達に焦点をあてる。生物物理学会との共催なので、生物物理学会員の方で、成長円錐に關してリアルタイムの觀察を通してこれらの問題にアプローチしている方もお呼びして、新たな技術や研究手法も含めて議論を深めたい。

「小胞体機能に關連した細胞死研究の最先端 (仮)」

オーガナイザー：一條秀憲 (東京医科歯科大)、片山泰一 (大阪大・医)

1. 未定

一條 秀憲 (東京医科歯科大)

2. 小胞体ストレス誘導性アポトーシス：分子シャペロンによる制御

後藤 知己 (熊本大)

3. 小胞体ストレス特異的に活性化されるヒトカスパースの探索

人見 淳一 (大阪大)

4. 未定

今泉 和則 (奈良先端科学技術大)

5. ゴルジ体-小胞体間の細胞内小胞輸送による小胞体機能の修飾

青江 知彦先生 (千葉大)

■公募シンポジウム

「老齢脳と可塑性」

オーガナイザー：安藤 進（東京都老人総合研）

1. 老齢脳と遺伝子発現
森 望（国立長寿研）
2. 老齢脳における神経栄養因子の役割
古川 昭栄（岐阜薬大）
3. 老齢脳とヒューマニン
西本 征央（慶応大医）
4. 豊富環境によるシナプス強化と学習能向上
安藤 進（老人研）
5. 老齢脳ニューロンの再生
石 龍徳（順天堂大医）

加齢による脳機能の低下が問題になる中で、神経細胞あるいはシナプスレベルでの可塑性の発揮が重要視される。そこで老齢脳における遺伝子発現、神経栄養因子の役割、活動依存性のシナプス可塑性、ニューロンの再生、などを議論する場としたい。

「疲労・疲労感の神経化学」

オーガナイザー：渡辺恭良（大阪市立大・医・システム神経科学）

1. 疲労の条件づけとセロトニン神経回路
片渕 俊彦（九州大・医・統合生理）
2. 疲労モデルとサイトカイン・発熱メカニズム
松村 潔（京都大・情報学研究科）
3. 疲労感のイメージングと神経回路
渡辺 恭良（大阪市立大・医・システム神経科学）
4. 疲労による遺伝子発現の変化と活性酸素制御
井上 正康（大阪市立大・医・分子病態学）
5. 慢性疲労症候群の分子神経メカニズム
倉恒 弘彦（大阪大学大・医・血液腫瘍内科）
6. みどりの香りによる疲労回復
佐々木和男（富山大・工）

このシンポジウムでは、最近鋭意研究が進められている「疲労および疲労感の分子神経メカニズム」についての最新知見、即ち、様々な疲労における脳機能イメージングによる共通項、動物モデルの開発によるサイトカイン-神経伝達物質ネットワークの中での疲労過程の分子ダイナミクスや遺伝子の変化、その回復過程におけるそれぞれの変化、慢性疲労病態の分子神経メカニズムについて講演を行い、疲労に対する有効な回復法・治療法、過労予防に関する提言を行うことを目標に討論を深めたい。

「神経系における細胞外ATP機能の多様性」

オーガナイザー：高坂新一（国立精神・神経センター）、井上和秀（国立医薬品食品衛生研）

1. ATPによるニューロン活動の両方向性制御
井上 和秀・小泉 修一（国立衛研・代謝生化学・薬理）
2. ATPのミクログリアへの多彩な作用
高坂 新一（国立精神・神経センター・神経研・代謝）
3. ATPによるニューロン・グリアのアポトーシスと細胞内プロテアーゼ
中西 博（九州大・歯・口腔常態制御加齢口腔科学）
4. 海馬ネットワークのシナプス伝達制御における細胞外ATPの役割は何か？
加藤 総夫（慈恵医大・総合医科研・神経生理）
5. 神経グリアー内皮細胞機能連関におけるATPの役割
南 雅文（京大・薬学・生体機能解析）

近年、神経系の様々な細胞種においてATP受容体の発現が確認され、更にはそれらの細胞に対しATPが濃度依存性に、あるいは受容体のタイプ依存性に多岐に渡った生理作用を示すことが明らかにされつつある。このことは、細胞外に放出されたATPが、神経系における細胞間相互作用あるいは神経情報処理に重要な役割を担っていることを示唆している。本シンポジウムでは細胞外ATPの多様な機能に関する最新の話題をとりあげ、その生理的重要性を議論する。

「グリアーニューロン間クロストークによる神経情報処理機構」

オーガナイザー：工藤佳久（東京薬科大・生命科学）、馬場広子（東京薬科大・薬学）

1. 小脳皮質におけるグリアーシナプス機能連関
小澤 滯司（群馬大）
2. グリア細胞の多様性と特異的なグリアーニューロン相互作用
池中 一裕（生理学研）
3. グリアによる神経軸索上機能分子の発現および局在化の調節
馬場 広子（東京薬科大）
4. グリアーニューロン回路網の存在と機能的意義
工藤 佳久（東京薬科大）

最近、グリアとニューロンの間には直接的な情報伝達機構が存在しており、脳機能発現に中心的な機能を果たしている可能性が示唆されている。これらの事実を根拠として、グリアーニューロン回路網の機構と意義の解明の重要性を解説する。

「ニューロトロフィンの合成と分泌のメカニズム」

オーガナイザー：古川昭栄（岐薬大・分子生物学）、仙波りつ子（愛知県コロニー研）

1. ニューロトロフィンによるBDNF合成促進のメカニズム
那波 宏之（新潟大・脳研）

2. 小脳培養細胞におけるニューロトロフィンの分泌機構

古市 貞一（理化学研）

3. ニューロトロフィンの細胞内プロセッシングと分泌

野元 裕（岐阜薬科大）

4. BDNF発現の転写調節

津田 正明（富山医科薬科大）

5. 薬物によるBDNF合成の促進機構

仙波りつ子（愛知県コロニー研）

ニューロトロフィンは神経の発達や再生さらに神経の活動に必要な分子であり、その生体における濃度や分泌の調節は重要であるが、これらの研究は意外にも遅れていた。そこで、最近我が国の研究者によって明らかにされつつあるこのテーマををシンポジウムの企画として提案したい。

■市民公開講座

パーキンソン病研究と治療の進歩

水野 美邦（順天堂大）

■発表形式について

本大会では、口演はすべてPCによる発表となります。本学会の国際性の推進という趣旨に基づき、ポスターは、すべて英語にて作成をお願いいたします。口演のスライドも、英語にて作成をお願いいたします。

■Young Investigator Awardについて

昨年の大会に引き続き、今大会でも、アジア環太平洋神経化学会（Asian Pacific Society for Neurochemistry, APSN）の若手会員に参加・発表を呼びかけるとともに、旅費などをサポートする、Young Investigator Awardを設けました。4～5名の若手研究者をサポートする予定で、抄録をご提出いただきプログラム委員会での評価の上で決定されます。尚、お申し込みに関する詳細はインターネットでご覧頂き、申込用紙もダウンロードしてお使い頂けるよう準備致します。

演題応募方法

一般演題は神経生物学や臨床医学に繋がる領域も含み、また現在進行中の研究、新しい技術の紹介、さらに症例報告的な発表も含め、会員相互の意見交換を促進し、神経化学の発展に寄与するものを広く募集します。一般演題の発表は基本的にポスター形式で行いですが、大会プログラム委員会において採択された演題についてはミニシンポジウムの中で口演として発表していただく予定です。なお、今回は生物物理学会との合同シンポジウム「神経というターゲットをどうやって測定し、有用な情報を引き出すか」が予定されております（詳しくは合同シン

ポジウムの項をご覧ください)。より活発な双方向性のシンポジウムとするため、演題募集時に、このシンポジウムで取り上げてもらいたい“あなたがイメージしたい神経活動”のアンケートを募集する予定です。合同シンポジウムは両学会のアンケートに基づいて運営する予定です。

1. 投稿方法

演題抄録募集はインターネットを使用して行います。本大会では、インターネット以外による応募はできませんので、御注意ください。また、受領証、採択通知も電子メールにて行う予定です。そのため、以下の環境・条件と事前の準備が必要となります。

1. インターネットに接続可能なコンピューター
2. Microsoft Internet Explorer 4.x以降、またはNetscape Navigator 4.x以降を推奨いたします。必ず日本語版をご使用ください。
3. 発表者の会員番号（日本神経化学会誌「神経化学」郵送時のラベルの右下に記載されております10桁の番号

また、筆頭発表者は日本神経化学会の会員でなくてはなりません。発表を予定されている筆頭発表者で、非会員の方は以下の連絡先にて入会申し込み手続きを行ってください。

入会申込連絡先 (財)日本学会事務センター 会員業務部

電話：03-5814-5810 FAX：03-5814-5825

<http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsn/>

4. 演者氏名、所属は、和文・英文併記にてお願いします。抄録は英文にてお願いいたします。Webによる演題申込みの詳細及び抄録受付については、第46回日本神経化学会大会（新潟）のホームページ（<http://brain.bri.niigata-u.ac.jp/~jsn46/>）に順次掲載されますので御覧ください。

2. 投稿期間

2003年5月7日（水）～5月21日（水）24：00（＝22日（木）0：00）

3. 演題分類項目

以下の演題区分の中から、演題内容に最もふさわしいと考えられるものを一つ選んでください。この区分によりプログラム委員会によるプログラム編成を行います。

- 1 Ion Channels and Excitable Membranes（イオンチャンネル、興奮膜）
- 2 Neurotransmitters and Modulators (Function, Release, Uptake and Metabolism（神経伝達物質、修飾物質）
- 3 Receptors and Transporters（受容体、輸送体）
- 4 Synapse（シナプス）
- 5 Signal Transduction and Modulation（情報伝達、変換、修飾）
- 6 Axonal Transport, Cell Motility and Cytoskeleton（軸索輸送、細胞運動、細胞骨格）
- 7 Neuron and Glia（ニューロン、グリア）

- 8 Myelin (ミエリン)
- 9 Blood-Brain Barrier (血液脳関門)
- 10 Neuroimmunology (神経免疫)
- 11 Pattern Formation (パターン形成)
- 12 Cellular Differentiation (細胞分化)
- 13 Axonal Outgrowth and Network Formation (突起伸展、回路網形成)
- 14 Trophic Factor (栄養因子)
- 15 Cell Adhesion Molecules (細胞接着因子)
- 16 Regeneration, Transplantation (再生、移植)
- 17 Plasticity (可塑性)
- 18 Apoptosis (プログラム細胞死)
- 19 Sleep and Biological Rhythms (睡眠、生体リズム)
- 20 Memory and Learning (学習、記憶)
- 21 Neuroendocrine System (神経内分泌)
- 22 Autonomic Nervous System (自律神経系)
- 23 Aging (老化)
- 24 Cerebral Blood Flow and Metabolism (脳血流、代謝)
- 25 Imaging (イメージング)
- 26 Animal Models (疾患モデル)
- 27 Developmental Disorders (発育、発達障害)
- 28 Neurodegenerative Diseases (Parkinson's Disease and Others) (変性疾患)
- 29 Psychiatric Diseases (精神疾患)
- 30 Muscle Disorders (筋疾患)
- 31 Ischemia (虚血)
- 32 Trauma (外傷)
- 33 Dementia and Alzheimer's Disease (痴呆、アルツハイマー病)
- 34 Drug Abuse and Psychopharmacology (Intoxication, Addiction)
(薬物依存、精神薬理)
- 35 Neurotoxicity (中毒症)
- 36 Neuro-oncology (脳腫瘍)
- 37 Epilepsy (てんかん)
- 38 Infection (感染症)
- 39 Others (その他)

4. キーワード一覧

別ページの一覧を御覧ください。(Society for Neuroscienceに準拠)

5. 英文抄録の取扱い

英文抄録は従来通りNeurochemical Research (Plenum Press) に掲載されますが、学

会としての英文校閲はおこないません。演題申込者ご自身で責任を持って専門家に依頼するなどして校閲してください。また、英文抄録がない場合には受理されませんので、御注意ください。

6. 抄録とプログラムのホームページ公開

プログラム、抄録は学会期日前に公開する予定です。

7. プログラム編成

演題の採否はプログラム委員会にて決定いたします。本大会のプログラム委員は下記の方々を予定しております。(敬称略)

阿相 皓晃、池中 一裕、一瀬 宏、小鹿 幸生、岡野 栄之、木山 博資、熊倉鴻之助、
白尾 智明、鈴木 龍雄、仙波りつ子、高坂 新一、高橋 正身、武田 雅俊、田代 朋子、
田中 英明、遠山 正彌、西川 徹、西澤 正豊、野村 正彦、野村 靖幸、馬場 明道、
馬場 広子、東田 陽博、久永 真市、松岡 一郎、柳澤 勝彦、山内 卓、吉川 和明、
米田 幸雄、和中 明生

第46回日本神経化学会大会組織委員

辻 省次 (東京大学大学院医学系研究科神経内科)

西澤 正豊 (新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野)

高橋 均 (新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野)

田中 隆一 (新潟大学脳研究所臨床神経科学部門脳神経外科学分野)

那波 宏之 (新潟大学脳研究所基礎神経科学部門分子神経生物学分野)

武井 延之 (新潟大学脳研究所基礎神経科学部門分子神経生物学分野)

崎村 建司 (新潟大学脳研究所基礎神経科学部門細胞神経生物学分野)

阿部 輝雄 (新潟大学脳研究所基礎神経科学部門細胞神経生物学分野)

小野寺 理 (新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター)

樋口 宗史 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞医学専攻シグナル伝達講座)

染矢 俊幸 (新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻感覚統合医学講座)

五十嵐道弘 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞医学専攻シグナル伝達講座)

馬場 洋 (新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻器官制御医学講座)

桑野 良三 (新潟大学遺伝子実験施設)

木村 智彦 (日本歯科大学新潟歯学部薬理学講座)

宇田 裕 (新潟薬科大学薬学部衛生化学教室)

長友 孝文 (新潟薬科大学薬学部薬理学教室)

渡邊 和忠 (長岡技術科学大学生物系神経機能工学分野)

成瀬 聡 (新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野)

五十嵐修一 (新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター)

1 ABDOMINAL	72 ANTENNA	144 BLOCK	216 CONDUCTANCE
2 ABDUCENS	73 ANTERIOR	145 BLOOD	217 CONDUCTION
3 ABLATION	74 ANTEROGRADE	146 BLOOD FLOW	218 CONE
4 ABSORPTION	75 ANTIBODY	147 BLOOD PRESSURE	219 CONNECTION
5 ABSTINENCE	76 ANTICHOLINERGIC	148 BLOOD-BRAIN	220 CONSCIOUSNESS
6 ABUSE	77 ANTICHOLINESTERASE	149 BODY WEIGHT	221 CONSUMPTION
7 ACCESSORY	78 ANTICONVULSANT	150 BOMBESIN	222 CONTRACTILE
8 ACCOMMODATION	79 ANTIDEPRESSANT	151 BOTULINUM	223 CONTRAST
9 ACCUMBENS	80 ANTIGEN	152 BOVINE	224 CONTROL
10 ACETYLCHOLINE [ACH]	81 ANTIPSYCHOTIC	153 BRACHIUM	225 CONTUSION
11 ACETYLCHOLINESTERASE [ACHE]	82 ANTISERUM	154 BRADYKININ	226 CONVERGENCE
12 ACETYL-L-CARNITINE	83 ANXIETY	155 BRAINSTEM	227 CONVULSION
13 ACETYLTRANSFERASE	84 ANXIOLYTIC	156 BROWN	228 CORD
14 ACID	85 APHASIA	157 BUCCAL	229 CORTEX
15 ACOUSTIC	86 APLYSIA	158 BUNGAROTOXIN	230 CORTICOSTERONE
16 ACQUISITION	87 APOPTOSIS	159 BURST	231 CORTICOTROPIN
17 ACRYLAMIDE	88 APP	160 CAFFEINE	232 CRANIAL
18 ACTH	89 ARACHIDONIC	161 CALCITONIN	233 CRF
19 ACTIN	90 ARCUATE	162 CALCIUM [CA]	234 CRUSTACEA
20 ACTION POTENTIAL	91 ARGININE	163 CALLOSUM	235 CSF
21 ACTIVATION	92 ARM	164 CALMODULIN	[CEREBROSPINAL FLUID]
22 ACTIVITY	93 AROUSAL	165 CANNABINOID	236 CULTURE
23 ACUITY	94 ARRHYTHMIA	166 CAPILLARY	237 CUNEATE
24 ADAPTATION	95 ARTERY	167 CAPSAICIN	238 CURRENT
25 ADDICTION	96 ARTIFICIAL INTELLIGENCE	168 CARBACHOL	239 CUTANEOUS
26 ADENOSINE	97 ASCORBIC	169 CARDIAC [HEART]	240 CYCLIC ADP RIBOSE
27 ADENYLATE CYCLASE	98 ASPARTATE	170 CARDIOVASCULAR	241 CYCLIC AMP
28 ADENYLIC ACID	99 ASSOCIATION	171 CAROTID	242 CYCLIC GMP
29 ADHESION	100 ASTROCYTE [ASTROGLIA]	172 CASPASE	243 CYSTEAMINE
30 ADIPOSE	101 ATPASE	173 CATECHOLAMINE	244 CYTOARCHITECTURE
31 ADRENAL	102 ATRIUM	174 CATION	245 CYTOCHROME OXIDASE
32 ADRENALECTOMY	103 ATROPHY	175 CAUDAL	246 CYTOPLASM
33 ADRENERGIC	104 ATROPINE	176 CAUDATE	247 CYTOSKELETON
34 AFFERENT	105 ATTENTION	177 CAM	248 CYTOSOL
35 AFFINITY	106 AUDITORY	178 CA1	249 DARK
36 AFTERDISCHARGE	107 AUTOIMMUNITY	179 CA3	250 DARK REARING
37 AGGLUTININ	108 AUTONOMIC	180 CCK [CHOLECYSTOKININ]	251 DBH
38 AGGRESSION	109 AUTORADIOGRAPHY	181 CDNA	252 DEAFFERENTATION
39 AGING [AGEING]	110 AUTORECEPTOR	182 CENTRAL GRAY	253 DEAFNESS
40 AGONIST	111 AVERSION	183 CENTRAL PATTERN GENERATOR	254 DEATH
41 ALCOHOL	112 AVOIDANCE	184 CEREBELLUM	255 DECARBOXYLASE
42 ALERTING	113 AXON	185 C-FIBER	256 DECEREBRATE
43 ALKALOID	114 AXON TERMINAL	186 CHANNEL	257 DEEP CEREBELLAR NUCLEI
44 ALLELE	115 AXONAL TRANSPORT [AXOPLASMIC TRANSPORT]	187 CHAPERONE	258 DEFENSE
45 ALLERGIC	116 AXOPLASM	188 CHEMOKINE	259 DEGENERATION
46 ALLOGRAFT	117 AXOTOMY	189 CHEMORECEPTOR	260 DEHYDROGENASE
47 ALPHA	118 BACLOFEN	190 CHLORIDE	261 DELAYED RESPONSE
48 ALS [AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS]	119 BAG CELL	191 CHLORPROMAZINE	262 DELTA
49 ALTERNATION	120 BARBITURATE	192 CHOLINERGIC	263 DEMENTIA
50 ALUMINUM	121 BARIUM	193 CHOROID	264 DEMYELINATION
51 ALZHEIMER	122 BARORECEPTOR	194 CHROMAFFIN	265 DENDRITE
52 AMACRINE	123 BARREL	195 CILIARY	266 DENERVATION
53 AMBIGUOUS	124 BARRIER	196 CINGULATE	267 DENTATE
54 AMINE	125 BASAL	197 CIRCADIAN	268 DEOXYGLUCOSE
55 AMINERGIC	126 BASAL FOREBRAIN	198 CIRCULATION	269 DEPOLARIZATION
56 AMINO ACID	127 BASAL GANGLIA	199 CIRCUMVENTRICULAR	270 DEPRESSION
57 AMNESIA	128 BASAL LAMINA	200 CLIMBING FIBER	271 DEPRIVATION
58 AMPA	129 BASALIS	201 CLONE	272 DESCENDING
59 AMPHETAMINE	130 BASILAR	202 CLONIDINE	273 DESENSITIZATION
60 AMPLITUDE	131 BASKET CELL	203 COCAINE	274 DESIPRAMINE
61 AMYGDALA	132 BATRACHOTOXIN	204 COCHLEA	275 DESYNCHRONIZATION
62 ANALGESIA	133 BEHAVIOR	205 COERULEUS [CERULEUS]	276 DEVELOPMENT
63 ANDROGEN [TESTOSTERONE]	134 BENZODIAZEPINE	206 COGNITIVE	277 DEXAMETHASONE
64 ANESTHESIA	135 BETA	207 COLD	278 DFP
65 ANGIOTENSIN	136 BICUCULLINE	208 COLLAGEN	279 DIABETES
66 ANION	137 BINAURAL	209 COLLATERAL	280 DIAGONAL BAND
67 ANISOMYCIN	138 BINDING	210 COLLICULUS	281 DIALYSIS
68 ANKLE	139 BINOCULAR	211 COLUMN	282 DIAPHRAGM
69 ANOREXIA	140 BIOGENIC AMINE	212 COMMISSURE	283 DIAZEPAM
70 ANOXIA	141 BIOSYNTHESIS	213 COMMAND	284 DIENCEPHALON
71 ANTAGONIST	142 BLADDER	214 COMPUTER	285 DIET
	143 BLINDNESS	215 CONDITIONED [CONDITIONING]	286 DIFFERENTIATION
			287 DIFFUSION

288 DIGESTION	357 EPILEPSY	426 GAMMA	496 HSP
289 DIGITAL	358 EPILEPTIFORM	427 GANGLION	[HEAT SHOCK PROTEIN]
290 DIGITONIN	359 EPINEPHRINE	428 GANGLIOSIDE	497 HUNTINGTON
291 DIMORPHIC	[ADRENALINE]	429 GAP JUNCTION	498 HYBRIDIZATION
292 DIPHThERIA	360 EPITHELIUM	430 GASTRIC	499 HYDROCEPHALUS
293 DIRECTIONAL	361 EPP	[GASTROINTESTINAL]	500 HYPERACTIVITY
294 DISCRIMINATION	[ENDPLATE POTENTIAL]	431 GASTROINTESTINAL	501 HYPERALGESIA
295 DISSOCIATION	362 EPSP [EXCITATORY	432 GATING	502 HYPERGLYCEMIA
296 DISUSE	POSTSYNAPTIC]	433 GENE	503 HYPERPOLARIZATION
297 DMSO	363 ER [ENDOPLASMIC	434 GFAP	504 HYPERSENSITIVITY
[DIMETHYLSULFOXIDE]	RETICULUM]	435 GFP	505 HYPERTENSION
298 DNA	364 ESCAPE	436 GLAND	506 HYPERTHERMIA
299 DNASE	365 ESTERASE	437 GLIA	507 HYPOGLYCEMIA
300 DOLPHIN	366 ESTROGEN [ESTRADIOL]	438 GLIOMA	508 HYPOPHYSECTOMY
301 DOMINANCE	367 ESTROUS	439 GLOBUS PALLIDUS	509 HYPOTENSION
302 DOPA	368 ETHANOL	[PALLIDUM]	510 HYPOTHALAMUS
303 DOPAMINE	369 EVOKED	440 GLOMERULUM	511 HYPOTHERMIA
304 DOPAMINERGIC	370 EVOLUTION	S441 GLUCAGON	512 HYPOTHYROID
305 DORSAL	371 EXCITABILITY	442 GLUCOCORTICOID	513 HYPOVOLEMIC
306 DORSAL COLUMN	372 EXERCISE	443 GLUCOSE	514 HYPOXIA
[DORSAL FUNICULUS]	373 EXOCYTOSIS	444 GLUCOSE 6-PHOSPHATE	515 IA
307 DORSAL HORN	374 EXPLANT	445 GLUTAMATE	516 IB
308 DORSAL MOTOR NUCLEUS	375 EXPLORATION	446 GLUTAMATE	517 IBOTENIC ACID
309 DORSAL ROOT	376 EXTINCTION	DECARBOXYLASE	518 ILLUSION
310 DORSAL ROOT GANGLION	377 EXTRACELLULAR	447 GLYCINE	519 IMAGING
[DRG]	378 EXTRAOCULAR	448 GLYCOGEN	520 IMIPRAMINE
311 DORSOLATERAL	379 EXTRASTRIATE	449 GLYCOLIPID	521 IMMUNITY
312 DORSOMEDIAL	380 EYE	450 GLYCOPROTEIN	522 IMMUNOREACTIVITY
313 DOSE-RESPONSE	381 EYE FIELD	451 GLYCOSYLTRANSFERASE	523 IMMUNOSUPPRESSION
314 DOWN SYNDROME	382 EYE MOVEMENT	452 GMI	524 IMPLANT
315 DRINKING	383 EYE POSITION	453 GNRH	525 INACTIVATION
316 DRIVE	384 FACIAL	454 GOLGI	526 INCERTA
317 DROSOPHILA	385 FACILITATION	455 GONAD	527 INDOLEAMINE
318 DRUG	386 FASCIA DENTATA	456 GONADOTROPIN	528 INDUCTION
319 DURA	387 FASCICULATION	457 G PROTEINS	529 INFERIOR
320 DYE	388 FAST	458 GRACILIS	530 INFERIOR COLLICULUS
321 DYNORPHIN	389 FASTIGIAL	459 GRANULE CELL	531 INFERIOR OLIVE
322 DYSLEXIA	390 FATIGUE	460 GRAY	532 INFRAORBITAL
323 DYSTONIA	391 FATTY ACID	461 GROOMING	533 INHIBITION
324 DYSTROPHIC	392 FEAR	462 GROWTH	534 INJURY
325 D1 [D-1]	393 FEEDBACK	463 GROWTH CONE	535 INNOMINATA
326 D2 [D-2]	394 FEEDING	464 GROWTH FACTOR	536 INOSITOL
327 EAR	395 FEMALE	465 GROWTH HORMONE	537 INPUT
328 EATING	396 FEVER	466 GRP [GLUCOSE-	538 INSECTICIDE
329 ECTODERM	397 FIBROBLAST	REGULATED PROTEIN	539 INSULA
330 EDINGER WESTPHAL	398 FIBRONECTIN	467 GUANINE	540 INSULIN
331 EEG	399 FIELD	468 GUIDANCE	541 INTERHEMISPHERIC
[ELECTROENCEPHALOGRAM]	400 FILAMENT	469 GUSTATORY	542 INTERLEUKIN
332 EFFERENT	401 FILOPODIA	470 GYRUS	543 INTERMEDIOLATERAL
333 EGG LAYING	402 FIMBRIA	471 H-REFLEX	544 INTERNEURON
334 ELASMOBRANCH	403 FINGER	472 HABENULA	545 INTEROCULAR
335 ELECTRIC ORGAN	404 FIXATION	473 HABITUATION	546 INTERPEDUNCULAR
336 ELECTROCONVULSIVE	405 FLASH	474 HAIR CELL	547 INTERPOSITUS
SHOCK	406 FLEXION	475 HALOPERIDOL	548 INTRACELLULAR
337 ELECTRORECEPTOR	407 FLEXOR	476 HALOTHANE	549 INTRACISTERNAL
338 ELECTROTONIC	408 FLIGHT	477 HAND	550 INTRATHECAL
339 EMBRYO	409 FLUORESCENCE	478 HEAD	551 ION
340 EMG [ELECTROMYOGRAM]	410 FLUORIDE	479 HEARING	552 IPSP
341 EMOTION	411 FLY	480 HEAT	[INHIBITORY POTENTIAL]
342 ENCEPHALOMYELITIS	412 FOOD	481 HEMISPHERE	553 IRIS
343 ENDPLATE	413 FORCE	482 HEMORRHAGE	554 ISCHEMIA
344 ENDOCRINE	414 FOREBRAIN	483 HEPATIC	555 ISOLATION
345 ENDORPHIN	415 FORELIMB	484 HEROIN	556 ISTHMI
346 ENDOThELIAL	416 FORGETTING	485 HERPES	557 JAW
347 ENERGY	417 FORNIX	486 HINDBRAIN	558 JIMPY
348 ENKEPHALIN	418 FORSKOLIN	487 HINDLIMB [LEG]	559 JOINT
349 ENOLASE	419 FOVEAL	488 HIPPOCAMPUS	560 KAINIC ACID
350 ENTERIC	420 FREEZE FRACTURE	489 HISTAMINE	561 KAPPA
351 ENTOPEDUNCULAR	421 FREQUENCY	490 HISTOCHEMISTRY	562 KETAMINE
352 ENTRAINMENT	422 FRONTAL	491 HISTOCOMPATIBILITY	563 KIDNEY
353 ENTORHINAL	423 GABA	492 HISTORY	564 KINASE
354 ENUCLEATION	[GAMMA-AMINOBUTYRIC]	493 HORIZONTAL CELL	565 KINDLING
355 ENVIRONMENTAL	424 GABAERGIC	494 HORMONE	566 KINETIC [KINETICS]
356 ENZYME	425 GAD	495 HPLC	567 KOLLIKER-FUSE

568 KORSAKOFF	638 METHIONINE	707 NEUROMODULATION	777 PARA-
569 LABYRINTH	639 METHYLATION	708 NEUROMUSCULAR	CHLOROPHENYLALANINE
570 LACTATION	640 MEYNERT	709 NEURON	778 PARABRACHIAL
571 LAMINA	641 MICROELECTRODE	710 NEUROPATHOLOGY	779 PARAFASCICULAR
572 LAMININ	642 MICROFILAMENT	711 NEUROPATHY	780 PARAHIPPOCAMPAL
573 LANGUAGE	643 MICROGLIA	712 NEUROPEPTIDE	781 PARALYSIS
574 LARYNGEAL	644 MICROTUBULE	713 NEUROPHYSIN	782 PARALLEL
575 LATERAL	645 MICROVESSEL	714 NEUROPIL	783 PARAMECIUM
576 LATERAL GENICULATE	646 MICTURITION	715 NEUROSECRETION	784 PARASYMPATHETIC
[LGB, LGN]	647 MIDBRAIN	716 NEUROTENSIN	785 PARAVENTRICULAR
577 LATERAL LEMNISCUS	648 MIGRATION	717 NEUROTOXICITY	786 PARIETAL
578 LATERAL LINE	649 MIMICKRY	718 NEUROTRANSMITTER	787 PARKINSON
579 LATERAL POSTERIOR [LP]	650 MINERALOCORTICOID	719 NEUROTROPHIC	788 PASSIVE AVOIDANCE
580 LATERALIZATION	[ALDOSTERONE]	720 NEUROTROPIC	789 PATCH CLAMP
581 LEAD	651 MITOCHONDRIA	721 NF-KAPPAB	790 PCR
582 LEARNING	652 MITOSIS	722 NGF [NERVE GROWTH	791 PEDUNCLE
583 LECTIN	653 MOLLUSC	FACTOR]	792 PENICILLIN
584 LEG	654 MONOAMINE	723 NICOTINE	793 PENIS
585 LEMNISCUS	655 MONOAMINE OXIDASE	724 NICOTINIC	794 PENTOBARBITAL
586 LEUKEMIA	656 MONOCLONAL	725 NITRIC OXIDE [NO]	795 PEPTIDE
587 LH	657 MONOCULAR	726 NMDA [N-METHYL-D-	796 PEPTIDERGIC
[LUTEINIZING HORMONE]	658 MONOSYNAPTIC	ASPARTATE]	797 PERFORANT
588 LHRH	659 MORPHOMETRY	727 NMR	798 PERFUSION
589 LIGHT	660 MOSSY FIBER	728 NOCICEPTION	799 PERIAQUEDUCTAL GRAY
590 LIMB	661 MOTILITY	729 NODE	800 PERIARCUATE
591 LIMBIC	662 MOTIVATION	730 NOISE	801 PERISTRIATE CORTEX
592 LIMULUS	663 MOTONEURON	731 NORADRENERGIC	802 PERIVENTRICULAR
593 LINEAGE	[MOTOR NEURON]	732 NOREPINEPHRINE	803 PERMEABILITY
594 LIPASE	664 MOTOR	[NORADRENALINE]	804 PEROXIDATION
595 LIPID	665 MOTOR CORTEX	733 NOS [NO SYNTHASE]	805 PESTICIDE
596 LIPOPROTEIN	666 MOTOR UNIT	734 NOXIOUS	806 PET [POSITRON EMISSION
597 LIPOSOME	667 MOVEMENT [MOTION,	735 NUCLEOLUS	TOMOGRAPHY]
598 LISSAUER	MOTOR ACTIVITY]	736 NUCLEOTIDE	807 PHARMACODYNAMICS
599 LITHIUM	668 MPTP	737 NUCLEUS	808 PHENCYCLIDINE
600 LIVER	669 MRNA	738 NYSTAGMUS	809 PHENOBARBITAL
601 LOCALIZATION	670 MSG [MONOSODIUM	739 OBESITY	810 PHENOTYPE
602 LOCOMOTION	GLUTAMATE]	740 OCCIPITAL	811 PHENYLETHANOLAMINE
603 LORDOSIS	671 MU	741 OCTAPEPTIDE	812 PHENYTOIN
604 LSD	672 MULTIPLE SCLEROSIS	742 OCTOPAMINE	813 PHEOCHROMOCYTOMA
605 LTP [LONG-TERM	673 MULTISENSORY	743 OCULAR	[PC12, PC-12]
POTENTIATION]	674 MUSCARINIC	744 OCULOMOTOR	814 PHORBOL
606 LURCHER	675 MUSCIMOL	745 ODOR	815 PHOSPHATASE
607 LYSOSOME	676 MUSCLE	746 OFF	816 PHOSPHATIDYLINOSITOL
608 MACROPHAGE	677 MUSCLE SPINDLE	747 OLFACTORY	817 PHOSPHODIESTERASE
609 MACULA	678 MUTANT	748 OLIGODENDROCYTE	818 PHOSPHOINOSITIDE
610 MAGNESIUM [MG]	679 MYASTHENIA	[OLIGODENDROGLIA]	819 PHOSPHOLIPASE
611 MAGNETIC	680 MYELIN	749 OLIVARY	820 PHOSPHOLIPID
612 MAGNOCELLULARIS	681 MYENTERIC	750 OLIVE	821 PHOSPHORYLATION
613 MAGNUS	682 MYOCARDIAL	751 ON	822 PHOTO-LABELLING
614 MALE	683 MYOCLONUS	752 OOCYTE	823 PHOTORECEPTOR
615 MALNUTRITION	684 MYOSIN	753 OPERANT	824 PHRENIC
616 MAO	685 MYOTATIC	754 OPIATE [MORPHINE]	825 PHYSOSTIGMINE
[MONOAMINE OXIDASE]	686 MYOTUBE	755 OPIOID	826 PIA
617 MAPPING	687 NADPH	756 OPTIC	827 PICROTOXIN
618 MATERNAL	688 NA-K ATPASE	757 OPTOKINETIC	828 PIGMENT
619 MATING	689 NALOXONE	758 ORAL	829 PIMOZIDE
620 MATRIX	690 NARCOTIC	759 ORGANOPHOSPHATE	830 PINEAL
621 MATURATION	691 NASAL	760 ORIENTATION	831 PIPERAZINE
622 MAUTHNER	692 NATRIURETIC	761 ORNITHINE	832 PIRIFORM [PYRIFORM]
623 MAZE	693 NAUSEA	762 OSCILLATOR	833 PITUITARY
624 MECHANOSENSORY	694 NECK	763 OSMOTIC PRESSURE	834 PLACODE
625 MEDIAL	695 NECROSIS	764 OUABAIN	835 PLASMA
626 MEDIAL GENICULATE	696 NEMATODE	765 OUTPUT	836 PLASMA MEMBRANE
627 MEDIAN EMINENCE	697 NEONATAL	766 OVARY	[AXOLEMMA]
628 MEDIAN NERVE	698 NETWORK	767 OXIDATION	837 PLASMINOGEN
629 MEDULLA	699 NEURAL TUBE [NEURAL	768 OXOTREMORINE	838 PLATELET
630 MELATONIN	CREST, NEURAL PLATE]	769 OXYGENE	839 PLEXUS
631 MEMBRANE	700 NEURITE	770 OXYGENASE	840 PNMT
632 MEMBRANE POTENTIAL	701 NEUROBLASTOMA	771 OXYTOCIN	[PHENYLETHANOLAMINE-
633 MEMORY	702 NEUROCHEMICAL	772 PACEMAKER	N-METHYL TRANSFERASE]
634 MEPP	703 NEUROENDOCRINE	773 PACINIAN	841 POLYAMINE
635 MESENCEPHALIC	704 NEUROFILAMENT	774 PAIN	842 POLYDIPSIA
636 METABOLISM	705 NEUROHYPOPHYSIS	775 PALMITATE	843 POLYPEPTIDE
637 METHAMPHETAMINE	706 NEUROLEPTIC	776 PANCREAS	

844 POMC	917 REPRODUCTION	991 STOMATOGASTRIC	1065 TRANSPLANT
[PROOPIOMELANOCORTIN]	918 RESERPINE	992 STORAGE	1066 TRANSPORT
845 PONS	919 RESONANCE	993 STRABISMUS	1067 TRAPEZOID BODY
846 PORPHYRIA	920 RESPIRATION	994 STRESS	1068 TRAUMA
847 POSTERIOR	921 RESPONSE	995 STRETCH REFLEX	1069 TREADMILL
848 POSTMORTEM	922 RETENTION	996 STRIA TERMINALIS	1070 TREMOR
849 POSTNATAL	923 RETICULAR	997 STRIATE CORTEX	1071 TRH
850 POSTREMA	924 RETICULUM	998 STROKE	1072 TRIFLUOPERAZINE
851 POSTSYNAPTIC	925 RETINA	999 STRUCTURE	1073 TRIGEMINAL
852 POSTTETANIC	926 RETINAL GANGLION CELL	1000 SUBCELLULAR	1074 TRIMETHYLTIN
853 POSTURE	927 RETINOGENICULATE	1001 SUBCORTICAL	1075 TROPHIC
854 POTASSIUM [K]	928 RETINOTECTAL	1002 SUBFORNICAL	1076 TROPIC
855 POTENTIAL	929 RETROGRADE	1003 SUBCULUM	1077 TRYPTOPHAN
856 POTENTIATION	930 REWARD	1004 SUBSTANCE K	1078 TTX [TETRODOTOXIN]
857 PREFERENCE	931 RHYTHM	1005 SUBSTANCE P	1079 TUBULIN
858 PREFRONTAL	932 RNA	1006 SUBSTANTIA GELATINOSA	1080 TUMOR
859 PREGANGLIONIC	933 ROD	1007 SUBSTANTIA NIGRA	1081 TUNING
860 PREMOTOR	934 ROTATION	1008 SUCKLING	1082 TURNOVER
861 PRENATAL	935 SACCADE	1009 SUCROSE	1083 TWITCH
862 PREOPTIC	936 SACCULUS	1010 SUICIDE	1084 TYMPANIC
863 PREPYRIFORM	937 SALIVARY GLAND	1011 SULCUS	1085 TYROSINE
864 PRESENILIN	938 SALT	1012 SUMMATION	1086 TYROSINE HYDROXYLASE
865 PRESYNAPTIC	939 SATIETY	1013 SUPERIOR	1087 UBIQUITIN
866 PRETECTUM	940 SCAN	1014 SUPERSENSITIVITY	1088 UBIQUITINATION
867 PROCTOLIN	941 SCHIZOPHRENIA	1015 SUPRACHIASMATIC	1089 UPTAKE
868 PROGESTERONE	942 SCHWANN CELL	1016 SUPPRESSION	1090 URINARY
869 PROJECTION	943 SCIATIC	1017 SUPRAOPTIC	1091 UTERUS
870 PROLACTIN	944 SCOPOLAMINE	1018 SURAL	1092 VAGINA
871 PROLIFERATION	945 SCRAPIE	1019 SURFACE	1093 VAGUS
872 PROPRIOSPINAL	946 SECRETION	1020 SWEAT	1094 VASCULAR
873 PROSTAGLANDIN	947 SEDATION	1021 SWIMMING	1095 VASOACTIVITY
874 PROTEASE	948 SEIZURE	1022 SYMPATHETIC	1096 VASOPRESSIN
875 PROTEASOME	949 SELF-ADMINISTRATION	1023 SYNAPSE	1097 VELOCITY
876 PROTEIN	950 SELF-STIMULATION	1024 SYNAPSIN	1098 VENOM
877 PROTEIN KINASE	951 SEMICIRCULAR CANAL	1025 SYNAPTIC	1099 VENTRAL
878 PROTEIN SYNTHESIS	952 SENILITY	1026 SYNAPTOGENESIS	1100 VENTROMEDIAL
879 PROTEOGLYCAN	953 SENSITIZATION	1027 SYNAPTOSOME	1101 VENTRICLE
880 PROTEOLIPID	954 SENSORIMOTOR	1028 SYNCHRONY	1102 VERMIS
881 PROTEOLYSIS	955 SENSORY NEURONS	1029 SYNTHESIS	1103 VESTIBULAR
882 PSYCHOPHYSICS	956 SEPTAL AREA	1030 TACTILE	1104 VIBRATION
883 PULVINAR	957 SEROTONERGIC	1031 TAIL	1105 VIBRISSA [WHISKER]
884 PUMP	958 SEROTONIN	1032 TAIL-FLICK	1106 VIP
885 PUNISHMENT	959 SERUM	1033 TASTE	1107 VIRUS
886 PUPIL	960 SEX	1034 TAURINE	1108 VISION
887 PURIFY	961 SHAKER	1035 TAXOL	1109 VISUAL
888 PURINERGIC	962 SHOCK	1036 TEGMENTUM	1110 VITAMIN
889 PURKINJE CELL	963 SIGMA	1037 TELENCEPHALON	1111 VOCALIZATION
890 PURSUIT	964 SKELETAL	1038 TEMPERATURE	1112 VOLITION
891 PUTAMEN	965 SKIN	1039 TEMPORAL	1113 VOLTAGE
892 PYLORUS	966 SLEEP	1040 TENDON	1114 VOLTAGE CLAMP
893 PYRAMIDAL	967 SLICE	1041 TESTOSTERONE	1115 W-CELL
894 QUAKING	968 SLOW	1042 TETANUS	1116 WAKING
895 QUANTAL	969 SMOOTH	1043 THALAMUS	1117 WALKING
896 QUINOLINIC	970 SODIUM [NA]	1044 THC	1118 WATER
897 QUISQUALATE	971 SOLEUS	1045 THEOPHYLLINE	1119 WEAVER
898 RADIOIMMUNOASSAY	972 SOLITARY [SOLITARIUS]	1046 THIAMINE	1120 WEIGHT
899 RAPHE	973 SOMATOSENSORY	1047 THY-1	1121 WGA [WHEAT GERM AGGLUTININ]
900 REARING	974 SOMATOSTATIN	1048 THYMUS	1122 WING
901 RECEPTIVE FIELD	975 SONG	1049 THYROXINE	1123 WITHDRAWAL
902 RECEPTOR	976 SOUND	1050 TISSUE CULTURE	1124 WORK
903 RECOGNITION	977 SPASTICITY	1051 TOLERANCE	1125 WRIST
904 RECRUITMENT	978 SPATIAL	1052 TONGUE	1126 X-CELL
905 RECTIFICATION	979 SPEECH	1053 TOOTH	1127 X-IRRADIATION [X-RAY]
906 RED NUCLEUS	980 SPINAL	1054 TOPOGRAPHY	1128 Y
907 REFLEX	981 SPINOTHALAMIC	1055 TOUCH	1129 Y-CELL
908 REFRACTORY	982 SPLEEN	1056 TOURETTE	1130 YAWNING
909 REGENERATION	983 SPREADING DEPRESSION	1057 TOXICITY	1131 YOHIMBINE
910 REINFORCEMENT	984 SPROUTING	1058 TOXIN	1132 ZINC
911 REINNERVATION	985 STAIN	1059 TRACT	1133 ZONA INCERTA
912 RELEASE	986 STARTLE	1060 TRAINING	
913 REM	987 STATUS EPILEPTICUS	1061 TRANSCRIPTION	
914 RENAL	988 STEROID	1062 TRANSDUCTION	
915 RENIN	989 STIFFNESS	1063 TRANSFERRIN	
916 RENSCHAW CELL	990 STIMULATION	1064 TRANSMISSION	

参加申し込み方法

- (1) 学会当日は混雑が予想されますので、学会参加者は下表をご参照になり、参加費をなるべく前納して頂けますようお願いいたします。
- (2) 前納される参加者は、必ず「神経化学Vol.42, No.1」(本誌)に同封された青色の専用払込取扱表を用い、郵便振替で2003年7月31日までにお支払い下さい。参加者1名につき1枚をご使用下さい。
- (3) 参加登録の申し込みをされた方には参加登録証を後日お送り致します。参加登録証は当日必ずお持ち下さい。
- (4) 7月31日までに参加登録されなかった方は、会期中会場にて参加登録してください。

参加費一覧表

区 分			前納（7月31日まで）	当日（会場受付）
一 般	学 会	会 員	10,000円	11,000円
		非会員	11,000円	12,000円
	懇 親 会		5,000円	6,000円
学 生	学 会	会 員	4,000円	4,000円
		非会員	4,000円	4,000円
	懇 親 会		3,000円	3,500円
納入方法			郵 便 振 替	会 場 受 付

第 46 回 日本神経化学会新潟大会

—— 宿 泊 ・ 航 空 の ご 案 内 ——

拝啓 時下ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。

この度新潟市“朱鷺メッセ”におきまして開催されます「第 46 回 日本神経化学会新潟大会」に際し、JTB 新潟支店が、参加される皆様へのご宿泊・航空券等のお世話をさせていただく事になりました。

皆様のために十分な配慮をさせていただくよう準備を致しております。多数の皆様のご利用をお待ち申し上げます。

敬具

JTB 新潟支店

1. 宿泊のご案内 《 平成 15 年 9 月 23 日(火) ～ 9 月 26 日(金) 》

	申込記号	客室タイプ	料金(1人当り)	ホ テ ル 名
新 潟 市 内	A-1	シ ン グ ル	12,000 円	ホテル日航新潟 ホテル新潟
	A-2	ツ イ ン	11,000 円	ホテルオークラ新潟
	B-1	シ ン グ ル	10,000 円	ホテルイタリア軒
	B-2	ツ イ ン	9,500 円	新潟グランドホテル
	C-1	シ ン グ ル	9,500 円	ホテルディアモント新潟
	C-2	ツ イ ン	8,500 円	万代シルバーホテル
	D-1	シ ン グ ル	8,500 円	ホテルサンルート新潟
	D-2	ツ イ ン	7,500 円	新潟ワシントンホテル 新潟シティホテル新館
	E-1	シ ン グ ル	8,000 円	新潟東急イン
	E-2	ツ イ ン	7,500 円	新潟東映ホテル
	F-1	シ ン グ ル	7,500 円	新潟第一ホテル
	F-2	ツ イ ン	7,000 円	ニイガタステーションホテル 新潟パークホテル
	G-1	シ ン グ ル	7,000 円	スターホテル新潟
	G-1	ツ イ ン	6,800 円	ターミナルアートイン マルコーイン新潟

※ 宿泊料金は、1 泊朝食付、サービス料、消費税込みの料金です。朝食不要の場合も同料金となります。

※ お申し込み受付順にご希望クラスを手配させていただきます。ご希望のクラスが満室の場合は、ほかのクラスのホテルにてご用意させていただく場合もございます。

※ ツインの料金は、ツインを 2 人で使用時のお 1 人様の料金です。(ツインルームご利用の方は、同室者名も必ずご記入下さい。)

※ 上記以外の宿泊日・その他交通なども引き受けます。記事欄にご記入下さい。

2. 航空のご案内

下記の航空便を特定便割引料金にてご案内いたします。

往 路	区 間	申込番号	便 名	出発時刻	到着時間	普通運賃	特定便割引きっぷ
往 路	大阪(伊丹) - 新潟	A	ANA513 便	09:00 頃	10:00 頃	22,400円	19,800円
	大阪(伊丹) - 新潟	B	JAS 793 便	09:45 頃	10:50 頃	22,400円	19,800円
	大阪(伊丹) - 新潟	C	JAS 795 便	13:15 頃	14:20 頃	22,400円	19,800円
	大阪(伊丹) - 新潟	D	JAS 797 便	17:00 頃	18:05 頃	22,400円	19,800円
	大阪(伊丹) - 新潟	E	ANA519 便	18:00 頃	19:00 頃	22,400円	19,800円
	大阪(伊丹) - 新潟	F	JAS 799 便	18:55 頃	20:00 頃	22,400円	19,800円
	札幌 - 新潟	G	ANK536 便	10:10 頃	11:20 頃	25,300円	21,300円
	札幌 - 新潟	H	ANK540 便	16:50 頃	18:00 頃	25,300円	21,300円
	札幌 - 新潟	I	JAS 18 便	17:10 頃	18:20 頃	25,300円	21,300円
	名古屋 - 新潟	J	ANA311 便	07:45 頃	08:40 頃	21,800円	17,300円
	名古屋 - 新潟	K	ANA313 便	13:25 頃	14:20 頃	21,800円	17,300円
	名古屋 - 新潟	L	J-AIR 627 便	18:00 頃	18:50 頃	21,800円	設定 無し
	広島西 - 新潟	M	J-AIR 550 便	07:50 頃	09:05 頃	33,300円	設定 無し
	福岡 - 新潟	N	ANK329 便	08:00 頃	09:30 頃	35,300円	29,800円
	福岡 - 新潟	O	JAS 901 便	08:00 頃	09:35 頃	35,300円	29,800円
	福岡 - 新潟	P	ANK331 便	18:30 頃	20:00 頃	35,300円	29,800円
復 路	新潟 - 大阪(伊丹)	ア	JAS 790 便	08:30 頃	09:35 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 大阪(伊丹)	イ	ANA516 便	09:15 頃	10:20 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 大阪(伊丹)	ウ	JAS 792 便	11:30 頃	12:35 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 大阪(伊丹)	エ	JAS 796 便	15:15 頃	16:20 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 大阪(伊丹)	オ	ANA520 便	17:45 頃	18:50 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 大阪(伊丹)	カ	JAS 798 便	18:40 頃	19:45 頃	22,400円	19,800円
	新潟 - 札幌	キ	ANK535 便	08:15 頃	09:30 頃	25,300円	21,300円
	新潟 - 札幌	ク	JAS 17 便	10:10 頃	11:25 頃	25,300円	21,300円
	新潟 - 札幌	ケ	ANK539 便	14:55 頃	16:10 頃	25,300円	21,300円
	新潟 - 名古屋	コ	ANA312 便	11:55 頃	12:50 頃	21,800円	17,300円
	新潟 - 名古屋	サ	ANA314 便	19:35 頃	20:30 頃	21,800円	17,300円
	新潟 - 名古屋	シ	J-AIR622 便	09:30 頃	10:25 頃	21,800円	設定 無し
	新潟 - 広島西	ス	J-AIR559 便	19:15 頃	20:45 頃	33,300円	設定 無し
	新潟 - 福岡	セ	ANK330 便	10:30 頃	12:10 頃	35,300円	29,800円
	新潟 - 福岡	ソ	ANK332 便	18:15 頃	20:10 頃	35,300円	29,800円
	新潟 - 福岡	タ	JAS 908 便	18:55 頃	20:35 頃	35,300円	29,800円

※ 上記スケジュール、特定便割引料金は、3月現在の仮ダイヤに基づいております。スケジュールが変更になる場合がございますのでご了承ください。また、特割料金についても料金変更・未設定となる場合がございますので併せてご了承ください。座席は受付順となりますので、お早めにお申込みください。

※ 特別便割引料金が満席の場合は、普通運賃にてご案内させていただきます。

※ 申込みは1名様より受付致しておりますので、記号でご記入下さい。

※ 上記以外の便をご希望の方は通信欄に、搭乗日、区間等ご記入下さい。

※ 航空券予約の際、お名前(フリガナ)・年齢が必要となりますので、申込書に必ずご記入ください。

新潟空港から新潟駅までのアクセス：リムジンバス利用(所要約30分、片道350円)

到着に合わせて運行されています。(時期により変動)

タクシー利用(所要約20分、3,000円前後)

3. お申込み方法

申込用紙に必要事項(ホテル名は記号で記入)をご記入のうえ、コピーされ、下記の送り先まで郵送又は FAX でお申込み下さい。

E-mailでお申込みの方は、申込書に沿って必要事項を記入の上、お申込みください。

*お電話でのお申し込みはトラブル防止のため受付致しません。

クレジットカード精算ご希望の方は申込用紙カード記入の欄に必要事項をご記入ください。

※学会ホームページからインターネットでの申込みも可能です。(5月中旬開設予定)

4. 宿泊確認書などの送付、清算について

ご宿泊日の約3週間前に確定ホテルを記載した宿泊券等をお送り致します。

この際に料金明細請求書を同封致しますので、恐れ入りますが、1週間以内にご送金下さい。

カード清算ご希望の方はご宿泊の約1週間前に引き落としの手続きをとらせて頂きます。

5. お申し込み締切日

平成 15 年 8 月 22 日(金)

6. ご変更及びお取消について

お申し込み後、ご変更及びお取消が生じた場合は、FAX 又は E-mailにて JTB 新潟支店にご連絡下さい。

取消料は下記のようになります。(1名様1件につき)

宿 泊	宿泊日の 8 日前まで	7 日前～3 日前	2 日前～前日	当日・無連絡取消
	無 料	宿泊料の 30%	50%	100%
航空券 片道につき	出発の 4 日前まで	出発の3日前～出発時刻まで		出発時刻以降
	420円	別途ご案内致します		別途ご案内致します

※ 尚、予約の変更・取消に伴うご返金は学会終了後になります。予めご了承下さい。

7. お申込み・お問合せ先

〒951-8063 新潟市古町通 6 番町 976

JTB新潟支店

「第 46 回 日本神経化学会」係

担当／神田・古田・後藤

TEL: 025-224-2201 / FAX: 025-229-5775

E-mail: niigata_ei4a@kit.jtb.co.jp

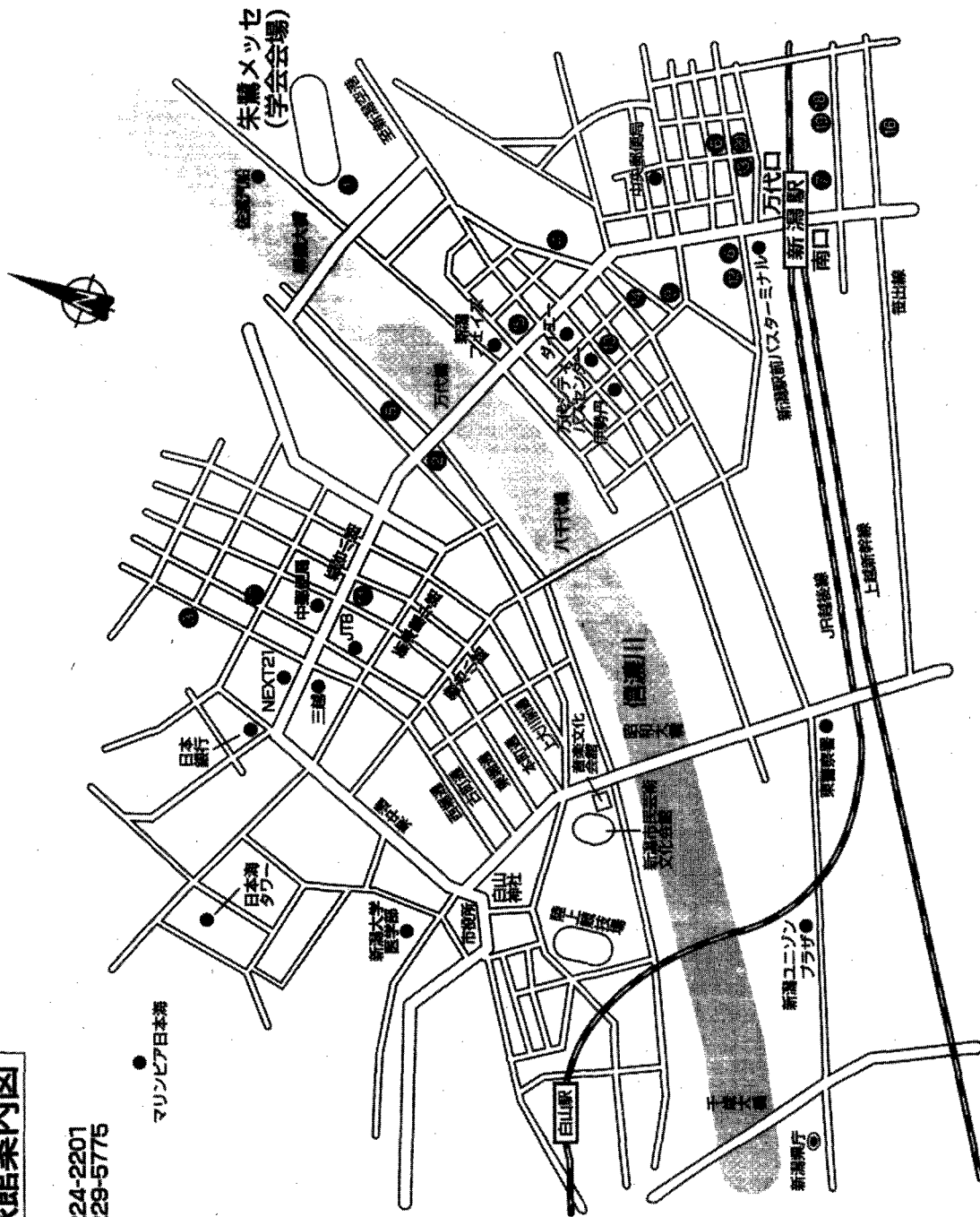
営業時間: 09:30～17:30(土日・祭日を除く)

新潟市内ホテル・旅館案内図

JTB新潟支店 TEL 025-224-2201
FAX 025-229-5775

◆ホテル・旅館のご案内

No.	ホテル・旅館名
①	ホテル日新新潟
②	ホテルオークラ新潟
③	ホテルイタリヤ軒
④	ホテル新潟
⑤	新潟グランドホテル
⑥	ホテルサンルート新潟
⑦	新潟ワシントンホテル
⑧	新潟東急イン
⑨	新潟東映ホテル
⑩	万代シルバーホテル
⑪	ホテルディアマモンド新潟
⑫	ニイガタステーションホテル
⑬	新潟第一ホテル
⑭	マルコニーイン新潟
⑮	スターホテル新潟
⑯	新潟パークホテル
⑰	新潟シティホテル 新館
⑱	ホテルターミナル・アートイン
⑲	ホテルターミナルイン
⑳	新潟ターミナルホテル



JTB新潟支店

宿泊斡旋事務局行き FAX: 025-229-5775

送付日 月 日

第 46 回 日本神経化学会新潟大会 宿泊・航空 申込書

申込者氏名	フリガナ	勤務先 (所属)	
TEL	— —	FAX	— —
宿泊券送付住所	〒 — (勤務先・自宅) どちらか○印		

No.	宿泊者氏名	性別	年齢	宿泊申込記入欄					航空券		ツイン希望の場合 同室者名
				9/23 (火)	9/24 (水)	9/25 (木)	9/26 (金)	第2希望	往路	復路	
例	ニイガタ タロウ 新潟 太郎	男	45	A-1	A-1	A-1	A-1	B-1	9/23 A	×	
1									9/	9/	
2									9/	9/	
3									9/	9/	
4									9/	9/	

〔記事欄〕 ～追加手配(宿泊・観光・交通手段の手配)がございましたら、ご記入下さい。～

※クレジットカード清算希望の方はご記入ください。

カードの種類	カード番号	有効期限	TEL	名義
		月 / 年		

※銀行又は郵便振込み希望の方はご記入ください。

返金が発生した場合の振込先	銀行		支店	預金種別	当座・普通			
	口座番号				口座名義	フリガナ		
JTB記入欄	受付		入力		発送		申込	

日本神経化学会奨励賞選考結果のお知らせ

平成14年度の日本神経化学会奨励賞は次の方々に決定いたしました。(50音順)

片山 泰一 (大阪大学大学院医学系研究科・第2解剖)
桂 昌司 (川崎医科大学・薬理学)
福嶋 伸之 (北海道大学大学院医学研究科・分子医化学)
渡辺 英治 (岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所)

また、最優秀奨励賞は、片山泰一氏【家族性アルツハイマー病に関連するプレセリニン1変異体は小胞体ストレスラヂューサー群の活性化を阻害する】に決定いたしました。

選考は下記の日本神経化学会奨励賞選考委員により行われました。書類審査により日本神経化学会奨励賞受賞者4名を決定し、奨励賞シンポジウムにおいて発表していただきました。講演の後、選考委員会を開催し最優秀奨励賞受賞者の選考を行いました。

この第2段審査は書類審査段階における得点にまったく関係なく行われました。審査のポイントは一般的な業績の他に、本人の独創性がどれだけあったか、将来の発展がどれだけ期待できるか、に関して十分考慮いたしました。また、発表態度や分かり易さ、学会への貢献度も審査対象といたしました。

最優秀奨励賞受賞者には賞状と記念メダルの他、副賞として10万円が贈られました。受賞者のミニレビューがこの号(神経化学Vol.42 No.1)に掲載されています。また、日本神経化学会奨励賞受賞者には賞状が贈られました。

日本神経化学会奨励賞選考委員会

池中 一裕 (委員長/国立生理研)
井上 和秀 (国立医薬品食品衛生研)
仙波りつ子 (愛知県コロニー)
西澤 正豊 (国際医療福祉大)
福井 裕行 (徳島大)
柳澤 勝彦 (国立長寿医療センター)
和中 明生 (奈良県医大)

【平成14年度日本神経化学会最優秀奨励賞受賞記念レビュー】

家族性アルツハイマー病に関連するプレセニリン1変異体は小胞体ストレスランズデューサー群の活性化を阻害する

片 山 泰 一

(大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻・ポストゲノム疾患解析学講座
プロセッシング機能形態分野 (第二解剖))

はじめに

高齢化社会を迎え、痴呆の予防と治療方法の確立は急務とされている。特にアルツハイマー病(AD)はわが国においても増加の一途をたどっているが、その詳細な発症原因は未だに解明されておらず、有力な治療法が見つかっていない。ADは患者全体の約5%が遺伝子に変異のある家族性AD(FAD)であるが、残りの95%以上が原因不明の孤発性AD(SAD)である。しかしながら、FAD,SADは最終的には共通した病理所見を呈する。即ち、アミロイド β ($A\beta$)の細胞外沈着による老人斑の形成、異常にリン酸化されたタウ蛋白質が本体である神経原線維変化、そして神経細胞死による脳の萎縮である¹⁾。従ってFADの原因遺伝子の変異によってどの様に上記病理像に向かうのか、そのメカニズムを明らかにすればAD全体の発症機構に迫れるのではないかという考えに立って本研究は開始された。そこで私たちはFADの原因遺伝子として知られる3つの遺伝子(21番染色体上に存在するアミロイド前駆体蛋白質²⁾;APP、14番染色体上のプレセニリン1³⁾;PS1、1番染色体上のプレセニリン2⁴⁾;PS2)のうち、PS1のミスセンス変異により発症するFAD^{5)~10)}の割合が最も高いことが知られていることからPS1変異体の機能解析に着手した。FADに関連したPS1変異体を発現する細胞では種々

のストレスに対する感受性が増強することが報告されている¹¹⁾¹²⁾が、それらは全て小胞体(ER)に対する負荷を引き起こすこと、及びPS1がERに局在することに着目し、PS1がERストレス(表1)に対する感受性およびストレス応答機構に対し何らかの関わりを有するの否か検討を行った。また、PS1変異体蛋白質がERの機能に影響を及ぼすとすればAD発症機構にどのように関与するのかについても併せて検討を行った。

PS1の基本的情報

Presenilin-1:PS1は1995年に14番染色体上に存在する家族性アルツハイマー病の原因遺伝子としてカナダのトロント大学St.George-Hyslop博士らによって報告された³⁾。その後、PS1はAPPから $A\beta$ が切り出される際の γ 位(APPの膜貫通部分に存在する)を切断する γ セクレターゼとしての働きに必須の蛋白質であることがわかり、PS1を中心とした巨大な γ セクレターゼ複合体について現在世界中で詳細に検討され、その概要が明らかになってきている^{13)~18)}。PS1蛋白質は図1に示されるように多数回膜貫通蛋白質で全長蛋白質は主に小胞体(ER)に局在するが図の矢印で示される部位で常に限定分解を受け、N末端断片とC末端断片とに分かれゴルジ体で安定となる。また、四角で示される多くの位置の点突然変異が

Structure of Presenilin-1

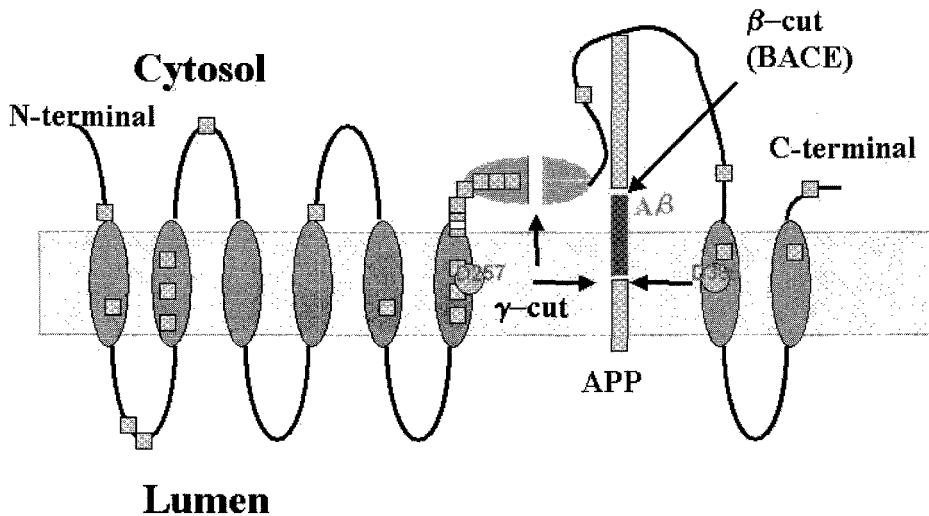


図1 プレセニリン1 (PS1) の構造

PS1は小胞体膜上に局在し、図のように多数回膜貫通する。γ-cut部位と書かれた矢印の領域で切断を受け、N末端断片、C末端断片に限定分解を受ける。□：これまでに同定された家族性アルツハイマー病 (FAD) に関連した点突然変異の位置。黄色い○：γセクレターゼとして必須のアスパラギン酸の位置。いずれのアスパラギン酸もγ-cutと書かれた位置でアミロイド前駆体蛋白質 (APP) を切断し、Aβ産生に関わる。

表1 小胞体ストレスを引き起こす条件

小胞体ストレス誘発物質・条件	予想される作用機作
グルコース飢餓、ツニカマイシン、グルコサミン、2-デオキシグルコース EGTA、カルシウムイオノフォア、thapsigargin β-メルカプトエタノール、ジチオスレイトールなどの還元剤 brefeldin A 変異型タンパク質 虚血	小胞体内で行われるタンパク質への糖鎖付加の過程を阻害する。 小胞体内のカルシウムホメオスタシスを攪乱する。 小胞体内で起こるジスルフィド結合の形成を阻害する。 小胞体とゴルジ装置の間の輸送を阻害する。 小胞体で正常な立体構造を取れない。 酸素・フリーラジカルによるタンパク質修飾

FADに関連する変異として知られている他、図の黄色い丸印で示された257、385番目のアスパラギン酸がこの限定分解およびAPPのγ位での切断活性に深く関与していることが知られている¹⁹⁾。

さて、先に述べたように私たちは①PS1がERに局在すること、②PS1変異体を発現する細胞はいくつかのERストレスに対して脆弱になることが報告されていたことに注目し、小胞体機能とPS1との関わりについて検討した。以下にERストレスについて簡単に述べる。

小胞体 (ER) ストレスとは・・・？

小胞体 (ER) は新規合成された蛋白質の多くが成熟するにあたって最初に修飾を受ける場である。ここで言う蛋白質の修飾とは糖鎖の付加やジスルフィド結合などを指し、修飾を受けた蛋白質は立体構造を形成し、折りたたまれて次の修飾を受けるゴルジ体へ運ばれる。ところが表1に示したようなストレス条件は小胞体内に折りたたみ不完全な蛋白質 (unfolded protein) すなわち不良蛋白質を蓄積させる。このような状態を小胞体

小胞体はタンパク質の品質管理を行うオルガネラ

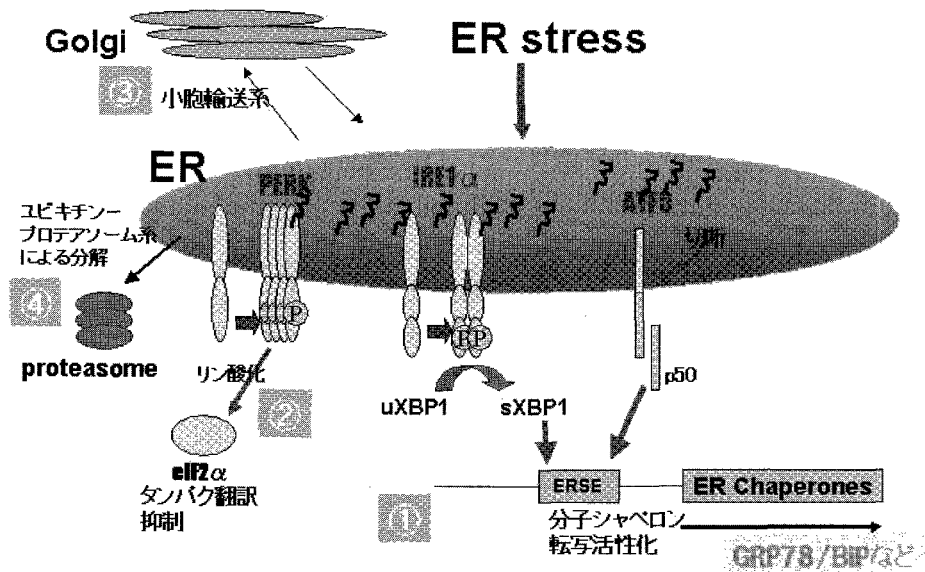


図2 小胞体を中心とした4つの品質管理機構

- ①修復：分子シャペロンを転写誘導してフォールディングを正常に戻す機構（UPR）。IRE1 α 、ATF6の両ストレスセンサータンパク質が不良品タンパク質を認識して下流にシグナルを伝える。
- ②生産停止：翻訳抑制による調節機構。ストレスセンサータンパク質PERKが活性化してeIF2 α のリン酸化を促進し、タンパク質翻訳を抑制する。
- ③逆送：ゴルジ体へ進むべきではないと認識された輸送タンパク質は逆行性輸送小胞に載って小胞体へと差し戻される。この際、逆送輸送にかかわる輸送小胞はCOP-I小胞と呼ばれる複合体である。
- ④分解：不良タンパク質分解処理機構（ERAD）。修復不能と認識されたタンパク質は小胞体から引きずり出されて、ユビキチン-プロテアソーム系で分解される。

(ER) ストレスと呼ぶ。もし、不良蛋白質がゴルジ以降に運ばれてしまったら、すなわち、小胞体内から不良品が出て行ってしまったら、不良蛋白質は、本来の機能や本来の場所で働くことができず生体に多くの場合悪影響を及ぼすであろう。このような状態を回避するために生体はいくつかの防御機構を備えている。以下に小胞体を中心とした蛋白質の品質管理機構について簡単に列記した(図2)。

1) 修復システム(図2-①)：分子シャペロンを転写誘導してフォールディングを正常に戻す機構(UPR)

表1のようなERストレス状態(折りたたみの不完全な蛋白質(unfolded protein)が小胞体内に蓄積しはじめる)に陥ると分子シャペロンと呼

ばれる蛋白質群が発現誘導され、unfolded proteinに結合し、フォールディングを正常に戻し、生体を防御する機構が働くことが知られている^{20)~22)}。このような機構はunfolded protein response (UPR) と呼ばれる。現在、二種類のERストレスを感知するストレストランスデューサー(IRE1,ATF6)が知られている^{20)~25)}。

2) 生産停止(図2-②)：翻訳抑制による調節機構

小胞体には前述の2つのセンサー蛋白質(IRE1,ATF6)に加えて第3のセンサー蛋白質PERKが存在する²⁶⁾²⁷⁾。PERKは不良蛋白質を感知すると翻訳開始因子2の α サブユニット(eIF2 α)のリン酸化を促進し、蛋白質の翻訳を停止し、新たに蛋白質が合成されないように調節する。

すなわち小胞体における環境の悪化を察知して、環境が回復するまで様子を見るシステムである。

3) 返送システム (図2-③) : 小胞体-ゴルジ体間の小胞輸送系による選別機構と逆送機構

膜蛋白質や分泌蛋白質は小胞体からゴルジ体へ輸送小胞 (trafficking vesicle) に載って運ばれる²⁸⁾。この時、折りたたみが不完全な蛋白質はゴルジ体に到達してからあるいは到達前に厳密な選別機構によって運ばれるべき状態にないことを認識され、逆行性輸送小胞に載って小胞体へと差し戻される。

4) 分解システム (図2-④) : 不良蛋白質分解処理機構 (ERAD)

上記のいずれの品質管理機構によっても修復できないような蛋白質は細胞質側に連れ出されて、ユビキチン・プロテアソーム系によって分解される²⁹⁾。この分解は小胞体関連蛋白質分解 (ERAD) と呼ばれている。このERADを止めてやると前述のUPRが活性化されて分子シャペロンの転写誘導が促進されることから、ERADとUPRは協調して不良蛋白質の処理に当たっていると考えられる。

以上小胞体を中心とした蛋白質の4つの品質管理機構 (返送システム、修復システム、生産停止、分解システム) については京都大学、森和俊先生らの非常に分かりやすい総説に紹介されているのでそちらを参照されたい³⁰⁾。以上の背景を踏まえて、小胞体機能とPS1との関わりについて検討を開始した。

PS1変異体発現細胞はERストレスに対して脆弱になる

私たちはまずヒト神経芽細胞腫SK-N-SH細胞からPS1変異体を構成的に発現する細胞を取得し、ERストレス (糖鎖付加阻害剤tunicamycin : Tmやカルシウムイオノフォア : A23187) を負荷すると対照群あるいは野生型PS1発現細胞に比べ、より早く死に始めることを示した (図3)。この現象は一過性にPS1変異体を過剰発現させた

HEK293T細胞、さらにPS1変異体を生理的なレベルで発現するノックインマウスから得た大脳皮質初代培養神経細胞においても確認され、いずれも野生型PS1を発現する細胞に比較してERストレスに対し脆弱性を示した³¹⁾。

そこで我々はERストレスに対する防御機構に対してPS1変異体が影響を与えているのではないかと仮説をたて、ERストレスに対する生体の防御機構の一つであるunfolded protein response (UPR) の最終産物であるGRP78/BiPに注目した。GRP78/BiPは小胞体内腔の分子シャペロンとして小胞体内腔に蓄積する折り畳み不良蛋白質 (unfolded protein) の折り畳みを改善し不良蛋白質がゴルジ体以降に輸送されることを防ぐ蛋白質の品質管理に関わる重要な分子であると考えられている。ノーザンブロット法で解析して分かるようにGRP78/BiP mRNAの発現は非ストレス下ではわずかに見られる程度のシグナル強度であるが、Tm, A23187などの刺激により刺激6時間後から12時間後付近をピークに強く誘導される (図3)。野生型PS1を発現する細胞ではERストレス後のGRP78/BiPのmRNAの発現上昇に何ら影響を与えなかったが、FADに関連したPS1変異体 (A246E, ΔE9) を発現する細胞ではERストレス後のGRP78/BiPのmRNAの発現上昇が有意に抑制された (図3)³¹⁾。この現象が用いた二つのPS1変異体に特異的に見られる現象ではないことを確かめるために他の変異体についても検証したところ、いずれのPS1変異体においても程度の差はあれERストレス後のGRP78/BiPのmRNAの発現上昇が抑えられていることが明らかになった³¹⁾。さらにこれらの現象がPS1変異体を強制発現した結果起きている非特異的な現象である可能性も考え、PS1変異体を生理的なレベルで発現しているノックインマウス³²⁾由来の大脳皮質初代培養神経細胞を用いて同様にERストレス後のGRP78/BiPのmRNAの発現上昇を野生型、ヘテロ型、ホモ型で比較したところ、明らかなgene dosageが認められたため (図3)、強制発

PS1変異体発現細胞では小胞体ストレスに対し、脆弱になり分子シャペロンGRP78の誘導が減弱する

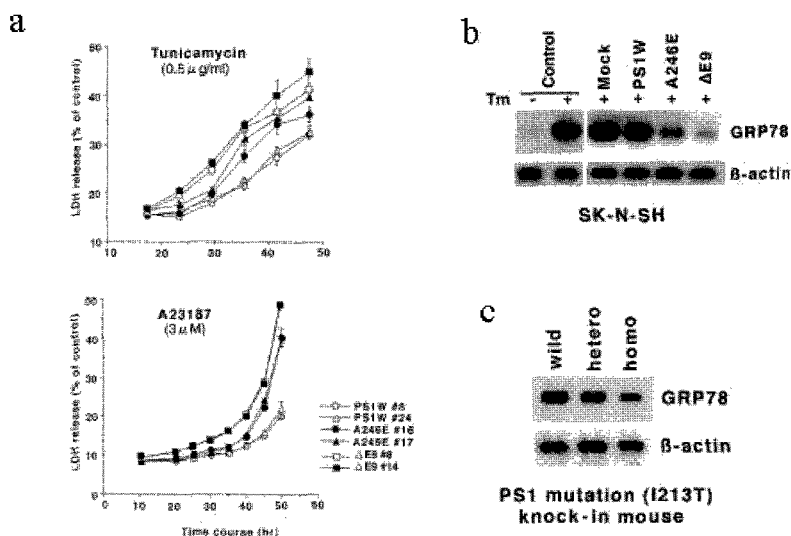


図3 PS1変異体発現細胞では小胞体ストレスに対し、脆弱になり分子シャペロンGRP78/BiPの発現誘導が減弱する

a. 野生型PS1 (PS1W)、FADに関連したPS1変異体 (A246E、或いは Δ E9) を発現するSK-N-SH細胞に小胞体ストレス (ツニカマイシン: Tm, カルシウムイオノフォア: A23187) を負荷した時の細胞死の程度、細胞死の指標として培養上清中のLDH活性を測定。変異PS1発現細胞で細胞死が起き易くなっている事が伺える。

b. 小胞体ストレスを負荷6時間後の各細胞のGRP78/BiP mRNAの発現レベル (ノーザンブロットング)。コントロール細胞ではTm負荷によってGRP78/BiP mRNAが強く発現誘導されるが、変異PS1発現細胞ではコントロール細胞、Mock (空ベクター) 導入細胞、野生型PS1発現細胞に比べ、この発現誘導が減弱していることが分かる。

c. 変異PS1 (I213T) を生理的レベルで発現するPS1変異体ノックインマウス由来大脳皮質初代培養細胞にツニカマイシン刺激を行い、6時間後のGRP78/BiP mRNAの誘導を確認。野生型、ヘテロ型、ホモ型の順にTm刺激後のGRP78/BiPの発現誘導が減弱している。(文献31より転用)

現系で見られたERストレス後のGRP78/BiPのmRNAの発現上昇の抑制はPS1変異体によって引き起こされていることが明確になった³¹⁾。また、PS1変異体によるGRP78/BiP mRNA発現上昇の抑制はPS1変異体が存在することで一旦転写を受けた後GRP78/BiP mRNAが分解されてシグナル強度が減じているのではなく、転写レベルから抑制されることをゲルシフト法を用いて明らかにした³¹⁾。

PS1変異体とERストレストランスデューサーIRE1 α の関わり

さて、それではPS1変異体はどのような機構で

GRP78/BiPの発現上昇を負に制御するのか?

我々はUPRの最上流に位置するIRE1 α に注目した。IRE1 α はN末端を小胞体内腔側に、C末端側を細胞質側に持つ1回膜貫通蛋白質で小胞体内腔にunfolded proteinが蓄積するとこれを感じ、2量体を形成し、C末端側に存在するキナーゼ部位で自己リン酸化により活性化し、下流にシグナルを伝え、GRP78/BiPの転写を誘導する (今では、IRE1 α のC末端側に存在するRNase部位によりフレームシフト型転写因子XBP1のスプライシングを行い活性型XBP1を産生し、この活性型XBP1が転写因子としてGRP78/BiPプロモーター領域のERストレス特異的応答エレメントに結合

PS1は小胞体ストレストランスデューサーIRE1 α と小胞体膜上で結合し、PS1変異体はIRE1 α のリン酸化を阻害する

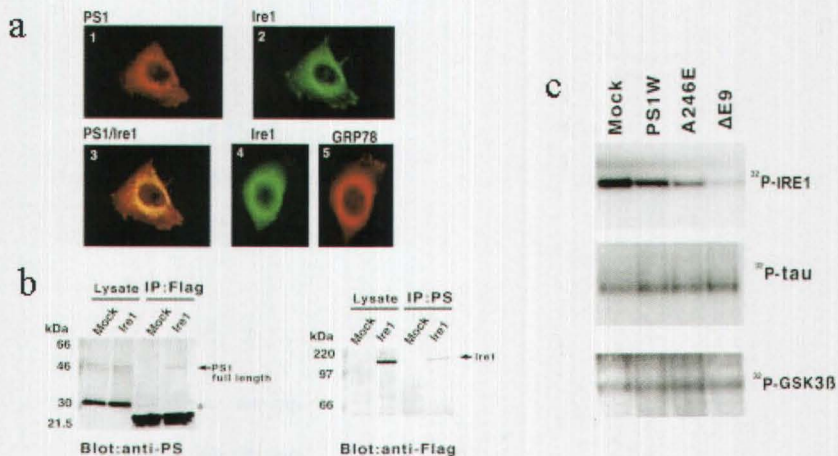


図4 PS1は小胞体ストレストランスデューサーIRE1 α と小胞体膜上で結合し、PS1変異体はIRE1 α のリン酸化を阻害する。

a. PS1とIRE1 α をそれぞれ特異的に認識する抗体を用いてSK-N-SH細胞の免疫染色を行った。PS1 (1.赤)、IRE1 (2.緑) は互いに小胞体上で共局在する (3.黄色)。PS1は一部ゴルジにも染色性が見られる。IRE1 α (4.緑) はGRP78 (5.赤) とほぼ完全に局在が一致する。

b. IRE1-flagを発現するSK-N-SH細胞を用いて左パネル：Flag抗体 (IRE1を認識) で免疫沈降を行い、PS1特異的抗体 (内在性のPS1を認識) を用いてウェスタンブロットを行った。IRE1発現細胞でPS1全長タイプ (約50kDa) と結合していることが確認できる。*はPS1のN末端断片 (約30kDa) の出現する位置。右パネル：PS1特異的抗体で免疫沈降を行い、Flag抗体を用いてウェスタンブロットを行った。IRE1発現細胞でのみPS1免疫沈降物にIRE1のバンドを確認できる。

c. 変異PS1がIRE1 α のリン酸化レベルに及ぼす影響。各種PS1発現プラスミドをIRE1-flag発現プラスミドと同時に導入し共発現させ、細胞を 32 Pでラベルした後、IRE1のリン酸化レベルを抗flag抗体で免疫沈降した。変異PS1導入細胞ではIRE1 α のリン酸化レベルが減弱している。リン酸化を受けADIに深く関与することの知られるtauやGSK3 β はPS1変異体によってリン酸化レベルに影響を受けなかった。(文献31より転用)

し、GRP78/BiPの誘導を促進することが知られている^{33)~35)}。そこでIRE1 α の活性化に必要なリン酸化レベルに対してPS1変異体が影響を及ぼす可能性を調べたところ図4に示すようにPS1変異体は野生型PS1発現細胞に比べてERストレス後のIRE1 α のリン酸化レベルが減弱していることを見出した。さらにPS1とIRE1 α の局在を調べると両者は小胞体膜上で結合していることを免疫染色、免疫沈降法でそれぞれ確認した (図4)。以上のことからPS1変異体はIRE1 α に小胞体膜上で直接結合し、IRE1 α のリン酸化を阻害して、GRP78/BiPの発現誘導を抑制していることが分かったのである³¹⁾。付け加えると、IRE1 α との結合はPS1野生型、変異PS1の間で差は認められ

なかった³¹⁾ ことからPS1変異体によるIRE1 α リン酸化阻害作用は単純にIRE1 α との結合量に依存して起きているわけではないことを示している。

GRP78/BiPの導入は変異PS1によって脆弱になった細胞のERストレスに対する反応を正常に回復させる

ここまで述べてきたように、PS1変異体発現細胞はIRE1 α の活性化障害によりERストレス時の応答が鈍くなり、最終的にGRP78/BiPの発現誘導が悪くなって、unfolded proteinの蓄積によって更にERストレス状態が増悪し、細胞死に至ると考えられる。そこであらかじめGRP78/BiPを細胞内に導入しておけばPS1変異体発現細胞も

GRP78/BiPを外来から導入することによって変異PS1発現によって脆弱になった細胞は小胞体ストレスに対して正常な反応性にまで回復する

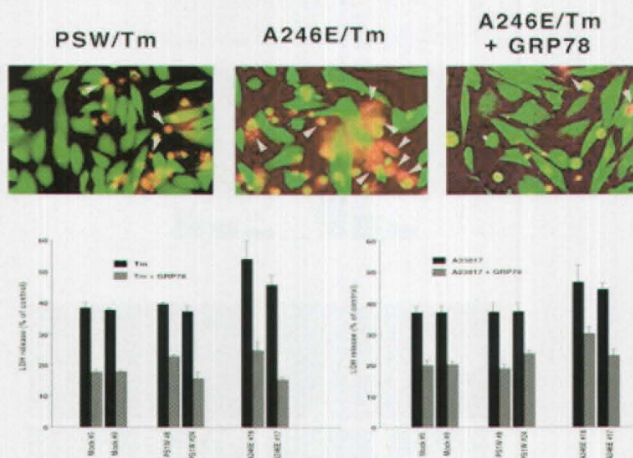


図5 PS1変異体発現細胞はGRP78処置により小胞体ストレスによる細胞死から回避できる
0.5 μ g/mlのツニカマイシン (Tm) 刺激後、40時間のLIVE/DEAD染色による染色像。緑色が生きている細胞。赤色が死んでいる細胞 (矢頭) を示す。野生型PS1発現細胞 (PS1W: 写真左) に比べ変異PS1発現細胞 (A246E: 写真中) は死んでいる細胞が多く観察される。これに対して、GRP78遺伝子を予め導入しておいた変異PS1発現細胞 (A246E+GRP78: 写真右) ではPS1W (写真左) の反応性にまで回復していることがわかる。下段は培養上清中のLDH活性を測定した結果。(文献31より転用)

ERストレスによる細胞死から回避できるのではないかと考えた。我々はSK-N-SH細胞にほぼ100%GRP78/BiPを導入する方法としてsemliki-forestウィルス (SFV) システムを用いた。図5に示すようにPS1変異体発現細胞にTm刺激を行い、live and dead法により細胞死を観察すると野生型細胞に比べ赤色で観察される死細胞の数が明らかに増加するが、あらかじめSFVによってGRP78/BiPを導入したPS1変異体発現細胞のERストレスに対する応答はほぼ完全に野生型PS1発現細胞の反応性にまで回復することが確認された³¹⁾。実際にAD患者脳におけるGRP78/BiPの発現量は疾患対照群のそれに比べて減少していることも確認した³¹⁾。

以上のことから、PS1変異体はIRE1 α の活性化障害を引き起こし、GRP78/BiPの発現が十分に誘導されずADに見られる神経細胞死が引き起こされる可能性が見い出せた。

PS1変異体は他の小胞体ストレストランスデューサーの活性化に影響を与えるか?

さて、先に述べたように小胞体にはunfolded proteinが蓄積したことを感知して下流にシグナルを伝えるストレストランスデューサー蛋白質が現在3種類存在することが知られている^{30)~30)} (図2)。そのうちの一つがIRE1 α であり、PS1変異体がIRE1 α の活性化に影響を与えることが明らかになったが、我々は残りの二つのストレストランスデューサー (ATF6, PERK) とPS1との関わりについて調べる必要があると考えた。ATF6と呼ばれる小胞体一回膜貫通蛋白質はERストレスが加わるとS1P, S2Pという酵素によって膜近傍で切断され、切断によって生じた細胞質断片 (N末端断片) 自身が転写因子として核へ移行し、核内で分子シャペロン (GRP78/BiPを代表とする) のプロモーター領域に存在するERSE領域に結合してIRE1 α -XBPI系同様、分子シャペロンの転写誘導を促進し、合成された分子シャペロンはフォールディングを正常に戻す²⁴⁾²⁵⁾³⁶⁾。他方、PERKは

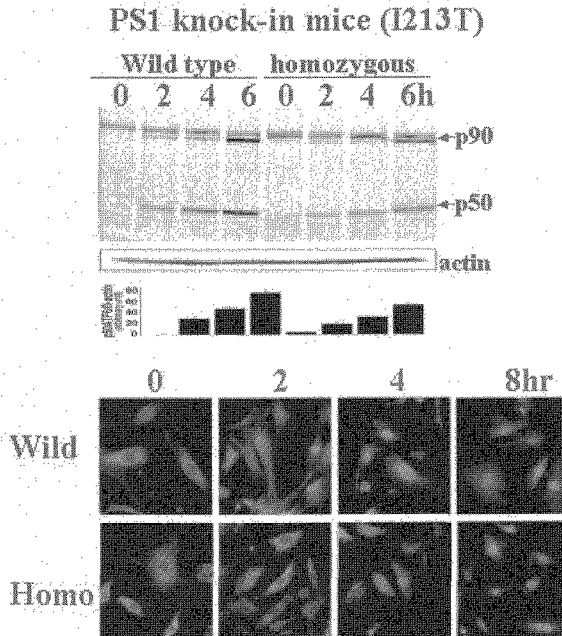


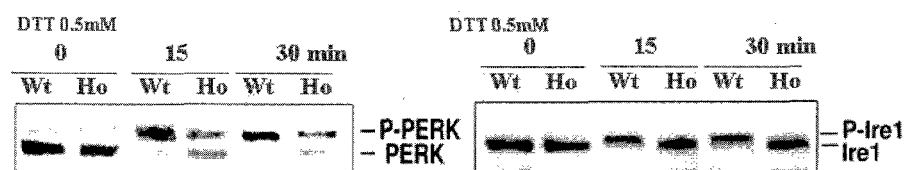
図6 PS1発現細胞は小胞体ストレス後のPERKのリン酸化を遅延させる。
野生型PS1 (Wt) 発現細胞では小胞体ストレスとして用いた0.5mM DTT刺激後15分でPERKのリン酸化フォーム (P-PERK) の割合が増加するが、PS1変異体発現細胞では刺激30分後でも完全にリン酸化フォームに変わらない。同じくサブシガルギン：Tg刺激したSK-N-SH細胞を用いても同様の結果が得られる。但し、刺激の強さを1 μ Mから5 μ Mに引き上げるとPS1変異体発現細胞と野生型PS1発現細胞の反応性の差は小さくなる。この現象はIRE1でも同様に確認できた。(左パネル) (文献37、38より転用)

小胞体内腔部分の配列がIRE1 α と非常によく似ているためunfolded proteinが蓄積したことを感知する機構はIRE1 α と同様であると考えられる。不良蛋白質を感知すると二量体あるいは多量体を形成し、自己リン酸化される点でもIRE1 α 型活性化機構を有するが、リン酸化され活性化されると、翻訳開始因子2の α サブユニット (eIF2 α) のリン酸化を促進し、新たな蛋白質の翻訳を停止し、生体をERストレスから守る²⁶⁾²⁷⁾³⁰⁾。

PS1変異体を発現するSK-N-SH細胞およびPS1変異体を生理的レベルで発現するノックインマウス由来の線維芽細胞を用いてERストレス負荷におけるATF6およびPERKの活性化に対する影響を調べた。図6に示されるようにウェスタンブロット法によってATF6はERストレスが加わると経

時的に90kDaの全長タイプの蛋白質が減少して50kDaのN末端断片が出現することになる。また、細胞の免疫染色による観察ではトレスによってER細胞質パターンから核パターンに経時的に変化することも捉えられ、そのようなATF6の活性化に伴う50kDaパタン現と核移行をPS1変異体は遅延させる様子がされた³⁷⁾。一方、PERKはリン酸化されるドの上方へのシフトがウェスタンブロットより容易に観察され、活性化されたことを検出するがERストレス後のPERKリン酸化はPS1発現細胞では野生型PS1発現細胞に比べに遅延していることを見出した³⁷⁾ (図7)。このことから、PS1変異体はIRE1 α のみならずATF6,PERKといった小胞体ストレストランス

I213T knock-in mice



SK-N-SH cell

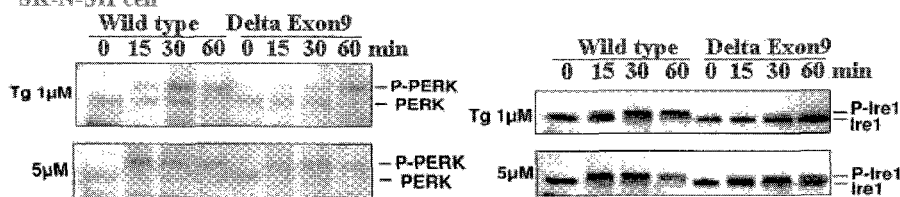


図7 PS1発現細胞は小胞体ストレス後のATF6の切断と核移行を遅延させる。
野生型PS1 (Wt) 発現細胞では小胞体ストレスTm刺激後、経時的にATF6のN末端断片 (p50) のバンドの増加が確認できるが、PS1変異体発現細胞では野生型PS1発現細胞の刺激後切断断片の出現が遅延していることが確認できる。下パネル：同様の結果がATF6切断断片の核移行の程度で確認できる。ATF6を特異的抗体で染色した免疫染色像。野生型PS1発現細胞では小胞体ストレス負荷4時間後にはほぼ完全に核移行像を示すが、PS1変異体発現細胞では4時間の時点でまだ小胞体-細胞質染色パターンを示す細胞が散見される。(文献37より転用)

サー群全体の活性化を阻害して、小胞体機能全体を障害していることが明らかとなった。

ERストレスの強度と反応時間に関する考察

さて、上記実験中、刺激の強度と小胞体ストレス応答との関係について、重要な知見を得たのでここに紹介する³⁸⁾。

野生型あるいは変異PS1発現SK-N-SH細胞を、2、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のTmで0～6時間刺激し、GRP78 mRNAの発現をノーザンブロットで調べた。その結果、いずれの細胞においても、Tmの濃度依存的、時間依存的にGRP78 mRNAの発現が上昇した。また、検討したすべての条件において、これまでの検討結果と同様に、変異PS1発現細胞ではコントロール細胞に比べてGRP78 mRNAの発現が減弱していたが、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の刺激では、その発現量の差が2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の場合よりも縮まる傾向が見られた。この結果を支持するようにPERKあるいはIRE1 α のリン酸化は2 μM サブシナルギン (Tg) 刺激と5 μM MTg刺激と比較すると2 μM

刺激で観察されていたPS1変異体によるPERK、IRE1 α のリン酸化遅延が5 μM MTg刺激ではPS1変異体発現細胞、野生型PS1発現細胞いずれも刺激後15分ではほぼ完全にリン酸化されてしまう。従って刺激後、より早い時間で両者のリン酸化を比較しない限り、差が見られないことを示している(図6参照)。

我々は以前にも、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ツニカマイシンで刺激した場合、刺激12時間ではGRP78 mRNAの発現量が飽和に達しており、変異型PS1発現細胞とコントロール細胞との間で、発現量の差が見られなくなることが分かっていた。この結果は、負荷する刺激を強くするとストレス応答が時間的に早くなると考えられる。実際、GRP78 mRNAの発現がTmの濃度依存的に上昇し、Tmの濃度が高い場合は変異PS1発現細胞とコントロール細胞との間の発現量の差が縮まった。従って、変異型PS1発現細胞においても、強い刺激を負荷したり、刺激時間を長くしたりするとコントロール細胞との間にストレス応答の差が縮小、あるいは認めら

れなくなると考えられる。

FADに関連したPS1変異体はERストレス時、ストレストランスデューサー蛋白質 (IRE1 α 、PERK或いはATF6) の活性化を阻害し、細胞死を誘発しやすくすることを示してきた。我々はこれらストレストランスデューサーの活性化障害による細胞死が小胞体ストレス後15分から30分の間に起きる比較的早期の変化の差により生じていると考えている。そこでこれらストレストランスデューサーの活性化障害の差が最終的な細胞死の程度或いは分子シャペロンの誘導の程度に反映されるか否かを検討する目的でツニカマイシン刺激用量、刺激時間の変化による細胞死の程度(LDHアッセイ)についてPS1野生型とFADに関連したPS1を発現する細胞との比較検討を行った。Tmの刺激用量は0.5、3、10 $\mu\text{g/ml}$ 、培養液回収時間は各刺激用量の0、10、20、30、40、50時間という条件で実験を行った。その結果、刺激用量0.5 $\mu\text{g/ml}$ での細胞死の程度の差に比べ3、10 $\mu\text{g/ml}$ では野生型、FAD変異体発現細胞との間で細胞死の程度の差が同じ時間において接近してくることが明らかとなった。

PS1変異体の小胞体機能障害はPS1本来の機能喪失によるものか機能獲得によるものか？

私たちがPS1変異体によるIRE1 α の活性化障害を報告した頃、P.Walter博士らの研究グループはIRE1 α のC末端断片がPS1によって切断を受ける可能性およびPS1ノックアウトマウス線維芽細胞を用いた検討でERストレス後のGRP78/BiPの誘導がPS1変異体同様抑制されることを報告した³⁹⁾。そこで我々の観察したPS1変異体による小胞体機能障害はPS1本来の機能を喪失した結果起きている現象であるのか、或いはPS1の変異体が新たに獲得した機能によってストレストランスデューサー群の活性化障害をもたらしているのかを明らかにする目的でPS1ノックアウトマウス由来線維芽細胞、更にはPS1/PS2ダブルノックアウト細胞、そして γ セクレターゼ活性を喪失させ

た257番目、385番目のアスパラギン酸をアラニンに置換した変異体発現細胞を用いてERストレスに対する応答を野生型PS1発現細胞、FADに関連したPS1変異体発現細胞を併せて比較した³⁷⁾。

PS1ノックアウトマウス由来線維芽細胞におけるERストレス負荷後のGRP78/BiP mRNAの発現誘導及びATF6のプロセッシング、核移行を経時的に調べたが、両者の間に有意な差は認められなかった。この事実はたとえPS1をノックアウトしても分子として非常に類似性の高いPS2が代償的に働いている可能性もあると考え、PS1/PS2ダブルノックアウトマウス由来線維芽細胞を用いて同様の実験を行った。しかしながら、PS1/PS2を完全にノックアウトしてもERストレスに対する反応性はほとんど変化しなかった³⁷⁾。更に γ セクレターゼ活性を喪失させた257番目、385番目のアスパラギン酸 (図1参照) をアラニンに置換した変異体発現細胞を用いて同様にERストレスに対する反応性を検討した。この変異体はFADに関連した変異ではないがPS1の点突然変異を持つという点においてFADに関連した変異体と同義である。従って、もし、PS1変異体がER機能を障害する作用がPS1に点突然変異を与えた場合全てに見られる現象であればアスパラギン酸変異体も同様にERストレスに対する反応性を減弱するはずであると考えられた。しかしながら、Tm刺激後のGRP78/BiP mRNA発現誘導においてD257A,D385Aいずれの変異体発現細胞も野生型PS1発現細胞の反応性と同等であった³⁷⁾。いずれのERストレスに対する反応性も最終的な細胞死に反映されているか否か細胞死評価を行ったところ、ストレストランスデューサー群の活性化状態と細胞死との相関が認められた³⁷⁾。

以上のことから、PS1変異体がストレストランスデューサー群の活性化を阻害してGRP78/BiPなど分子シャペロンの発現誘導を減弱させ、最終的に細胞死を引き起こしやすくさせている事実は、PS1本来の機能を喪失した結果起きている現象ではなく、FADに関連したPS1変異によって新た

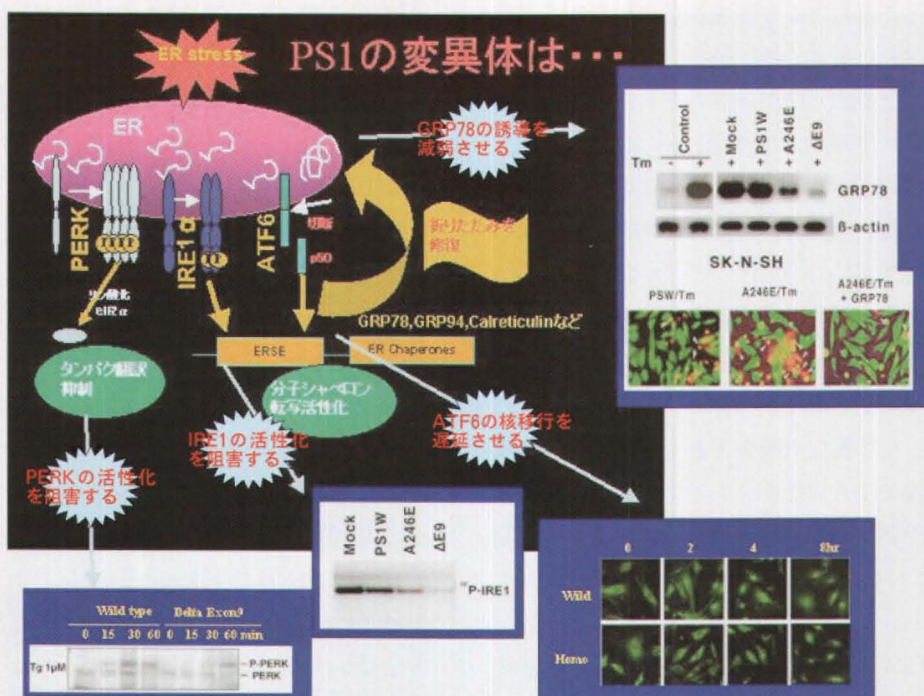


図8 本研究のまとめ: PS1発現細胞は小胞体ストレス後のストレストランスデューサー群の活性化を阻害する。PS1変異体がどのような機構でこれら3種類のストレストランスデューサーの活性化を阻害しているのか詳細なメカニズムは現時点では分かっていない。しかしながら、IRE1とPERKの小胞体内腔側の配列とATF6の小胞体内腔の配列は全く異なるのでそれぞれのストレストランスデューサーの活性化阻害をおこす共通した機構が存在するものと思われる。

に獲得した機能によって起きている現象であることが明らかになった。図8に全体のまとめの図を記す。

終わりに

アルツハイマー病の発症メカニズムの解析は全世界で非常に活発に行われており、Aβ仮説、タウ仮説という二大仮説に引っ張られて研究が進んできた。特にAβ仮説のここ数年の研究の進歩は目覚しく、PS1を中心としたγセクレターゼ複合体の詳細な解析によってAβ産生機構についてはほぼ解決に近づいた感もある。しかし、一方でAβ蓄積やタウの異常リン酸化が直接アルツハイマー病発症の引き金になっている証拠は依然明確ではない。このような背景のもと、我々は小胞体の働きによる蛋白質の品質管理機構に注目し、アルツハイマー病における神経細胞死が小胞体の機

能異常により引き起こされる可能性を示した。また、最近ER機能障害によってAβが産生されやすくなることが分かってきており、一方ではAβはERストレスとなり得ることから、ERの機能障害が上記二大仮説の増悪説としても矛盾しないと考えている。最近の論文を見ても小胞体という細胞内小器官についての研究が注目を集めてきていることは明らかであり、また、蛋白質の品質管理は小胞体だけではなく他の細胞内小器官においても重要であることから、今後、小胞体のみならずゴルジ体、リソソーム、などの各細胞内小器官の機能異常が他の変性疾患に関わる可能性を探っていくことは大変興味深いことであり、今後注目されるものと思われる。

謝辞

ここでご紹介させていただいた研究は多くの方

のご指導とご協力によって成り立ったものでここに深く感謝致します。特に研究の根本的な考え方から実技に至るまで細かい指導を下さった奈良先端科学技術大学院大学助教授・今泉和則先生、ATF6の核移行、プロセッシングに関する実験でご助力いただいた田辺製薬創薬研究所・本田章子先生、PS1I213Tノックインマウスをご提供くださった本学修士環境医学・中野有香先生、竹田潤二教授、アルツハイマー病脳に関して東北大学神経内科・津田丈秀先生、糸山泰人教授、ATF6の抗体提供と有意義な指摘を下さった京都大学助教授・森和俊先生、PS1ノックアウトマウス由来線維芽細胞提供および有意義なディスカッションを下さったトロント大学・Richard Rozmahel, Paul Fraser, Peter St.George-Hyslop教授、IRE1 α 及びPERK抗体をご提供くださり有意義なディスカッションに参加くださったニューヨーク大学・David Ron教授、PS1/PS2ダブルノックアウトマウス由来線維芽細胞をご提供くださり、ディスカッションに応じてくださったLeuven研究所・Bart De Strooper先生、研究の助言や幅広いディスカッションに参加して下さった本学大学院医学系研究科の米田託成、森泰丈、三好耕、五味文、森原剛史、人見淳一、眞部孝幸、板東良雄 各諸先生方、本学精神科の工藤喬先生、武田雅俊教授、田辺製薬創薬研究所・佐藤直也先生、理化学研究所・高島明彦先生、麻布大学・村山洋先生、そして、初めから最後まで暖かく研究を支えてくださったシスメックス株式会社・岩崎為雄先生、宝酒造・高木勉先生、そして研究室の主催者である遠山正彌教授に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Selkoe D.J.: Normal and abnormal biology of the beta-amyloid precursor protein. *Annu. Rev. Neurosci.* **17**, 489-517(1994)
- 2) Goate, A. et al.: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease.

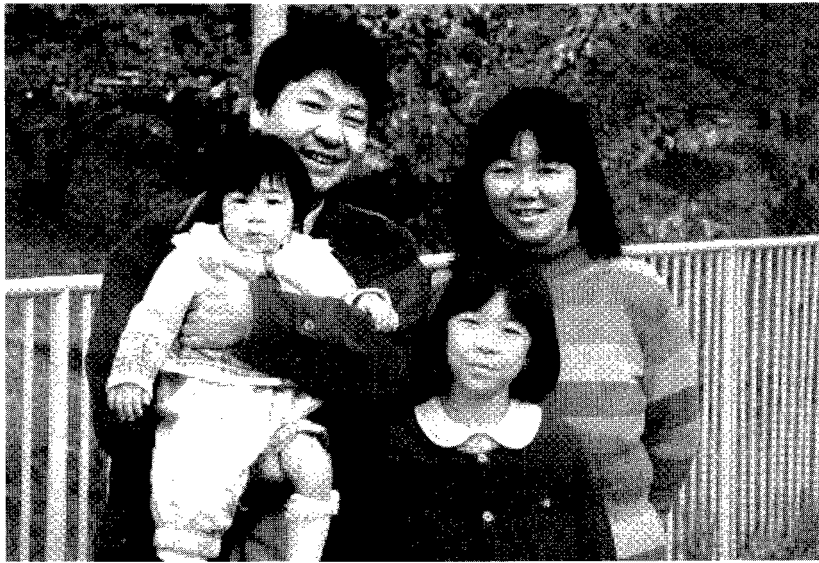
Nature **349**, 704-706(1991)

- 3) Sherrington, R. et al.: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* **375**, 754-760(1995)
- 4) Levy-Lahad et al.: Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* **269**, 973-977(1995)
- 5) Alzheimer's Disease Collaborative Group The structure of the presenilin-1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. *Nat. Genet.* **11**, 219-222(1995)
- 6) Campion D., Flaman J.M., Brice A., Hannequin D., Dubois B., Martin C., Moreau V., Charbonnier F., Didierjean O., Tardieu S., et al. Mutations of the presenilin I gene in families with early-onset Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet.* **4**, 2373-2377(1995)
- 7) Chapman J., Asherov A., Wang N., Treves T.A., Korczyn A.D., Goldfarb L.G. Familial Alzheimer's disease associated with S182 codon 286 mutation. *Lancet* **346**, 1040(1995)
- 8) Cruts M., Backhovens H., Van Gassen G., Theuns J., Wang S.Y., Wehnert A., van Duijn C.M., Karlsson T., Hofman A., Adolfsson R., et al. Mutation analysis of the chromosome 14q24.3 dihydrolipoyl succinyltransferase (DLST) gene in patients with early-onset Alzheimer disease. *Neurosci. Lett.* **199**, 73-77(1995)
- 9) Rogaev E.I., Sherrington R., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Liang Y., Chi H., Lin C., Holman K., Tsuda T., et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* **376**, 775-778(1995)
- 10) Wasco W., Pettingell W.P., Jondro P.D.,

- Schmidt S.D., Gurubhagavatula S., Rodes L., DiBlasi T., Romano D.M., Guenette S.Y., Kovacs D.M., et al. Familial Alzheimer's chromosome 14 mutations. *Nat. Med.* **1**, 848(1995)
- 11) Q. Guo, B.L. Sopher, K. Furukawa, D.G. Pham, N. Robinson, G.M. Martin and M.P. Mattson, Alzheimer's presenilin mutation sensitizes neural cells to apoptosis induced by trophic factor withdrawal and amyloid - peptide: involvement of calcium and oxyradicals. *J. Neurosci.* **17** 4212-4222(1997)
- 12) Q. Guo, B.L. Sopher, K. Furukawa, D.G. Pham, N. Robinson, G.M. Martin and M.P. Mattson, Increased vulnerability of hippocampal neurons to excitotoxic necrosis in presenilin-1 mutant knock-in mice. *Nat. Med.* **5**, 101-106(1999)
- 13) B. De Strooper, P. Saftig, K. Craessaerts, H. Vanderstichele, G. Guhde, W. Annaert, K. Von Figura and F. Van Leuven, Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* **391**, 387-390(1998)
- 14) Yu G, Nishimura M, Arawaka S, Levitan D, Zhang L, Tandon A, Song YQ, Rogaeva E, Chen F, Kawarai T, Supala A, Levesque L, Yu H, Yang DS, Holmes E, Milman P, Liang Y, Zhang DM, Xu DH, Sato C, Rogaev E, Smith M, Janus C, Zhang Y, Aebersold R, Farrer LS, Sorbi S, Bruni A, Fraser P, St George-Hyslop P. Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and betaAPP processing. *Nature* **407**(6800): 48-54(2000)
- 15) Kopan R, Goate A. Aph-2/Nicastrin: an essential component of gamma-secretase and regulator of Notch signaling and Presenilin localization. *Neuron*; **33**(3): 321-4(2002)
- 16) Esler WP, Kimberly WT, Ostaszewski BL, Ye W, Diehl TS, Selkoe DJ, Wolfe MS. Activity-dependent isolation of the presenilin- gamma -secretase complex reveals nicastrin and a gamma substrate. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **99**(5): 2720-5(2002)
- 17) Steiner H, Winkler E, Edbauer D, Prokop S, Basset G, Yamasaki A, Kostka M, Haass C. PEN-2 is an integral component of the gamma-secretase complex required for coordinated expression of presenilin and nicastrin. *J Biol Chem*; **277**(42): 39062-5(2002)
- 18) Tandon A, Fraser P. The presenilins. *Genome Biol*; **3**(11): reviews 3014(2002)
- 19) Wolfe MS, Xia W, Ostaszewski BL, Diehl TS, Kimberly WT, Selkoe DJ. Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma-secretase activity. *Nature*; **398**(6727): 513-7(1999)
- 20) K. Mori, A. Sant, K. Kohno, K. Normington, M.-J. Gething and J.F. Sambrook, A 22 bp cis-acting element is necessary and sufficient for the induction of the yeast KAR2 (BiP) gene by unfolded proteins. *EMBO J.* **11**, 2583-2593(1992)
- 21) K. Kohno, K. Normington, J. Sambrook, M.-J. Gething and K. Mori, The promoter region of the yeast KAR2 (BiP) gene contains a regulatory domain that responds to the presence of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Mol. Cell. Biol.* **13**, 877-890(1993)
- 22) J.S. Cox and P. Walter, A novel mechanism for regulating activity of a transcription factor that controls the unfolded protein response. *Cell* **87**, 391-404(1996)
- 23) W. Tirasophon, A.A. Welihinda and R.J.

- Kaufman, A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endoribonuclease (Ire1p) in mammalian cells. *Genes Dev.* **12**, 1812-1824(1998)
- 24) K. Haze, H. Yoshida, H. Yanagi, T. Yura and K. Mori, Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol. Biol. Cell* **10**, 3787-3799(1999)
- 25) H. Yoshida, T. Okada, K. Haze, H. Yanagi, T. Yura, M. Negishi and K. Mori, ATF6 activated by proteolysis binds in the presence of NF-Y/CBF directly to the cis-acting element responsible for the mammalian unfolded protein response. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 6755-6767(2000)
- 26) Y. Shi, K.M. Vattem, R. Sood, J. An, J. Liang, L. Stramm and R.C. Wek, Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Mol. Cell. Biol.* **18**, 7499-7509(1998)
- 27) H.P. Harding, Y. Zhang and D. Ron, Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature* **397**, 271-274(1999)
- 28) Hammond C, Helenius A. Quality control in the secretory pathway: retention of a misfolded viral membrane glycoprotein involves cycling between the ER, intermediate compartment, and Golgi apparatus. *J Cell Biol*; **126**(1): 41-52(1994)
- 29) Friedlander R, Jarosch E, Urban J, Volkwein C, Sommer T. A regulatory link between ER-associated protein degradation and the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol*; **2**(7): 379-84(2000)
- 30) 森和俊. 品質管理—不良品を市場に出さないために—/蛋白質の一生(中野明彦、遠藤斗志也編) 共立出版pp153-166(2000)
- 31) Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, Morihara T, Yoneda T, Gomi F, Mori Y, Nakano Y, Takeda J, Tsuda T, Itoyama Y, Murayama O, Takashima A, St George-Hyslop P, Takeda M, Tohyama M.. Presenilin-1 mutations downregulate the signaling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* **1**: 479-485(1999)
- 32) Nakano Y, Kondoh G, Kudo T, Imaizumi K, Kato M, Miyazaki JI, Tohyama M, Takeda J, Takeda M. Accumulation of murine amyloidbeta42 in a gene-dosage-dependent manner in PS1 'knock-in' mice. *Eur J Neurosci*; **11**(7): 2577-81(1999)
- 33) Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell*; **107**(7): 881-91(2001)
- 34) Lee K, Tirasophon W, Shen X, Michalak M, Prywes R, Okada T, Yoshida H, Mori K, Kaufman RJ. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes Dev* **16**(4): 452-66(2002)
- 35) Calton M, Zeng H, Urano F, Till JH, Hubbard SR, Harding HP, Clark SG, Ron D. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature*; **415**(6867): 92-6(2002)
- 36) J. Ye, R.B. Rawson, R. Komuro, X. Chen, U.P. Dave, R. Prywes, M.S. Brown and J.L. Goldstein, ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same

- proteases that process SREBPs. *Mol. Cell* **6**, 1355-1364(2000)
- 37) Katayama T, Imaizumi K, Honda A, Yoneda T, Kudo T, Takeda M, Mori K, Rozmahel R, Fraser P, George-Hyslop PS, Tohyama M. Disturbed activation of endoplasmic reticulum stress transducers by familial Alzheimer's disease-linked presenilin-1 mutations. *J Biol Chem*; **276**(46): 43446-54(2001)
- 38) Imaizumi, K. et al.:Presenilin and UPR. *Nat Cell Biol.* 3(5): E104, 2001
- 39) Niwa M, Sidrauski C, Kaufman RJ, Walter P. A role for presenilin-1 in nuclear accumulation of Ire1 fragments and induction of the mammalian unfolded protein response. *Cell*; **99**(7): 691-702(1999)



【筆者紹介】

片山 泰一（かたやま たいいち）

大阪大学大学院医学系研究科・未来医療開発専攻・ポストゲノム疾患解析学講座・プロセッシング機能形態分野（解剖学第2）・助手

博士（医学）

■略 歴

昭和39年大阪府に生まれる。

平成2年京都薬科大学大学院薬学研究科修了。同年田辺製薬入社。平成13年1月同社退職後、同年大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座 助手、現在にいたる。

■今後の抱負

常に病気を見据えた基礎研究を行っていきたいと考えています。具体的には原因不明の難治性神経変性疾患の原因を細胞内オルガネラの機能異常という観点からアプローチして治療への突破口を開きたい。

【平成14年度日本神経化学会最優秀奨励賞受賞記念レビュー】

薬物依存形成におけるdiazepam binding inhibitor (DBI) 発現とL型電依存性カルシウムチャネルの機能的関連性

桂 昌 司

(川崎医科大学・薬理学教室)

1. はじめに

薬物依存は薬物の長期投与により誘発される生体変化の1つであり、退薬後に禁断症状発現を特徴とする身体依存と、禁断症状を発症しない精神依存の2つの様式に分類される。近年、有機溶剤を含む依存性薬物の乱用により薬物依存症患者が増加の推移を示しており、本邦を含めた多くの国々で社会医学上の重要な問題となっている。しかし、依存性薬物による依存の成立機序の解明が未だ十分でため、適切な予防法および治療法が確立されていない。

依存性薬物による依存形成および退薬症候の発現機序の解明のために、従来より神経伝達物質動態、神経伝達物質に対応する受容体・トランスポーターおよび受容体と関連するセカンドメッセンジャー生成系の変動、蛋白質リン酸化酵素活性の変化、などの観点から多くの検討がなされているが、いずれも明確な見解は得られていない¹⁾。こうした見解の相違は、実験に供される依存動物モデルの作製法およびその依存形成の判定方法の違いなどに起因すると考えられることから、従来の方法を用いて薬物依存の成立機序を明らかにすることは困難と思われる。一方、薬物依存の形成には依存性薬物の中枢神経系への長期曝露に伴うある種の神経特異遺伝子の活性化と機能性蛋白質の合成変化を伴う神経系の長期変化が関与している可能性が考えられてきている。

身体依存を誘発する依存性薬物による依存形成時ならびに禁断症状発現時には、種々の神経症状（痙攣発作、振戦、せん妄など）および精神症状（抑鬱、不安、不眠、嫌悪感など）が誘発されるが、これらの症状の中には依存性薬物の種類に関係なく共通に認められるものも存在している。この事実は、薬物依存の成立過程ならびにその禁断症状の発現機序の一部に、共通の機序を介した神経機能変化が原因となっている可能性が推察されることから、これらの共通の症状発現に関連する機序を明らかにすることは、薬物依存成立機序の本体を明らかにする上で重要と考えられる。

本稿では、諸種の依存性薬物の投与に伴う薬物依存形成時あるいは退薬症候発現時に共通の精神症状の変化として「不安」を伴うことから、内在性不安誘発物質の一つとして同定されている脳内機能性蛋白質であるdiazepam binding inhibitor (DBI)²⁾に着目し、代表的な依存性薬物であるalcohol (ethanol), nicotineおよびmorphineの長期投与に伴う依存形成および退薬症候発現における脳内DBI発現変化の共通性について明らかにするとともに、その発現機序についてnicotineを例にとり検討した最近の研究成績を紹介し、併せてこれらの病態発現との機能的関連性とその意義について考察する。なお、DBIに関する生化学・薬理学的特性については他の総説を参照されたい^{3), 4)}。

2. 薬物依存とDBI

2-1. Alcohol依存における脳内DBIの変化

Alcoholの長期摂取は身体依存の形成のみならず、alcohol耐性の形成、およびalcohol関連精神病に分類されるalcohol幻覚症、酒客嫉妬妄想などをもたらす。Alcohol依存形成および退薬症候の発現は、他の薬物による薬物依存発現の場合と同様に、その成立機序の解明が適確な治療法や予防法の確立の面からも重要であると考えられる。しかし、alcoholはその化学構造上、生体内には特異的作用部位が存在していないと考えられており、このため数多くのモデル動物によりalcohol依存の成立機序についての神経化学的検討などがなされているに関わらず、未だ統一的な見解が得られていないのが現状である⁵⁾。

Alcohol依存形成時および退薬症候発現時に認められる代表的な精神症状の変化に「不安」があるが、この症状は中枢作用型 benzodiazepine (BDZ) 系薬物 (例えば diazepam や chlordiazepoxide など) の投与により临床上改善効果を示す^{6, 7)}ことから、alcohol依存形成および退薬症候の発現に中枢型BDZ受容体が関与していると考えられている。さらに、alcohol禁断症状発現時とBDZ受容体inverse agonist投与後のいずれにおいても、不安の増強、痙攣発作、心悸亢進や不眠を引き起こすことが報告されている^{2, 8-10)}。これらの事実は、alcohol退薬症候として認められる行動変化などはBDZ受容体inverse agonistの投与後に認められる症状に類似しているものと考えられる。また、内在性BDZ受容体inverse agonistであるDBIをラット脳室内に注入した場合、alcohol禁断症状に類似した行動変化を示すこと^{2, 11, 12)}、およびalcohol禁断症状はdiazepamなどのBDZ類の投与によって軽減されること、が報告されている^{13, 14)}。これらの実験成績から、alcohol禁断症状の発現には内在性BDZ受容体inverse agonistであるDBIの脳内変化が部分的に関与している可能性が考えられる。そこで、上述の多くの実験成績から得られた可能性を検討す

るために、筆者らはalcohol連続吸入に伴うalcohol依存形成およびalcohol禁断症状発現時におけるマウス大脳皮質DBI mRNA発現量ならびにDBI含量の変化について検討した。

まずalcoholの単回投与に伴うDBI mRNA発現量ならびに脳内DBI含量の経時変化について検討した。マウス大脳皮質内DBI含量およびDBI mRNA発現量のいずれも、alcoholの投与後48時間に至るまで何ら変化を示さなかった¹⁵⁾。同様に、初代培養マウス大脳皮質神経細胞 (神経細胞) にalcoholを15~60分間、一過性に曝露した後の経時変化について検討したところ、曝露後72時間まではDBI mRNA発現量に何ら影響を及ぼさなかった¹⁶⁾。以上の成績より、神経細胞へのalcoholの短時間曝露は脳内DBI量に対して何ら影響を及ぼさないことが判明した。一方、alcohol依存マウスにおけるDBI mRNA発現量は、alcohol非処置マウスに比して有意に増加していることが認められた (図1)¹⁵⁾。さらに、alcohol禁断症状が顕著に認められるalcohol吸入停止後8時間においては、DBI mRNA発現量は対照群に比して有意に増加するのみならず、alcohol依存群に対しても有意な高値を示した (図1)¹⁵⁾。

つぎに、alcohol吸入停止後に認められるマウス大脳皮質DBI mRNA発現量の変化と禁断症状発現時において認められるalcohol禁断スコア値との間の相関性について検討を加えた。alcohol禁断スコア値は、既報^{17, 18)}と同様にalcohol吸入停止後8時間で最大値を示し、以後急速に低下し、alcohol吸入停止後3日目には完全に消失した¹⁵⁾。一方、alcohol依存成立時において認められたDBI mRNA発現量の増加は、alcohol蒸気の吸入停止後さらに経時的に増強し、禁断スコア値が完全に消失するalcohol禁断開始後3日目において最大発現量を示した¹⁵⁾。なお、このDBI mRNA発現量の増強作用が完全に消失し、非alcohol非処置群のレベルにまで低下するのに14日を要した¹⁵⁾。

Alcohol依存成立時および禁断症状発現時のマ

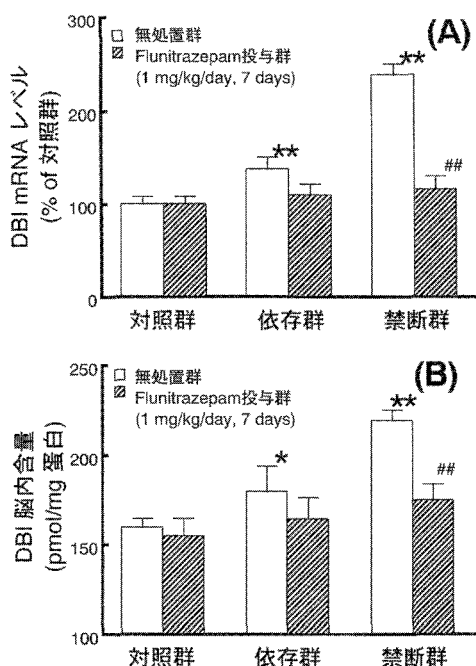


図1 Alcohol依存および禁断症状発現マウスにおける脳内DBI発現変化に対するflunitrazepamの抑制効果。
 * * $p < 0.01$ v.s. flunitrazepam非投与対照群。
 # # $p < 0.01$, flunitrazepam非投与禁断群。

ウス大脳皮質DBI含量は、いずれもalcohol非処置マウスに比して有意な増加を示し、前述のDBI mRNA発現増加の成績と同様に、alcohol投与中止後さらに経時的増加を示し、DBI mRNA発現量が最大値を示すalcohol投与中止後3日目に比して1日遅い4日目にDBI含量の最大値が認められた¹⁵⁾。また、このDBI含量の増加が完全に消失し、alcohol非処置群の値まで低下するのに要する日数についても、DBI mRNA発現量の場合と同様に14日を要した¹⁵⁾。同様の検討を神経細胞を用いて検討したところ、上述のalcohol依存動物で得られた成績と同様に、培養系からalcoholを除去することにより、DBI mRNA発現量は一過性に増強することが明らかとなった¹⁶⁾。

今回得られた成績において注目すべき点は、alcohol吸入停止後に認められたDBI mRNA発現量の増加が禁断スコア値の完全に消失する3日目

に最高値を示すのみならず、それ以降も漸減し対照群に認められるレベルに回復するまでに14日間を要していた点にある。Alcohol離脱症状の病態を考える場合、早期alcohol退薬症候として認められる痙攣発作や振戦せん妄などの精神神経機能異常の消失後においても、多動、いらいら、易刺激・易怒的不安、焦燥、抑うつなどに代表される退薬後情緒障害が認められることは周知の通りである。DBIをラット脳室内に注入することによりproconflict作用が認められるが、この動物行動の変化はヒトにおける不安症状の発現を反映していると考えられ²⁾、また男性alcohol依存症患者の髄液中におけるDBI含量も、対照群に比して有意に高いことが報告されていることから^{19, 20)}、今回の脳内DBI mRNA発現量の増加を介したDBI含量の増加は、alcohol離脱後において認められる精神症状の変化、特に「不安」の発現に関与している可能性が考えられる。しかし、今回の成績で明らかになったように、alcohol禁断症状のうち、痙攣発作に代表される運動機能異常の消失後においても、DBI mRNA発現量の増加が継続していることから、DBIの早期退薬症候発現時の運動機能の亢進への関与については明らかではない。

中枢型BDZ受容体agonistの投与により、alcohol禁断症状発現時に認められる痙攣発作が抑制される^{6, 7)}ことから、著者らは一連の研究において、alcohol投与に伴うDBI mRNA発現量ならびにDBI含量の変化とBDZ受容体の機能変化の関連性について検討した。中枢型BDZ受容体agonistであるflunitrazepamの単独投与は脳内DBI mRNA発現量に何ら影響を及ぼさなかったが、alcohol依存ならびに禁断症状発現時に認められたDBI mRNA発現量およびDBI含量の増加は、flunitrazepamの同時投与により完全に抑制された(図1)¹⁵⁾。同様に、神経細胞において認められたalcohol長期曝露に伴うDBI mRNA発現量の増加は、BDZ受容体のfull agonist (flunitrazepam)、inverse agonist (Ro15-4513) およびantagonist (fulmazenil; Ro15-1788) の

前処置により消失した²¹⁾。一方、BDZ受容体と共
 軛する GABA_A 受容体の特異的 agonist
 (muscimol) ならびに antagonist (bicuculline)
 の前処置は、alcohol誘発性 DBI mRNA 発現量の
 増加に影響を与えなかった²¹⁾。BDZ受容体作用薬
 が慢性 alcohol 投与により誘発される DBI mRNA
 発現量の増加を抑制したという今回の成績は、現
 在までに明らかにされている alcohol による GAB
 A 作動性神経機能の多様な修飾作用⁵⁾とを勘案す
 ると、alcohol は GABA_A 受容体複合体のうち、特
 に BDZ 受容体に作用することにより、DBI
 mRNA 発現量の調節機構に変化を生じさせる可
 能性が考えられるが、その詳細な機序の解明につ
 いては今後の研究課題と考えられる。

2-2. Morphine 依存における脳内 DBI の変化

Morphine は身体依存を誘発する代表的な依存
 性薬物であることから、その依存成立機序の解明
 が行われてきた。しかし、依存モデル動物作製法
 の違いなどから得られる成績に統一性が認められ
 ないことなどから、その十分な成立機序の解明は
 なされていない。Morphine の長期連用により身
 体依存が形成されると、morphine 投与の中止に
 より alcohol などの他の依存性薬物の場合と同様
 に、抑うつ、不安などの症状を中心とした退薬症
 候が発現する。この事実は DBI が morphine 依存
 成立の機序に対しても同様に関与している可能性
 を示唆するものと考えられる。そこで、morphin
 e の単回もしくは連続投与に伴うマウス脳内 DBI
 mRNA 発現量の経時変化について検討し、併せ
 てその機序の解析を試みた。

Morphine の単回投与は、morphine の投与後 2
 4 時間に至るまでマウス大脳皮質 DBI mRNA 発
 現量に対し何ら変化も与えなかった²²⁾。一方、
 morphine をマウスに 5 日間連続投与すること
 により morphine 依存を誘発させるか、あるいは神
 経細胞に morphine を長期曝露した場合の DBI
 mRNA 発現量は、対照群に比して有意な増加を
 示した (図 2)²²⁾。さらに、禁断 (自然禁断およ

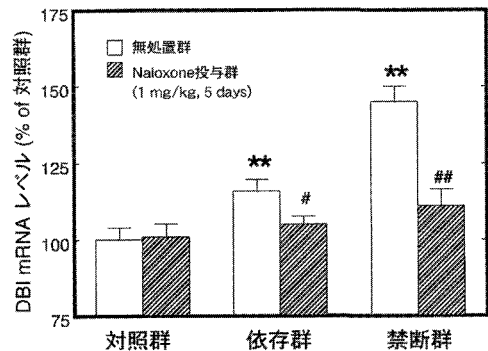


図 2 Morphine 依存および禁断症状発現マウス
 における脳内 DBI mRNA 発現変化に対する
 naloxone の抑制効果。
 * * $p < 0.01$ v.s. naloxone 非投与対照群。
 # # $p < 0.01$, 各 naloxone 非投与群。

び naloxone 誘発性禁断) 発現時にはマウス大脳
 皮質および神経細胞のいずれの DBI mRNA 発現
 量も、morphine 非処置群に比して有意に増加す
 るのみならず、禁断開始直前の発現量に対しても
 有意に増加することが確認された (図 2)²²⁾。

Morphine は μ -opioid 受容体に対して比較的選
 択性が高いことが知られている。そこで、
 Morphine の連続投与に伴う脳内 DBI mRNA 発
 現量の増加が opioid 受容体を介する変化か否かを
 検討した。その結果、morphine の連続投与に伴
 うマウス大脳皮質内 DBI mRNA 発現量の増加は、
 非選択的 opioid 受容体拮抗薬である naloxone の
 併用投与により完全に消失した (図 2)²²⁾。以上
 の成績より、morphine の長期投与により脳内 DB
 I mRNA 発現量が増加することから、morphine
 依存の形成には DBI の脳内変化が関与しているこ
 とが、またこの増加には μ -opioid 受容体の活性
 化が関与している可能性が考えられる。

2-3. Nicotine 依存における脳内 DBI の変化

喫煙による精神・神経機能変化の多くが、タバ
 コに含まれる nicotine の薬理作用によるものであ
 る。Nicotine は脳内中枢型 nicotinic
 acetylcholine (nACh) 受容体を活性化すること
 により、各種神経伝達物質 (dopamine、
 serotonin、acetylcholine、noradrenaline など)

の遊離を誘発し、快感・覚醒、不安軽減および認知機能や作業能率の改善などの薬理作用が出現する²³⁾。しかし、nicotineの反復投与により中枢型nACh受容体に機能的順応が生じると依存が形成され、nicotineの休薬時には易怒、抑鬱、不安、睡眠障害、緊張、集中力低下、食欲亢進などの症状が出現する。一般に、nicotineによる依存発現の機序は、他の薬物依存成立機序の場合と同様に、腹側被蓋野から側坐核へ投射するdopamine作動性神経系が関与していることが推察されている。一方、最近の報告によると、nicotineの主要代謝物の1つであるcotinineがnicotineと同様の鎮静、快感など精神安定作用に加え、不穏、不安、緊張などの症状も発現させる作用を有することが明らかにされているが²⁴⁾、cotinineは中枢型nACh受容体に対して親和性が極めて低い²⁵⁾。したがって、nicotine依存成立にcotinineやnor-nicotineなどのnicotine代謝物が関与している可能性も否定できず、これらの物質に関する解析も必要であると考えられる。

Nicotineの長期連用に伴い精神依存が形成されると、nicotine投与の中止によりalcohol退薬症候発現時の場合と同様に、抑うつ、不安などの症状を中心とした退薬症候が発現することから²³⁾、DBIは広く依存性薬物による依存成立の機序に関与している可能性があると考えられる。筆者はDBIの脳内変化がalcohol依存形成に特異的な変化であることのみならず、他の依存性薬物による依存形成にも関与している可能性を検討する目的で、nicotineの単回もしくは反復投与に伴うDBI mRNA発現量ならびに脳内DBI含量の経時変化について検討し、併せてnicotine投与による脳内DBI量の発現機序の検討を行った。

Nicotineの単回投与は、マウス大脳皮質内DBI mRNA発現量およびDBI含量に対し、nicotineの投与後48時間に至るまで何ら変化を示さなかった²⁶⁾。同様に、神経細胞にnicotineを一過性に曝露した場合にも、DBI mRNA発現量には影響を及ぼさなかった²⁷⁾。一方、nicotineをマウスに連

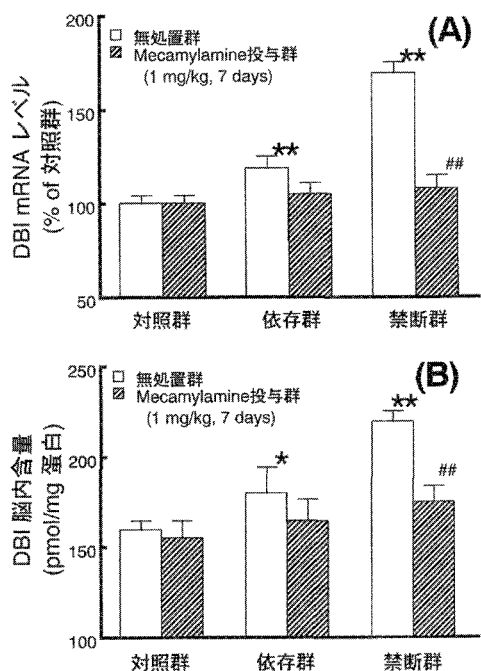


図3 Nicotine依存および禁断症状発現マウスにおける脳内DBI変化に対するmecamylamineの抑制効果。

* * $p < 0.01$ v.s. mecamylamine 非投与対照群。

$p < 0.01$, mecamylamine 非投与禁断群。

続投与することによりnicotine依存を誘発させた場合には、DBI mRNA発現量およびDBI含量は、対照群に比して有意な増加を示した(図3)²⁶⁾。さらに、神経細胞にnicotineを長期曝露した場合におけるDBI mRNA発現量およびDBI含量についても検討したところ、対照群に比して有意な増加を示した²⁷⁾。さらに、nicotine禁断時にはマウス大脳皮質および神経細胞のいずれのDBI mRNA発現量も、nicotine非処置群に比して有意に増加するのみならず、禁断開始直前の発現量に対しても有意に増加することが確認された(図3)^{26), 27)}。一方、nicotineの連続投与に伴うマウス大脳皮質内DBI mRNA発現量ならびにDBI含量の増加は、中枢型nACh受容体拮抗薬であるmecamylamineの前処置により完全に消失した²⁶⁾。神経細胞についても同様に、nicotineの長期曝露に伴うDBI mRNAの発現量の増加は、

hexamethoniumの前処置により完全に消失した²⁷⁾。以上の成績より、nicotineにより引き起こされるDBI 発現の増加が、中枢型nACh受容体を介する変化であること、さらにこの受容体の活性化が維持された場合にのみDBIの発現が生じること、nicotineの連続摂取後の休業時に認められる精神症状の1つである「不安」は、上述の脳内DBI含量の増加に起因している可能性が考えられる。

3. DBI発現と細胞内Ca²⁺動態

3-1. DBI mRNA発現に及ぼす細胞内Ca²⁺動態変化

中枢神経系において中枢型nACh受容体は5つのsubunitから構成されており²⁸⁾、多様な機能発現を招来させるが²⁹⁾、acetylcholineやnicotine刺激による脱分極を介して諸種のカチオン流入^{29, 30)}、特にCa²⁺の透過性亢進により細胞内へのCa²⁺流入が促進される^{31, 32)}。この神経細胞におけるCa²⁺透過性の亢進が、nicotineの中枢作用（記憶力増加、自発運動量増加、痙攣、易刺激性低下、食欲低下、糖利用亢進など）を誘発すると考えられている^{33, 34)}。また、中枢型nACh受容体の活性化は、acetylcholine、dopamine、 γ -aminobutyric acid (GABA)、glutamic acidやserotoninなどの神経伝達物質の放出促進を介した中枢神経機能変化に関与しており、この中枢型nACh受容体の神経伝達物質放出促進作用は諸種の高電位開口性Ca²⁺チャネル（HVCC）阻害薬により抑制されることから、HVCCが中枢型nACh受容体の活性化による神経伝達物質の促進に重要な役割と担っているのに加え、神経細胞膜の脱分極により誘発されるHVCCの開口は中枢型nACh受容体の神経細胞膜機能変化にも修飾を与える可能性が示唆されている³⁵⁾。

中枢型nACh受容体へのnicotineによる急性および慢性作用は、nicotine耽溺にみられるnicotine耐性、依存および退薬症候の発現に関与していると考えられる^{36, 37)}。Nicotineの長期曝露

に伴う脳内DBI 発現の増加が中枢型nACh受容体を介する変化であることから、中枢型nACh受容体の長期活性化がいかなる機序を介してDBI mRNA発現量を増加させるのかについて検討した。中枢型nACh受容体の活性化は神経細胞膜の脱分極をもたらすことから、脱分極阻害薬、局所麻酔薬、およびNa⁺チャネル阻害薬のDBI mRNA発現に及ぼす影響について検討したところ、これらいずれの薬物の前処置によってもnicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加は完全に抑制された³⁸⁾。さらに、中枢型nACh受容体活性化に伴うシナプス膜の脱分極は、HVCCの活性化を誘発することから、nicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加に及ぼすHVCCの活性化の影響について検討した。その結果、L型HVCC阻害薬をnicotineと共存させた場合にのみ、nicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加が抑制された（図4）³⁸⁾。また、細胞内Ca²⁺濃度の上昇に伴い諸種の細胞内情報伝達系が活性化することはよく知られているが、その中でも特にCa²⁺/calmodulin系が活性化されることから³⁹⁾、nicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加に及ぼすこれら阻害薬の影響についても検討を加えた。その結果、nicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加はcalmodulin阻害薬およびCAM kinase II阻害薬の共存により完全に抑制された³⁸⁾。これらの実験成績から、nicotine誘発性DBI mRNA発現量の増加には中枢型nACh受容体の活性化に続く神経細胞膜の脱分極と、それに付随するL型HVCCを介したCa²⁺の流入に伴う細胞内Ca²⁺濃度の上昇とCa²⁺/calmodulin系の活性化が関与していることが考えられる。

3-2. nACh受容体とHVCC

Nicotineは中枢型nACh受容体の活性化を介して種々の神経伝達物質（例えばACh、dopamine、serotonin、GABAなど）の放出を促進する。HVCC阻害薬はこのnicotineによる神経伝達物質放出促進作用を阻害することから、nicotineによ

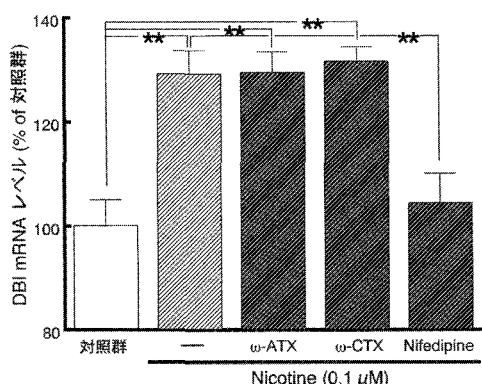


図4 Nicotine連続曝露に伴うDBI mRNA 発現増加に対する各種HVCC 拮抗薬の効果。使用薬物濃度： ω -ATX, ω -アガトキシンIV A (1 μ M); ω -CTX, ω -コノトキシンGVIA (1 μ M); ニフェジピン (1 μ M)。* * $p < 0.01$ 。

るこれら神経伝達物質の放出機構にHVCCが関与していると考えられている³⁵⁾。近年、N型HVCCと同様にL型HVCCにも神経伝達物質放出作用が認められることが明らかとなり⁴⁰⁻⁴⁴⁾、さらにL型HVCCを介した細胞外から細胞内への Ca^{2+} 流入がリン酸化反応を介して蛋白質機能や転写調節を修飾することも報告されている⁴⁵⁻⁴⁷⁾。したがって、nicotineの長期曝露による中枢型nACh受容体のup-regulationに続くL型HVCCの機能亢進が神経細胞における諸種の生化学的過程を修飾する可能性が推測される。事実、nicotineの神経細胞への連続曝露に伴うDBI発現の増加には Ca^{2+} 流入増加が関与することが今回の一連の研究において明らかとなっている³⁸⁾。

そこで、つぎにnicotine連続曝露後に見られる神経細胞への Ca^{2+} 流入変化の機序について中枢型nACh受容体ならびにHVCCを有する神経細胞を用いて検討を加えた。その結果、神経細胞膜の脱分極を誘発する30 mM KClの神経細胞への刺激に伴う $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入量は、nicotineの曝露時間ならびに曝露濃度に依存して増加し⁴⁸⁾、この増加はnACh受容体拮抗薬であるmecamylamineの共存により抑制されたことから⁴⁸⁾、nicotineによる中枢型nACh受容体の持続的刺激に起因するものと考えられる。また、中枢神経系に存在する神経細胞

には少なくともP、Q、NおよびL型の4種類のHVCC subtypeが存在することから^{49, 50)}、nicotine長期曝露に伴う30 mM KCl誘発性 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入の増加が、これらHVCC subtypeのすべて、もしくは一部の機能亢進が関与している可能性が考えられる。そこで、諸種のHVCC subtype阻害薬存在下において $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入の変化を測定したところ、nicotine長期曝露による $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入増加はL型HVCC拮抗薬によってのみ抑制されることが明らかとなった(図5)⁴⁸⁾。さらに、L型HVCC 活性化薬であるBay k 8644により誘発される $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入はnicotine長期曝露により有意に増強されることも明らかとなった⁴⁸⁾。これらの実験成績から、神経細胞へのnicotine長期曝露により誘発される $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入の増加はL型HVCCの機能亢進に起因していると考えられる。

持続的な中枢型nACh受容体の活性化によりL型HVCCのup-regulationが生じる可能性については、 ^3H verapamil結合実験の結果から、 ^3H verapamil結合の増加はBmax値の増加に起因しており⁴⁸⁾、 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入実験の成績と考え併せると、nicotine長期曝露によりL型HVCCのup-regulationが生じている可能性が考えられる。また、Western およびNorthern blot法による解析から、L型HVCCを構成するsubunitのうち、 $\alpha 1\text{C}$ 、 $\alpha 1\text{D}$ 、 $\alpha 2/\delta 1$ 、 $\alpha 1\text{F}$ subunitの発現増加が認められたが、L型HVCC $\beta 4$ subunit、P/Q型VDCC $\alpha 1\text{A}$ subunitおよびN型VDCC $\alpha 1\text{B}$ subunitには変化が認められなかった(図6)⁴⁸⁾。これらの結果から、nicotine長期曝露により、L型HVCC $\alpha 1$ および $\alpha 2/\delta 1$ subunit数の増加に起因するL型HVCCsのup-regulationが生じていることが明らかとなった⁴⁸⁾。

本研究において、nicotineの72時間曝露における ^3H nicotine結合実験では ^3H nicotine結合部位の増加が認められたが、中枢型nACh受容体の ^3H nicotineに対する親和性には変化が認められなかった。Nicotineを長期投与した動物⁵¹⁻⁵³⁾と神経細胞へのnicotine曝露^{53, 54)}による ^3H nicotine

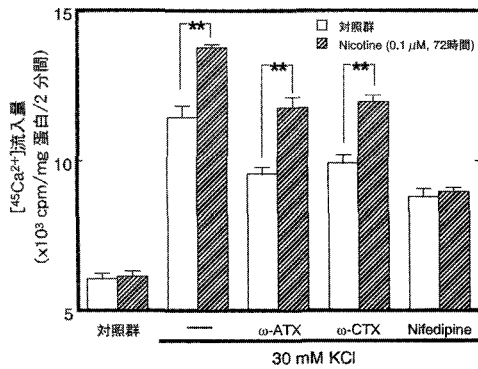


図5 Nicotine長期曝露後の初代培養大脳皮質神経細胞における30 mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入に対する各種HVCC拮抗薬の効果。使用薬物濃度： ω -ATX, ω -アガトキシンIVA (1 μM); ω -CTX, ω -コノトキシンGVIA (1 μM); nifedipine (1 μM)。* * $p < 0.01$ 。

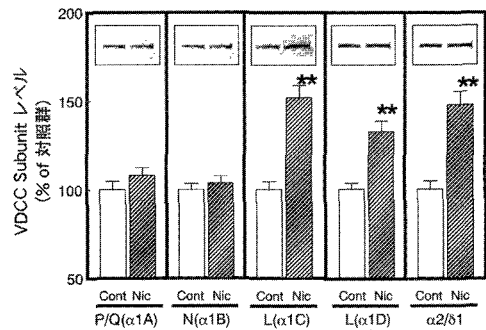


図6 初代培養大脳皮質神経細胞におけるHVCC subunit蛋白のnicotine長期曝露による発現変化。* * $p < 0.01$ v.s. 対照群。Cont: 対照群, Nic: nicotine処置群。1

結合実験での検討でも同様の中枢型nACh受容体 up-regulationが報告されており、本研究結果と一致している。

中枢型nACh受容体には種々のsubtypeにより、これにより中枢型nACh受容体の機能的多様性が出現することはよく知られている。大脳皮質においては α および β subunitが不均一に分布している⁵⁵⁾、神経細胞あるいは非神経細胞に中枢型nACh受容体を発現させた場合、中枢型nACh受容体のup-regulationは $\alpha 4/\beta 2$ 、 $\alpha 3/\beta 4$ および $\alpha 7$ subunit数増加によることが報告されている^{54, 56, 57)}。さらに、 $\alpha 4/\beta 2$ subunitにより構成される中枢型nACh受容体は10~100nMの低濃度nicotineによっても活性化され⁵⁴⁾、nicotineの長期曝露によってup-regulationが誘発されることが報告されている^{54, 58-60)}。これらの成績を勘案し、本研究で用いた中枢型nACh受容体のup-regulationを誘発する条件下で $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ および $\beta 2$ subunitの発現変化を検討したところ、 $\alpha 4/\beta 2$ により構成されるnACh受容体のup-regulationが誘発されたことから、本研究で用いた神経細胞におけるnicotineの長期曝露に伴う中枢型nACh受容体のup-regulationは生体内で生じている現象と同一である可能性が高いと考えられ、したがっ

てnicotine長期曝露に誘発されるL型HVCCsのup-regulationも生体内変化と同一であると判断される。

本研究では、中枢型nACh受容体がup-regulationを誘発しているにも関わらず、nicotine刺激によりup-regulationを惹起したL型HVCCを介して神経細胞内への $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入が増加する成績を得た。電気生理学的検討では、中枢型nACh受容体のup-regulationの結果として受容体の脱感作が認められるが、この脱感作は単にnicotineに対する反応低下であり、nicotineに対する反応性が完全に消失しているのではないことが報告されている⁵⁹⁾。したがって、本研究で得られた低濃度のnicotineの長期曝露により中枢型nACh受容体にup-regulationが誘発されている場合でも、nicotine刺激により中枢型nACh受容体が神経細胞膜を脱分極を誘発したことは、nicotineの長期曝露後においても中枢型nACh受容体がL型HVCCを開口させる機能は維持されているものと考えられる。

4. おわりに

本稿では依存性薬物としてalcohol, nicotineおよびmorphineを取り上げ、これら薬物による依存形成時ならびに退薬症候発現時にDBIおよびDBI mRNA発現量が増加することを明らかにし

た。この事実は、DBIが単に薬物依存の形成およびその退薬症候発現に機能的に関与していることを明らかにしたことのみにらず、その発現機序は異なる薬理作用を有する諸種の依存性薬物による依存の成立過程、およびその退薬症候発現に連関する共通の生化学的変化の1つである可能性を示す所見と考えられ、この変化は依存性薬物による依存形成および退薬症候発現機序の解明の手掛かりとして重要性は高いと考えられる。今後、これらの病態下におけるDBI発現の詳細な発現機序の解析と、これに付随する細胞内情報伝達系の変化を明らかにすることが、薬物依存形成機序を解明するための一助となることが期待される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の遂行にあたり御指導・御鞭撻を賜りました大熊誠太郎教授（川崎医科大学薬理学）に深甚なる謝意を表しますとともに、本研究遂行に御協力頂いた川崎医科大学薬理学教室員各位に深謝致します。なお、本研究の一部は厚生労働省科学研究助成金および文部科学省科学研究助成金の援助により行われた。

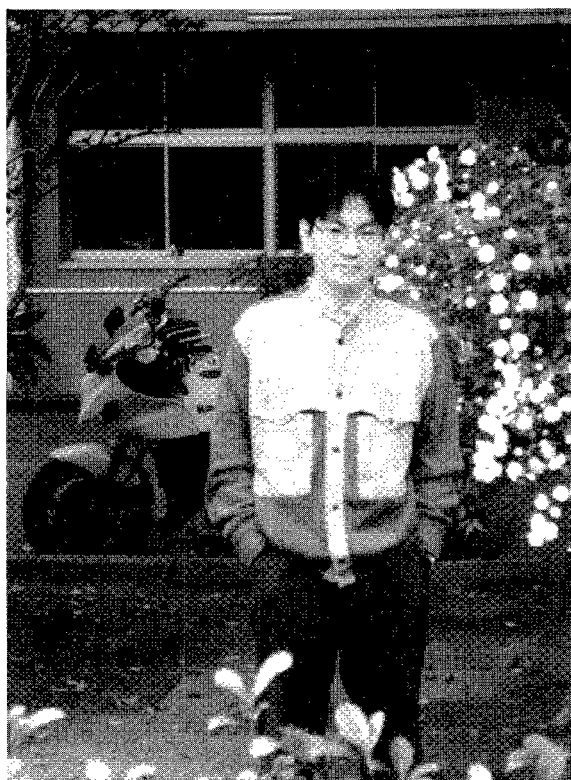
文 献

- 1) Hutchinson, M.A., Smith, P.F. and Darlington, N. The behavioural and neuronal effects of the chronic administration of benzodiazepine anxiolytic and hypnotic drugs. *Prog. Neurobiol.* **49**, 73-97(1996).
- 2) Corda, M.G., Ferrari, M., Guidotti, A., Konkel, D. and Costa, E. Isolation, purification and partial sequence of a neuropeptide (diazepam-binding inhibitor) precursor of an anxiogenic putative ligand for benzodiazepine recognition site. *Neurosci. Lett.* **47**, 319-324(1984).
- 3) Ohkuma, S., Katsura, M. and Tsujimura, A. Alterations in cerebral diazepam binding inhibitor expression in drug dependence: a possible biochemical alteration common to drug dependence. *Life Sci.* **68**, 1215-1222(2001).
- 4) 桂 昌司. 薬物依存形成に伴う脳内diazepam binding inhibitor (DBI) の機能的変化とその意義. *日薬理誌*. **117**, 159-168 (2001).
- 5) Kuriyama, K. and Ohkuma, S. Alteration in the function of cerebral neurotransmitter receptors during the establishment of alcohol dependence. *Neurochem. Aspects. Alcohol Alcoholism* **25**, 239-249(1990).
- 6) Ozdemir, V., Bremner, K.E. and Naranjo, C.A. Treatment of alcohol withdraw syndrome. *Ann. Med.* **26**, 101-105(1994).
- 7) Bird, R.D. and Makela, E.H. Alcohol withdrawal: what is the benzodiazepine of choice? *Ann. Pharmacother.* **28**, 67-71(1994).
- 8) Ferarese, C., Appollonia, I., Bianchi, G., Frigo, M., Marzorati, C., Pecora, N., Perego, M., Pierpaoli, C. and Frattola, L. Benzodiazepine receptors and diazepam binding inhibitor: a possible link between stress, anxiety and the immune system. *Psychoneuroendocrinol.* **18**, 3-22(1993).
- 9) Guidotti, A., Ferrero, P. and Costa, E. On the brain endocoid for benzodiazepine recognition sites. *Prog. Clin. Biol. Res.* **192**, 477-484(1985).
- 10) Ferrero, P., Conti-Tronconi, B. and Guidotti, A. DBI, an anxiogenic neuropeptide found in human brain. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* **41**, 177-185(1986).
- 11) Marquardt, H., Todaro, G.J. and Shoyab, M. Complete amino acid sequences of bovine and human endozepines. Homology with rat diazepam binding inhibitor. *J. Biol. Chem.* **261**, 9727-9731(1986).
- 12) Guidotti, A., Forchetti, C.M., Konkel, D., Bennett, C.D. and Costa, E. Isolation,

- characterization and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 3531-3553(1984).
- 13) Ticku, M.K. Alcohol and GABA-benzodiazepine receptor function. *Ann. Med.* **22**, 241-246(1990).
- 14) Kopri, E.R. Role of GABA_A receptors in the actions of alcohol and in alcoholism: recent advances. *Alcohol Alcoholism* **29**, 115-129(1994).
- 15) Katsura, M., Ohkuma, S., Tsujimura, A. and Kuriyama, K. Increase of diazepam binding inhibitor mRNA levels in the brains of chronically ethanol-treated and-withdrawn mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **273**, 1529-1533(1995).
- 16) Katsura, M., Ohkuma, S., Xu, J., Tsujimura, A. and Kuriyama, K. Ethanol stimulates diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA expression in primary cultured neurons. *Mol. Brain Res.* **34**, 355-359(1995).
- 17) Goldstein, D.B. Relationship of alcohol dose to intensity of withdrawal signs in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **180**, 203-215(1972).
- 18) Goldstein, D.B. Alcohol withdrawal reaction in mice: effects of drugs that modify neurotransmission. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **186**, 1-9(1973).
- 19) Roy, A., De-Jong, J., Adinoff, B., Barbaccia, M., Costa, E., Guidotti, A. and Linnoila, M. CSF diazepam-binding inhibitor in alcoholics and normal controls. *Psychiatry Res.* **31**, 261-266(1990).
- 20) Roy, A., De-Jong, J., Lamparski, D., Adinoff, B., George, T., Moore, V., Garnett, D., Kerich, M. and Linnoila, M. Mental disorders among alcoholics. Relationship to age of onset and cerebrospinal fluid neuropeptides. *Arch. Gen. Psychiatry* **48**, 423-427(1991).
- 21) Katsura, M., Ohkuma, S., Tsujimura, A., Xu, J., Hibino, Y., Ishikawa, E. and Kuriyama, K. Functional involvement of benzodiazepine receptors in ethanol-induced increases of diazepam binding inhibitor (DBI) and its mRNA in the mouse brain. *Mol. Brain Res.* **54**, 124-132(1998).
- 22) Katsura, M., Hara, A., Higo, A., Tarumi, C., Hibino, Y. and Ohkuma, S. Continuous treatment with morphine increases diazepam binding inhibitor mRNA in mouse brain. *J. Neurochem.* **71**, 2638-2641(1998).
- 23) Paterson, D. and Nordberg, A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog. Neurobiol.* **61**, 75-111(2000).
- 24) Keenan, R.M., Hatsukami, D.K., Pentel, P.R., Thompson, T.N. and Grillo, M.A. Pharmacodynamic effects of cotinine in abstinent cigarette smokers. *Clin. Pharmacol. Exp. Ther.* **55**, 581-590(1994).
- 25) Anderson, D.J. and Arneric, S.P. Nicotine receptor binding of [³H]cytisine, [³H]nicotine and [³H]methylcarbamylcholine in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* **253**, 261-267(1994).
- 26) Katsura, M., Ohkuma, S., Xu, J., Hibino, Y., Tsujimura, A. and Kuriyama, K. Continuous treatment with nicotine increases diazepam binding inhibitor (DBI) and its mRNA in the mouse brain. *Mol. Brain Res.* **55**, 345-349(1998).
- 27) Katsura, M., Ohkuma, S., Chen, D.-T., Tsujimura, A. and Kuriyama, K. Nicotine increases diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA in primary cultured neurons. *Neurosci. Lett.* **168**, 1-4(1994).

- 28) Brisson, A. and Unwin, P.N. Quaternary structure of the acetylcholine receptor. *Nature* **315**, 474-477(1985).
- 29) Sargent, P.B. The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Ann. Rev. Neurosci.* **16**, 403-443(1993).
- 30) Role, L.W. Diversity in primary structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2**, 254-262(1992).
- 31) Connolly, J.G. Structure-function relationships in nicotinic acetylcholine receptor. *Complement. Biochem. Physiol.* **93**, 221-231(1989).
- 32) Vernino, S., Amador, M., Luetje, C.W., Pareick, J. and Dani, J.A. Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* **8**, 127-134(1992).
- 33) Clarke, P.B. Nicotine and smoking: a perspective from animal studies. *Psychopharmacol. Berl.* **92**, 135-143, (1987).
- 34) Ochoa, E.L. Nicotine-related brain disorders: the neurobiological basis of nicotine dependence. *Cell. Mol. Neurobiol.* **14**, 195-225(1994).
- 35) Vizi, E.S. and Lendvai, B. Modulatory role of presynaptic nicotinic receptors in synaptic and non-synaptic chemical communication in the central nervous system. *Brain Res. Rev.* **30**, 219-235(1999)
- 36) Balfour, D.J. Neural mechanisms underlying nicotine dependence. *Addiction* **89**, 1419-1423(1994).
- 37) Dani, J.A. and Heinemann, S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron* **16**, 905-908, (1996).
- 38) Katsura, M., Higo, A., Tarumi, C., Tsujimura, A., Takesue, M., Mohri, Y., Shuto, K. and Ohkuma, S. Mechanism for increase in expression of cerebral diazepam binding inhibitor mRNA by nicotine: involvement of L-type voltage-dependent calcium channels. *Mol. Brain Res.* **70**, 132-141(2000).
- 39) Chakravarthy, B., Morley, P. and Whutfield, J. Ca^{2+} -calmodulin and protein kinase Cs: a hypothetical synthesis of their conflicting convergences on shared substrate domains. *Trends Neurosci.* **22**, 12-16(1999).
- 40) Bonci, A., Grillner, P., Mercuri, N.B. and Bernardi, G. L-Type calcium channels mediate a slow excitatory synaptic transmission in rat midbrain dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* **18**, 6693-6703(1998).
- 41) Protti, D.A. and Llano I. Calcium currents and calcium signaling in rod bipolar cells of rat retinal slices. *J. Neurosci.* **18**, 3715-3724(1998).
- 42) Takahashi, T. and Momiyama, A. Different types of calcium channels mediate central synaptic transmission. *Nature* **366**, 156-158(1993).
- 43) Wheeler, D.B., Randall, A. and Tsien, R.W. Roles of N-type and Q-type Ca^{2+} channels in supporting hippocampal synaptic transmission. *Science* **264**, 107-111(1994).
- 44) Fossier, P., Tauc, L. and Baux, G. Calcium transients and neurotransmitter release at an identified synapse. *Trends Neurosci.* **22**, 161-166(1999).
- 45) Thompson, M.A., Ginty, D.D., Bonni, A. and Greenberg, M.E. L-Type voltage-sensitive Ca^{2+} channel activation regulates c-fos transcription at multiple levels. *J. Biol. Chem.* **270**, 4224-4235(1995).
- 46) Monjaraz, E., Navarrete, A., Lopez-Santiago, L.F., Vega, A.V., Arias-Montano,

- J.A. and Cota, G. L-Type calcium channel activity regulates sodium channel levels in rat pituitary GH3 cells. *J. Physiol.* **523**, 45-55(2000).
- 47) Robidoux, J., Simoneau, L., Masse, A. and Lafond, J. Activation of L-type calcium channels induces corticotropin-releasing factor secretion from human placental trophoblasts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 3356-3364(2000).
- 48) Katsura, M., Mohri, Y., Shuto, K., Hai-Du, Y., Amano, T., Tsujimura, A., Sasa, M. and Ohkuma S. Up-regulation of L-type voltage-dependent calcium channels after long term exposure to nicotine in cerebral cortical neurons. *J. Biol. Chem.* **277**, 7979-7988(2002).
- 49) Tareilus, E. and Breer, H. Presynaptic calcium channels: pharmacology and regulation. *Neurochem. Int.* **26**, 539-558(1995).
- 50) Mori, Y., Mikala, G., Varadi, G., Kobayashi, T., Koch, S., Wakamori, M. and Schwarz, A. Molecular pharmacology of voltage-dependent calcium channels. *J. Pharmacol. Sci.* **72**, 83-109(1996).
- 51) Rowell, P.P., and Li, M. Dose-response relationship for nicotine-induced up-regulation of rat brain nicotine receptors. *J. Neurochem.* **68**, 1982-1989(1997).
- 52) Ke, L., Eisenhour, C.M., Bencherif, M., and Lukas, R.J. Effects of chronic nicotine treatment on expression of diverse nicotinic acetylcholine receptor subtypes. I. Dose- and time- dependent effects of nicotine treatment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **286**, 825-840(1998).
- 53) Warpman, U., Friberg, L., Gillespie, A., Hellström-Lindahl, E., Zhang, X., and Nordberg, A. Regulation of nicotinic receptor subtypes following chronic nicotinic agonist exposure in M10 and SH-SY5Y neuroblastoma cells, *J. Neurochem.* **70**, 2028-2037(1998).
- 54) Bencherif, M., Fowler, K., Lukas, R.J., and Lippiello, P.M. Mechanisms of up-regulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in clonal cell lines and primary cultures of fetal rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **275**, 987-994(1995).
- 55) Jones, S., Sudweeks, S., and Yakel, J.L. Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. *Trends Neurol. Sci.* **22**, 555-561(1999).
- 56) Peng, X., Anand, R., Whiting, P., and Lindstrom, J. Nicotine-induced upregulation of neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of turnover. *Mol. Pharmacol.* **46**, 523-530(1994).
- 57) Lukas, R.J., Ke, L., Bencherif, M., and Eisenhour, C.M. Regulation by nicotine of its own receptors. *Drug Develop. Res.* **38**, 36-148(1996).
- 58) Gopalakrishnan, M., Molinara, E.J., and Sullivan, J.P. Regulation of human $\alpha 4 \beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptors by cholinergic channel ligands and second messenger pathway. *Mol. Pharmacol.* **52**, 524-534(1997).
- 59) Fenster, C.P., Whitworth, T.L., Sheffield, E.B., Quick, M.W., and Lester, R.A.J. Upregulation of surface $\alpha 4 \beta 2$ nicotinic receptors is initiated by receptor desensitization after chronic exposure to nicotine. *J. Neurosci.* **19**, 4804-4814(1999).
- 60) Hsu, Y.-N., Amin, J., Weiss, D.S., and Wecker, L. Sustained nicotine exposure differentially affect $\alpha 3 \beta 2$ and $\alpha 4 \beta 2$ neuronal nicotinic receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J. Neurochem.* **66**, 667-675(1996).



【筆者紹介】

桂 昌司

川崎医科大学・薬理学教室・助手

博士（医学）

■略 歴

昭和38年東京都に生まれる。

昭和63年京都薬科大学薬学研究科博士前期課程修了。

同年京都府立医科大学助手（薬理学教室）。

平成9年川崎医科大学助手（薬理学教室）、現在に至る。

■今後の抱負

神経薬理学的・分子生物学的手法を用いての総合的研究により、本研究課題でもある薬物依存発症の機序の本態について明らかにしていきたい。

【平成14年度日本神経化学会奨励賞受賞記念レビュー】

リゾフォスファチジン酸と神経系細胞のダイナミクス制御

福嶋伸之

(北海道大学大学院医学研究科・分子生化学講座・分子医化学分野)

はじめに

1個の受精卵が複雑な生体に変遷するメカニズムは生物学の大きな魅力の一つである。これまで様々な角度から研究がされており、その巧妙な仕組みが明らかにされつつある。たとえば細胞の運命決定に関する研究から、種々の細胞分化段階において作用する多くの細胞内外の因子が同定され、その役割が明らかにされてきた。一方、生体の3次元発達は個々の細胞が固有の形態を変化させ、また特有の運動性を示すことにより成立するものであり、各細胞のダイナミクスから生体形成を考察することもまた重要である。例えば、多くの神経細胞は長い軸索と多数の樹状突起を持つなど、他の非神経系細胞とは異なる特有の構造および極性を形成し、最終的に複雑であるが調和の取れた美しい神経ネットワークを作り上げる。神経細胞以外にも神経上皮細胞、各種のグリア細胞もまた特有の形態、運動性を示し、ネットワーク形成に直接的、間接的に寄与する。このような動的変化の基盤は細胞骨格の再編成活性であるが、これは細胞の固有活性および細胞外シグナルに調節に依存している。特に後者の場合、これまで多くのシグナル分子とその受容体などが見い出されている。これらの調節メカニズムの全容を明らかにすることが、細胞ダイナミクスから生体形成を考える上で必須である。

筆者は脳の形態形成を制御する細胞外シグナルに興味を持ち、1997年よりそのような研究を始め

つつあったカリフォルニア大学サンディエゴ校の Jerold Chun博士の研究室において仕事を始めた。当時はその細胞外シグナルが脂質メディエーターであるリゾフォスファチジン酸 (lysophosphatidic acid/LPA) であったことが明らかにされたばかりであった。従来、蛋白性のシグナル分子に注目が集まっており、LPAはもとより脂質メディエーターの神経系形成における役割はほとんど理解されていなかった。本総説では、1997年以降筆者が精力的に進めてきた神経系におけるLPAおよびLPA受容体に関する研究を紹介し、LPAシグナルの生理的役割を考察する。

LPAとその受容体

1. 歴史

LPAは構造的にリゾリン脂質に分類される単純脂質であるが、多様な生理活性を有する脂質メディエーターである (図1)¹⁻³⁾。同じ仲間分類されるものとしてスフィンゴシン1-リン酸 (Sphingosine 1-phosphate/S1P) などがある (図1)³⁾。しかしながら古典的な脂質メディエーターであるプロスタグランジン等に比べてこれらの細胞外シグナル分子としての実質的な歴史は浅い。1960年代にその薬理学的な活性が報告されていたものの4)、その生理的役割が示唆されるようになったのは1989年のMoolenaarらの報告と1992年のHallらの報告以後である^{5, 6)}。これら

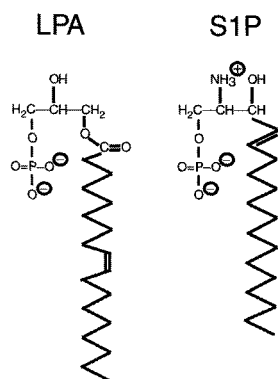


図1 LPAおよびS1Pの化学構造。

の報告では、それぞれLPAによる細胞増殖促進活性がGタンパク質共役型受容体（GPCR）を介して生じること、LPAが細胞のアクチン再編成を促進する血清中の主要な分子であることが明らかにされた。この後、LPAが様々な細胞種に対して同様の作用を示すことが次々に報告された^{1, 2)}。また神経系の株細胞を用いた実験から神経突起の退縮促進作用が、癌細胞を用いた実験からその浸潤促進あるいは抑制効果が示された¹⁻³⁾。このようにLPAの多彩な作用が明かとなっていったが、分子レベルでの作用メカニズム解明は1996年の受容体遺伝子（vzg-1/edg2/lpa₁）クローニングを待たなければならなかった⁷⁾。

2. lpa₁

最初のLPA受容体、lpa₁はマウス大脳皮質の神経発生部位である脳室帯（ventricular zone/vzあるいは神経上皮細胞層）に発現するオーファンGPCR（vzg-1）として単離された⁷⁾。そのcDNAは364アミノ酸からなる推定分子量41kDaのタンパク質をコードしていることが分かった。遺伝子は5個のエクソンからなっているが、そのうち4つのエクソンを利用してlpa₁cDNAが産生される⁸⁾。残りの1つはおそらく異なるプロモーターにより利用され、lpa₁に比較してアミノ末端側が18アミノ酸短い異種lpa₁、mrecl.3を産生するようである^{8, 9)}。mrecl.3遺伝子産物とLPA₁の

機能の違いは不明である。また、6番目の受容体膜貫通ドメインをコードする遺伝子領域内にイントロンが存在するが、この構造は他のLPA受容体サブタイプの遺伝子内においても認められる¹⁰⁾。

vzg-1がLPA受容体であることは、このcDNAを神経上皮細胞株に強制過剰発現させ、細胞反応を引き起こすLPAの効率（EC₅₀）を指標することで明らかにされた⁷⁾。しかしながらこの方法で用いた株細胞には内在性のvzg-1が発現しており、強制発現させたvzg-1がLPA受容体として働いているのかどうか、懐疑的な意見があった²⁾。さらにはほぼ同時期に全く構造の異なるGPCR遺伝子（PSP24）がLPA受容体をコードするという報告がなされたため¹¹⁾、LPA受容体研究に混乱が生じていた。これらの問題を解決するため、筆者はまずvzg-1非発現・LPA非応答細胞を見つけ出し、それにvzg-1遺伝子を強制発現させ、LPAに対するG蛋白質の活性化および細胞応答を調べることとした¹²⁾。さらに異なる系譜（神経系細胞としてB103神経芽腫瘍細胞および非神経系細胞としてRH7777ヘパトーマ）の細胞を利用することにより、細胞種によらずvzg-1がLPA受容体として機能するかどうか調べた。得られた結果はまさに予想された通りであり、vzg-1がLPA受容体であること、加えてLPAの多様な生理活性（アクチン再編成促進作用、細胞増殖促進作用など）を媒介していることが明らかにされた¹²⁾。この研究はそれまでの懐疑的な見方を一掃し、その後のLPA受容体ファミリーの地位の確立に貢献した。またvzg-1という名称をlpa₁と改めることとした¹³⁾。その後の石井およびContosらの研究からLPA₁は3種類のGタンパク質ファミリー、G_{i/o}、G_qおよびG_{12/13}と関連し多様な細胞内情報伝達経路を活性化することが明らかになった（図2、表1）^{14, 15)}。ちなみに、1997年にlpa₁と相同性の高いGPCR遺伝子（edg1/s1p₁）のリガンドがS1Pであることが示され、リゾリン脂質受容体ファミリーの存在が明らかになった（図3）¹⁶⁾。

lpa₁の神経系における発現はin situ

表1 LPA受容体を介して活性化される細胞内情報伝達経路

	A) B103細胞への異種性発現実験 からの結果 ¹⁵⁾					B) KOMEFを利用した実験結果 ¹⁴⁾					
	AC	PLC	MAPK	AA	Rho	AC	PLC	Ca	JNK	Akt	Rho
LPA ₁	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
LPA ₂	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○
LPA ₃	○	○	○	○	△						

Aは過剰発現した受容体の機能を、Bは内在性受容体の機能を示す。○はACの場合は抑制効果、それ以外は促進効果を、×は影響しないことを、△は影響しないか抑制的に作用することを意味する。AC；アデニル酸シクラーゼ、PLC；フォスホオリパーゼC、MAPK；MAPキナーゼ、AA；アラキドン酸遊離、Ca；Ca動因、JNK；Junキナーゼ。Rhoシグナルはアクチン重合作用に基づく。

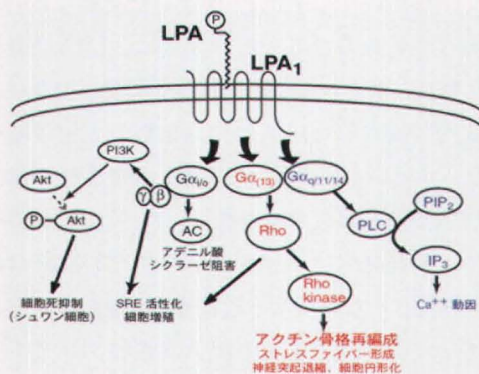


図2 LPA₁を介した細胞内情報伝達経路。

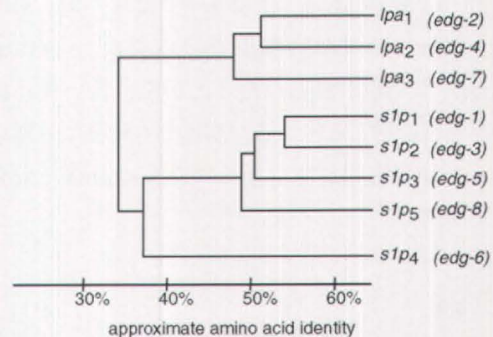


図3 リゾリン脂質受容体ファミリー。

hybridizationおよびnorthern blot解析により明らかにされた^{7, 10, 17)}。lpa₁はもともと大脳皮質のvzに局在する遺伝子として見いだされたが、この発現パターンは神経発生と時間的、空間的に完全に一致しているものであった。しかしながらその他の神経発生領域では検出されなかったことから、LPAシグナルは大脳皮質の神経発生になんらかの役割を果たしていると考えられた。一方、生後では3日目から後脳にlpa₁の発現が観察され始め、徐々に尾側から吻側に分布が広がっていくのが観察された¹⁷⁾。ダブルin situ hybridization解析によりこれらの発現細胞はオリゴデンドログリアであることが明らかにされた。興味あることに、末梢神経系のミエリン形成細胞であるシュワン細胞もまたその発生および損傷修復に一致してlpa₁を発現していた^{18, 19)}。

3. lpa₂

lpa₂（マウス）はlpa₁と約60%のアミノ酸ホモロジーを有する、348アミノ酸からなる分子量39kDaの受容体である。遺伝子とは3個のエクソンを含むが、lpa₁の場合と同様に第6膜貫通領域をコードする遺伝子内にイントロンが存在する^{10, 20)}。この受容体遺伝子に関して最も興味あることは、ヒト癌細胞のlpa₂遺伝子内に多数の1塩基変異があることである²⁰⁾。多くは3'側の非翻訳領域におけるものであるが、ある種の卵巣癌細胞株においてはカルボキシル末端側をコードする遺伝子領域内にグアニンの欠損が生じている。このためフレームシフトが起こり、カルボキシル側に正常型LPA₂と比べて4アミノ酸置換とともに31アミノ酸付加した変異受容体が産生される。この変異受容体もまたLPA受容体として機能するが、正常型との違いについてはまだ明らかにされていない。

LPA₂もまたLPA₁と同様に3種類のGタンパク

質ファミリー、 $G_{i/o}$ 、 G_q および $G_{12/13}$ と連関する多機能性受容体であるが¹⁵⁾、 lp_a2 欠損 (knock-out/ KO) マウス由来の細胞を用いた実験から、内在性 LPA_2 を介したアデニル酸シクラーゼの抑制効果は LPA_1 に比べてほとんど認められないことが明らかになった (表1)¹⁴⁾。

lp_a2 の脳における発現をnorthern blotにより解析したところ、2種類の長さの転写産物が観察された¹⁰⁾。いずれの産物も胎児期の比較的早い時期 (少なくとも胎性12日め) から観察され、生後1 - 2週めまで認められた。in situ hybridizationでは大脳皮質の皮質板 (cortical plate) に発現が見られたことから、若い神経細胞が発現細胞と考えらる。海馬でも同様に分裂を終えた神経細胞が発現した (Fukushima、未発表データ)。

4. lp_a3

第3のLPA受容体である lp_a3 は354個 (マウス) のアミノ酸からなる推定分子量40kDaの受容体である²¹⁾。 lp_a1 および lp_a2 と60%程度のアミノ酸ホモロジーを有する。また lp_a2 と同様に3個のエクソンからなる遺伝子によりコードされている。この受容体に関してもJurkat T細胞株から単離された変異体、HOFNH30が報告されている²²⁾。HOFNH30はヒト lp_a3 と比べC末端側72アミノ酸のうち14アミノ酸が異なっているため、この領域をコードする新たなエクソンが存在しているのかも知れないが、その詳細は不明である。

LPA_3 の過剰発現実験系から、 $G_{i/o}$ および G_q ファミリーとの連関が示された (表1)¹⁵⁾。しかしながら他のシステムを利用した実験では G_i との連関を否定するものもあり^{23, 24)}、さらなる解析が必要である。一方、 LPA_1 および LPA_2 とは異なり、 LPA_3 はLPAの神経突起進展抑制作用を媒介しなかったので $G_{12/13}$ ファミリーとは連関していないようである¹⁵⁾。むしろ lp_a3 を過剰発現した神経系細胞 (B103細胞) は正常細胞に比べて長い神経突起を伸展させていたため、この経路に対して抑

制的に働くのかも知れない。

マウス脳における lp_a3 の発現は誕生前後にピークを持つ一過性のものであるが、その発現細胞は未だ同定されていない。

神経系細胞に対するリゾフォスファチジン酸の作用

1. 神経系株細胞

従来、LPAの神経系細胞に対する作用としてアクチン骨格の重合を介した神経突起退縮が知られていた¹⁾。これらは主に神経芽腫瘍細胞 (N1E-115、NG108-15、PC12) を用いた実験において認められるものであった。さらに、LPAは血清中に豊富に含まれるため、脳血液関門の損傷により脳内に流入したLPAが神経細胞の突起退縮をもたらすという仮説がたてられ、神経変性におけるLPAの役割が重要視されていた^{1, 2)}。これに対して、神経発生におけるLPAの生理的役割はあまり注目されなかったと言える。しかしながら、上述したようにいずれのLPA受容体サブタイプも発生期の神経組織に発現している。LPAの細胞に対する多様な作用を併せて考えると、LPAの神経系形成における役割が強く示唆される。一方、成熟神経細胞ではLPA受容体遺伝子の発現は検出されないため、成熟脳におけるLPAの役割は今後の課題である (グリアの項参照)。

LPAの多様な生理活性の中でも細胞形態、運動性に対する作用は極めて特徴的である。LPA受容体 (LPA_1 あるいは LPA_2) を発現している神経系株細胞に対してLPAは突起退縮を促進するが、この作用は単量体Gタンパク質であるRhoを介した経路の活性化を要する^{25, 26)}。Rhoは下流で作用するRhoキナーゼ、さらにその下流のアクチンミオシン系を活性化してアクチン再編成を促すことにより細胞体方向への収縮力を増強し、結果として突起の退縮反応をもたらす^{27, 28)}。このアクチン重合促進作用に加えて、最近、筆者らはLPAがアクチン脱重合をも促進することにより神経突起の局所形態を変化させることを発見した²⁶⁾。この反応はRho非依存的であり、むしろCaと α ア

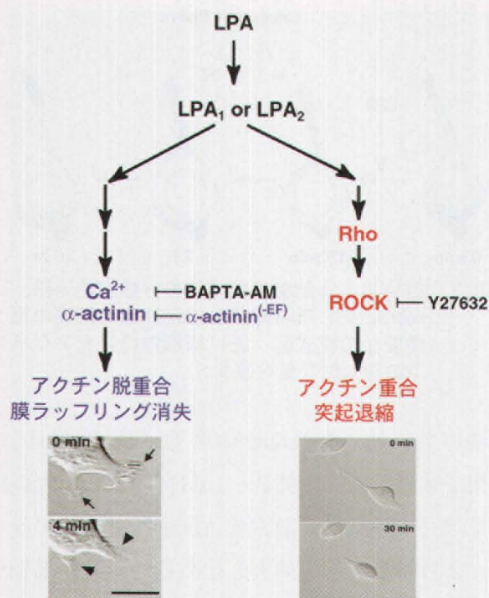


図4 LPA受容体を介したアクチンの2重制御機構。活性化されたLPA₁およびLPA₂はCa- α アクチニン相互作用を介してアクチン脱重合を引き起こし、突起先端部の膜ラフリングを消失させる。一方、Rho-アクチン経路を活性化し、細胞体方向への収縮力亢進を引き起こし突起退縮をもたらす。

クチニン (Ca感受性アクチン架橋蛋白質) の相互作用を介したものであることを明らかにした。すなわち、細胞内Ca濃度の上昇が α アクチニンの架橋活性を阻害し、その結果アクチンの脱重合が促進され神経突起先端部の膜ラフリングが消失するという一連のスキームを提唱した (図4)。このような単一のLPAシグナルによるアクチンの2重制御は1個の細胞内で生じているものであり、LPAによる新たな細胞形態調節機構を示唆するものである。

2. 神経上皮細胞

大脳皮質vz内の神経上皮細胞は細胞周期に連動した特徴的な形態変化および核移動 (interkinetic nuclear migration、エレベーター運動とも言われる) を行う。vzにおける限局したlpa₁の発現パターンは、神経上皮細胞ダイナミクスにおけるLPAの役割を示唆した。これを明らかにするため、筆者は培養神経上皮細胞に対する

LPAの効果を調べた²⁹⁾。細胞のリアルタイム観察、全脳培養系における神経上皮細胞層の組織学的解析などを通して、LPAがこれらの細胞の形態変化 (細胞の円形化、細胞核の移動、微小突起の形成など) を引き起こすことを見出した。また、これらの反応は神経株細胞で示されたのと同様にRhoの活性化およびアクチンの再編成を介していることが分かった。このような特徴的な形態変化、アクチン再編成の必要性は、生体におけるinterkinetic nuclear migrationの一部 (S期からM期への移行) と良く一致していた。加えてLPAが神経細胞により産生されることを見出し、これらから神経細胞-神経上皮細胞間に働くLPAシグナルがinterkinetic nuclear migrationの調節機構の一部となっている可能性を示した²⁹⁾。しかしながらこれまでのところ、lpa₁単独およびlpa₁/lpa₂ダブルノックアウト (KO) マウスの表面的解析ではこれらのinterkinetic nuclear migrationは正常マウスと比べて著明な違いは認められていない^{14, 30)}。詳細な解析を継続しているが、1つの可能性としてinterkinetic nuclear migrationを駆動するシグナルには複数存在していることが挙げられる。例えば、大脳皮質vzに特徴的に発現しているephrinB1もまた細胞のダイナミクスに影響するシグナル分子である³¹⁾。このような分子とLPA受容体を介したシグナルとの関連を調べるのが今後重要と考えられる。実際にこのような他のシグナル分子との関連あるいは相補性が神経上皮細胞の増殖において認められている。すなわちin vitro実験において、LPAは神経上皮細胞の増殖を有為に促進するが、この作用はlpa₁KOマウス由来の細胞では認められない。このようなKO細胞の固有増殖能は正常マウス細胞のそれと比較して低下しているが (全細胞に対するS期細胞の割合; 正常マウス: 24%、KOマウス: 16%)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を加えた時ほぼ正常細胞と同等の増殖能を示す (同; 正常マウス: 30%、KO細胞: 31%)。KO細胞における固有増殖能低下の理由は

明らかではないが、少なくともこのようなbFGFによる代償機構がin vivoで働いている可能性が考えられる^{30, 32)}。

LPAは細胞形態の変化、細胞増殖促進作用以外にも大脳皮質神経上皮細胞に対してイオン透過性の上昇を引き起こす。これは非選択性カチオンおよび塩素イオンの透過性の亢進であり、結果として細胞の脱分極を生じる³³⁾。この効果が細胞にとってどのような意味を持っているかはまだ明らかではない。

大脳皮質以外では網膜の神経上皮細胞に対するLPAの増殖促進効果、イオン透過性の変化など、上述の大脳皮質神経細胞で認められたものと同様の細胞反応が報告されている^{34, 35)}。しかしながら、これらの細胞におけるLPA受容体サブタイプの発現プロファイルは不明である。

神経細胞

最終分裂を終えた神経上皮細胞は幼若神経細胞に分化しleading processを利用して皮質板の方に細胞移動する。目的地に到達した神経細胞は、続いて神経突起を伸展し始め最終的に標的細胞とシナプスを形成する。細胞移動および突起進展は、ともに細胞外シグナルによりその方向性および細胞ダイナミクスが制御される現象である。

lpa₂の脳内での発現プロファイルはLPAが幼若な神経細胞ダイナミクスを調節している可能性を示唆している。このことを調べるため、LPA存在下における培養幼若神経細胞の運動性を観察した³⁶⁾。最初に胎性12-13日目の大脳皮質の組織片培養を行った。この時期の細胞の多くは分裂能を有した神経上皮細胞であるが、培養とともに組織片から放射状方向へ幼若神経細胞は移動する。LPA存在下で培養を行うと、この移動は抑制された。細胞移動は細胞骨格の活性に加えて細胞間および細胞基質間の接着にも依存しており、LPAの作用点は今のところ明らかではないが、少なくとも幼若神経細胞の運動性に影響を与えるようである。

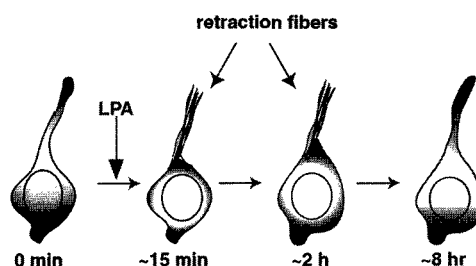


図5 LPAによる幼若神経細胞の神経突起退縮、retraction fiber形成と神経突起の回復の経時変化の模式図。影は細胞内の重合アクチンの相対的な量を表す。

続いて、幼若神経細胞の形態に及ぼすLPAの効果を検討した。胎性12-13日目のマウス大脳皮質を単一の細胞に分散させ、低密度で培養することにより神経突起を伸展し始める幼若神経細胞を得ることができる³⁷⁾。この培養系にLPAを添加した時、予想されたように伸展中の神経突起の退縮が観察された。この反応もまたRhoおよびアクチンの再編成を必要とするものであった。しかしながら突起がほぼ完全に退縮する神経系株細胞とは異なり、これらの神経細胞の突起退縮はその一部のみで起こり、他の領域はもともと基質と接着していたところに残存していた。このように残された突起は非常に繊細なものであり、retraction fiberと呼ばれた。一方、LPA適用後15分頃にretraction fiberの根元から細胞体の一部が伸展し始め、retraction fiberを足場にするように神経突起が回復することが見い出された(図5)。興味あることに突起が完全に元の長さまで回復するまでの間(5-10時間)、retraction fiberの長さ不変であった。したがって、LPAはこれらの神経細胞に対して神経突起伸展の一時的な抑制あるいは突起の再構築を促しているのかも知れない。

ところが、このようなLPAによる細胞反応は神経細胞の成熟とともに見られなくなり、代わりに軸索先端の成長円錐のコラプスが観察されるようになった^{26, 36)}。成長円錐の形態にはアクチンの重合と脱重合のターンオーバーが重要であることが知られている³⁸⁾、筆者らはLPAによる成長円

錐のコラプスが α アクチニンを介したアクチン脱重合反応によるものであることを明らかにした。以上のことからLPAは神経細胞移動、神経突起の進展、成長円錐のコラプスなど神経細胞の成熟度に応じた細胞活動の調節に関与していることが考えられる。

ミエリン形成細胞（オリゴデンドログリアおよびシュワン細胞）

生後発達期のオリゴデンドログリア細胞における lp_1 の発現はミエリン形成と良く一致している¹⁷⁾。実際にオリゴデンドログリアの前駆細胞はLPAに対して細胞応答を示さないが、成熟したミエリン形成能を有する細胞はLPAに応答してCaを動因する³⁹⁾。しかしながらこれらの反応とミエリン形成の関連は今後明らかにすべき課題である。

一方、末梢神経系のミエリン形成細胞であるシュワン細胞（ラット）は lp_1 を発現しており、LPAはG経路を介したphosphatidylinositol3kinaseおよびAktの活性化によりその生存を促進する¹⁸⁾。 lp_1 単独KOマウスの解析では、座骨神経のシュワン細胞における弱い有意な細胞死が確認された³⁰⁾。これはマウスシュワン細胞の場合は lp_1 および lp_2 を発現しているためと考えられているが、これは今後のダブルKOマウスの解析を通して明らかにされるであろう。また、LPAはRho経路を活性化し、アクチン再編成を促すことで細胞形態および接着斑（細胞-基質間接着）の形成を促進する¹⁹⁾。この時のアクチン重合は、線維芽細胞で認められるようなアクチン線維（stress fiber）とは異なり、細胞内に環状に形成される。さらにその一部が放射状に突き出たアクチン線維と会合した、特徴的な形状を示す。接着斑はこの放射状アクチン線維の先端部において認められる。シュワン細胞同士の接着も促進されるが、これはRho経路には依存していないようである。形態および接着能の変化がミエリン形成に直接あるいは間接的に関与していると予想されるが、その詳細は明

らかではない。

アストログリア

アストログリアは生体内ではLPA受容体を発現していないが、培養下において顕著な lp_1 発現とともにLPA応答性を示す⁴⁰⁻⁴³⁾。例えば、細胞形態の変化（星状型から扁平な形状への変化）、細胞増殖の促進、活性酸素種の産生促進、グルタミン酸の取込み抑制などである。細胞増殖活性については相反する結果が報告されているが⁴⁴⁾、用いた細胞の培養条件などが影響しているのかも知れない。実際に、増殖中のアストログリアと分化したアストログリアではLPA受容体の発現プロフィールが異なっているようである（Fukushima、未発表データ）。いずれにしてもグリア細胞は神経細胞機能および生存に直接的および間接的に深く関わっているため、LPAによるグリア細胞活性化は神経細胞になんらかの影響をもたらしていると予想される³²⁾。

ミクログリア

ミクログリアはシュワン細胞の場合と同様にLPA受容体遺伝子発現において種差を示す⁴⁵⁾。マウスミクログリアでは lp_1 が、ラットミクログリアでは lp_2 が主要な発現受容体である。いずれもLPAに応答して細胞内Ca濃度の上昇を示すが、前者では細胞内Ca動因が主原因であるのに対し、後者では細胞外からのCa流入による。また、LPAによる増殖促進はマウスミクログリアでしか認められない。この違いはLPA受容体の機能の違いを表しているとともに、同じ細胞でも種によってLPAシグナルが異なる役割を持っていることを意味している。アストログリアと同様に、LPAはミクログリア細胞を介して神経細胞機能に影響を及ぼしていると考えられる³²⁾。

神経系の発達とリゾフォスファチジン酸シグナル

LPA受容体が高発現している発生時期の神経系の細胞は細胞骨格の活発な再編成を繰り返しな

がら個々の形態を確立し、複雑な神経ネットワーク、皮質の層構造など神経系に特有の形態形成に寄与する。上に述べて来たように、LPAは神経系の種々の細胞に対して細胞反応を引き起こすが、特に細胞ダイナミクスに対する影響は比較的共通しているようである。これらの作用はアクチンの2重制御などが基盤になっていると考えられるが、加えて微小管および中間径フィラメントの再編成なども同時に起きていることが最近分かってきた(Fukushima、未発表データ)。

従来、LPAの産生細胞として活性化した血小板が知られていたが、脳内のLPA受容体発現プロフィールを考えると、脳内にもLPA産生細胞が存在していると考えられる。筆者らは神経細胞がLPAを産生する能力を有していると考えているが²⁹⁾、LPA合成経路が不明であったためその詳細は不明であった。しかしながら、ごく最近になりヌクレオチドフォスファターゼとして同定されていたautotaxinがlysophospholipaseD活性を有しており、LPA産生酵素であることが示された⁴⁶⁾。本酵素の脳内発現および神経系細胞に及ぼす作用などの解析が待たれる。

上で記したLPAの作用は一過性のものが多いが、これは細胞内シグナルのあるレベルにおける脱感作が原因と思われる。このような一時的な運動性の抑止は神経突起あるいは細胞移動の方向性あるいはタイミングの微調節を反映しているのかもしれない。すなわちLPAは(1)これらが本来の進むべき方向とは異なる経路を選んだ場合に正常な経路を選ぶような反発性因子として機能している(2)目的地にタイミングよく到達するように一旦遅延/停止させるシグナルとして機能している可能性が考えられる(図6)。

受容体遺伝子欠損マウス

筆者の所属していたChun研究室ではLPAの生理的役割を知ろうと、各LPA受容体サブタイプのKOマウスを作成しその解析を行って来た^{14, 30)}。上に述べたように、 lp_{a1} KOマウスではin vitroで

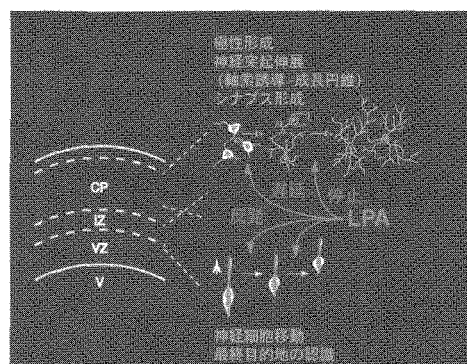


図6 大脳皮質の発生におけるLPAシグナルの役割の予想図。CP; cortical plate、IZ; intermediate zone、VZ; ventricular zone、V lateral ventricle

はLPAの作用の消失あるいは減弱が認められるものの、神経系ではシュワン細胞の細胞死の以外には顕著なフェノタイプは表れなかった。しながら、授乳行動の障害、体重増加速度の低下(野生型に比べて)、顔面鼻部の変形(snout)などの異常が観察された。これらの結果と LPA_1 を介したシグナルとの関連は今後解明すべき課題である。

最近、 lp_{a2} KOマウスに関する論文を報告したが、このマウスもまた予想に反して神経系の顕著なフェノタイプは認められなかった¹⁴⁾。 lp_{a1} lp_{a2} ダブルKOマウスの解析も行ったが、これが示したフェノタイプは lp_{a1} KOマウスのそれと同じものであった。続いて、それぞれの単独マウス由来の胎児性線維芽細胞(MEF)およびダブルKOマウス由来のMEFを使用しこれらの細胞を介した細胞内シグナル経路を解析した。この経路はアデニル酸シクラーゼ、フォスホオリゼC、細胞内Ca動因、細胞増殖、JNK、AK、アクチン再編成である。LPAによるアデニル酸シクラーゼの抑制作用は lp_{a1} KO細胞では完全に消失したが、その他のLPAによるシグナル経路の活性化は単独のKO細胞では部分的にしか認められず、ダブルKO細胞において完全に検出されなくなった。これらの結果から、 LPA_1 と LPA_2 はMEFのLPA応答性を相補的に引き起こしていることが明らかとなった。しかしながらこのよ

LPA反応性の消失はダブルKOマウスのフェノタイプとは直接相関しないようであり、 lp_{a2} の生理的役割の解明にはさらに詳細な解析が必要である。例えば、幼若神経細胞の神経突起の一時的な形態変化などは微小環境で生じているものであり、脳内の神経ネットワークパターンの解析などを進める必要がある。

おわりに

LPAは研究対象としては比較的新しい生理活性脂質であるが、受容体の同定以降その研究は飛躍的に進んでいる。筆者らの研究により神経系形成におけるLPAの役割が少しずつ明らかにされてきた。1997年以降LPAと神経系に関する論文は70ほどあるが、そのうち14報が筆者の関係したものであり、興味深い話題を提供してきたつもりである。

神経系を含む個体発生時において個々の細胞の形態はダイナミックに変化するが、これは細胞固有の活性と細胞外からのシグナルにより制御されている。筆者はLPAを神経系形成時の細胞形態調節を行う重要な細胞外シグナルとして考えて来た。一方では、LPAを有効なツールとして細胞のダイナミズムを調べることができるとも考えている。今後、個々の細胞の様々な形態変化から組織の3次元形態形成を考えることがいっそう重要なテーマになると考えられる。このような研究においてLPAおよびそれに連関するシグナル分子は強力な武器となり得るであろう。しかしながら、LPAシグナルの全容を見た時、LPA産生源、クロストークシグナルなど、不明な点も数多い。またLPA受容体KOマウスの詳細な解析など、なすべきことが多く残されている。今後これらの研究を発展させることにより神経系の形成を考えていきたい。

謝 辞

本研究は「はじめに」のところで記したように筆者がUCSDに留学してから始めた仕事を中心に、

現在行っている内容までをまとめたものです。独立した研究者として自由に研究する環境を与えてくれたJerold Chun博士に心より感謝します。また共同での仕事を惜しみなくしてくれたChun研究室のメンバー、中でもJoshua Weiner、James Contos、石井功、木村由佳の各博士に感謝します。さらに2001年より日本でLPA研究を継続できる機会をくださった石橋輝雄博士に感謝します。最後に、セミナー、学会などの機会に筆者の研究を評価／批判して下さいた国内外の多くの方々に御礼を申し上げます。

引用文献

- 1) Moolenaar, W.H. Lysophosphatidic acid signalling. *Curr. Opin. Cell Biol.* **7**, 203-210(1995).
- 2) Moolenaar, W.H., Kranenburg, O., Postma, F.R. & Zondag, G.C. Lysophosphatidic acid: G-protein signalling and cellular responses. *Curr. Opin. Cell Biol.* **9**, 168-173(1997).
- 3) Fukushima, N., Ishii, I., Contos, J.A., Weiner, J.A. & Chun, J. Lysophospholipid receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **41**, 507-534(2001).
- 4) Vogt, W. Pharmacologically active acidic phospholipids and glycolipids. *Biochem. Pharmacol.* **12**, 415-420(1963).
- 5) van Corven, E.J., Groenink, A., Jalink, K., Eichholtz, T. & Moolenaar, W.H. Lysophosphatide-induced cell proliferation: identification and dissection of signalling pathways mediated by G proteins. *Cell* **59**, 45-54(1989).
- 6) Ridley, A.J. & Hall, A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* **70**, 389-399(1992).

- 7) Hecht, J.H., Weiner, J.A., Post, S.R. & Chun, J. Ventricular zone gene-1 (vzg-1) encodes a lysophosphatidic acid receptor expressed in neurogenic regions of the developing cerebral cortex. *J. Cell Biol.* **135**, 1071-1083(1996).
- 8) Contos, J.J.A. & Chun, J. Complete cDNA sequence, genomic structure, and chromosomal localization of the LPA receptor gene, *lpA1/vzg-1/Gpcr26*. *Genomics* **51**, 364-378(1998).
- 9) Macrae, A.D., Premont, R.T., Jaber, M., Peterson, A.S. & Lefkowitz, R.J. Cloning, characterization, and chromosomal localization of rec1.3, a member of the G-protein-coupled receptor family highly expressed in brain. *Brain Res Mol Brain Res* **42**, 245-254(1996).
- 10) Contos, J.J.A., Ishii, I. & Chun, J. Lysophosphatidic acid receptors. *Mol. Pharmacol.* **58**, 1188-1196(2000).
- 11) Guo, Z., Liliom, K., Fischer, D.J., Bathurst, I.C., Tomei, L.D., Kiefer, M.C. & Tigyi, G. Molecular cloning of a high-affinity receptor for the growth factor-like lipid mediator lysophosphatidic acid from *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 14367-14372(1996).
- 12) Fukushima, N., Kimura, Y. & Chun, J. A single receptor encoded by *vzg-1/lpA1/edg-2* couples to G proteins and mediates multiple cellular responses to lysophosphatidic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6151-6156(1998).
- 13) Chun, J., Contos, J.J.A. & Munroe, D. A growing family of receptor genes for lysophosphatidic acid (LPA) and other lysophospholipids (LPs). *Cell Biochem. Biophys.* **30**, 213-242(1999).
- 14) Contos, J.J.A., Ishii, I., Fukushima, N., Kingsbury, M.A., Ye, X., Kawamura, S., Brown, J.H. & Chun, J. Characterization of *lpA2* (Edg4) and *lpA1/lpA2* (Edg2/Edg4) lysophosphatidic acid receptor knockout mice: Signaling deficits without obvious phenotypic abnormality attributable to LPA₂. *Mol. Cell Biol.* **22**, 6921-6929(2002).
- 15) Ishii, I., Contos, J.J., Fukushima, N. & Chun, J. Functional comparisons of the lysophosphatidic acid receptors, LP_{A1}/VZG-1/EDG-2, LP_{A2}/EDG-4, and LP_{A3}/EDG-7 in neuronal cell lines using a retrovirus expression system. *Mol. Pharmacol.* **58**, 895-902(2000).
- 16) Lee, M.J., Van Brocklyn, J.R., Thangada, S., Liu, C.H., Hand, A.R., Menzeleev, R., Spiegel, S. & Hla, T. Sphingosine-1-phosphate as a ligand for the G protein-coupled receptor EDG-1. *Science* **279**, 1552-1555(1998).
- 17) Weiner, J.A., Hecht, J.H. & Chun, J. Lysophosphatidic acid receptor gene *vzg-1/lpA1/edg-2* is expressed by mature oligodendrocytes during myelination in the postnatal murine brain. *J. Comp. Neurol.* **398**, 587-598(1998).
- 18) Weiner, J.A. & Chun, J. Schwann cell survival mediated by the signaling phospholipid lysophosphatidic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 5233-5238(1999).
- 19) Weiner, J.A., Fukushima, N., Contos, J.J.A., Scherer, S.S. & Chun, J. Regulation of Schwann cell morphology and adhesion by receptor-mediated lysophosphatidic acid signaling. *J. Neurosci.* **21**, 7069-7078(2001).
- 20) Contos, J.J.A. & Chun, J. Genomic characterization of the lysophosphatidic acid receptor gene, *lpA2/Edg4*, and identification of a

- frameshift mutation in a previously characterized cDNA. *Genomics* **64**, 155-169(2000).
- 21) Contos, J.J.A. & Chun, J. The mouse lp_{A3} /Edg7 lysophosphatidic acid receptor gene: genomic structure, chromosomal localization, and expression pattern. *Gene* **267**, 243-253(2001).
 - 22) Fitzgerald, L.R. et al. Identification of an EDG7 variant, HOFNH30, a G-protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **273**, 805-810(2000).
 - 23) Bandoh, K., Aoki, J., Taira, A., Tsujimoto, M., Arai, H. & Inoue, K. Lysophosphatidic acid (LPA) receptors of the EDG family are differentially activated by LPA species. Structure-activity relationship of cloned LPA receptors. *FEBS Lett* **478**, 159-165(2000).
 - 24) Im, D.S., Heise, C.E., Harding, M.A., George, S.R., O'Dowd, B.F., Theodoreescu, D. & Lynch, K.R. Molecular cloning and characterization of a lysophosphatidic acid receptor, Edg-7, expressed in prostate. *Mol. Pharmacol.* **57**, 753-759(2000).
 - 25) Jalink, K., van Corven, E.J., Hengeveld, T., Morii, N., Narumiya, S. & Moolenaar, W.H. Inhibition of lysophosphatidate- and thrombin-induced neurite retraction and neuronal cell rounding by ADP ribosylation of the small GTP-binding protein Rho. *J. Cell Biol.* **126**, 801-810(1994).
 - 26) Fukushima, N., Ishii, I., Habara, Y., Allen, C.B. & Chun, J. Dual Regulation of Actin Rearrangement through Lysophosphatidic Acid Receptor in Neuroblast Cell Lines; ACTIN DEPOLYMERIZATION BY Ca^{2+} - α -ACTININ AND POLYMERIZATION BY RHO. *Mol. Biol. Cell* **13**, 2692-2705(2002).
 - 27) Amano, M., Chihara, K., Nakamura, N., Fukata, Y., Yano, T., Shibata, M., Ikebe, M. & Kaibuchi, K. Myosin II activation promotes neurite retraction during the action of Rho and Rho-kinase. *Genes Cells* **3**, 177-188(1998).
 - 28) Hirose, M., Ishizaki, T., Watanabe, N., Uehata, M., Kranenburg, O., Moolenaar, W.H., Matsumura, F., Maekawa, M., Bito, H. & Narumiya, S. Molecular dissection of the Rho-associated protein kinase p160ROCK -regulated neurite remodeling in neuroblastoma N1E-115 cells. *J. Cell Biol.* **141**, 1625-1636(1998).
 - 29) Fukushima, N., Weiner, J.A. & Chun, J. Lysophosphatidic acid (LPA) is a novel extracellular regulator of cortical neuroblast morphology. *Dev. Biol.* **228**, 6-18(2000).
 - 30) Contos, J.J.A., Fukushima, N., Weiner, J.A., Kaushal, D. & Chun, J. Requirement for the $lpA1$ lysophosphatidic acid receptor gene in normal suckling behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 13384-13389(2000).
 - 31) Lu, Q., Sun, E.E., Klein, R.S. & Flanagan, J.G. Ephrin-B reverse signaling is mediated by a novel PDZ-RGS protein and selectively inhibits G protein-coupled chemoattraction. *Cell* **105**, 69-79(2001).
 - 32) Fukushima, N., Ye, X. & Chun, J. Neurobiology of lysophosphatidic acid signaling. *Neuroscientist* **8**, 540-550(2002).
 - 33) Dubin, A.E., Bahnson, T., Weiner, J.A., Fukushima, N. & Chun, J. Lysophosphatidic acid stimulates neurotransmitter-like conductance changes that precede GABA and L-glutamate in early, presumptive cortical neuroblasts. *J Neurosci* **19**, 1371-1381(1999).
 - 34) Thoreson, W.B., Khandalavala, B.N., Manahan, R.G., Polyak, I.A., Liu, J.L. &

- Chacko, D.M. Lysophosphatidic acid stimulates proliferation of human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res* **16**, 698-702(1997).
- 35) Thoreson, W.B. & Chacko, D.M. Lysophosphatidic acid stimulates two ion currents in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* **65**, 7-14(1997).
- 36) Fukushima, N., Weiner, J.A., Kaushal, D., Contos, J.J.A., Rehen, S.K., Kingsbury, M.A., Kim, K.-Y. & Chun, J. Lysophosphatidic Acid Influences the Morphology and Motility of Young, Postmitotic Cortical Neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* **20**, 271-282(2002).
- 37) Ghosh, A. & Greenberg, M.E. Distinct roles for bFGF and NT-3 in the regulation of cortical neurogenesis. *Neuron* **15**, 89-103(1995).
- 38) Gallo, G. & Letourneau, P. Axon guidance: proteins turnover in turning growth cones. *Curr Biol* **12**, R560-562(2002).
- 39) Moller, T., Musante, D.B. & Ransom, B.R. Lysophosphatidic acid-induced calcium signals in cultured rat oligodendrocytes. *Neuroreport* **10**, 2929-2932(1999).
- 40) Tabuchi, S., Kume, K., Aihara, M. & Shimizu, T. Expression of lysophosphatidic acid receptor in rat astrocytes: mitogenic effect and expression of neurotrophic genes. *Neurochem Res* **25**, 573-582(2000).
- 41) Keller, J.N., Steiner, M.R., Mattson, M.P. & Steiner, S.M. Lysophosphatidic acid decreases glutamate and glucose uptake by astrocytes. *J. Neurochem.* **67**, 2300-2305(1996).
- 42) Keller, J.N., Steiner, M.R., Holtzman, F.W., Mattson, M.P. & Steiner, S.M. Lysophosphatidic acid-induced proliferation-related signals in astrocytes. *J. Neurochem.* **69**, 1073-1084(1997).
- 43) Ramakers, G.J. & Moolenaar, W.H. Regulation of astrocyte morphology by RhoA and lysophosphatidic acid. *Exp Cell Res* **245**, 252-262(1998).
- 44) Pebay, A., Torrens, Y., Toutant, M., Cordier, J., Glowinski, J. & Tence, M. Pleiotropic effects of lysophosphatidic acid on striatal astrocytes. *Glia* **28**, 25-33(1999).
- 45) Moller, T., Contos, J.J., Musante, D.B., Chun, J. & Ransom, B.R. Expression and function of lysophosphatidic acid receptors in cultured rodent microglial cells. *J Biol Chem* **276**, 25946-25952(2001).
- 46) Umezū-Goto, M., Kishi, Y., Taira, A., Hama, K., Dohmae, N., Takio, K., Yamori, T., Mills, G.B., Inoue, K., Aoki, J. & Arai, H. Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production. *J. Cell Biol.* **158**, 227-233(2002).11



【筆者紹介】

福嶋 伸之

北海道大学大学院医学研究科

分子生化学講座分子医化学分野助手

■略 歴

学歴：

1985 京都大学薬学部卒業（薬理学専攻）

1987 同大学大学院薬学研究科修士課程終了（薬理学専攻）

1997 横浜市立大学医学部、医学博士取得（薬理学）

職歴、研究歴：

1987－1993 住友製薬株式会社、研究所、薬理部門、研究員

1993－1997 横浜市立大学医学部薬理学講座助手

1997－2001 Department of Pharmacology, University of California,
San Diego ポストドクトラルフェロー

2001－現在 北海道大学大学院医学研究科分子生化学講座分子医化学分野助手

■今後の抱負

写真中央が本人です。LPA研究を発展させるつもりですが、オリジナリティーに欠けると言われるかもしれませんので新しいテーマも試行錯誤で進めています。

【平成14年度日本神経化学会奨励賞受賞記念レビュー】

脳のカトリウムレベルセンサー

渡 辺 英 治

(岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所・形質転換生物研究施設、
さがけ研究21「細胞と情報」)

はじめに

生体内の様々な生命機能が正常に働くためには、体液イオンバランスが一定に保持されている必要がある。特に、脳の働きの最も根幹を支えているシナプス電流や活動電位などはイオンの動態そのものによって成立している。細胞内外のイオンレベル異常は、神経細胞の活動にとって致命的となる。

体液成分中、最も基本的なイオン成分の一つであるナトリウムの場合、身体の入口と出口において入排出量の制御を行っている。すなわち、高濃度の食塩は舌で「塩辛い」と感じられ、過剰な体内への塩分の取り込みは避けられている。万が一過剰に塩分を摂取してしまった場合は、余分な塩分は腎臓から排出される。しかしながら、腎臓による排出機構は精緻なものではなく、過度の食塩負荷がかかると体内には過剰な塩分が長期間残ることになる。こうした状況で動物は新たに体内にナトリウムを摂取しないように、行動レベルで摂取を抑制している。例えば、我々人間などもそうであるが、水が不足して体液中の塩分濃度が上昇しているときなどは、塩辛いものの摂取は抑制する。逆に塩分が不足してくると、象などの草食動物では大距離移動をして岩塩を取りに行くことが知られている。これらの事実、何らかの形で体液中のナトリウム濃度が正確にモニターされており、その情報が脳に伝えられていることを示唆し

ている。では、どこでどのように体内のナトリウム濃度の検出はなされ、どのようにして脳は行動を制御しているのだろうか？

本総説では、特殊な中枢器官である脳室周囲器官を通じて脳が直接体液中のナトリウム濃度のモニターをしていること、ナトリウム濃度の検出には Na_x ナトリウムチャンネル（以降 Na_x ）が必須のコンポーネントであることを解説していきたい。 Na_x に関する研究を進めているグループは、世界的に見ても現在我々の研究グループのみであり、一般的な総説のように多くの論文を引用することはない。ここでは、我々の研究グループが機能未知分子「X」にチャレンジしたその歴史を是非御覧いただきたい。

 Na_x ナトリウムチャンネルの構造

Na_x の歴史は、電位依存性ナトリウムチャンネルのcDNAクローニングから始まる。当初、種々の神経細胞や筋肉細胞から記録されていた電位依存性ナトリウム電流の特性には大差がなく、遺伝子レベルでの分子種は比較的少数であろうと考えられていた。が、cDNAのクローニングが進むにつれ、電位依存性ナトリウムチャンネルは数多くのファミリーからなる分子種であることが明らかとなり、現在では計10種類のナトリウムチャンネルが知られることとなった(図1)。これら10種類のナトリウムチャンネルのうち9種類までは、

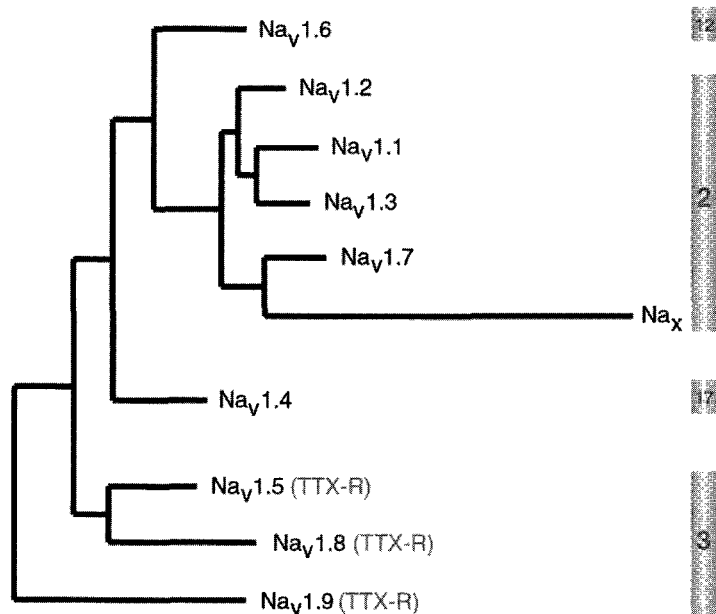


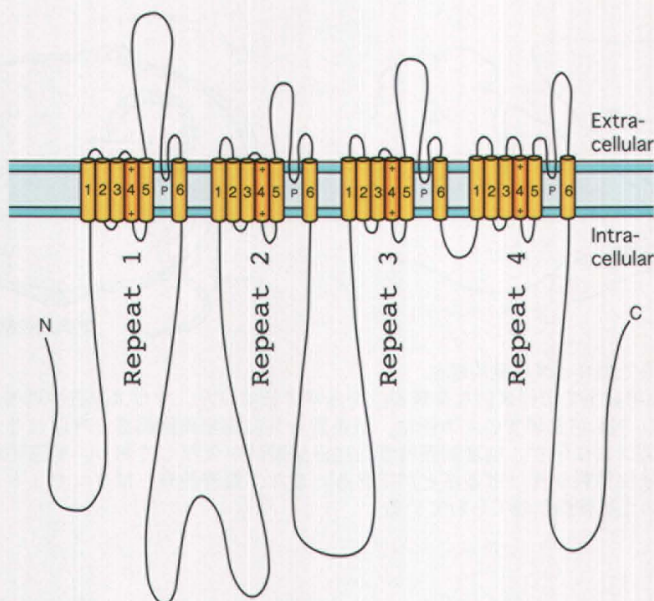
図1 ナトリウムチャンネル α サブユニットの系統樹
ラットナトリウムチャンネル α サブユニット間のアミノ酸配列の相
同性を系統樹として示した(文献5を改変)。赤字で記したTTX-Rは、
TTX非感受性の α サブユニットの意味。右端の黄色のバーには、相
同ヒト遺伝子がマッピングされた染色体番号を示した。Na_xは、5種
類のナトリウムチャンネルが集中している2番染色体にマップされ
ているが、アミノ酸一次構造は他のものと比較して大きく異なる。

卵母細胞など異種細胞発現系での機能的再構成が成功しており、電位依存性ナトリウムチャンネルであると確定した。そしてチャンネル活性の確認がとれない分子がただ一つ残ることとなり、これがNa_xと呼ばれる分子である。

Na_xは、ラットのアストロサイト¹⁾及びヒトの心臓²⁾からほぼ同時にクローニングされ、それぞれNa-G(部分配列)及びhNav2.1と名付けられた。その後、マウスの心房腫瘍細胞からmNav2.3³⁾、そして脊髄後根神経節からSCL-11⁴⁾という名称でラットの全長がクローニングされた。当初異なる動物種で異なる名称が付けられたのには理由がある。ナトリウムチャンネルとしては、ヒト・マウス・ラット間でそれぞれ相同性が低すぎたのである。例えば、脳の代表的な電位依存性ナトリウムであるNav1.2の場合、ヒトとラット間で約98%の相同性がある。これに対してNa_xの場合は、ヒトとラット間で約72%の相同性しかない。

cDNAの配列が大きく異なったために、遺伝子記号もSCN6AとSCN7Aの二つが割り当てられているが、これは同一の遺伝子である。

Na_xは種間の相同性が低いだけではない。他のナトリウムチャンネルファミリーとの相同性も非常に低い(図1)。部分配列を詳細に検討していくと、その違いは明確である。電位依存性ナトリウムチャンネルのS4セグメントには、正荷電したアミノ酸が規則正しく並んでいる(図2)。電位依存性イオンチャンネルは、この正電荷によって膜電位の反転を感知し、ナトリウムイオン孔を開口させるとされている。極めて高度に保存されている領域であり、残り9種類の電位依存性ナトリウムチャンネルの間ではほぼ完全に保存されている。Na_xのS4セグメントの場合、半数以上の正荷電アミノ酸が消失しており、電位依存性ナトリウムチャンネルとしては機能していない可能性が極めて高い。同様に不活性化配列も大きく異なっ



SALRTFRVLRALKTISVIPGLK	Nav1.x, Repeat 1
SALRTFRVLRALKTISVISGLK	Nav1.5, Repeat 1
SGLRTFRVLRALKTISVIPGLK	Nav1.8, Repeat 1
SALRTFRVFRALKAISVISGLK	Nav1.9, Repeat 1
PMFKTIRTLRILKIIPLNHGLQ	Na _x , Repeat 1
EGLSVLRVSFRLLRVFKLAKS	Nav1.x, Repeat 2
GNLSVLRVSFRLLRVFKLAKS	Nav1.5, Repeat 2
GSLSVLRRTLRLRVFKLAKS	Nav1.8, Repeat 2
NNRSFLASLRVLRVFKLAKS	Nav1.9, Repeat 2
EEITVFILVPLI.FIKLGKY	Na _x , Repeat 2
IKSLRTLRLRPLRALS	Nav1.x, Repeat 3
IKSLRTLRLRPLRALS	Nav1.5, Repeat 3
IKALRTLRLRPLRALS	Nav1.8, Repeat 3
LKSFRTLRLRPLRALSQ	Nav1.9, Repeat 3
LNPLPAIKFLRALRVLSQ	Na _x , Repeat 3
RVIRLARIGRILRLIKGAKGIR	Nav1.x, Repeat 4
RVIRLARIGRILRLIRGAKGIR	Nav1.5, Repeat 4
RVIRLARIGRILRLIRAAKGIR	Nav1.8, Repeat 4
RVVRLARIGRILRLVRAARGIR	Nav1.9, Repeat 4
QLLLSRRIHVLRPGKPKVFH	Na _x , Repeat 4

図2 αサブユニットのS4配列の比較

図の上には、ナトリウムチャンネルαサブユニットの展開図を示す。αサブユニットは、4回の繰り返し構造(Repeat1から4)から成る。各繰り返し構造の第4セグメント(S4)には電位感受性配列が含まれている。図の下には、ラットのナトリウムチャンネルαサブユニットのS4配列を抜き出した。Nav1.xのxには、1, 2, 3, 4, 6, 7が入り、全て同一の配列である。赤字は正電荷アミノ酸であり、膜電位の反転を検出しイオンチャンネルを開口させる駆動力を生み出す。Na_xの場合、これら正電荷アミノ酸を含めて大きく配列が異なっている。

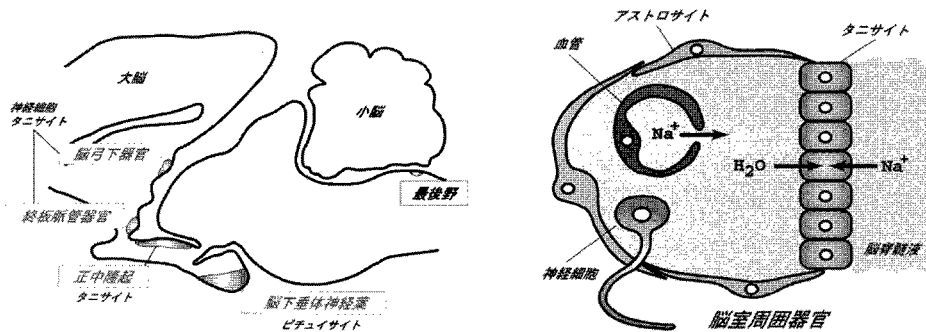


図3 中枢神経系でのNaXの発現部位

NaXの中枢神経系での代表的な発現部位を赤字で示す(左、マウス脳正中近傍を側面から見たところ)。NaXが発現する4カ所は、最後野と共に脳室周囲器官と呼ばれる。脳室周囲器官の模式図は右に示す。脳室周囲器官は血液脳関門が欠損しており、有窓毛細血管から直接体液の液性情報を受け取ることができる。また、脳脊髄液とはタニサイトと呼ばれる特殊な一層の上皮細胞で隔てられている。

ており、やはり機能していない可能性が非常に高い。こうした状況から、未知のゲーティング特性をもったナトリウムチャンネルとして、Na_xと再命名されたのである⁵⁾。

Na_xナトリウムチャンネルの発現部位

Na_xの生理機能を解明するため、我々は遺伝子欠損マウスを作製するところから研究を開始した⁶⁾。異種細胞で開くことのない「開かずのチャンネル」であるNa_xは、当然特異的ブロッカーも知られていない。が、遺伝子欠損マウスの細胞であれば、Na_xが特異的に存在していないという「特異的ブロッカー」が働いている状態を作れると判断したのである。また、相同組換えの利点を最大限に生かすために、Na_xとリポーター遺伝子lacZとを入れ替えることによって、高感度でNa_x遺伝子の発現パターンをとらえることができるようにした。

図3には、lacZ染色によってとらえることのできた脳でのNa_x遺伝子の発現部位を模式的に示す。Na_x遺伝子の発現部位は、いわゆる脳室周囲器官と呼ばれる領域を中心としている。脳室周囲器官のうち、脳弓下器官、終板脈管器官、正中隆起、脳下垂体神経葉の4カ所の神経細胞及び非神経細胞に発現が認められた。脳室周囲器官は、中枢神

経系の中では極めて特殊な構造体である(図3右)。中枢神経系では唯一脳血液関門が存在しない領域であり、電子顕微鏡による観察によると、腎糸球体などで見られる有窓毛細血管(超微細孔を持つ毛細血管)が張り巡らされている⁷⁾。よって、脳室周囲器官内にある神経細胞は、血流の中を流れるホルモンや浸透圧や塩分の濃度を直接感知できる位置にある。また脳室周囲器官内の神経細胞は、中枢神経系の各部位に投射しているので、直接脳の活動に影響を与えることができる。終板脈管器官の投射先としては、正中視索前核や視索上核、脳弓下器官の投射先としては視索上核や扁桃体の中心核が知られている^{8), 9)}。視索上核は浸透圧受容能を持つ神経細胞が存在することが良く知られており¹⁰⁾、室傍核と協調して飲水行動に多大な影響を与える。また、扁桃体中心核は摂食や飲水といった行動の嗜好性の決定に深く関与している領域である。さらに脳室周囲器官は、その名の通り脳室に面しており、脳脊髄液からの情報も受け取ることができる。脳室と脳室周囲器官との間は、タニサイトと呼ばれる特殊な一層の上皮細胞で隔てられている。このタニサイトには、アクアポリン4と呼ばれる水チャンネルが脳室周囲器官側に発現していることが知られており¹¹⁾、脳室側の液性情報を脳室周囲器官に伝える役割をしていると

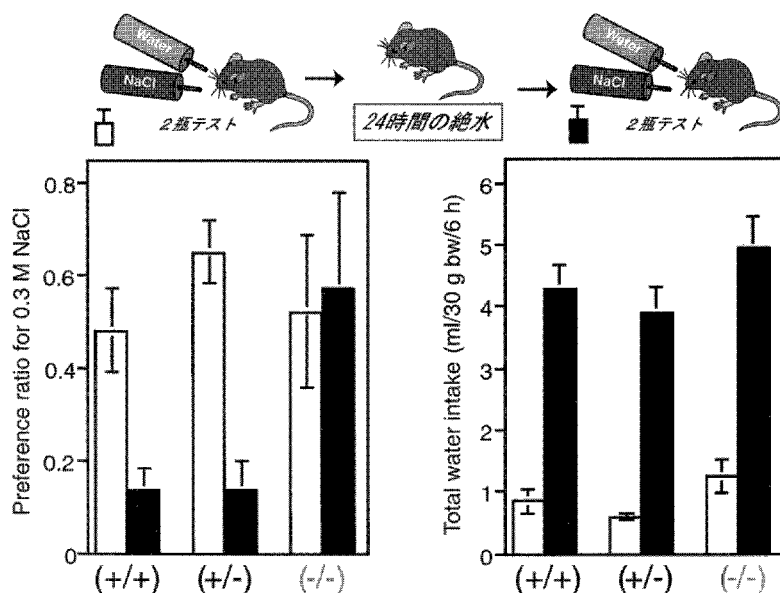


図4 Na_x 遺伝子欠損マウスの行動異常

24時間の絶水前と絶水後の飲水量を二瓶法によって計測した。一方の瓶には真水を、もう一方の瓶には0.3M塩化ナトリウムを入れた。左の棒グラフは、水と食塩水を合わせた総摂取量に対する食塩水の摂取量比であり、すなわち食塩水への嗜好性を示す。右のグラフは、水と食塩水を合わせた水分の総摂取量（体重30gあたりに換算）。いずれも、白棒が絶水前の六時間、黒棒が絶水後の六時間である。野生型マウス（+/+）、ヘテロ接合体（+/-）、遺伝子欠損マウス（-/-）。遺伝子欠損マウスでは、絶水前も絶水後も変わらずに食塩水を飲んでいる様子が分かる。（文献6を改変）

されている。

Na_x 遺伝子欠損マウスの行動異常

脳室周囲器官の神経細胞の活動レベルが、 Na_x 遺伝子欠損マウスで変化しているかどうかを最初期遺伝子群の一つであるc-fosの発現を指標にして調べた。動物が絶水状況に置かれると、脳室周囲器官の神経細胞は活動レベルが上昇する¹²⁻¹⁴⁾。遺伝子欠損マウスの場合、野生型マウスと同様に絶水時にc-fos陽性の神経細胞数が増加したが、倍程度多くの陽性細胞の増加が観察された。よって、 Na_x 遺伝子の欠損した状態では、脳室周囲器官の神経細胞の活動が過剰になっていると考えられる。

次に神経活動レベルの異常が、行動レベルに反映されているかどうかを調べた。行動実験には2瓶法を用いた（図4）。マウスのケージに2本の水瓶を提示しておき、この状態にしばらくマウス

を馴らす。その後、一方の水瓶に各種味溶液を入れる。飲んだ量比によってマウスの味溶液に対する嗜好性を簡便に調べることができる。本実験では、マウスを絶水した後に、高張塩化ナトリウム溶液（0.3M）に対する嗜好性を確かめた。絶水下ではマウスの体液は高張になり、その結果高張塩溶液の摂取を避け、大量の真水だけを摂取する。ところが遺伝子欠損マウスは、食塩水を真水と区別なく摂取するという異常さを示した（図4）。また、逆に食塩飢餓状態にしたマウスの行動テストも行った。利尿剤と無塩飼料とを組み合わせることによって、マウス体内から塩分を欠乏させ、いわゆる食塩飢餓状態を作り出し、上と同様の二瓶法をとりおこなった。すると、野生型マウスは食塩水への嗜好性を高めたが、遺伝子欠損マウスはそれ以上食塩水への嗜好性を高めた。 Na_x 遺伝子欠損マウスは、食塩が必要なきも食塩が不要なきも、野生型マウスと比較して食塩摂取過剰

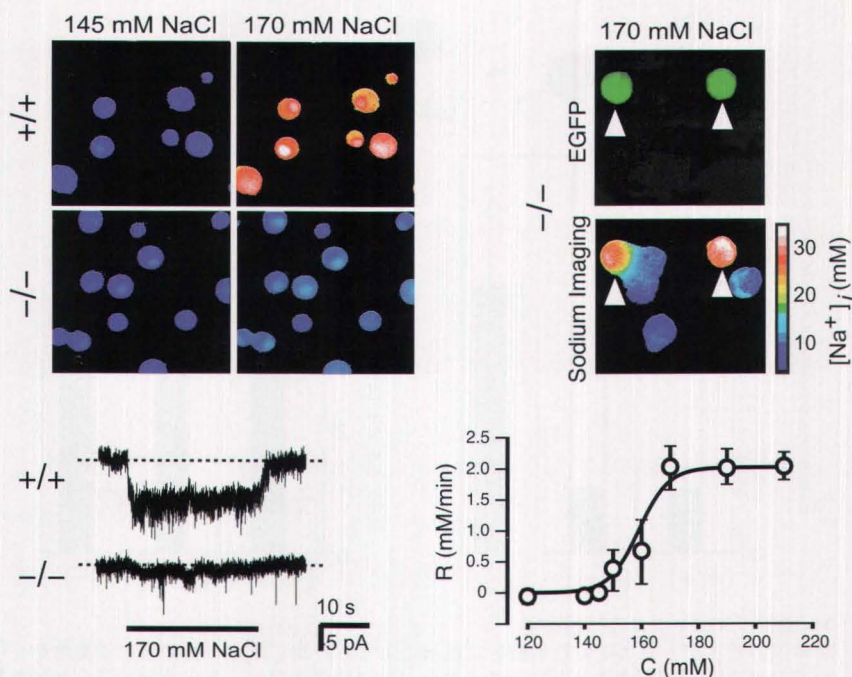


図5 細胞外ナトリウム濃度依存性ナトリウム電流
野生型マウス (+/+) 及び遺伝子欠損マウス (-/-) から脊髄後根神経節細胞を単離し、ナトリウム指示薬による細胞内ナトリウムイオン濃度の測定を行った (上図)。細胞外のナトリウムイオン濃度を145mMから170mMに上昇させると野生型マウスの細胞にのみナトリウムの流入が観察された (左)。遺伝子欠損マウスの細胞に Na_x 発現ベクターをEGFP発現ベクターと共発現させると、ベクター導入された細胞 (白三角) のみにナトリウムの流入現象が回復した (右)。この現象はホールセルパッチクランプによる電気生理学的測定によっても確認された (左下図)。野生型マウスの細胞では平均8.4pAの内向き電流が観察された。野生型マウスを使用したイオンイメージングから、細胞外ナトリウム濃度 (C) に対するナトリウム流入速度 (R) をプロットした。生理的な濃度である150mMを越えた付近から反応が見られる (右下図)。(文献17を改変)

になっていたのである。

行動異常の原因として、味覚異常の可能性が考えられた。ところが、舌を食塩刺激して、鼓索神経 (主として塩分の辛みの信号を伝える末梢神経) から電氣的活動を記録したが、遺伝子欠損マウスと野生型マウスとの間で差は認められなかった。さらに高張塩水を直接脳室に注入する実験を行った。野生型マウスでは、脳室内に入った塩刺激は塩分摂取行動の強烈な抑制効果をもたらす。ところが、こうした脳内への直接刺激にも遺伝子欠損マウスは全く応答しないことが明らかとなった (Hiyama T.Y., et al., Society for Neuroscience Annual Meeting 2002)。これら結果は、遺伝子欠損マウスで観察される行動異常の原因は中枢性であることを証明すると同時に、脳内にナトリウ

ム受容器が存在していることを示すことにもなった。行動学的な実験¹⁵⁾や電気生理学的な実験¹⁶⁾から、ナトリウム受容器が脳内にあることは示唆されていた。しかしながら、これほど明確にその存在を示した例は他にはない。

ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネル

Na_x が脳内のナトリウム受容に必須の役割があることは分かった。では、いったい Na_x はどのような刺激で開くチャンネルであろうか？ナトリウム受容器という機能を直接担っているのであろうか？こうした疑問に答えるために、イオンイメージング解析を行った¹⁷⁾。全ての細胞が Na_x を発現している脊髄後根神経節を使用し、ナトリウムイオンの動態をナトリウム指示薬によって可視化し

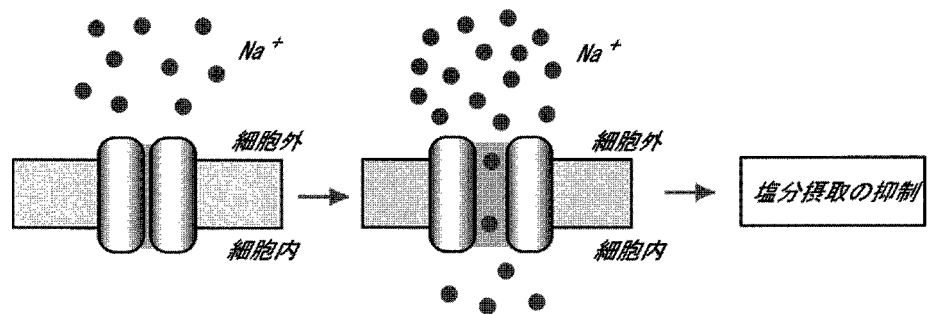


図6 細胞外ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネル仮説
イオンイメージングの実験結果から、 Na_x は細胞外ナトリウム濃度の上昇に伴って開口する濃度依存性ナトリウムチャンネルであると仮定できる。神経細胞上で開口したナトリウムチャンネルは神経細胞の電気的活動に変化を与え、動物の食塩摂取行動を抑制していると考えられる。濃度依存性ナトリウムチャンネルの開閉の仕組みや動物行動をコントロールする神経回路の仕組みの解明が今後の課題である。

た(図5)。細胞外ナトリウム濃度を145mMからスタートし、数mM~25mM上昇させることによって細胞を刺激した。その結果、野生型マウスの神経細胞には細胞外ナトリウムの上昇に伴ってナトリウムの流入が観察された。ところが、遺伝子欠損マウスの神経細胞では、そのようなナトリウム流入は全く観察されなかった。同様の現象は電気生理学的手法によっても確認された(図5)。平均8 pA程度の非常に小さい電流ではあるが、不活性化されない内向き電流であるためイオンイメージングの結果を十分に説明するものである。閾値を調べたところ、このナトリウムイオンの細胞内への流入は、ちょうど150mMを越えた辺りから観察された(図5)。すなわち、生理的な濃度を少しでも超えるとナトリウムの流入が生じることが分かる。マニトールなどによる浸透圧刺激では、このナトリウム流入は生じないことから、浸透圧変化による細胞形態変化によって引き起こされる現象ではないことが分かる。この現象が Na_x の有無によってのみ生じているかどうかを確認するために、遺伝子欠損マウスの細胞に Na_x 発現ベクターを導入したところ、 Na_x を発現した細胞でのみ応答性が完全に回復した(図5)。脳室周囲器官の一つである脳弓下器官の神経細胞でも、全く同様の結果が得られた。これらの結果は、 Na_x が細胞外ナトリウムの濃度に依存して開く、ナトリウム

濃度依存性ナトリウムチャンネルであることを示唆している(図6)。もしそうであると仮定すると、動物の食塩摂取過剰の行動は比較的簡単に説明がつく。体内のナトリウム濃度を検出するセンサー分子が欠損しているために、ナトリウムの摂取過剰になってしまうのである。

言うまでもなく、食塩の摂取過剰は動物にとって有害である。草食動物以外の雑食性の動物や肉食性の動物にとってナトリウムが不足するような状況はむしろ起こりにくく、常に必要量よりも取りすぎている傾向にある。これを未然に防ぐために、電位依存性ナトリウムチャンネルが進化の過程で非常に特殊な機能を身につけた可能性がある。図1の系統樹を今一度御覧いただくとおもしろいことに気づく。 Na_x はナトリウムチャンネルが最も激しく分岐した2番染色体にマップされる。単独でマップされる $\text{Nav}1.6$ や $\text{Nav}1.4$ は、それぞれ神経と筋肉で最も主要な役割をするチャンネルである。特殊な機能を獲得するには、 Na_x は絶好の位置に存在するのである。こうしたチャンネルが、どのような動物種から存在するのか興味のあるところである。弱電気魚でナトリウムチャンネルのファミリーの同定が試みられたが、 Na_x は発見されなかった¹⁸⁾。先にも述べたが、マウスやヒトという比較的近い動物種間ですら大きくアミノ酸配列が異なる。もし配列の差がチャンネル特性の違

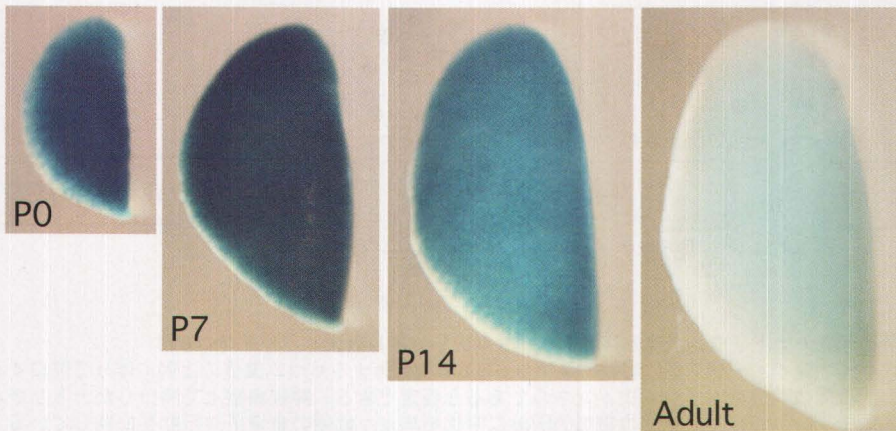


図7 肺における Na_x の発現パターン

ヘテロマウスの肺を、生後0日(P0)、7日(P7)、14日(P14)及びアダルト(Adult)で採取し、X-gal染色(青色)を行った。生後一週間目をピーク発現が観察される。(文献19を改変)

いを反映しているのであれば、動物種間で特性を比較するのも興味深いところである。

中枢神経系以外での Na_x の役割

脳以外にも Na_x を発現する細胞がある。その一つが肺胞Ⅱ型細胞である(図7)¹⁹⁾。肺胞を構成する細胞は比較的少なく、主たるものは肺胞Ⅰ型とⅡ型細胞の2種類である。Ⅰ型細胞は扁平な形状をしており、肺胞構造そのものを形成する細胞である。丸く大型の細胞はⅡ型細胞と呼ばれる。Ⅱ型細胞は、サーファクタントと呼ばれる一種の界面活性剤を産生しており、細胞表面の表面張力を下げる役割をしている。Ⅱ型細胞はこれに加えて肺胞の表面から水分を取り除く役割をしている。実際に水を吸収しているのはアクアポリンを持つ肺胞Ⅰ型細胞であるが、この水の移動は肺胞内外の浸透圧の差によって駆動される。この浸透圧差を生じさせているのが、Ⅱ型細胞に発現しているナトリウムチャンネルであるとされる²⁰⁾。すなわち、Ⅱ型細胞に発現する Na_x は浸透圧差を生じさせているナトリウムチャンネルの一つであることが考えられる。ただ、肺に水がたまり込むような表現型は、遺伝子欠損マウスで観察されていない。Ⅱ型細胞はアミロライドに感受性の高い上皮性ナトリウムチャンネルを多量に発現しており、こ

らが主たる役割を果たしていると考えられる。実際に上皮性ナトリウムチャンネルの遺伝子欠損マウスでは、出生時に肺機能不全により死に至ることが示されている²¹⁾。

もう一つ顕著な発現が観察される細胞として、シュワン細胞が挙げられる。ホルマウントしたサンプルをlacZ染色して観察すると内臓の臓器にまわりつく神経束が強い陽性であることがよく分かる。抗体で染色しても同様の染色像が観察される。電子顕微鏡を使って観察してみると、これはミエリンを巻いていないシュワン細胞である事が明らかとなった。ミエリンが巻かれていない軸索が連続発火すると、細胞外のカリウム濃度が上昇することが知られる。これをスカベンジしているのが周囲のシュワン細胞である²²⁾。シュワン細胞のNaKポンプが効率よく細胞外のカリウムを吸収するためには、NaKポンプによって汲み出されたナトリウムイオンを再吸収する Na_x の存在が必要であると考えられる。

残された大きな謎としては、脊髄後根神経節や三叉神経節の神経細胞での発現が挙げられる。大型中型小型細胞の区別無く発現しており、我々は行った痛覚テストでは、遺伝子欠損マウスに異常が観察されていない(未発表)。非常に特殊な状況で何らかの役割があると考えられるが、さら

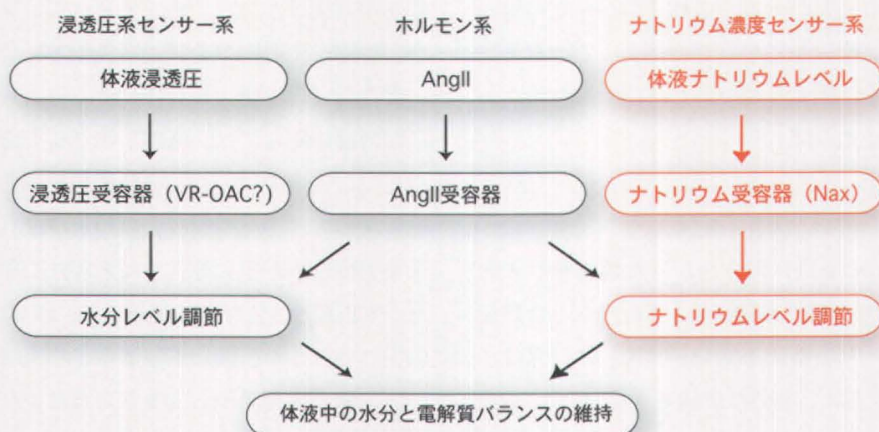


図8 体液の水分とイオンバランスの維持

これまで、体液中の水分と電解質バランスの維持のメカニズムとして、アンジオテンシン2 (AngII) を中心としたホルモン系と、体液浸透圧を主として検出している浸透圧受容器 (VR-OAC?) による制御が想定されてきた。ここに、脳のナトリウムレベルセンサー (Na_x) を加えることにより、水とナトリウム濃度をそれぞれ独立して制御できることになる。

る詳細な研究が待たれる。

今後の展望

最後に今後の展望を述べたい。本研究の売りは、「ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネル」という概念の創出であり、本総説のタイトルでもある「脳のナトリウムセンサー」という概念の創出である。こうした概念の証明には、上で述べてきた実験ではまだ必要十分ではない。Na_xが果たして単独で、「ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネル」という分子であるのか、細胞というイオン制御装置の中でNa_xを一部のコンポーネントとして実現しているのかは不明である。これを証明するためには、異種細胞での発現系を完成させることが必須である。あるいは、チャンネル分子を完全に精製して脂質2重膜に組み込み、単独で動きえるか否かを検討する必要がある。等張液の150mMからNa_xの反応が見られる160mMや170mMとの濃度差はわずか10%程度ではない。電位依存性ナトリウムチャンネルのように膜電位の逆転を感知するのは訳が違う。全く新しいアイデアや概念の導入が必要になるであろう。

「脳のナトリウムセンサー」という概念を完成するには、他の受容体分子との関連性を明らかにすることも極めて重要である。体液中のナトリウム濃度の恒常性を担うものは、無論Na_xだけではない。特にアンジオテンシンを中心にした水分と塩分の保留作用は極めて重要である²³⁾。アンジオテンシンは、アルドステロン（塩分の保留作用）やバソプレッシン（水分の保留作用）の分泌を調節しており、その意味において2重に機能するホルモンである²⁴⁾。アンジオテンシン受容体は、脳弓下器官などの脳室周囲器官に発現しており²⁵⁾、Na_xとの関連性は極めて興味深い。

Na_x遺伝子欠損マウスは塩分の摂取には影響がでるものの、水分の摂取には全く異常がない。このことは、ナトリウムセンサーとは完全に独立して浸透圧センサーが存在していることをも暗示している。浸透圧センサーは、元々電気生理学的解析によってその存在はよく知られている¹⁰⁾。浸透圧センサーの候補分子は現在の所、Vanilloid Receptor-Related Osmotically Activated Channel (VR-OAC) がある²⁶⁾。VR-OACも脳室周囲器官に発現が認められることから、両者の発現している細胞を比較することによって、その関

連性を調べる必要がある。これらのパーツの働きと相互作用が明らかになることによって、水と塩の摂取行動を制御する脳の新たな仕組みが明らかになると考える(図8)。

おわりに

数年前 Na_x の研究に取りかかった頃、私がナトリウムセンサーの総説を書くことになるとは想像がつかなかった。機能未知分子「X」の研究は、海を越え山を越え、意外な展開をみせたのである。それはさておき、近頃のゲノムプロジェクトから出てきた答えの一つは単純である。機能未知分子「X」は数千数万まだまだありますよ、である。気が遠くなる次第である。

謝 辞

「ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネル」は、新しい概念ではあるが未だ完全な証明にはほど遠い。「何だかよく分からない新しいもの」を研究していくには、常に不安がつきまとう。本賞受賞は今後研究を進めていく上で大変な励みになった。この場をお借りして、奨励賞選考委員会の諸先生並びに神経化学学会の諸先生に厚くお礼を申し上げたい。

本総説でご紹介した筆者の研究は、多くの方々のご指導とご協力によって支えられたものであり、ここに感謝の意を記したい。本研究プロジェクトは、開始した時点から野田昌晴教授のご指導の元で行われた。途中何度か研究を投げ出そうとしたときに、思いとどまり、論文にまでたどり着けたのは、野田教授の叱咤激励無くして有り得ない。普段面と向かっては言いにくいので、紙面を借りて最大限の謝辞をここに申し上げたい。また妄想と直感だけで突き進む先輩の言葉にいやな顔もせず、イオンイメージングの成果をだされた大学院生(現基生研助手)の檜山武史君にも特別の感謝を申し上げたい。マウスの行動解析については、共同研究者である大阪大学の山本隆教授、志村剛先生、碓哲崇先生、八十島安伸先生のご努力に深

謝を申し上げたい。イオンイメージングについては、生理学研究所の毛利達磨先生と長崎大学の吉田繁先生(現近畿大学教授)にご協力頂いた。電子顕微鏡に関しては、基礎生物学研究所の児玉隆治先生にご協力頂いた。脊髄後根神経節の電気生理に関しては、九州歯科大の稲永清敏教授、本田栄子先生、小野堅太郎先生に大変なご尽力を頂いた。安田聖愛さん、戸崎綾子さん、江草智津さん、鶴生さつきさん、溝口正枝さん、小玉明子さんには技術面と事務面から支援をいただいた。この場を借りて感謝を申し上げたい。

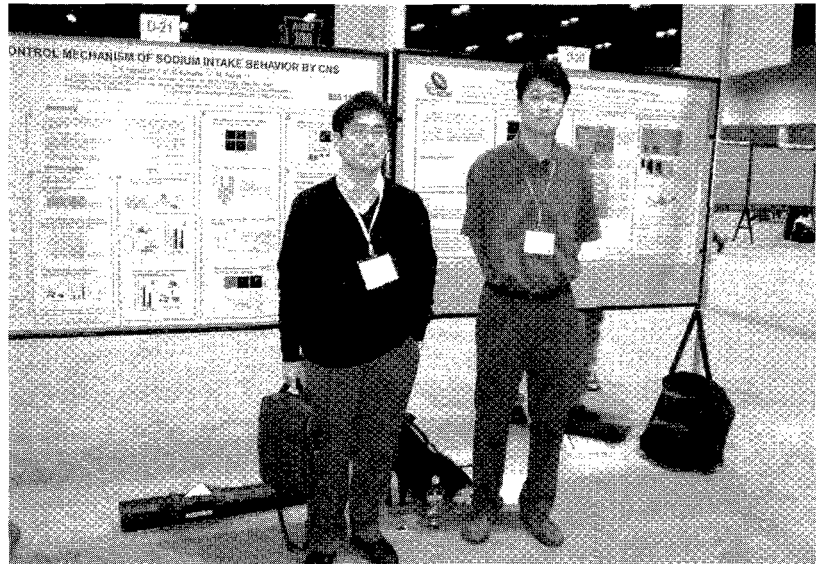
本研究は、科学技術振興事業団・ソルトサイエンス研究財団・文部科学省からの研究助成によって支援されました。

文 献

- 1) Gautron, S., Dos Santos, G., Pinto-Henrique, D., Koulakoff, A., Gros, F. & Berwald-Netter, Y., The glial voltage-gated sodium channel: cell- and tissue-specific mRNA expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 7272-7276(1992).
- 2) George, A.L.J., Knittle, T.J. & Tamkun, M.M., Molecular cloning of an atypical voltage-gated sodium channel expressed in human heart and uterus: evidence for a distinct gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 4893-4897(1992).
- 3) Felipe, A., Knittle, T.J., Doyle, K.L. & Tamkun, M.M., Primary structure and differential expression during development and pregnancy of a novel voltage-gated sodium channel in the mouse. *J. Biol. Chem.* **269**, 30125-30131(1994).
- 4) Akopian, A.N., Souslova, V., Sivilotti, L. & Wood, J.N., Structure and distribution of a broadly expressed atypical sodium channel. *FEBS Lett.* **400**, 183-187(1997).
- 5) Goldin, A.L., Barchi, R.L., Caldwell, J.H.,

- Hofmann, F., Howe, J.R., Hunter, J.C., Kallen, R.G., Mandel, G., Meisler, M.H., Netter, Y.B., Noda, M., Tamkun, M.M., Waxman, S.G., Wood, J.N. & Catterall, W.A., Nomenclature of voltage-gated sodium channels. *Neuron* **28**, 365-368(2000).
- 6) Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C. & Noda, M., Nav2/NaG channel is involved in control of salt-intake behavior in the CNS. *J. Neurosci.* **20**, 7743-7751(2000).
- 7) Dellmann, H.D., Structure of the subfornical organ: A review. *Microsc. Res. Tec.* **41**, 85-97(1998).
- 8) Wells, T., Vesicular osmometers, vasopression secretion and aquaporin-4: a new mechanism for osmoreception? *Mol. Cell. Endocrinol.* **136**, 103-107(1998).
- 9) Johnson, A.K., de Olmos, J., Pastuskovas, C.V., Zardetto-Smith, A.M. & Vivas, L., The extended amygdala and salt appetite. *Ann. NY Acad. Sci.* **877**, 258-280(1999).
- 10) Bourque, C.W. & Oliet, S.H., Osmoreceptors in the central nervous system. *Annu. Rev. Physiol.* **59**, 601-619(1997).
- 11) Nielsen, S., Nagelhus, E.A., Amiry-Moghadam, M., Bourque, C., Agre, P. & Ottersen, O.P., Specialized membrane domains for water transport in glial cells: High resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J. Neurosci.* **17**, 171-180(1997).
- 12) Ueta, Y., Yamashita, H., Kawata, M. & Koizumi, K., Water deprivation induces regional expression of c-fos protein in the brain of inbred polydipsic mice. *Brain Res.* **677**, 221-228(1995).
- 13) Chae, H.E. & Heideman, P.D., Water-deprived white-footed mice express c-fos on a day/night cycle graded according to the duration of deprivation. *Brain Res.* **791**, 1-10(1998).
- 14) Morien, A., Garrard, L. & Rowland, N.E., Expression of Fos immunoreactivity in rat brain during dehydration: effect of duration and timing of water deprivation. *Brain Res.* **816**, 1-7(1999).
- 15) Chiaraviglio, E. & Perez Guaita, M., The effect of intracerebroventricular hypertonic infusion on sodium appetite in rats after peritoneal dialysis. *Physiol. Behav.* **37**, 695-699(1986).
- 16) Vivas, L., Chiaraviglio, E. & Carrer, H.F., Rat organum vasculosum laminae terminalis in vitro: Responses to changes in sodium concentration. *Brain Res.* **519**, 294-300(1990).
- 17) Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S. & Noda, M., Nax channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nat. Neurosci.* **5**, 511-512(2002).
- 18) Lopreato, G.F., Lu, Y., Southwell, A., Atkinson, N.S., Hillis, D.M., Wilcox, T.P. & Zakon, H.H., Evolution and divergence of sodium channel genes in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 7588-7592(2001).
- 19) Watanabe, E., Hiyama, T.Y., Kodama, R. & Noda, M., Nax sodium channel is expressed in non-myelinating Schwann cells and alveolar type II cells. *Neurosci. Lett.* **330**, 109-113(2002).
- 20) Matalon, S. & O'Brodivich, H., Sodium channels in alveolar epithelial cells: Molecular characterization, biophysical properties, and physiological significance. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 627-661(1999).
- 21) Hummler, E., Barker, P., Gatzky, J.,

- Beermann, F., Verdumo, C., Schmidt, A., Boucher, R. & Rossier, B.C., Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in α ENaC-deficient mice. *Nat. Genet.* **12**, 325-328(1996).
- 22) Robert, A. & Jirounek, P., Uptake of potassium by nonmyelinating Schwann cells induced by axonal activity. *J. Neurophysiol.*, **72** 2570-2579(1994).
- 23) Fitzsimons, J.T., Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol. Rev.* **78**, 583-686(1997).
- 24) Buggy, J. & Fisher, A.E., Evidence for a dual central role for angiotensin in water and sodium intake. *Nature* **250**, 733-735(1974).
- 25) Lenkei, Z., Palkovits, M., Corvol, P. & Llorens-Cortes, C., Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: A functional neuroanatomical review. *Front. Neuroendocrinol.* **18**, 383-439(1997).
- 26) Liedtke, W., Choe, Y., Marti-Renom, M.A., Bell, A.M., Denis, C.S., Sali, A., Hudspeth, A.J., Friedman, J.M. & Heller, S., Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell* **103**, 525-535(2000).



【筆者紹介】

渡辺 英治

岡崎国立共同研究機構・基礎生物学研究所・助教授

工学博士

■略 歴

1962年大阪市に生まれる。

1986年大阪大学理学部卒業。

1991年大阪大学基礎工学研究課博士課程修了。

日本学術振興会特別研究員を経て1992年愛知県心身障害者コロニー研究員。

1995年基礎生物学研究所助手。

1998年同助教授、現在に至る。

■今後の抱負

脳ってどんな仕組みで働いているのだろうかという、単純な疑問だけで研究の世界に入りました。研究生活も10年以上になりますが、未だにその疑問が晴れていません。それも当然。何万人もの人間が挑んでいるテーマであるにも関わらず、未だに核心の部分が見えてこない難物です。そんなとんでもなく困難なテーマをそのまま扱えるほどの能力はないので、ちょっと端っこのほうから攻めている次第です。ねばり強さには自信がありますので、ほんの少しでもいいから疑問の一端を開くことに寄与できれば幸いと考えています。

■写 真

右の妙に背が高いのが著者。左は師匠の野田昌晴教授。2002年北米神経科学会（オーランド）にて。

委員会だより

国際対応委員会

国際対応委員長 東 田 陽 博

(金沢大学大学院医学研究科・細胞遺伝学)

ISN/APSN Joint Meeting-2003への参加とISN会員への登録呼びかけ

日本神経化学会 (JSN) の会員の皆さまに、香港で今年の 8 月 3 - 8 日に開かれる第19回国際神経化学会 (ISN) と第 6 回アジアパシフィック神経化学会 (APSN) 合同大会、ISN/APSN Joint Meeting-2003 (<http://WWW.neurochem.org/HongKong/ISN-APSNmeeting.htm>)、に多数参加していただきますようご案内いたします。Abstractの締め切りは3月31日です。参加登録料はISN/APSNメンバーは3,010香港ドル、非会員は3,510香港ドル、学生は1,060香港ドルです。日本神経化学会 (JSN) 会員は自動的にアジアパシフィック神経化学会 (APSN) のメンバーなので、3,010ドルです。

国際対応委員会といたしましては、国際神経化学会 (ISN) のメンバーになっておられない日本神経化学会 (JSN) の会員の方々には、合同大会の開かれるこの際、ISNのメンバーにもなっていただきたいと思います。ことに、昨年から、「ISNシンポジウム」がJSNの年次大会でも毎年開かれるようになりました。国際神経化学会 (ISN) に関心と興味を持っていただき、ISN活動の活発化に貢献いただきたくお願いいたします。下に、ISN/APSN 2003 Secretariatからの手紙と国際神経化学会 (ISN) ご入会の手続き (http://WWW.neurochem.org/pages/member_index.htm) を添付します。

ISN and APSN Joint Meeting-2003

JOINT MEETING-2003 of the ISN International Society for Neurochemistry and the APSN Asian-Pacific Society for Neurochemistry, 3rd-8th August 2003, Hong Kong Convention & Exhibition Centre

Dear Friends,

Greetings from Hong Kong!

We are writing to extend our invitation to you to participate in the coming Joint Meeting of ISN

and APSN 2003. This will be a historic meeting firstly held in Hong Kong, a fascinating city in Asia which is easy to reach from all over the world.

There is an excellent **Scientific Programme** that will appeal to a wide range of scientists. Don't miss this opportunity to have stimulating scientific exchange amongst neurochemists/neuroscientists from different continents.

Online Registration is now available on the website. Now you just simply click here **OnlineRegistration** to do your registration right a way to enjoy the Early Bird rate. Or you may download the Registration form and fax it back to the Secretariat. An official confirmation letter will then be sent to you.

We also invite the registered participants who wish to present a poster to submit their abstracts online

before 31 March 2003. Click here **Abstract Submission** for the minutest details.

The conference secretariat has reserved accommodations for the meeting registrants at several hotels **Hotels Information**.

All hotels are ideally located in the neighbourhood of the conference venue and also conveniently located along major public transport routes. To secure the hotel room- Do it online or download the form and fax it back to Secretariat.

You are advised to submit it together with the registration.

Should you have any questions, please don't hesitate to contact us. We are all ready for your assistance in planning a pleasant trip to Hong Kong, the City of Life.

We are looking forward to meeting you in this Summer!!!

Best regards,

ISN/APSN 2003 Secretariat

International Conference Consultants, Ltd.

Units 501-3, 5/F, Far East Consortium Building

121 Des Voeux Road Central, Hong Kong

Tel: (852) 2559 9973

Fax: (852) 2547 9528

Email: isn2003@icc.com.hk

www.neurochem.org/HongKong/ISN-APSNmeeting.htm

Membership Application Form ISN

International Society for Neurochemistry

The aims of the Society are

- to facilitate the worldwide advance of
- neurochemistry and related neuroscience
- disciplines * to foster the education and development
- of neurochemists, particularly of young and
- emerging investigators

Members of the Society benefit by

- one year dues waiver
- lowest registration fee at Society meetings
- the Society newsletter, ISN News, twice yearly
- reduced subscription rate to Journal of Neurochemistry

The ISN biennial meetings

As an international society, we choose meeting locations throughout the world. The next meeting will be held in Hong Kong, China, from August 3-8, 2003 and the 2005 meeting will take place in Innsbruck, Austria, from August 21-26. Travel grants for young investigators to attend the meetings are available by application. Postdoctoral applicants should have received their Ph.D. or M.D. no more than 8 years ago. The travel grants are advertised in Neurochemistry News (the Newsletter of Community of the Neurochemical Societies including the ISN), and via the ISN website at <http://www.neurochem.org/>.

Standing Committees of the ISN

The Society offers opportunities to join one of the standing committees, e.g.:

- The Committee for Aid and Education in Neurochemistry, which pursues several initiatives intended to stimulate neurochemical research in economically deprived and developing countries.
- The ISN Conferences Committee, which funds small international meetings on specialized neurochemical topics and organizes an ISN Advanced School of Neurochemistry course for young scientists on contemporary neurochemical subjects in conjunction with each biennial meeting of the Society.
- The Travel Grant Committee, which awards travel grants for attending the biennial meetings.

Membership

Applications for Membership are considered by the Treasurer:

Membership

Persons from any part of the world

- who have a Ph.D., M.D. or equivalent degree, or
- who have contributed notably to the advancement of neurochemistry and related neuroscience disciplines;
- who have amassed a past or present record of neuroscience research through publications in refereed journals and
- who have a reasonable prospect of continued neurochemically-oriented activities.

Annual dues: US \$ 45

Membership dues will be waived for newly admitted members for the calendar year in which they join the ISN. The Society will also waive membership dues, on the basis of annual request and approval, if the economic conditions and currency regulation make such payment a serious hardship. Members vote at ISN business meetings and by postal ballot.

Reduced Membership Fee

In case an applicant has only recently begun research in neurochemistry and has recently completed or in the process of attaining a doctoral degree with a reasonable prospect of continuous activity in neurochemistry, the applicant may be eligible for a reduced membership fee of US \$ 20 during the first 4 years of membership.

Application Procedure

Each person applying for Membership should complete the application form (last page in this brochure) and also provide a curriculum vitae (prepared in English) or a list of 3 publications. List in order: authors, title, journal, volume, pages and year. Alternatively, the applicant should provide a signature from a current member of the Society in good standing regarding payment of membership fee.

Applicants should send their applications and address their inquiries regarding membership to:

Dr. Roger F. Butterworth
Director, Neuroscience Research Unit
Professor of Medicine, University of Montreal
Hopital Saint-Luc du CHUM
1058 St-Denis Street
Montreal, Quebec
H2X 3J4 Canada
Email: roger.butterworth@umontreal.ca

It is essential that all names and the applicant's complete address, telephone number, fax number and e-mail address (if available) are clearly typed or printed on the application form. The candidate's full address must be given in English or in the local language but not in a mixture of both. No money should initially be sent; the ISN Treasurer will bill successful applicants.

Statement by the Candidate

"I wish to be considered for Membership of ISN".

Surname of candidate: _____

First name(s): _____ Gender: (M/F) _____ Year of birth: _____

Signature of candidate: _____ Date: _____

Department: _____

University or organization: _____

Full postal address (Street, P.O. Box, City, State, Zip Code, Country):

Telephone: International Code: _____ Area code: _____

Telephone No.: _____ Extension: _____

Fax No.: _____ E-mail: _____

Degree (give University and year): _____

- Short CV enclosed or
- A list of 3 publications enclosed or
- A supporting signature of an ISN Member:

Signature: _____

Name (block capitals): _____

- I apply for reduced membership fee. Please provide a reason.

学 会 掲 示 板

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻（関連基礎科学系） 助教授募集

公募人員：助教授1名

専門分野・仕事の内容：先端計測技術を用いて、学習・認知など、生体の高次機能について開拓的研究を推進する方。大学院（関連基礎科学系）・後期課程（基礎科学科の3，4年生）・前期課程（教養学部1，2年生の物理または化学）の教育を担当。

応募資格：博士号取得者

着任時期：決定後のできるだけ早い時期

提出書類：(1) 履歴書、(2) 業績リスト、(3) 主要論文別刷6編、(4) 今までの研究概要（2000字程度）と今後の研究・教育の抱負（2000字程度）、(5) 本人についての照会可能者2名の氏名・所属・連絡先。(1)から(4)については2部づつ。

応募締切：2003年4月30日（水）必着

書類送付先：〒153-8902 目黒区駒場3-8-1

東京大学教養学部 基礎科学科主任 遠藤泰樹

封筒に「応募書類在中」と朱書き、簡易書留あるいは書留で送付のこと

問 合 先：東大大学院 広域科学専攻 関連基礎科学系 小宮山進

e-mail: csusumu@ASone.c.u-tokyo.ac.jp

Tel:03-5454-6738

ホームページ: <http://dbs.c.u-tokyo.ac.jp/index.en.html>

ASTRAZENECA RESEARCH GRANT 2003募集

AstraZeneca株式会社では、意欲的な研究に対する研究助成事業の一環として、昨年に引き続き、日本における若手の基礎研究者を対象に研究助成を行います。

奮ってご応募ください。

● 応募締め切り：平成15年3月31日

● 研究助成金：1件あたり200万円（全25件）

詳細はアストロゼネカ社のHPをご覧ください。

<http://www.astrazeneca.co.jp>

第3回（2003年）財団法人材料科学技術振興財団 山崎貞一賞のお知らせ

1. 選考対象分野：(1)「材料」 (2)「半導体及び半導体装置」 (3)「計測評価」
(4)「バイオサイエンス・バイオテクノロジー」
2. 選考対象者：詳しくは下記の請求先へお問い合わせ下さるか、URLをご覧ください。
 - (1) 法人、受賞候補者の国籍を問わず、日本国内における業績を授賞対象とします。
 - (2) 論文の発表、特許の取得、方法・技術の開発等を通じて、実用的効果につながる優れた創造的業績をあげた人、もしくは、今後そのような業績をあげる可能性が高い将来性のある人として。尚、候補者は個人・グループであることを問いませんが、グループを推薦される場合は、1グループを1件とみなします。
 - (3) 過去に応募されたことのある人でも、更なる業績のある場合は応募可能です。
3. 顕彰：各分野1件それぞれに賞状及び副賞（メダル・賞金300万円）を贈呈します。
4. 締切期日：2003年4月末日必着
5. 推薦書請求先、提出先：〒157-0067 東京都世田谷区喜多見1-18-6
財団法人 材料科学技術振興財団 山崎貞一賞事務局
TEL 03-3415-2200 E-mail prize@mst.or.jp
FAX 03-3415-5987 URL <http://www.mst.or.jp/>

サイエンス・パートナーシップ・プログラム事業に関する調査研究 に係る研究者招聘講座、教育連携講座、教員研修の募集について

文部科学省では、平成14年度より、科学技術・理科、数学教育を充実させるため、「科学技術・理科大好きプラン」を推進しています。その一環として、中学校、高等学校等（以下、「学校」という）と、大学、公的研究機関、民間企業等（以下、「大学、研究機関等」という）との連携により先進的な科学技術・理科、数学教育等を実施するための「サイエンス・パートナーシップ・プログラム事業」（以下、「SPP事業」という）を行っています。

SPP事業は、大学、研究機関等の人材、施設、設備等を、学校における科学技術・理科、数学教育に活用するためのものであり、1. 学校が大学、研究機関等の研究者、技術者を招聘して、科学技術・理科、数学に関する観察、実験、実習等の学習を行う「研究者招聘講座」（以下、「招聘講座」という）に対する支援 2. 大学、研究機関等が学校と連携して、当該大学、研究機関等において、科学技術・理科、数学に関する観察、実験、実習等の学習を行う教育連携講座（以下、「連携講座」という）に対する支援 3. 各都道府県教育委員会、指定都市教育委員会及び中核市教育委員会や大学、研究機関等において、教員を対象とした科学技術・理科、数学に関する研修を行う（以下、「教員研修」という）に対する支援等を実施することにより、大学、研究機関等と学校の連携のあり方についての調査研究を行うこととしています。

ついては、下記に基づき、一次募集については、平成15年5月10日から平成16年3月31日、二次募集については、平成15年8月1日から平成16年3月31日までに実施される招聘講座、連

携講座及び教員研修の実施希望調査を行いますので、実施を希望される場合は関係部署に周知の上、下記により別紙の実施申請書等を提出願います。

各都道府県教育委員会及び私立学校事務主管課におかれては、域内の市町村教育委員会、所管又は所轄の学校及び学校法人等に対しても、本照会について周知を図っていただけるようお願いします。

1. 実施申請書等の提出について

- (1) 提出部数：郵送2部（「連携講座」の場合は参加予定の同意書を添付のこと）、電子メール1通（Microsoft Word 2000以下もしくは一太郎Ver.9以下のファイル形式で添付のこと。申請書の様式については、文部科学省のホームページからダウンロードが可能です。

URL: <http://www.mext.go.jp>

- (2) 募集期間：

一次募集 平成15年1月15日（水）～平成15年2月28日（金）（必着）

二次募集（予定）平成15年5月12日（月）～平成15年6月10日（火）（必着）

2. 提出先・問い合わせ先

文部科学省科学技術・学術政策局基盤政策課理解増進推進第一係

（担当：松本、堀尾、安澤）

〒100-8966 東京都千代田区霞が関1-3-2

TEL：03-5253-4111（内線7085, 4191）

FAX：03-5253-4022 e-mail:spp@mext.go.jp

注・公立学校からの質問及び申請については、所管の各教育委員会で取りまとめの上、問い合わせ、または提出願います。

第18回 日本生体磁気学会大会

会 期：2003年5月30日（金）～31日（土）

会 場：池田市民文化会館

〒563-0031 大阪府池田市天神1-7-1

連絡先：第18回 日本生体磁気学会大会 事務局

〒563-8577 大阪府池田市緑丘1-8-31

独立行政法人 産業技術総合研究所 ライフエレクトロニクス研究ラボ

TEL: 072-751-8526, FAX: 072-751-8416

E-mail: jbiomag2003@m.aist.go.jp

<http://www.biomag-j.org/JBiomag2003/>

〈生理学研究所 生理科学実験技術トレーニングコースのお知らせ〉

生理学研究所では、「分子・細胞レベルから脳の働きに至るまで人体の機能を総合的に解明する」ことを目標に研究を進めています。例年、夏期に生理学分野に関心を持つ大学・大学院生、若手研究者を対象とした実習形式のトレーニングコースを開催しています。実習では最新の生理科学の技術を学んで頂けます。詳細、参加申込方法は下記のホームページをご覧ください。熱意、意欲のある方のご応募をお待ちしております。

日 時：2003年7月28日（月）～ 8月1日（金）

場 所：岡崎国立共同研究機構 生理学研究所（愛知県岡崎市）

講 演：『イオンチャネル・神経回路から個体に向かって』井本敬二（生理学研究所）

実習テーマ：電子位相顕微鏡の原理と実践

超高压電子顕微鏡による生物試料の立体観察

免疫電子顕微鏡法

生体標本の蛍光観察と細胞内カルシウム濃度測定

ジーンターゲット

胎仔脳内への遺伝子導入 ーレトロウイルスとエレクトロポレーションー

遺伝子導入・欠損を用いた細胞応答解析

パッチクランプと電気生理学実験解析法

スライスパッチクランプ（1. 基礎コース 2. 応用コース）

慢性動物実験法入門

電気生理学及び心理物理学的手法による視知覚メカニズムの解析

脳機能画像解析入門

脳磁図計測・解析の基礎

OPアンプによる増幅器とバスチェンバーの作製

簡易型電気泳動装置の作製

受講料：9,800円（予定）

申込方法：ホームページ上にてオンライン受付

<http://www.nips.ac.jp/training/>

申込期日：2003年4月23日（水）～ 6月4日（水）

共 催：日本生理学会，日本神経科学学会

連絡先：e-mail: training@nips.ac.jp

募集人員：約150名

千里ライフサイエンスセミナー

「感覚受容の分子生物学」

日 時：平成15年6月6日（金）10：00～17：00

場 所：千里ライフサイエンスセンタービル5階ライフホール

着 眼 点：近年、視覚、聴覚、味覚、嗅覚、痛覚など感覚受容の分野では、分子生物学的手法の導入により新しい発見があいついでいる。今回取り上げる感覚受容の研究は、ポストゲノム時代を迎えた21世紀において、多様な個人の感性の理解や、高齢化社会での感覚障害の克服に道を拓くものとして大いに期待されている。本セミナーでは、ヒトの五感の分子レベルでの理解がどこ迄進んでいるのか、この分野の第一線で活躍されている先生方の話から、最近の研究の新しい息吹を感じとっていただきたい。

コーディネーター：大阪大学大学院 医学系研究科 教授 福田 淳
東京大学大学院 理学系研究科 教授 坂野 仁

プログラム：1. 感覚受容の分子メカニズム

東京大学大学院 理学系研究科 教授 坂野 仁

2. 網膜における新しい光受容機構の発見

岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所 博士研究員 高雄 元晴

3. 味覚と嗅覚受容体研究の最前線

Duke University Medical Center, Assistant Professor 松波 宏明

4. 痛み受容・温度受容の分子機構

三重大学医学部 生理学第一講座 教授 富永 真琴

5. 耳の中にアンプが存在する

東北大学大学院工学研究科 バイオロボティクス専攻 教授 和田 仁

6. 脳の匂い分子受容体地図

東京大学大学院医学系研究科 細胞分子生理学分野 教授 森 憲

作参加費（講演要旨集含む）：会員（大学・官公庁職員、財団の賛助会員）3,000円；
非会員5,000円；学生1,000円

定 員：300名

申込方法：氏名、〒所在地、勤務先、所属、電話およびFAX番号を明記の上、郵便、FAXまたは電子メールで下記宛にお申込下さい。受付の通知を返送いたしますので、通知書に記載した振込先口座に参加費をお振込み下さい。入金を確認後、通常2週間以内に領収書兼参加証を送付いたします。

申 込 先：（財）千里ライフサイエンス振興財団セミナー（T1）係

〒560-0082大阪府豊中市新千里東町1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル8階

TEL 06-6873-2001 FAX 06-6873-2002

E-mail sng-lsf@senri-lc.co.jp

複写される方へ

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、(財)日本複写権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、図書館も著作権者から複写権等の行使の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。著作物の転載・翻訳のような複写以外の許諾は直接本会へご連絡下さい。

〒107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 乃木坂ビル 学術著作権協会

TEL: 03-3475-5618 FAX: 03-3475-5619 E-mail: naka-atsu@muji.biglobe.ne.jp

アメリカ合衆国における複写については下記に連絡して下さい。

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: 978-750-8400 FAX: 978-750-4744

Notice about photocopying

In order to photocopy any work from this publication, you or your organization must obtain permission from the following organization which has been delegated for copyright for clearance by the copyright owner of this publication.

Except in the USA

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

6-41 Akasaka 9-chome, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

TEL: 81-3-3475-5618 FAX: 81-3-3475-5619

E-mail: naka-atsu@muji.biglobe.ne.jp

In the USA

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: 978-750-8400 FAX: 978-750-4744

編集後記

私が本学会広報担当理事と編集委員長を拝命して、早2年が経ちました。この2年間は畠中先生のご逝去、我が国でのBSEの発生、September11、米国のアフガン侵攻、東証株価8,000円割れ、そして緊迫するイラク、北朝鮮情勢と本学会にとっても世界情勢にとっても多難な2年間でありました。こういう暗く、閉塞感の漂うこのご時世こそ、未来に向けた研究推進と、次の世代の人材育成が最も大事なのではないのでしょうか？その意味で、学会が社会に果たす責任は、実に大きいと受け止めている今日この頃です。本学会が、未来に向けてますます繁栄することを祈って、編集の仕事を柳澤勝彦先生にバトンタッチしたいと思います。

(岡野 栄之)

神経化学 42巻 第1号

平成 15年 3 月25日発行

編集兼発行者 日本神経化学会

代 表 者 御子柴 克彦

発 行 所 日本神経化学会

〒113-8622 東京都文京区本駒込5-16-9

財団法人 日本学会事務センター内

印 刷 所 (株)六甲出版販売
