

ISSN: 0037-3796



# 神経化学

Bulletin of the Japanese Society for Neurochemistry  
Vol.48 (No.1), 2009



平成 21 年 3 月

## 目 次

理事会からのお知らせ .....	1
国際神経化学会及びアジア太平洋神経化学会入会について	
輝け次代の担い手たち .....	3
「細胞外ATPによるミクログリア運動能調節機構の研究」 .....	3
大澤 圭子(国立精神・神経センター 神経研究所 代謝研究部)	
「多極性移動神経細胞とロコモーション移動神経細胞の形態制御」 .....	13
川内 健史(慶應義塾大学 医学部 解剖学教室)	
「APP Tg マウスを用いたアルツハイマー病治療戦略にかかる研究」 .....	23
森原 剛史(大阪大学大学院医学系研究科 精神医学教室)	
研究室紹介 .....	29
山梨大学 医学部 薬理学講座	
小泉 修一	
琉球大学 医学部 形態機能医科学講座 生化学分野	
山本 秀幸	
「第52回日本神経化学会大会」開催のご案内 .....	33
学会掲示板 .....	39
賛助会員リスト .....	44
編集後記 .....	46

## 理事会からのお知らせ

# 国際神経化学会及びアジア太平洋神経化学会入会について

国際対応委員長 和中 明生

1) 国際神経化学会(International Society for Neurochemistry:ISN)は全世界の神経化学研究者の情報交換を目的として作られた学会です。ISNでは隔年で大会を開催しており、本年8月23日から28日まで釜山(韓国)で開かれます。プログラムは毎回充実したものであり、世界のトップクラスの脳神経系の研究者が集まり、多くの情報を収集することができます。Ph.D.またはM.D.を取得して8年以内の若い研究者には大会参加への旅費が補助される制度があります。今、ISNに入会されると、いろいろな特典がありますので、是非この機会にご入会下さい。

### ISNに入会すると

- 1) その年の12月までの会費が免除になります。
- 2) ISN大会の参加費が会員レートになります。
- 3) Journal of Neurochemistryの購読料が割引になり、online版には無料でアクセスできます。
- 4) Neurochemical Societies newsletter, Neurochemistry Newsが年に2回送付されます。

**入会資格:** Ph.D., M.D. もしくは同等の学位を有するもので、広く神経化学に関連した活動をすることが期待できる人。

### 年会費: US\$40

ただし、新しく入会した人にはその年の12月までの会費が免除されます。また、最近神経化学分野での研究を始め博士課程を修了したばかりの人、または今後も神経化学分野での活動をすることが期待される博士課程にある人は入会後4年間会費を減額(US\$20)される資格があります。

**入会方法:** 入会フォームは [http://www.neurochemistry.org/pages/member\\_index.htm](http://www.neurochemistry.org/pages/member_index.htm) から PDF 或いは Word 形式のものがダウンロードできます。(入会フォームには現会員の署名が必要です)、履歴書(英文)、論文リスト(3つ:著者名、タイトル、ジャーナル名、巻号、ページ、掲載年の順)を下記まで送付して下さい(現在オンラインでの入会申込はしておりません)。

Dr. Agustina Garcia

ISN Secretary

Instituto de Biotecnología y Biomedicina V. Villar Palas

Universidad Autónoma de Barcelona

08193 Bellaterra, Spain

Email: [isn.office@uab.cat](mailto:isn.office@uab.cat)

(注) それぞれの名前、住所等はタイプするか、わかりやすくはっきりと記入する必要があります。また会費は入会が認められた後に納入してください。

2) アジア太平洋神経化学会(Asian-Pacific Society for Neurochemistry:APSN)は上述のISNの3つの下部組織の一つとして、ヨーロッパ神経化学会(European Society for Neurochemistry:ESN)、アメリカ神経化学会(American Society for Neurochemistry:ASN)と並ぶものです。主にアジア太平洋地域の神経化学研究者が情報交換、交流を行う目的で結成され、現在隔年(ISNとは異なる周期)に大会を開いています。次回は2010年10月18日から20日にかけてプーケット島(タイ)において開催されます。近年アジア太平洋地域の研究レベルは飛躍的に上がっており、プログラムも同地域の活発に活動する研究者に加えてヨーロッパ、アメリカからのトップクラスの研究者も多く参加しています。APSNはISNとの間で良好な関係を持っており、大会開催などに対する確固たる財政支援を受けていることも魅力の一つです。APSNは若手研究者の育成に力を注いでおり、大会では通常の口頭発表、ワークショップに加えてYoung investigator colloquiumという若手研究者が集って最先端の研究成果を発表するシンポジウムを設けています。ポスター発表ももちろんありますが、このような口頭発表の機会が多いので、日本の若手研究者が英語による口頭発表の経験を積むのに好適な学会と考えます。是非この機会に入会して下さい。

## 1)年会費

正会員:US\$ 40／年 (年会費に関してはカテゴリ1～4がありますが、日本の研究者はカテゴリ1で年40ドルです)

学生会員:US\$ 10／年

## 2)入会手続き

APSNのホームページ中の「membership」<http://apsneurochem.org/membership.htm>に「Application」<http://apsneurochem.org/application.htm>という項目があります。手続きはISNとほぼ同じで、このApplicationのページにApplication formのリンクがありますので、これをクリックしていただくと次のページにPDFとWordのApplication formがあります。ダウンロードして、必要事項を記載(英語はブロック体或いはタイプで明瞭に)して、簡単な履歴書(英文)と過去5年間の論文リストと一緒に下記宛まで送って下さい。学生会員の場合は学生であることを証明する文書(英文)を付け加える必要があります(E-mailを歓迎しているそうです)。

Dr. Peter T.-H. Wong, Ph.D  
Hon. Treasurer, APSN  
c/o Department of Pharmacology,  
Yong Loo Lin School of Medicine  
National University of Singapore  
18 Medical Drive  
Singapore 117597  
E-mail: phcwth@nus.edu.sg  
Tel:(65) 6874 3224  
Fax:(65) 6873 7690

## 輝け次代の担い手たち

# 細胞外ATPによるミクログリア運動能調節機構の研究

(国立精神・神経センター 神経研究所 代謝研究部) 大澤 圭子

### 1. はじめに

正常成熟脳では、ミクログリアは広汎に分布し、ラミファイド型と呼ばれる細胞体が小さく長く多数に分岐した突起を持つ形態で存在する。脳に障害や異変が起きると、いち早く反応して形態的にも機能的にも変化し活性化型となる。活性化ミクログリアの機能は多岐にわたり、増殖や移動、貪食、抗原提示、様々な生理活性物質の産生・分泌などをおこなう。これらのことから、現在、ミクログリアは、脳内の死細胞や異物を除去するだけではなく、炎症時には免疫応答細胞としても機能し、神経細胞に対して保護的あるいは障害的に作用して神経組織の修復や再生に重要な役割を果たす細胞であることが明らかになってきている<sup>1,2)</sup>。

それでは、ラミファイド型から活性化型への機能的変化はどのように制御されているのであろうか？ 残念ながら現時点ではいまだ全容は明らかにされていない。その理由の一つは、組織障害の程度や種類に応じてミクログリアの活性化される機能が異なり、さらには、その機能が時間経過と共に変化し

ていくためではないかと考えられる。しかし、損傷や病態時に異常を感じたミクログリアはまず形態変化を起こして異常部位へと移動することから、このミクログリアの初期反応が機能的変化を誘導するきっかけになることが示唆される。従って、形態変化や移動などの細胞運動能を活性化する因子は、ミクログリアの機能を制御する上で重要な役割を担うと考えられる。

ミクログリアの細胞運動能を制御する因子として、MCP-1やフラクタルカインなどのケモカイン類<sup>3)</sup>、カンナビノイド類<sup>4)</sup>、補体成分のC5a<sup>5)</sup>、神経ペプチドであるブラジキニン<sup>6)</sup>などが報告されている。我々は、今までに、細胞外ATPがATP受容体を介してミクログリアの遊走能を亢進することを見いだし、その調節分子機構の研究を行なってきた<sup>7-9)</sup>。ATPは神経-グリア間の情報伝達物質として知られており、正常時にはシナプスやアストロサイトから放出され、障害時にはダメージを受けた細胞から漏出される<sup>10,11)</sup>。ATPの刺激により、図1に示したようなミクログリアの形態変化と

初代培養ミクログリア：膜ラッフル形成と遊走



組織内ミクログリア：突起伸長と遊走

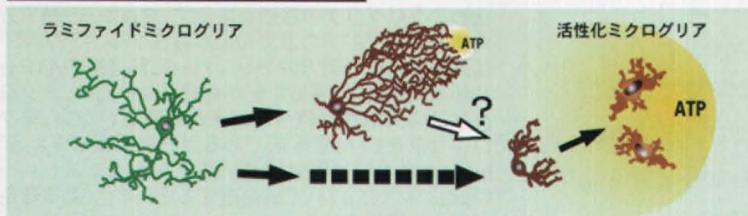


図1 細胞外ATPによるミクログリアの形態変化と遊走能の亢進  
ディッシュ上に接着した培養ミクログリアは、ATP刺激により、数分後に細胞膜が波打つようめぐれ上がる膜ラッフリングを起こした後、ATPの濃度勾配に依存した遊走を示す<sup>7,8)</sup>。近年になり、組織内では、局所的な組織損傷あるいはATP刺激により数十分以内に突起の伸長反応が生じることが示された<sup>25)</sup>。また、培養海馬組織切片における神経細胞死に伴うミクログリアの突起の伸長および退縮と移動がATPに依存することが報告された<sup>26)</sup>。

遊走が刺激後数分から数時間の短時間内で急激に引き起こされることから、ATPは脳内におけるミクログリアの運動能制御因子として非常に重要な因子であると考えられる。そこで、本稿では、ATPによるミクログリアの細胞運動能亢進作用に関する最近の知見を、我々の研究成果も交えながら紹介する。

## 2. ATPによるミクログリア遊走能の亢進

細胞外ヌクレオチドをアゴニストとするATP受容体は、イオンチャネル型(P2Xn)と膜7回貫通Gタンパク質共役型(P2Yn)の二つに大別され<sup>12)</sup>、ミクログリアにはP2X4、P2X7、P2Y2、P2Y6とP2Y12の発現が確認されている<sup>13)</sup>。我々は、低濃度( $\mu$ Mレベル)のATPの刺激により、ミクログリアがATPの濃度勾配に沿って遊走することを見いだした<sup>7)</sup>。その遊走は百日咳毒素とP2Y12に対する選択的アンタゴニストAR-C69931MXにより阻害されるが、他のP2Yアンタゴニストによる影響を受けないことから、Gi/oタンパク質共役型のP2Y12を介して作用することを示唆した(図2)。これらの結果は、HaynesらによりP2Y12ノックアウト(-/-)マウスを用いた実験で確認され、P2Y12がATPによるミクログリアの遊走を誘導するための必要不可欠な受容体であることが明らかになった<sup>14)</sup>。

ATPによる遊走を調節する細胞内シグナル系について、我々は酵素特異的な阻害剤を用いた解析を行ない、P2Y12を介したホスファチジルイノシトル3キナーゼ(PI3K)とホスホリパーゼC(PLC)シグナル系の活性化が必要であることを示し<sup>8)</sup>、また、PI3Kの下流で活性化されるAktの関与も示唆した<sup>9)</sup>。三量体Gi/oタンパク質の下流のシグナルとして知られているアデニル酸シクラーゼ(AC)シグナル系については、Nasu-Tadaらにより、ATP刺激による細胞内サイクリックAMP(cAMP)の減少とプロテインキナーゼA(PKA)活性の抑制が必要であることが示された<sup>15)</sup>。この報告では、ミクログリアの遊走がファイプロネクチンを基質とした系を用いて解析され、遊走に細胞接着因子 $\beta$ 1インテグリンの関与が示唆された。

イオンチャネル型P2X受容体については、P2X受容体アンタゴニストとRNAiの手法を用いた検討により、P2X4がATP刺激時のミクログリアの遊走能亢進に参与することを見いだされた(図3)<sup>8)</sup>。ATPによるミクログリアの細胞内カルシウムの一過性の上昇は、P2X4を介した細胞外カルシウムの流入により引き起こされ、細胞内カルシウム上昇を抑制

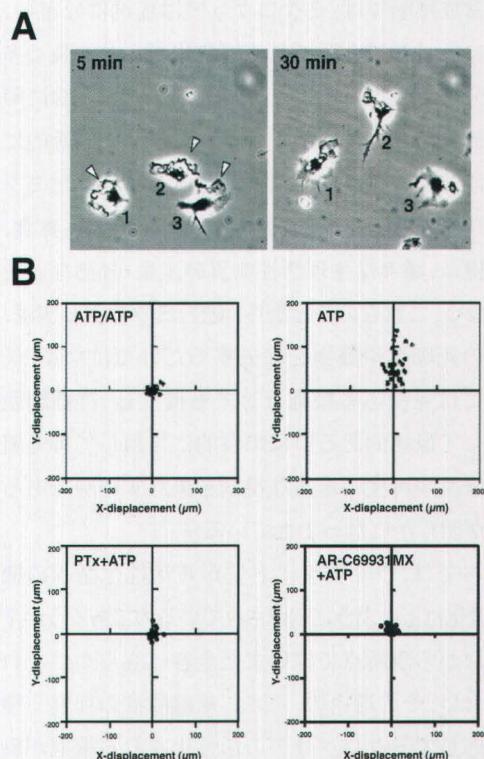


図2

ATPにより誘発されるミクログリアの遊走(文献7と8から改変引用)

(A)ダンケモタキシスチャンバーを用いてミクログリア遊走能を解析し、同一視野におけるATP刺激後5分と30分のミクログリアの移動経過を示した。写真上部にATP $50\mu M$ が添加され濃度勾配が形成されている。白矢頭はラッピングを示す。

(B)各点は外側のチャンバーに $50\mu M$  ATP添加60分後のミクログリアの移動点を示す。0点からY軸+方向に向かってATPの濃度勾配が存在する。ATP/ATPは外側と内側の両方のチャンバーに同濃度のATPを添加した場合で、濃度勾配が存在しないため、ミクログリアの方向性を持った遊走が観察されない。ミクログリアをGi/o阻害剤である百日咳毒素(PTX, 50 ng/ml)あるいはP2Y12選択的アンタゴニストAR-C69931MX(1  $\mu M$ )で前処理するとATPによる遊走が完全に阻害される。

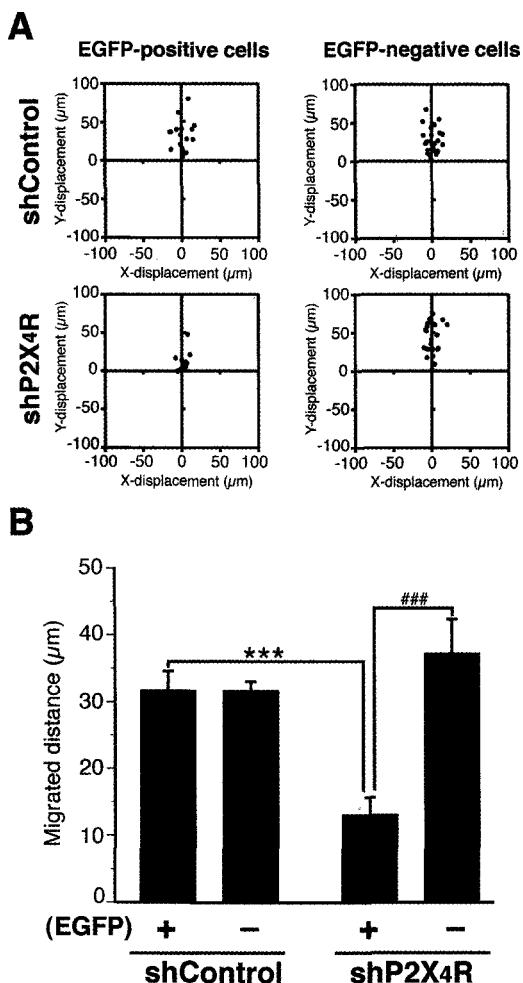


図3 ATPによるミクログリアの遊走に対するP2X4特異的siRNAの抑制効果(文献8から引用)  
レンチウイルスを用いてP2X4特異的siRNA(shP2X4R)とEGFPを同時に発現するベクターをミクログリアに導入し、P2X4の発現が抑制されたミクログリアのATPによる細胞遊走をダンケモタキシスタンバーを用いて検討した。コントロールとして、既に報告されているルシフェラーゼのshRNA配列を用いた(shControl)。EGFP陽性のshP2X4R発現細胞の遊走が有意に阻害され、P2X4が遊走に関わることが示された。

するとATPによるPI3K-Aktシグナル系の活性化は減弱した。これらの結果から、P2X4は、カルシウムシグナルの活性化を介してPI3K-Aktシグナル系に影響を及ぼし、遊走調節に関与すると考えられる。

P2Y12は正常脳ではラミファイド型ミクログリアに局在し、顔面神経軸索切断後の顔面神経核や、てんかんモデルマウス脳、末梢神経損傷による神経因性疼痛モデルラット脊椎などにおける活性化ミ

クログリアで発現上昇する<sup>16-18</sup>。一方、P2X4の発現は正常脳のラミファイド型ミクログリアではほとんど認められず、顔面神経軸索切断や神経因性疼痛モデル、虚血などにより活性化したミクログリアで上昇することから<sup>19-21</sup>、P2X4は病態時のミクログリアの遊走調節に関わると考えられる。

### 3. ATPによるミクログリア突起伸長

従来、病態脳組織切片の免疫組織化学的染色法による解析から、ラミファイド型ミクログリアは、まず、突起を収縮させ、短く太い突起をもつ形状あるいは球状の活性化型となり移動すると考えられていた<sup>22,23</sup>。しかし、近年になり、蛍光標識したミクログリアの動態を生きたままリアルタイムに観察することが可能となり、組織内ミクログリアの様々な挙動が明らかにされてきている(図1。3ページ参照)。その中で興味深いのは、ラミファイド型ミクログリアによる突起伸長である。ミクログリアにEGFPを発現させて可視化したトランジェニックマウスを用い、生きたマウス脳内のミクログリアの様子を2光子レーザー顕微鏡で観察した結果が報告され、ミクログリアは周囲の環境をセンサーするかのように常時突起を活発に動かしていることが示された<sup>24,25</sup>。局所的に組織を障害した場合には、近傍のラミファイド型ミクログリアが数十分以内に突起を障害部位へ伸長させ、細胞体は移動せずに障害部位を取り囲むことが明らかにされた。ATP/ADPを局所投与した場合にも同様の突起伸長が観察され、P2Y12(-/-)マウス脳のミクログリアでは認められないことから、ATP/ADPがトリガーとなりP2Y12を介して引き起こされることが判明した<sup>14</sup>。一方、海馬組織培養切片を用いた実験では、神経細胞死が顕著に起こるCA3領域で、錐体細胞層に向かって近傍のミクログリアが突起を伸ばし中には移動して障害細胞を取り巻くことが観察され、それらの動態もATP/ADPによることが報告された<sup>26</sup>。また、外液中にATPを添加すると、数時間内に錐体細胞層へのミクログリアの顕著な突起伸長あるいは細胞体移動が観察された。それらはP2Y12(-/-)マウス脳のミクログ

リアでは認められることから、P2Y12を介して引き起こされることが明らかになった<sup>14)</sup>。これらの報告から、P2Y12を介して引き起こされるミクログリアの挙動は、ATPの刺激濃度や範囲だけではなく、ATP刺激を受けたときのミクログリア自身の状態とミクログリアが位置した環境により変化すると考えられる。従って、ATP刺激による突起伸長と細胞移動の変換がどのように調節されているのかを解明することは、組織内ミクログリアの動態を理解するため非常に重要な手がかりとなる。そこで我々は、まず、in vitroの突起伸長アッセイ系を確立し、P2Y12を介して遊走に関わることを報告したシグナル系が突起伸長の際にも必要であるかどうかを検討した。

#### 4. ミクログリアの突起伸長アッセイ系の確立

ミクログリアの動態を制御する細胞内シグナル分子の詳細な解析を行なうためには、初代培養ミクログリアを用いたin vitroのアッセイ系が必要である。ミクログリアの遊走はボイデンチャンバーやダンケモタキシスチャンバーなどを用いて解析することができるが、突起伸長を検討できる系は存在しなかった。

そこで、我々は、3次元コラーゲンゲルとトランスウェルを用い、ミクログリア突起伸長解析系を作製した。インサート内に作製したコラーゲンゲル上にラット初代培養ミクログリアを播種し、ボトムウェルに50  $\mu$ M ATPを添加して刺激を行なった(図4A)。2時間後に細胞をゲルごと固定し、抗Iba1抗体(ミクログリア)とファロイジン(F-アクチン)、DAPI(核)で染色した後、ミクログリアの形態を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。図4Bに示したように、ミクログリアは細胞体をゲル上部に残したまま、突起をゲル内に伸長させていた。この伸長は50  $\mu$ M以上のATPで有意に認められ、インサート内とボトムウェルに同時に同濃度のATPを添加した場合には、ゲル表面上で突起伸長あるいは膜ラッピングが認められるがゲル内への伸長は認められなかった。また、突起伸長はATPとADPにより起こるが、UTPやUDPでは認められず、P2Y12選択的アンタゴニストにより阻害された(図4C)。これらの結果から、この系で観察されたミクログリアの突起伸長はP2Y12を介して誘導され、ATPの濃度勾配に依存した反応であることが確認された。そして、この突起伸長がPI3KとPLCの各々に

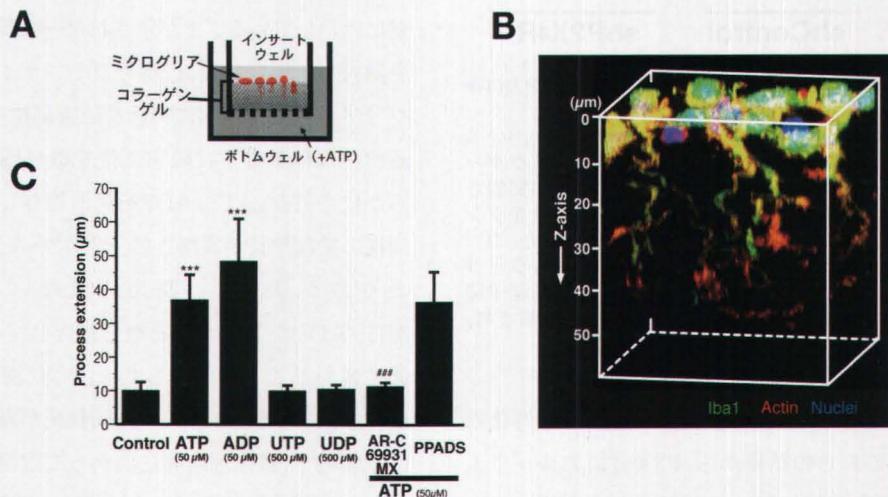


図4 ミクログリアの突起伸長解析系の確立

- A) トランスウェルを用いた突起伸長解析系の模式図。インサートウェル内に作成したコラーゲンゲル(50  $\mu$ l)上に培養ミクログリアを播種した後、ボトムウェルに50  $\mu$ MのATPを添加して刺激を行い、2時間インキュベーションした。
- B) 50  $\mu$ M ATP刺激 2時間後に細胞を固定し、抗Iba1抗体(緑)とファロイジン(赤)、DAPI(青)で免疫染色した。共焦点レーザー顕微鏡を用いてゲル表面からZ軸方向2  $\mu$ Mごとに画像を取得し、3次元構築してミクログリアの全体像を示した。
- C) 各種ヌクレオチドの突起伸長活性とP2Yアンタゴニストの影響。突起伸長活性は、DAPIの蛍光輝度が最も高い画像からIba1あるいはファロイジンの蛍光輝度が認められる画像までのZ軸方向の距離を突起伸長距離として算出することにより定量化された。

特異的な阻害剤、及び、ACを活性化するフォルスコリンやcAMP誘導体であるディブチルcAMPにより抑制されることから、ATPによる突起伸長はP2Y12の下流で機能するPI3K及びPLC活性化シグナル系とAC抑制シグナル系により調節されることが示された。

### 5. ATPによるインテグリンの活性化と突起伸長調節

このアッセイ系の作成の過程で、無刺激の状態ではミクログリアのコラーゲンゲルに対する接着性が非常に弱いのに対し、ATP刺激により多くの細胞が接着するようになることから、ATPがミクログリアの細胞接着性に影響を与えるのではないかと予想した。そこで、まず、細胞外マトリックス(ECM)と結合して細胞接着を制御するインテグリンの突起伸長への関与を検討した。インテグリンは $\alpha$ および $\beta$ 鎖からなるヘテロ2量体受容体で、18分子の $\alpha$ 鎖と8分子の $\beta$ 鎖の組み合わせから24種類の $\alpha\beta$ 2量体が形成されることが知られ、各リガンドに対する特異性は $\alpha\beta$ 鎖の組み合わせによって決定される<sup>27)</sup>。まず、コラーゲンやフィプロネクチンに共通のインテグリン認識配列を含むリガンド結合阻害剤RGDペプチドの影響を調べたところ、有意な抑制効果が認められた(図5A)。そこで、RGD配列を含むECMをリ

ガンドとする $\beta$ 1インテグリンに対する機能抑制抗体の影響を調べたところ、突起伸長は有意に抑制された。 $\beta$ 3に対する抗体では抑制されなかったことから、 $\beta$ 1インテグリンが突起伸長に関与することが示唆された(図5B)。

次に、ATPによる細胞接着性の変化が $\beta$ 1インテグリンに依存しているかどうかを明らかにするためにミクログリアのコラーゲンゲルに対する細胞接着活性の変化を調べた。ATP刺激により接着活性は増強され、その増強はRGDおよび $\beta$ 1インテグリン抗体によって有意に抑制された。また、P2Y12に対するアンタゴニストによって完全に阻害されたことから、 $\beta$ 1インテグリンに依存した接着活性の増強は、P2Y12を介して引き起こされることが示唆された。

インテグリンの活性化は、細胞外基質との結合によるoutside-inの活性化と、他の受容体を介した細胞内シグナルによるinside-outの活性化の2つの機構により制御されることが知られている<sup>28)</sup>。そこで、ATPがP2Y12を介して $\beta$ 1インテグリンの活性化を引き起こすかをHA標識P2Y12を発現させた1321N1細胞を用い、免疫沈降反応で活性化型 $\beta$ 1インテグリンの量的変化を調べた。P2Y12発現細胞では、ATP刺激5分後から活性化型 $\beta$ 1インテグリンが明らかに増加し、P2Y12を発現していない細胞ではほとんど変化

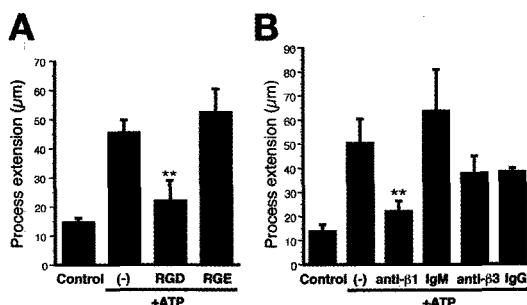


図5 ATPによるミクログリアの突起伸長における $\beta$ 1インテグリンの関与

A)突起伸長はRGDペプチド(300 μM)の前処理により有意に抑制された。ネガティブコントロールとしてのRGEペプチド(300 μM)の影響は認められなかった。

B)突起伸長は $\beta$ 1インテグリンに対する機能抑制抗体(20 μg/ml)の前処理により有意に抑制されたが $\beta$ 3に対する抗体の影響は認められなかった。抗 $\beta$ 1インテグリン抗体と抗 $\beta$ 3インテグリン抗体に対するネガティブコントロールとして、それぞれ正常ハムスターIgMと正常ハムスターIgGを用いた。

しなかった(図6A)。そして、活性化型 $\beta$ 1の増加はP2Y12アンタゴニストによって完全に阻害された(図6B)。以上の結果から、ATPによる $\beta$ 1インテグリンの活性化はP2Y12を介したin-side-outなシグナルで引き起こされることが判明した。

ラット正常脳内ラミファドミクログリアにおける $\beta$ 1インテグリンの発現は、免疫組織化学的染色法で認められた(図7)。さらに、海馬組織切

片を用いた実験により、ATP刺激による組織中ミクログリアの突起伸長がRGDペプチドにより抑制されることを確認した。これらの結果から、ATPによる組織内ミクログリアの突起伸長にインテグリンが関与することが示され、インテグリンの活性化による細胞接着性の上昇は、ミクログリアの突起伸長に必要な足場を確保して方向性を調節する重要なシグナルになると考えられる。

正常脳実質内において、 $\beta$ 1インテグリンの基

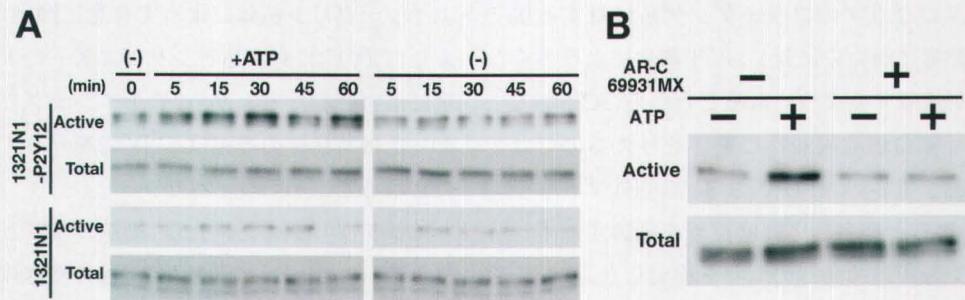


図6 ATPによるP2Y12を介した $\beta$ 1インテグリンの活性化

A) HA標識P2Y12を安定発現させた1321N1細胞をATP刺激後、細胞を可溶化し、ライセート中に存在する活性化型 $\beta$ 1インテグリンを免疫沈降反応で分離しウェスタンプロット法で検出した。P2Y12発現細胞では、ATP刺激5分後から活性化型 $\beta$ 1インテグリンが明らかに増加し、P2Y12を発現していない細胞ではほとんど変化しなかった。

B) ATP刺激30分後に認められる活性化型 $\beta$ 1の増加は、AR-C69931MX(1 $\mu$ M)の前処理により完全に阻害された。

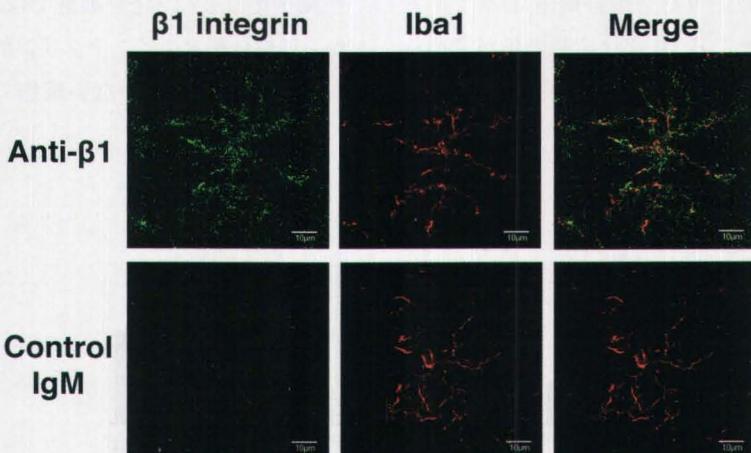


図7 ラット正常脳ラミファドミクログリアにおける $\beta$ 1インテグリンの発現

ラット正常脳の組織切片を抗 $\beta$ 1インテグリン抗体と抗Iba1抗体を用いて免疫染色後、共焦点レーザー顕微鏡を用いてZ軸方向2 $\mu$ mごとにXY平面画像を取得した。連続画像10枚分のシグナル(深さ全20 $\mu$ m分)をスタッキングして、大脳皮質におけるミクログリアの染色像を示した。 $\beta$ 1インテグリンのシグナルがミクログリアの細胞体と突起に沿ってドット状に認められた。正常ハムスターIgMをネガティブコントロールとして用いた場合のシグナルはほとんど認められなかった。

質となるECMの発現は微量であることから<sup>29)</sup>、ATPによる $\beta$ 1インテグリンの活性化は、組織障害や神経障害によるECMの僅かな変化をミクログリアが捉えることを可能にするであろう。また、ECMとの結合はインテグリンを介して新たなシグナルを細胞内に伝えることになり、インテグリンシグナルがP2Y12シグナルとクロストークしてミクログリアの突起伸長と遊走の変換調節に関与する可能性が考えられる(図8)。一方、虚血などによる血液脳間門の破綻や神經軸索切断などの神経障害時には実質内におけるファイプロネクチンなどのECMが増加し、また、 $\beta$ 1インテグリンの発現も活性化したミクログリアで亢進されることが報告されている<sup>30-32)</sup>。従って、障害後に増強する $\beta$ 1インテグリンシグナルは、突起伸長や遊走だけではなく、増殖や貪食などに関わる他のシグナル系に影響を与え、ミクログリアの機能を調節するようになると考えられる。

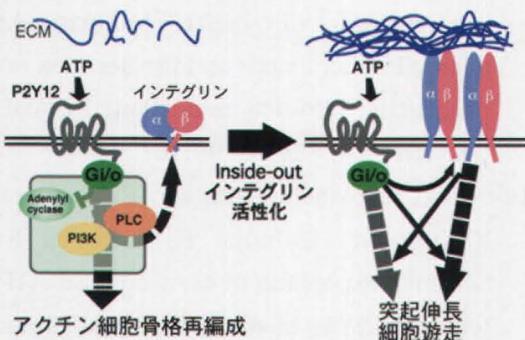


図8 ATP刺激による $\beta$ 1インテグリン活性化と突起伸長

ミクログリアに不活性型で存在する $\beta$ 1インテグリンは、ATPによりP2Y12を介して活性化状態となり、細胞接着性を亢進して突起伸長を引き起こす。活性化したインテグリンシグナルはP2Y12シグナルと協調して働き、ミクログリアの突起伸長や遊走を調節すると考えられる。

## 6. 終わりに

本稿で示したように、現在、脳内におけるミクログリアの動態についてATPを中心に研究が行なわれ明らかになりつつある。しかしながら、その調節機構についてはまだ十分に解明されていない。本

研究で確立したミクログリアの突起伸長解析系では、ATP刺激後4時間になると多くの細胞体のゲルへの浸潤が観察された。この系を利用して、突起伸長と細胞体の移動の変換機構を明らかにしていきたい。ATPは脳内異常を示す最初の因子としてミクログリアに感知され、刺激されたミクログリアは突起伸長あるいは細胞移動して障害細胞に近接するようになる。その結果、ミクログリアは障害の種類と程度に応じた機能を獲得して障害細胞に直接的に作用すると共に、周囲の細胞にも影響を与えることになると予想される。ALSやアルツハイマー病などの神経変性疾患の発症初期におけるミクログリアの動態を解析しその異常を捉えることを手がかりにして、病態進行メカニズムを解明するための研究を進めていきたいと考えている。

## 7. 謝辞

このような執筆の機会を与えていただきました諸先生方に心から御礼申し上げます。本研究は国立精神・神経センター神経研究所、代謝研究部で行なわれたものであり、ご指導いただきました高坂新一先生に厚く御礼申し上げます。また、実験の遂行にあたり協力をしてくれた研究部のメンバーに御礼申し上げます。最後に、共同研究として多くの協力と助言をくださいました九州大学井上和秀教授に深く感謝申し上げます。

## 文献

- 1) Kreutzberg, G.W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. Trends Neurosci. 19, 312-318, (1996)
- 2) Nakajima, K., Kohsaka, S. Response of microglia to brain injury. In: Kettenmann H, Ransom BR, editors. Neuroglia. New York: Oxford University Press. p443-453 (2005)
- 3) Biber K, Vinet J, Boddeke HW. Neuron-microglia signaling: chemokines as versatile messengers. J Neuroimmunol. 198, 69-74, (2008)

- 4) Walter, L., Franklin, A., Witting, A., Wade, C., Xie, Y., Kunos, G., Mackie, K., & Stella, N. Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. *J. Neurosci.* 23, 1398–1405, (2003)
- 5) Nolte C, Möller T, Walter T, Kettenmann H. Complement 5a controls motility of murine microglial cells in vitro via activation of an inhibitory G-protein and the rearrangement of the actin cytoskeleton. *Neuroscience* 73, 1091–107, (1996)
- 6) Ifuku M, Fäber K, Okuno Y, Yamakawa Y, Miyamoto T, Nolte C, Merrino VF, Kita S, Iwamoto T, Komuro I, Wang B, Cheung G, Ishikawa E, Ooboshi H, Bader M, Wada K, Kettenmann H, Noda M. Bradykinin-induced microglial migration mediated by B1-bradykinin receptors depends on  $\text{Ca}^{2+}$  influx via reverse-mode activity of the  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger. *J. Neurosci.* 27, 13065–13073, (2007)
- 7) Honda S, Sasaki Y, Ohsawa K, Imai Y, Nakamura Y, Inoue K, Kohsaka S. Extracellular ATP or ADP induce chemotaxis of cultured microglia through Gi/o-coupled P2Y receptors. *J. Neurosci.* 21, 1975–1982, (2001)
- 8) Ohsawa K, Irino Y, Nakamura Y, Akazawa C Inoue K and Kohsaka S. Involvement of P2X4 and P2Y12 receptors in ATP-induced microglial chemotaxis. *GLIA* 55, 604–616, (2007)
- 9) Irino Y, Nakamura Y, Inoue K, Kohsaka S, Ohsawa K. Akt activation is involved in P2Y12 receptor-mediated chemotaxis of microglia. *J. Neurosci. Res.* 86, 1511–1519, (2008)
- 10) Koizumi S, Fujishita K, Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Inoue K. Dynamic inhibition of excitatory synaptic transmission by astrocyte-derived ATP in hippocampal cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100, 11023–11028, (2003)
- 11) Sperlágh B, Illes P. Purinergic modulation of microglial cell activation. *Purinergic Signal* 3, 117–127, (2007)
- 12) Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* 50, 413–492, (1998)
- 13) Inoue K. The function of microglia through purinergic receptors: neuropathic pain and cytokine release. *Pharmacol. Ther.* 109, 210–226, (2006)
- 14) Haynes SE, Hollopeter G, Yang G, Kurpius D, Dailey ME, Gan WB, Julius D. The P2Y12 receptor regulates microglial activation by extracellular nucleotides. *Nat. Neurosci.* 9, 1512–1519, (2006).
- 15) Nasu-Tada K, Koizumi S, Inoue K. Involvement of beta1 integrin in microglial chemotaxis and proliferation on fibronectin: different regulations by ADP through PKA. *Glia.* 52, 98–107, (2005)
- 16) Sasaki Y, Hoshi M, Akazawa C, Nakamura Y, Tsuzuki H, Inoue K, Kohsaka S. Selective expression of Gi/o-coupled ATP receptor P2Y12 in microglia in rat brain. *Glia.* 44, 242–250, (2003)
- 17) Tozaki-Saitoh H, Tsuda M, Miyata H, Ueda K, Kohsaka S, Inoue K. P2Y12 receptors in spinal microglia are required for neuropathic pain after peripheral nerve injury. *J. Neurosci.* 28, 4949–4956, (2008)
- 18) Kobayashi K, Yamanaka H, Fukuoka T, Dai Y, Obata K, Noguchi K. P2Y12 receptor upregulation in activated microglia is a gateway of p38 signaling and neuropathic pain. *J. Neurosci.* 28, 2892–2902 (2008).

- 19) Cavaliere F, Florenzano F, Amadio S, Fusco FR, Visconti MT, D'Ambrosi N, Vacca F, Sancesario G, Bernardi G, Molinari M, Volonte C. Up-regulation of P2X2, P2X4 receptor and ischemic cell death: prevention by P2 antagonists. *Neuroscience* 120, 85–98, (2003)
- 20) Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, Mizokoshi A, Kohsaka S, Salter MW, Inoue K. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* 424, 778–783, (2003)
- 21) Zhang Z, Artelt M, Burnet M, Trautmann K, Schluesener HJ. Lesional accumulation of P2X4 receptor monocytes following experimental traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 197, 252–257, (2006)
- 22) Stence N, Waite M, Dailey ME. Dynamics of microglial activation: a confocal time-lapse analysis in hippocampal slices. *Glia* 33, 256–266 (2001)
- 23) Ladeby R, Wrenfeldt M, Garcia-Ovejero D, Fenger C, Dissing-Olesen L, Dalmau I, Finsen B. Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 48, 196–206, (2005)
- 24) Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 308, 1314–1318, (2005)
- 25) Davalos D, Grutzendler J, Yang G, Kim JV, Zuo Y, Jung S, Littman DR, Dustin ML, Gan WB. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci.* 8, 752–758, (2005)
- 26) Kurpius D, Nolley EP, Dailey ME. Purines induce directed migration and rapid homing of microglia to injured pyramidal neurons in developing hippocampus. *Glia* 55, 873–884, (2007).
- 27) Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 110, 673–687 (2002)
- 28) Ginsberg MH, Partridge A, Shattil SJ. Integrin regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17, 509–516, (2005)
- 29) Jones LS. Integrins: possible functions in the adult CNS. *Trends Neurosci.* 19, 68–72 (1996)
- 30) del Zoppo GJ, Milner R, Mabuchi T, Hung S, Wang X, Berg GI, Koziol JA. Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. *Stroke* 38, 646–651, (2007)
- 31) Nasu-Tada K, Koizumi S, Tsuda M, Kunifusa E, Inoue K. Possible involvement of increase in spinal fibronectin following peripheral nerve injury in upregulation of microglial P2X4, a key molecule for mechanical allodynia. *Glia* 53, 769–775, (2006).
- 32) Kloss CU, Werner A, Klein MA, Shen J, Menuz K, Probst JC, Kreutzberg GW, Raivich G. Integrin family of cell adhesion molecules in the injured brain: regulation and cellular localization in the normal and regenerating mouse facial motor nucleus. *J. Comp. Neurol.* 411, 162–178, (1999)



## 輝け次代の担い手たち

# 多極性移動神経細胞とロコモーション移動神経細胞の形態制御

(慶應義塾大学医学部・解剖学教室) 川内 健史

## 1. はじめに

大脑皮質形成において、脳室近辺(脳室帯もしくは脳室下帯)で誕生した未成熟な興奮性神経細胞は軟膜側へと放射状に移動する。神経細胞移動の異常は、滑脳症などの脳奇形だけではなく、失読症や統合失調症などの高次脳機能疾患とも深く関連することが示唆されており、神経細胞移動は脳が正しく機能するために必須な発生段階であると考えられる<sup>1)</sup>(図1)。また、最近まで神経細胞は移動終了後に軸索や樹状突起を形成して成熟するという説が主流であったが、近年開発された「子宮内エレクトロポレーション法」による移動神経細胞の可視化技術やスライス培養組織のタイムラプス観察技術などを用いた研究により、移動中の未成熟神経細胞は複雑な形態変化を示し、その過程で神経極性を獲得し、軸索や将来の樹状突起(apical dendrite)である先導突起を形成することが明らかとなってきた<sup>2-4)</sup>。筆者は、移動や形態変化などを含めた「細胞の多様な振る舞い」を分子レベルで統

合的に理解したいと考えておらず、現在は特に、細胞形態が神経回路網形成(ひいては高次機能の発揮)の基盤となっている神経細胞に着目して研究を行っている。本稿では、大脑皮質形成における未成熟な興奮性神経細胞の移動と形態変化の分子機構について、子宮内エレクトロポレーション法を用いた解析など比較的新しい報告を中心に、著者らの結果も交えつつ概説したい。なお、子宮内エレクトロポレーション法が開発される以前に、ヒトの脳奇形や突然変異マウスを用いた遺伝学的な解析によって神経細胞移動に関与することが報告された分子(Reelin, Lis1, DCX, Filamin Aなど)の歴史的な背景や近年の研究成果については、紙面の関係上、他の総説を参照されたい<sup>5,6)</sup>。

## 2. 移動神経細胞の形態変化

脳室帯に存在する神経前駆細胞(放射状グリア)は、自己複製的な分裂を行うとともに、直接もしくは中間的な前駆細胞(basal progenitor, intermediate

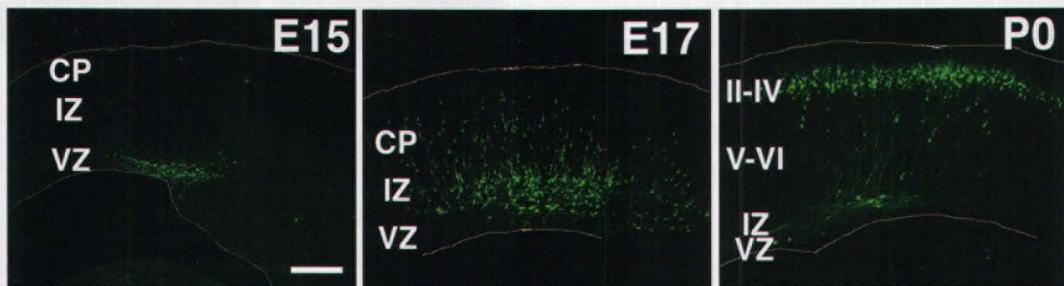


図1 子宮内エレクトロポレーション法による移動中の未成熟神経細胞の可視化。子宮内エレクトロポレーション法を用いて胎生14日目のマウス胚の大脳皮質にEGFP発現ベクターを導入し、1日後(E15)、3日後(E17)、5日後(P0)に固定した切片。エレクトロポレーションの1日後には脳室帯(VZ)に存在したEGFP陽性細胞は、中間帯(IZ)を経て、5日後には皮質板(CP)の最も表層まで移動した。図中のII-IVはII-IV層、V-VIはV-VI層を示す。(文献17より一部改変して転載)

progenitorなどと呼ばれる)を介して未成熟神経細胞を産生する<sup>3,7-10)</sup>。未成熟神経細胞はG0期に入り、まず中間帯深部(脳室下帯)にて多極性移動細胞となる<sup>11)</sup>。その後、軟膜側へ1本の先導突起を伸ばしてロコモーション移動細胞となり、ロコモーション移動細胞は後方へ軸索を伸長しながら中間帯から皮質板の表層近くまでの長い距離を移動する<sup>12)</sup>。皮質板の表層近辺まで到達したロコモーション移動細胞は、移動の最終段階においてターミナルトランスロケーションという形態的に異なる移動様式へと変換すると考えられているが<sup>13)</sup>、その詳細は明らかとなっていない。しかし、子宮内エレクトロポレーション法を用いてReelinの下流分子であるアダプタータンパク質Dab1を一群の未成熟神経細胞においてノックダウンするとロコモーション移動は正常に起こるが移動の最終段階が障害されることから<sup>14)</sup>、神経細胞移動の最終段階は分子的に異なると考えられる。

### 3. ロコモーション移動細胞の形態形成の制御機構

慶應義塾大学(当時、東京慈恵医大)の田畠と仲嶋によって最初に報告された「子宮内エレクトロポレーション法」は簡便に発生期の脳へ遺伝子導入を行う技術であり、この手法を用いてEGFPなどの蛍光タンパク質を発現するプラスミドを発生期の大脳皮質に導入することにより、特定の時期に誕生した未成熟神経細胞を可視化することができる<sup>15,16)</sup>。さらにこの技術を用いてドミナントネガティブ体や短鎖RNAを発現させることにより、一群の未成熟神経細胞において特定の分子の機能を抑制できることも報告された<sup>17-19)</sup>。当時、京都大学(鍋島陽一研究室、星野幹雄グループ;現在、星野幹雄は国立精神神経センター部長)に在籍していた筆者は、この子宮内エレクトロポレーション法を独自に確立し、移動中の未成熟神経細胞の形態を制御する分子を初めて明らかにした<sup>17)</sup>。

当時の京都大の星野グループはRhoファミリー低分子量Gタンパク質(Rac1, Cdc42, RhoAなど)の活性化因子が神経発生に果たす役割に興味を持っており、特に星野らによってクローニングされたRac1特異的な活性化因子STEFを中心で解析を行っていた<sup>20-22)</sup>。

その一環として、筆者は子宮内エレクトロポレーション法を用いて*in vivo*におけるSTEFとRac1の機能解析を行った。この手法を用いてドミナントネガティブ体のRac1を発現させると神経細胞移動が強く阻害され、同様にSTEFの機能抑制を行った場合にも、Rac1のそれと比較するとやや弱い表現型であったものの、やはり神経細胞移動が阻害された(図2A)。その後、我々のグループは別のRac1活性化因子であるP-Rex1も神経細胞移動に関与することを明らかにしており、Rac1が多くの上流経路によって異なる制御を受けている可能性が示唆されたが<sup>23)</sup>、表現型の強さから考えると少なくとも神経細胞移動において

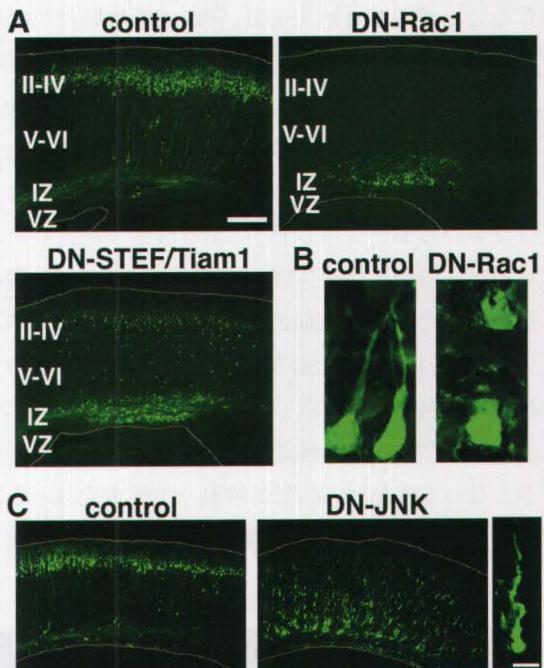


図2 Rac1、Rac1活性化因子およびJNKの機能抑制による神経細胞移動の阻害。子宮内エレクトロポレーション法を用いて胎生14日目のマウス胚の大脳皮質にコントロールベクター(A左上、B左、C左)、Rac1(A右上、B右)もしくはSTEF/Tiam1(A下)もしくはJNK(C中央、C右)それぞれのドミナントネガティブ体をEGFP発現ベクターと共に導入し、5日後(P0)に固定した切片。Rac1の機能抑制を行った細胞はほとんど移動することができず(A)、中間帯の浅部においても先導突起を形成することができなかった(B)。また、STEF/Tiam1,JNKの機能抑制を行った場合も、部分的に神経細胞移動が阻害された。JNKの機能抑制を行った細胞は移動が遅延し、その先導突起はねじれたような異常形態を示した(C)。(文献17より一部改変して転載)

はSTEFがRac1に対する中心的な活性化因子であると考えられた。さらに星野グループでは、神経発生の様々な局面において中心的な役割を果たしていると考えられるRhoファミリー低分子量Gタンパク質の働きおよびその制御機構を明らかにするために、発生期の大脳皮質に発現するRhoファミリー活性化因子の発現様式を広く解析していたが<sup>24,25)</sup>、もともと細胞接着分子インテグリンの裏打ちタンパク質による細胞骨格制御の研究を行っていた筆者にとっては<sup>26,27)</sup>、Rac1の上流よりも、Rac1がどのようにして細胞移動を制御しているのか、という問題の方に興味をもっていた。

Rac1は葉状仮足の形成などアクチン細胞骨格の再編成において中心的な役割を果たすことが知られており、神経細胞移動においてもRac1はその下流でアクチン細胞骨格を調節している可能性が高いことは容易に想像ができた。しかし、多くの培養細胞などで解析し尽くされている分子経路を*in vivo*の系にあてはめるだけの実験には少なからず抵抗があったため、Rac1の下流分子のうち転写調節や細胞死の制御に関わることは報告されていたものの細胞移動との関連は知られていなかったJNKに着目して、その後の解析を続けた(そのせいか未成熟神経細胞においてRac1とアクチン細胞骨格の関係は未だに明らかとされていないのだが)。大脳皮質の初代培養神経細胞においてJNKは転写調節が行われている核よりも神経突起で強く活性化していたこと、ドミナントネガティブ体のRac1を発現させた未成熟神経細胞においてJNKの活性が低下していたことから、JNKはRac1依存的に主に細胞質(神経突起)で活性化していることが分かった。さらに、子宮内エレクトロポレーション法を用いてJNKの機能抑制を行ったところ、神経細胞移動が遅延し、先導突起が歪み異常な形態を示すことが分かった<sup>17)</sup>(図2C)。これに対して、ドミナントネガティブ体のRac1を発現させた細胞はそもそも先導突起を形成することができなかつたことから(図2B)、Rac1の下流では、JNK依存的な経路と非依存的な経路の両者が先導突起形成に関与していると考えられる。JNKがどのようにして細胞の形

態形成に関与しているのかについて、次に我々は先導突起の主成分である微小管に着目し、JNKが微小管関連因子MAP1Bをリン酸化して不活化し、その結果として微小管の安定性を調節していること、過剰発現によるMAP1Bの活性の上昇は神経細胞移動を阻害することを見いだした<sup>17,28)</sup>(図4。17ページ参照)。その後、Reinerのグループにより、JNKが滑脳症の原因遺伝子産物のひとつであるDCXをリン酸化すること、JNKはDCX以外の多くのDCXファミリータンパク質とも結合することが報告された<sup>29,30)</sup>。さらにLoTurcoのグループは、子宮内エレクトロポレーション法を応用した*in vivo* RNA干渉法を開発し、これを用いて未成熟神経細胞におけるDCXの発現を抑制すると、先導突起の形成が阻害され、多極性移動細胞がロコモーション移動細胞へと変換できないことを明らかにした<sup>19)</sup>。DCXはMAP1Bと同様に微小管と結合する微小管関連因子であることを考え合わせると<sup>31-33)</sup>、JNKはMAP1BやDCXを含む多くの微小管関連因子の活性を中心的に制御することにより、先導突起の形成や神経細胞移動に関与していることが示唆された。また、我々と同時期に、Jacobsonのグループにより、ケラトサイトなどの培養細胞においてもJNKがインテグリン裏打ちタンパク質Paxillinのリン酸化を介して細胞移動を促進していることが報告されたことから<sup>34)</sup>、JNKによる細胞移動の制御は、神経細胞のみならず多くの細胞でみられる一般的な現象である可能性が高いと考えられる<sup>1,5,35,36)</sup>。

#### 4. 多極性移動細胞の形態形成の制御機構

先導突起形成を含むロコモーション移動細胞の形態形成と比較して、多極性移動細胞の形態がどのような分子によって制御されているのかについてはあまり報告がなかった。これは、そもそも多極性移動細胞が再発見されたのが最近(2003年)であるという時期的な問題に加え<sup>11)</sup>、多極性移動細胞は高頻度に突起を伸縮させる不定形な細胞であることから解析を行いにくいという点も挙げられる。我々は、偶然にもp27<sup>kip1</sup>という分子をノックダウンすることにより、多極性移動細胞の突起が異常に細くなり、

丸い細胞形態になるといった大きな形態異常を示すという結果を得ることができた<sup>37)</sup>。

神経前駆細胞を含むすべての分裂細胞は、サイクリン-CDK(サイクリン依存性キナーゼ)複合体の活性依存的に細胞周期を進行していると考えられている。このサイクリン-CDK複合体の活性はリン酸化などの翻訳後修飾だけではなく、p27<sup>kip1</sup>などのCDK阻害タンパク質によっても調節されており、特に最終分裂を終えてG0期に入るためにはp27<sup>kip1</sup>の発現上昇によるCDK活性の抑制が必要である<sup>38,39)</sup>。

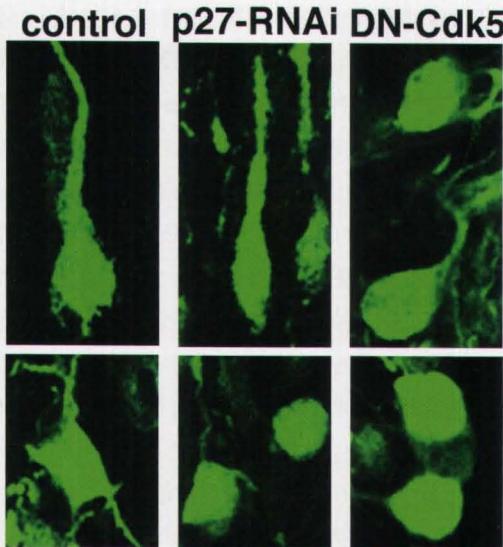


図3 Cdk5、p27<sup>kip1</sup>の機能抑制による未成熟神経細胞の形態変化。子宮内エレクトロポレーション法を用いて胎生14日目のマウス胚の大脳皮質にp27<sup>kip1</sup>に対する短鎖RNAもしくはCdk5のドミナントネガティブ体の発現ベクターをEGFP発現ベクターと共に導入し、3日後(E17)に固定した切片。遺伝子導入された未成熟神経細胞を拡大してある。上段はロコモーション移動細胞が多く観察される中間帯浅部、下段は多極性移動細胞が多く観察される中間帯深部(脳室下帯)の細胞を示す。Cdk5およびp27<sup>kip1</sup>は多極性細胞の形態形成に必要であること、Cdk5は(おそらくはp27<sup>kip1</sup>非依存的に)ロコモーション移動細胞の先導突起形成を制御していることが示唆された。(文献37より一部改変して転載)

このように細胞周期の進行に関与する一般的なCDKとは異なり、Cdk5は神経前駆細胞では活性を持たず、最終分裂を終えた神経細胞で強く活性化している特殊なCDKである<sup>40,41)</sup>。ノックアウトマウスの解析などから、Cdk5のキナーゼ活性は大脳皮質を含む脳の様々な領域における神経細胞の移動に必須であると考えられている<sup>17,42,43)</sup>。我々は、G0期

の神経細胞においてCdk5がp27<sup>kip1</sup>の10番目のセリン残基をリン酸化し、この部位をリン酸化されたp27<sup>kip1</sup>はプロテアソーム依存性のタンパク質分解から逃れて安定化することを見いだした<sup>37)</sup>。すなわち、p27<sup>kip1</sup>は一般的なCDKに対しては上流からその活性を負に制御しているが、Cdk5に対しては下流として働き、p27<sup>kip1</sup>のタンパク質量はCdk5によって正に制御されている(図4)。さらにp27<sup>kip1</sup>のタンパク質安定化によるタンパク質量の増加が神経細胞移動に必要であるかどうかを調べるために、子宮内エレクトロポレーション法を用いて未成熟神経細胞においてp27<sup>kip1</sup>をノックダウンした(すなわちタンパク質量を減少させた)ところ、p27<sup>kip1</sup>がノックダウンされた神経細胞の移動が阻害された。また、中間帯の深層において、p27<sup>kip1</sup>ノックダウン細胞は多極性の形態をとることができず、細い少数の突起を持つ丸い細胞形態を示したが、中間帯の浅層においては、正常に先導突起を形成することができた(図3)。このことから、p27<sup>kip1</sup>は多極性移動細胞の形態(特に突起)形成に必要であると考えられる。Cdk5の機能抑制を行った細胞は、中間帯深部においてはp27<sup>kip1</sup>ノックダウン細胞と同様に細胞形態が丸くなり突起がほぼ消失したが、中間帯浅部においては、この場合はp27<sup>kip1</sup>ノックダウン細胞とは異なり、これらの細胞は先導突起を形成することができなかった(図3)。

これまでの常識では、p27<sup>kip1</sup>はCDKの活性を阻害する細胞周期関連タンパク質であり、細胞移動との関連は示されていなかったことから、p27<sup>kip1</sup>がどのようにして神経細胞の移動や形態変化を制御しているのかということが次の課題となった。多極性移動細胞の突起にはアクチン線維が豊富であったこと、初代培養神経細胞においてp27<sup>kip1</sup>はアクチン線維と部分的に共局在したことから、我々はアクチン細胞骨格に着目した。その結果、中間帯深部のp27<sup>kip1</sup>ノックダウン細胞の突起においてアクチン線維の量が低下していることが分かった。さらに、Cdk5もしくはp27<sup>kip1</sup>の機能抑制により、アクチン結合タンパク質Cofilinの3番目のセリン残基のリン酸化が上昇することも見い

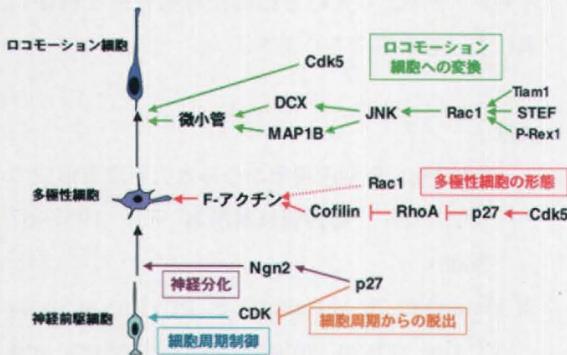


図4 未成熟神経細胞の移動と形態変化を制御する分子経路。Cdk5-p27<sup>kip1</sup>経路はRhoAの活性抑制を介して多極性移動細胞の形態形成を、Rac1-JNK経路は微小管の安定性の制御を介してロコモーション移動細胞の先導突起形成を、それぞれ制御している<sup>1,5</sup>。多くの細胞と同様、p27<sup>kip1</sup>は神經前駆細胞の細胞周期制御に必要であるが、G0期の神經細胞においては細胞骨格制御というまったく別の役割を持っている。さらにGuillemotらは、p27<sup>kip1</sup>はbHLH型の転写因子Neurogenin2(Ngn2)のタンパク質量を上昇させることにより神經分化を促進することも見いだしている<sup>44</sup>。Cdk5はp27<sup>kip1</sup>非依存的に先導突起形成を制御しており、さらに筆者らはRac1が多極性移動細胞の形態形成にも関与しているという結果も得ている。詳細は本文参照。

だした。Cofilinのこの部位のリン酸化はLIMキナーゼによって行われ、リン酸化されたCofilinはアクチン線維への結合能を失うことが知られている。また、LIMキナーゼの活性は、RhoA-Rhoキナーゼ(ROCK)経路とRac1-PAK1経路の少なくとも2種類の分子経路によって制御されていると考えられているが、Cdk5-p27<sup>kip1</sup>はRhoA-Rhoキナーゼ(ROCK)経路を抑制することによりCofilinのリン酸化を減少させ、結果としてCofilinのアクチン線維への結合活性を促進していることも明らかとなった<sup>37</sup>(図4)。子宮内エレクトロポレーション法によりCofilinの3番目のセリン残基をアラニンに置換した変異型Cofilinを発現させた神經細胞は移動と突起形成が阻害されること、我々の報告の約半年後にGuillemotによってp27<sup>kip1</sup>ノックダウンによる神經細胞移動の阻害はさらにRhoAの機能抑制を行うことにより回復するという結果が報告されたことから<sup>44</sup>、Cdk5-p27<sup>kip1</sup>経路によるRhoAの機能抑制とCofilinの活性化はin vivoにおける神經細胞の移動においても重

要であると考えられる。

## 5. 今後の課題

培養細胞の移動や形態変化の制御には多数の分子および分子経路が関与することを考えると、未成熟神経細胞の形態変化の分子機構の研究は緒についたばかりと言える。また、神經細胞移動の過程に起きる神經極性の獲得や軸索伸長などの神經成熟の分子機構についても、初代培養系を用いた解析は近年急速に進展したもののが<sup>45</sup>、in vivoでの解析はこれからのが課題である。さらに、従来のノックアウトマウスや子宮内エレクトロポレーション法を用いた機能抑制実験では、多極性移動細胞の形態形成やロコモーション移動細胞への変換の分子機構は比較的解析しやすかったが、その後のロコモーション移動そのものやターミナルトランスロケーションについては、複雑な形態変化や神經成熟の過程を経た後に行われるため、これらの異常による二次的な影響を排除して解析を行うことは困難であった。我々は、子宮内エレクトロポレーション法と組織培養のタイムラプス観察を組み合わせることにより、ロコモーション移動細胞の形態変化を直接観察し、さらに特定の分子の機能抑制を行なう実験系を確立している。このような手法などを用いて、未成熟神経細胞の移動や形態変化、それに伴う神經成熟を分子細胞レベルで理解する努力を今後も継続し、大脳皮質形成とその異常による脳疾患の分子機構を明らかにすることに貢献していきたい。

## 6. おわりに

筆者は京都大学医学部に7年半ほど所属し、その間に子宮内エレクトロポレーション法を確立し、未成熟神経細胞の移動と形態変化の制御機構の一端を明らかにすることができた。現在、筆者は仲嶋一範研究室に所属し、大脳皮質形成の分子機構の研究を続けさせていただいているが、先述の通り仲嶋研究室は子宮内エレクトロポレーション法を世界で初めて報告した研究室であり<sup>15</sup>、この手法の開発者である田畠先生の手技を直接見せていただくこと

ができた。田畠先生の腕の良さに感心させられると共に、当時マウスすらほとんど扱ったことのない筆者が田畠先生とほとんど同じ手法を確立することができたことは奇跡に近いとも思えた。研究も意外と「案ずるより産むが易し」なのかもしれない、と思いつつも、このような奇跡的な偶然が必然となるよう、日々の努力を続けていかなくてはならないと自分に言い聞かせながら、任期制の荒波の中、研究を続けている。

## 7. 謝辞

本稿執筆の機会を与えてくださいました日本神経化学会編集委員の諸先生方に深く感謝致します。本稿で紹介させていただいた著者の研究は、京都大学大学院医学研究科・鍋島陽一研究室(星野幹雄グループ)にて行われたもので、鍋島先生と星野先生には多額の研究費なども含め多くの面でサポートをしていただき、しかも自由な発想で研究を進めさせていただけたという、非常に恵まれた研究環境を与えていただきました。また、鍋島研究室ではまとめきることのできなかったいくつかのテーマについては、慶應義塾大学医学部・仲嶋一範研究室にて続けさせていただいております。任期制の障壁などのためにテーマの変更を余儀なくされる若手研究者が多い中、将来の独立に向けた御指導をいただきつつ、現在も引き続き自由に研究を行うことができる環境を与えていただいております。このような素晴らしい研究環境を与えていただいた上記の先生方に厚く御礼を申し上げます。本稿でも紹介させていただいた分子細胞生物学的な考え方の多くは、京都大学大学院農学研究科・植田和光研究室(木岡紀幸グループ)にて培われたものであり、また、誌面の都合上、個別に名前を挙げさせていただくことができませんが、右も左も分からぬまま神経発生学の世界に飛び込んだ筆者を温かく受け入れてくださり、丁寧に御指導していただいた多くの先生方や同僚、共同研究者の方々の助けなしには、これらの研究を進めることはできませんでした。この場を借りて御礼を申し上げると

ともに、今後とも変わらぬ御指導御鞭撻を御願い申し上げる次第であります。

## 文献

1. 川内健史. 細胞内現象からみた大脳皮質形成のメカニズム. 蛋白質核酸酵素 53, 1957-67 (2008).
2. Hatanaka Y, Murakami F. In vitro analysis of the origin, migratory behavior, and maturation of cortical pyramidal cells. J Comp Neurol 454, 1-14 (2002).
3. Noctor SC, Martinez-Cerdeno V, Ivic L, Kriegstein AR. Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases. Nat Neurosci 7, 136-44 (2004).
4. Calderon de Anda F, Gartner A, Tsai LH, Dotti CG. Pyramidal neuron polarity axis is defined at the bipolar stage. J Cell Sci 121, 178-85 (2008).
5. Kawauchi T, Hoshino M. Molecular pathways regulating cytoskeletal organization and morphological changes in migrating neurons. Dev Neurosci 30, 36-46 (2008).
6. 川内健史, 星野幹雄. 大脳皮質形成における神経細胞移動の分子機構. 神経研究の進歩 49, 54-66 (2005).
7. Noctor SC, Flint AC, Weissman TA, Dammerman RS, Kriegstein AR. Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. Nature 409, 714-20 (2001).
8. Miyata T, Kawaguchi A, Okano H, Ogawa M. Asymmetric inheritance of radial glial fibers by cortical neurons. Neuron 31, 727-41. (2001).
9. Tamamaki N, Nakamura K, Okamoto K, Kaneko T. Radial glia is a progenitor of

- neocortical neurons in the developing cerebral cortex. *Neurosci Res* 41, 51–60. (2001).
10. Miyata T, Kawaguchi A, Saito K, Kawano M, Muto T, Ogawa M. Asymmetric production of surface-dividing and non-surface-dividing cortical progenitor cells. *Development* 131, 3133–45 (2004).
  11. Tabata H, Nakajima K. Multipolar migration: the third mode of radial neuronal migration in the developing cerebral cortex. *J Neurosci* 23, 9996–10001 (2003).
  12. Rakic P. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol* 145, 61–83. (1972).
  13. Nadarajah B, Brunstrom JE, Grutzendler J, Wong RO, Pearlman AL. Two modes of radial migration in early development of the cerebral cortex. *Nat Neurosci* 4, 143–50. (2001).
  14. Olson EC, Kim S, Walsh CA. Impaired neuronal positioning and dendritogenesis in the neocortex after cell-autonomous Dab1 suppression. *J Neurosci* 26, 1767–75 (2006).
  15. Tabata H, Nakajima K. Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brain using electroporation: visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience* 103, 865–72. (2001).
  16. Saito T, Nakatsuji N. Efficient gene transfer into the embryonic mouse brain using *in vivo* electroporation. *Dev Biol* 240, 237–46. (2001).
  17. Kawauchi T, Chihama K, Nabeshima Y, Hoshino M. The *in vivo* roles of STEF/Tiam1, Rac1 and JNK in cortical neuronal migration. *Embo J* 22, 4190–201. (2003).
  18. Xie Z, Sanada K, Samuels BA, Shih H, Tsai LH. Serine 732 phosphorylation of FAK by Cdk5 is important for microtubule organization, nuclear movement, and neuronal migration. *Cell* 114, 469–82. (2003).
  19. Bai J, Ramos RL, Ackman JB, Thomas AM, Lee RV, LoTurco JJ. RNAi reveals doublecortin is required for radial migration in rat neocortex. *Nat Neurosci* 6, 1277–83. Epub 2003 Nov 16. (2003).
  20. Hoshino M, Sone M, Fukata M, Kuroda S, Kaibuchi K, Nabeshima Y, Hama C. Identification of the stef gene that encodes a novel guanine nucleotide exchange factor specific for Rac1. *J Biol Chem* 274, 17837–44. (1999).
  21. Matsuo N, Hoshino M, Yoshizawa M, Nabeshima Y. Characterization of STEF, a guanine nucleotide exchange factor for Rac1, required for neurite growth. *J Biol Chem* 277, 2860–8. (2002).
  22. Matsuo N, Terao M, Nabeshima Y, Hoshino M. Roles of STEF/Tiam1, guanine nucleotide exchange factors for Rac1, in regulation of growth cone morphology. *Mol Cell Neurosci* 24, 69–81. (2003).
  23. Yoshizawa M, Kawauchi T, Sone M, Nishimura YV, Terao M, Chihama K, Nabeshima Y, Hoshino M. Involvement of a Rac activator, P-Rex1, in neurotrophin-derived signaling and neuronal migration. *J Neurosci* 25, 4406–19 (2005).
  24. Yoshizawa M, Sone M, Matsuo N, Nagase T, Ohara O, Nabeshima Y, Hoshino M. Dynamic and coordinated expression profile of dbl-family guanine nucleotide exchange factors in the developing mouse

- brain. *Gene Expr Patterns* 3, 375–81. (2003).
25. Yoshizawa M, Hoshino M, Sone M, Nabeshima Y. Expression of stef, an activator of Rac1, correlates with the stages of neuronal morphological development in the mouse brain. *Mech Dev* 113, 65–8. (2002).
  26. Kioka N, Sakata S, Kawauchi T, Amachi T, Akiyama SK, Okazaki K, Yaen C, Yamada KM, Aota S. Vinexin: a novel vinculin-binding protein with multiple SH3 domains enhances actin cytoskeletal organization. *J Cell Biol* 144, 59–69 (1999).
  27. Kawauchi T, Ikeya M, Takada S, Ueda K, Shirai M, Takihara Y, Kioka N, Amachi T. Expression of vinexin [alpha] in the dorsal half of the eye and in the cardiac outflow tract and atrioventricular canal. Mechanisms of Development 106, 147–50 (2001).
  28. Kawauchi T, Chihama K, Nishimura YV, Nabeshima Y, Hoshino M. MAP1B phosphorylation is differentially regulated by Cdk5/p35, Cdk5/p25, and JNK. *Biochem Biophys Res Commun* 331, 50–5 (2005).
  29. Gdalyahu A, Ghosh I, Levy T, Sapir T, Sapoznik S, Fishler Y, Azoulai D, Reiner O. DCX, a new mediator of the JNK pathway. *Embo J* 23, 823–32 (2004).
  30. Coquelle FM, Levy T, Bergmann S, Wolf SG, Bar-El D, Sapir T, Brody Y, Orr I, Barkai N, Eichele G, et al. Common and divergent roles for members of the mouse DCX superfamily. *Cell Cycle* 5, 976–83 (2006).
  31. Gleeson JG, Lin PT, Flanagan LA, Walsh CA. Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons. *Neuron* 23, 257–71. (1999).
  32. Francis F, Koulakoff A, Boucher D, Chafey P, Schaar B, Vinet MC, Friocourt G, McDonnell N, Reiner O, Kahn A, et al. Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* 23, 247–56. (1999).
  33. Horesh D, Sapir T, Francis F, Wolf SG, Caspi M, Elbaum M, Chelly J, Reiner O. Doublecortin, a stabilizer of microtubules. *Hum Mol Genet* 8, 1599–610 (1999).
  34. Huang C, Rajfur Z, Borchers C, Schaller MD, Jacobson K. JNK phosphorylates paxillin and regulates cell migration. *Nature* 424, 219–23. (2003).
  35. Huang C, Jacobson K, Schaller MD. MAP kinases and cell migration. *J Cell Sci* 117, 4619–28. (2004).
  36. Sun Y, Yang T, Xu Z. The JNK pathway and neuronal migration. *J Genet Genomics* 34, 957–65 (2007).
  37. Kawauchi T, Chihama K, Nabeshima Y, Hoshino M. Cdk5 phosphorylates and stabilizes p27kip1 contributing to actin organization and cortical neuronal migration. *Nat Cell Biol* 8, 17–26. Epub 2005 Dec 11. (2006).
  38. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 13, 1501–12 (1999).
  39. Tarui T, Takahashi T, Nowakowski RS, Hayes NL, Bhide PG, Caviness VS. Overexpression of p27 Kip 1, probability of cell cycle exit, and laminar destination of neocortical neurons. *Cereb Cortex* 15, 1343–55 (2005).
  40. Hisanaga S, Saito T. The regulation of cyclin-dependent kinase 5 activity through the metabolism of p35 or p39 Cdk5

- activator. *Neurosignals* 12, 221–9 (2003).
41. Ayala R, Shu T, Tsai LH. Trekking across the brain: the journey of neuronal migration. *Cell* 128, 29–43 (2007).
42. Ohshima T, Ward JM, Huh CG, Longenecker G, Veeranna, Pant HC, Brady RO, Martin LJ, Kulkarni AB. Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 11173–8. (1996).
43. Gilmore EC, Ohshima T, Goffinet AM, Kulkarni AB, Herrup K. Cyclin-dependent kinase 5-deficient mice demonstrate novel developmental arrest in cerebral cortex. *J Neurosci* 18, 6370–7. (1998).
44. Nguyen L, Besson A, Heng JI, Schuurmans C, Teboul L, Parras C, Philpott A, Roberts JM, Guillemot F. p27kip1 independently promotes neuronal differentiation and migration in the cerebral cortex. *Genes Dev* 20, 1511–24 (2006).
45. Arimura N, Kaibuchi K. Neuronal polarity: from extracellular signals to intracellular mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 8, 194–205 (2007).



## 輝け次代の担い手たち

# APP Tg マウスを用いたアルツハイマー病治療戦略にかかる研究

(大阪大学大学院医学系研究科・精神医学教室) 森原 剛史

### はじめに

臨床教室出身者による執筆もあったほうがよいという理由で小輩に本稿の機会を与えていただきありがとうございます。個人的雑感も多くなってしまいましたが、どうかご容赦お願ひいたします。

### 雑感から

「自分の父親世代までは臨床医の地位はとくに高くはなかった。臨床医が世間からそれなりに尊敬されるようになったのは比較的最近のことである。ペニシリンが発見され医者が患者を本当に治すことが増えてからだ。」という雑談を留学中の米国人ボス(臨床医ではない)から聞いた。私は本当に役立つ治療技術開発の大切さと十数年前の気持ちを思い出した。

私が臨床医としてかかわっている精神科について愚見を述べる。日本で精神科を受診する患者数が増えている。精神科受診者数の増加は社会ストレスがますます増加し精神医療の需要が増えたためだろうか？ 精神科医たちによる世間の精神疾患に対する偏見撲滅運動の結果であろうか(確かに学界主導の運動で分裂病や痴呆という名前も統合失調症や認知症に変わった。)？ 抗精神薬や抗うつ剤など最近の治療薬の進歩の結果なのだろうか？ 個人的にはこれらだけの理由ではないと感じている。世間の精神医学に対する漠然とした期待感の増大というのも大きな理由ではないかと。精神医学だけでなく、脳科学や心理学に対しても世間の期待が大きくなっているのを感じる。世間の期待の大きさに比べ、現実の臨床医学・脳科学は大丈夫かと心配するのは私だけであろうか。期待と現実のこれ以上のギャップを作らないため、か

つてあった「うつは心の風邪です」というあまりに楽観的な宣伝は慎むべきであろう(ただし当時としては必要なキャンペーンであったかもしれない)。そして革新的な治療診断法の開発を目指し、地道に研究に取り組むことが大切と信じる。

精神神経疾患分野の治療診断法開発の必要性は私も医師として2年目の時に強く感じた。もともと私は精神科志望であったが、1年目は内科で研修を行いくつものつらい病気が医学の力でなんとかなっていくのを経験させてもらった。医学も経験のある医師もすばらしいものだと若輩者の私は思った。しかしながら2年目の精神科での研修では、多くの病状と辛抱・忍耐強く付き合っていくことが重要であった。狭い意味での医療技術に関して、精神科分野は力不足ではと若かった私は感じた。(もちろん患者さんとの人間として付き合いは奥深くかつ有効であるし、一部の患者さんは薬物により劇的に良くなることもある。)もう少し効果的な精神科治療法の開発を誰かがすべきと思った。そして自分の適性を顧みず、自分でも精神医学に関する研究をしてみよう決断してしまった。こうして医学部学生時代には興味がなかった研究を、奇人変人の集まりにしか思えなかった研究者に混ぜていただきながら、単に我慢強い人たちが集まる場所にしかみえなかった大学でさせていただくことになった。(失礼な表現に対しお許しをお願いいたします。)

現在は認知機能に対する非薬物療法の多施設無作為割り付け介入研究、認知症ゲノム研究などをさせていただいているが、本稿ではアルツハイマー病モデル動物として世界中で広く使われているAPP Tg マウス(筆者らの場合Tg2576)を用いた

アルツハイマー病の治療戦略につながる3つの研究を紹介させていただく。APP Tg マウスは家族性アルツハイマー病の変異APPを過剰発現させアルツハイマー病の中心病理であるアミロイド病理( $\text{A}\beta$ 蛋白の異常蓄積)を再現できるモデル動物である。

1つ目は非ステロイド系抗炎症剤(NSAID)に関する研究であり<sup>1-4)</sup>、その $\text{A}\beta 42$ 産生抑制作用が注目されている。私たちは抗炎症作用についても検討を行っている。

2つ目はDHA欠乏食を与えるとAPP Tg マウスの蓄積アミロイド量が増悪してしまうという研究である<sup>5-8)</sup>。LR11 (SORLA, SORL1)はADのリスク遺伝子(候補)として注目されており、最近私たちのグループはDHAがLR11の発現レベルを変えるというメカニズムを報告した<sup>8)</sup>。しかし本稿ではDHAとADの関係を発見した当初の研究<sup>5)</sup>に関連した未発表データについて述べさせていただく。

3つ目はマウス背景遺伝子によりAPP Tg のアミロイド病理が大きく変わるという研究である。上記2つの研究をしているうちに、APP Tgが純系化されておらず、背景遺伝子が不均一なまま世界中で使用されていることに疑問を持つようになったことがこの研究のきっかけである。実際、飼育条件は一定の兄弟マウス間であってもアミロイドの蓄積量にはばらつきがあり研究者を悩ます。逆にこのことを利用してアミロイド病理を修飾する遺伝子を同定することを私たちは目指している。

アルツハイマーモデル動物(APP Tg mice)のアミロイド病理を抑制するNSAID sはマイクログリアの貪食作用を阻害せずに抗炎症作用を持ちうる。

非ステロイド系抗炎症材(NSAID)のアルツハイマー病予防効果が疫学研究で繰り返し示されている。またアルツハイマー病モデル動物であるAPPトランジェニックマウスに長期間NSAIDを投与すると脳内 $\text{A}\beta$ 蓄積が抑制されることが私たちのグループの研究に続き13報以上報告されている<sup>2,4)</sup>。さらに一部のNSAID sが $\text{A}\beta 42$ 産生抑制作用を持つことがわかり、次世代AD治療薬として

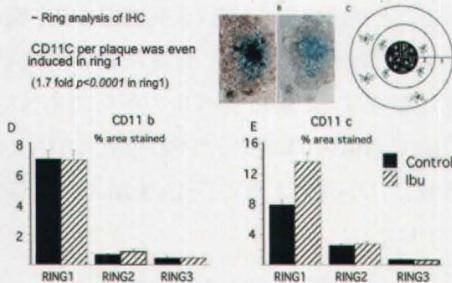
NSAIDが注目されるようになった<sup>1,9)</sup>。

しかしながら以下に述べるようにNSAIDの臨床効果と作用メカニズムは不明な点が多く今後解明していく必要がある。NSAIDは抗アルツハイマー作用につながる好ましい特性をたくさん持つが、その効果の大きさは限定的であるようである。実際大規模臨床治験では発症後のAD患者に対する進行抑制効果等は確認されていない。効果的な投与法や強力なNSAID類似新規化合物の開発が望まれる。これらの改善のために、その作用メカニズムの理解は必須である。

NSAIDの抗AD作用メカニズムに関し、はたして $\text{A}\beta 42$ 産生抑制が重要なのか、または抗炎症作用が重要なのかということさえわかっていない。 $\text{A}\beta 42$ 産生抑制には非現実的な高濃度のNSAIDが必要のため、疫学研究や臨床治験でのNSAID服用者に $\text{A}\beta 42$ 抑制作用が出現しているかには疑問がある。NSAIDのプロフェン類はS体がCOX阻害など薬理作用を持ちR体は何もしていないと考えられていたが、 $\text{A}\beta 42$ 産生抑制作用についてはR体もS体同様の作用を持つことを我々は報告した<sup>1)</sup>。この報告に含まれていたR-flurbiprofenの臨床治験が行われたが、残念ながら2008年第Ⅲ相治験が失敗に終わった。一方、最近行われた4万人以上のNSAID s服薬調査では、 $\text{A}\beta 42$ 産生抑制作用があるものとないNSAID sの間にAD発症抑制効果の差がなく、両者とも有効であった<sup>10)</sup>。これらの事実はヒトへの投与が可能な臨床用量では $\text{A}\beta 42$ 産生抑制以外のNSAID sの作用が抗アルツハイマー病効果を持つ可能性を示唆する。

一方NSAIDの抗炎症作用については、神経変性の抑制や $\text{A}\beta 42$ 産生とは異なるメカニズムによるアミロイド病理の抑制の期待されている<sup>3,4)</sup>。しかしながら炎症を抑え込むことが、マイクログリアの好ましい活性までも抑制してしまう可能性が心配されている。活性化マイクログリアは脳内に蓄積する $\text{A}\beta$ を除去しうる。次世代AD療法として有力な $\text{A}\beta$ ワクチン療法の機序の一つとしてマイクログリアによる $\text{A}\beta$ 除去が想定されている。

図1. Microglia markers (CD11b/c) per plaque were NOT suppressed by ibuprofen



375ppm ibuprofenが含まれる餌を6ヶ月間与えたAPP Tgマウス(Tg2576)の脳をマイクログリアマーカーCD11b, CD11cで免疫染色した。ブラーク内(RING1) ブラーク径と同距離の範囲(RING2)、ブラーク径の2から3倍の距離の範囲(RING3)にあるCD11b(D)またはCD11c(E)の免疫染色の強さをNIH imageで定量した。ibuprofen投与群でCD11b, CD11cが抑制されることはなかった。むしろCD11cについてはブラーク内の免疫染色が上昇していた。

NSAID s のもつ多様な作用の一部がAD病理に対しむしろ有害ではないか検討する必要がある。そこでアルツハイマー病モデル動物であるAPP Tg マウス(Tg2576)を用いた検討を行った。6ヶ月間にわたる餌中375ppmのibuprofen投与が16ヶ月齢のアミロイド病理を抑制した。このときのマイクログリアの活性に関する複数のマーカーを測定した。免疫染色ではマイクログリアの活性マーカーCD11b, CD11cを抑制していなかった(図1)。QPCRでも、これら2つのマーカーに加えCD68のmRNA発現も抑制していなかった。375ppmのibuprofen投与時のマウス血中濃度は $47.04 \pm 5.17 \mu M$ でヒトにおけるリュウマチ治療時の目標濃度にほぼ相当した。脳中濃度は $4.07 \pm 2.03 \mu M$ と脳内COX抑制が報告されている濃度であった。これらのibuprofen濃度の測定値は375ppmという投与法が抗炎症作用を発揮することを支持する。初代神経培養細胞実験では $5 \mu M$ のibuprofenは初代神経細胞のCOXを抑制し

図2 Ibuprofen suppressed COX activity in the primary microglial cells

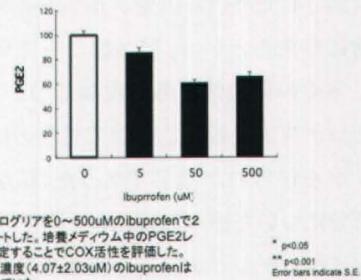
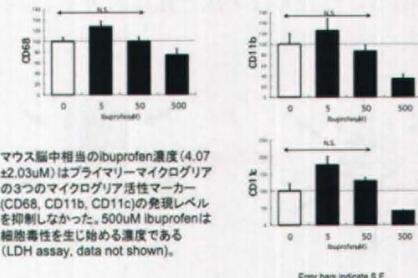


図3 Ibuprofen (5~50μM) does NOT suppress activated microglial markers *in vitro*



た(図2)。このとき初代マイクログリア細胞の活性マーカーは抑制されなかった(図3未発表)。

375ppmのibuprofenはアミロイド病理抑制と抗炎症作用を発揮する一方、われわれが調べた限りマイクログリアの活性を抑制することはなかった。マイクログリアの活性化がA $\beta$ ワクチンの作用機序の一つではないかと考えられている。本研究の結果はibuprofenがマイクログリアによるA $\beta$ 除去作用という有用な作用を妨害していないことを支持する。本研究結果は、抗アルツハイマー病薬としてのNSAIDsのより合理的な臨床応用に役立つ。さらに、脳炎という過度の炎症反応のため臨床治験が中止となったアミロイドワクチンの治療戦略の改良にも役立つ可能性がある。

DHA欠乏食はアルツハイマーモデル動物(APP Tg mice)のアミロイド病理を悪化させる  
アルツハイマーモデル動物であるAPP Tg マウス

にDHA欠乏食とDHA添加食を食べさせた。DHA欠乏食によるアミロイド病理増悪、シナプス障害が観察された<sup>5,6)</sup>。DHAをアルツハイマー病モデル動物に与えるという、何が起こっているのかあまりに多くの可能性がある現象について、研究の焦点をシナプスに絞ることができたのはマイクロアレイから得られた結果であった。私が担当したこの部分について述べる。

マイクロアレイのような仮説を持たない実験系は、すでに分子メカニズムがある程度解明されている現象よりも、DHAとアルツハイマー病の関係のように、あいまいでほとんどわかっていない現象の解明にこそ強力な手法と私は考える(図4)。

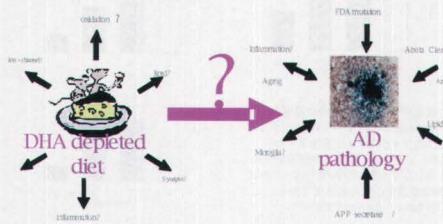


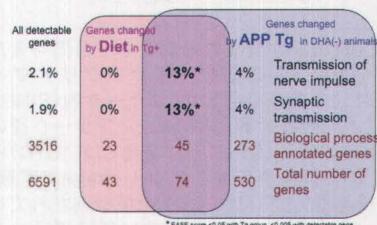
図4 Question:  
What are the interactions between two multi-factorial issues, diet and Alzheimer pathology?

アルツハイマー疾患動物(APP Tg)、対象動物(non Tg)にそれぞれ普通食とDHA欠乏食を与えた4グループのマウスの脳をマイクロアレイで解析した(未発表データ)。疾患により発現が変化する遺伝子数は、普通食をDHA欠乏食にすることで2倍に增加了。DHA欠乏食で変化する遺伝子の数は疾患動物では対象動物の17倍であった。次に我々は疾患で変化する遺伝子と、食事で変化する遺伝子との重なりに注目した。共通する遺伝子の属性を解析するとシナプス(GO annotation)に関連するものが有意に(EASE score <0.05 with Tg group, <0.005 with detectable gene)多かった(図5)。これらの結果から食事と疾患状態の間に共通の効果があり、その主なものはシナプスであることが示唆された。発現変化量の大きい順に並べた遺伝子リストの上位の遺伝子について、シナプスに関連するものをマニュアル操作で抽出し

た。APP発現による発現レベルの減少はコントロールダイエットに比べDHA欠乏食ではより顕著になることが再確認された(未発表データ 図6)。シナプスには膜構造が多く脂質が多く、DHAも高濃度に存在する。蛋白レベルの解析でもNR2A, NR2B, CaMK2, Drebrin, PSD-95がDHA欠乏食で著減し、DHA欠乏食にDHAを加えた食餌で回復していた。

図5 GO annotations enriched by both APP Tg and Diet

~ What kinds of genes were commonly changed



non Tgに比べAPP Tgで発現変化する遺伝子群(Genes changed by APP Tg 右の囲み)と通常食に比べDHA欠乏食で発現が変化する遺伝子群(Genes changed by dist 左の囲み)に共通する遺伝子群(中央の重なり)の特徴を解析した。GO annotationによると両者に共通する遺伝子群にはtransmission of nerve impulseとsynaptic transmissionに区分されている遺伝子が有意に多く含まれていた。

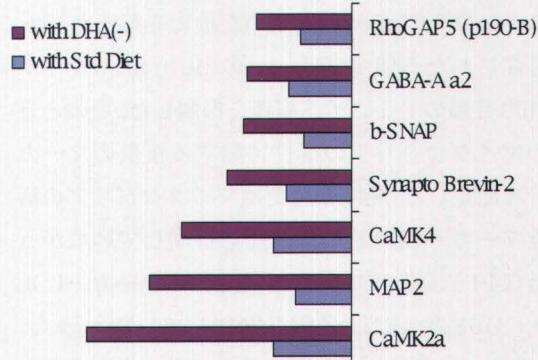


図6 Diet and APP Tg effects on synaptic molecules were confirmed by manual analysis and Western Blotting

#### Manual analysis of chip data

Because annotation analysis showed synaptic issue, we checked synaptic and neuronal gene expression levels on our chip manually rather than by GO annotation.

Seven synaptic genes were in the heavily changed gene list. Reduction in synaptic/neuronal gene expressions were greater on low DHA diet.

**Genetic background**はアルツハイマー病モデル動物(APP Tg mice)のアミロイド病理の重症度を大きく変える

家族性アルツハイマー病原因遺伝子の同定とその機能解析はアミロイド仮説を強化し、アミロイド病理に対する治療法の開発を促した。しかしながら、世界中での精力的な努力にもかかわらず1993年のApoEの発見以降、確立したアルツハイマー関連遺伝子は一つも同定されていない。そこでヒト遺伝子研究で障害となっている様々ななかく乱因子をはるかに統制しやすいモデル動物を用いた病態修飾遺伝子の探索を目指した。

APP Tg マウス(TG2576)をC57BL6/J、SJL/JとDBA2/Jに1~2世代ずつ交配させた。1年加齢させた。APPのmRNAと蛋白量を定量したが、マウス系統間に有意差は認められなかった。一方、背景遺伝子によりAPP Tg マウスの生存率が大きく異なることが観察された(図7)。B6由来の背景遺伝子が多いと生存率が大きく低下した。

#### 図7 Genetic backgroundはアルツハイマー病モデル動物(APP Tg)の生存率に影響を与える

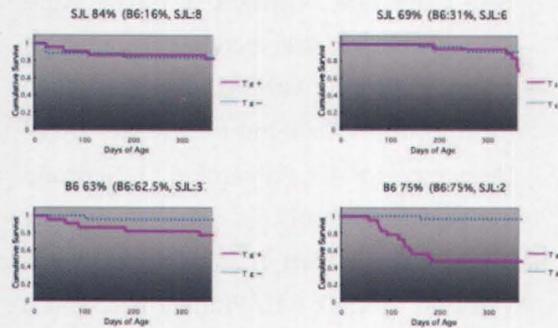


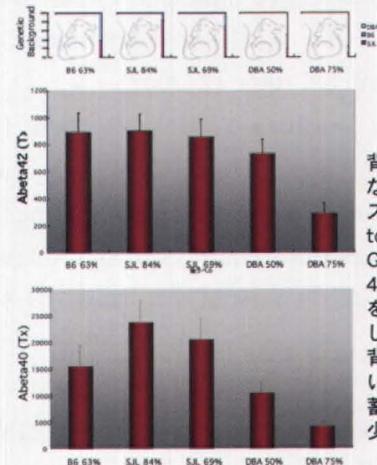
FIG.7 Survival rate in APP Tg mice with B6:75%, SJL:25% were observed. Similar effects were observed by others (Carlson GA Hum Mol Genet 1997). The further analysis kit (Abeta accumulation) were focused on APP Tg mice with SJL or DBA non background.

APP Tg マウス(Tg2576)を1~3世代3種類のinbred miceと交配することで、背景遺伝子の異なるマウスを得た。生存曲線を見ると、背景遺伝子により大きく異なることがわかる。B6由来の背景遺伝子が多くなるとAPP Tg マウスの生存率が低下する。

次に生存率が低下しない背景遺伝子を持つ群に関しアルツハイマー病の中心病理であるアミロイド病理を評価した。脳皮質中のTriton分画およびGuHCl分画のA $\beta$ 40、A $\beta$ 42量をELISAで測定した。「多数(59匹)」の脳のA $\beta$ 量を再現性よく正確に測定するのは予想外に困難であり、測定法の最

適化のため半年間予備実験を行った。SJL系統由来の背景遺伝子が多いマウスに比べ、DBA系統由来の背景遺伝子が多いマウスはA $\beta$ 蓄積量が有意に少なかった(図8)。例えばDBA由来遺伝子75%、B6由来遺伝子16%、SJL由来遺伝子9%のマウスはSJL 84%、B6 16%のマウスに比べ、Triton分画のA $\beta$ 40量は-82% ( $p<0.01$  Turkey-Kramer)、A $\beta$ 42量は-68% ( $p<0.01$ )であった。より不溶性であるGu-HCl分画でも同様の結果がみられた。例えば背景遺伝子がDBA 75% B6 16% SJL 9%のマウスはSJL 69% B6 31%のマウスに比べA $\beta$ 40量は-85%、A $\beta$ 42量は-68%であった( $p<0.01$ , Turkey-Kramer)。

図8 APP Tgマウスのアルツハイマー病理は  
SJL由来遺伝子が多いと重度、  
DBA由来遺伝子が多いと軽度であった。



背景遺伝子の異なるAPP Tgマウスの脳内のTriton-X可溶分画とGuHCl分画のA $\beta$ 40、A $\beta$ 42蓄積量をELISAで測定した。DBA由来の背景遺伝子が多いマウスではA $\beta$ 蓄積量が有意に少なかった。

このようにアルツハイマー病モデルマウスのA $\beta$ 蓄積は背景遺伝子の影響を強く受けている。創薬研究も含め研究ツールとして広く使われているAPP Tg マウスのほとんどはハイブリッドマウスとの交配で維持されており、同腹の兄弟マウス同士でも背景遺伝子は均一ではない。APP Tg マウスを用いる場合、より正確な実験のためにはマウスの背景遺伝子にも注意を払う必要がある。一方、アミロイド病理を増減させる背景遺伝子(群)やパスウェイが明らかになればアルツハイマー病の治療ターゲットとなりうる。この動物モデルを利用してAD病理修飾遺伝子(群)の同定を現在マイクロアレイなどを用いながら試みている。

## 謝辞

大阪大学医学部の大学院後半には分子脳と第二解剖(遠山教授)で分子生物学の研究指導をしていただきました。とくに今泉和則先生(現宮崎大学教授)には大変お世話になりました。

論文が何本出るかよりも夢がありそうな研究を優先して行う(Greg COLE教授, University of California Los Angeles)研究室では貴重な経験をさせていただきました。

大阪大学医学部精神医学教室の武田教授、諸先生方と実験助手のご指導とご協力にも感謝しております。

## 文献

- 1) Morihara T, Chu T, Ubeda O, Beech W, Cole GM, Selective inhibition of Abeta42 production by NSAID R-enantiomers. *J Neurochem.* 83, 1009–12 (2002)
- 2) Cole GM, Morihara T, Lim GP, Yang F, Begum A, Frautschy SA. NSAID and Antioxidant Prevention of Alzheimer's Disease: Lessons from In Vitro and Animal Models. *Ann N Y Acad Sci.* 1035, 68–84 (2004)
- 3) Morihara T, Teter B, Yang F, Lim GP, Boudinot S, Boudinot FD, Frautschy SA, Cole GM. Ibuprofen Suppresses Interleukin-1beta Induction of Pro-Amyloidogenic alpha(1)-Antichymotrypsin to Ameliorate beta-Amyloid (Abeta) Pathology in Alzheimer's Models. *Neuropsychopharmacology* 30, 1111–20 (2005)
- 4) Morihara T, Cole GM, Tanii H, Tanaka T, Kudo T, Takeda M, Multiple anti-Alzheimer disease activities of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Psychogeriatrics* 6, 1–3 (2006)
- 5) Calon F, Lim GP, Yang F, Morihara T, Teter B, Ubeda O, Rostaing P, Triller A, Salem N Jr, Ashe KH, Frautschy SA, Cole GM. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron.* 43, 633–45 (2004)
- 6) Lim GP, F. Calon, T. Morihara, F. Yang, B. Teter, O. Ubeda, N. Salem, Jr, S. A. Frautschy, and G M. Cole. A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) reduces amyloidburden in an aged Alzheimer mouse model. *J. Neurosci.* 25, 3032–40 (2005)
- 7) Zhao L, Ma QL, Calon F, Harris-White ME, Yang F, Lim GP, Morihara T, Ubeda OJ, Ambegaokar S, Hansen JE, Weisbart RH, Teter B, Frautschy SA, Cole GM. Role of p21-activated kinase pathway defects in the cognitive deficits of Alzheimer disease. *Nat Neurosci.* 9, 234–42 (2006)
- 8) Ma QL, Teter B, Ubeda OJ, Morihara T, Dhoot D, Nyby MD, Tuck ML, Frautschy SA, Cole GM. Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Increases Sorla/LR11, a Sorting Protein with Reduced Expression in Sporadic Alzheimer Disease (AD): Relevance to AD Prevention. *J Neurosci* 27, 14299–307(2007)
- 9) Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU, Findlay KA, Smith TE, Murphy MP, Bulter T, Kang DE, Marquez-Sterling N, Golde TE, Koo EH. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature.* 414, 212–6 (2001)
- 10) Vlad SC, Miller DR, Kowall NW, Felson DT. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology.* 70, 1672–7.(2008)

## 研究室紹介

# 山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学学域・臨床基礎医学系・薬理学

小泉 修一

山梨大学医学部薬理学講座は生まれ変わったばかりの非常に新しい…と書き出しましたが、良く考えると着任して既に2年が経過してしまいました。本人はやっとこの大学に慣れて…などと思っているのですがその間に世の中のサイエンスは着々と進んでしまっています。本年は3年目を迎える、山梨発の何かを求められる勝負の年と考えています。戦力の整備はまだまだ道半ばですが、どんな状況でもやらねばならんのだ、と気合いを入れる意味で、ラボの現状を冷静にレビューして研究室紹介に換えさせて頂きます。

### 1. 日本神経化学会

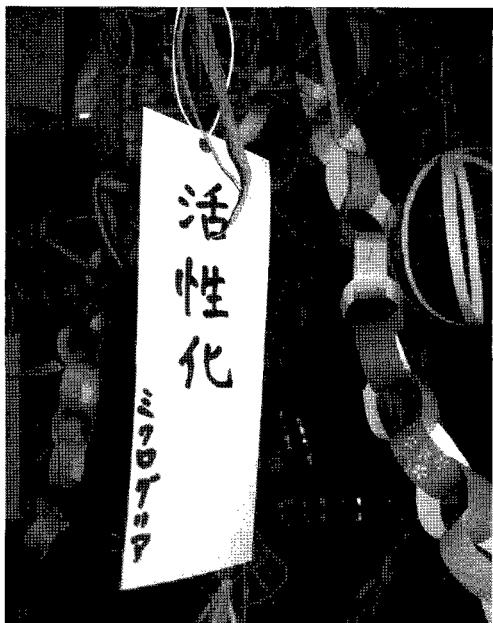
教室紹介の最初にこれを持ってこなくても…と思いましたが私のサイエンティストとしての基礎を作つて頂いた学会として非常に感謝しておりますので、敢えて最初に書かせて頂きます。第30回記念大会の年に入会し、昨年度の第50回大会を経験しましたので、20年以上のおつきあいになります。第50回記念大会の時に多くの先輩方が回顧しておられましたように、神経化学会は非常に厳しく・激しい学会で、当時大学院生だった私は、何故こんなに頑固な雷おやじばかりが集まっているのだろう、と学会の度にビビリながら思つたものでした。怒られ、けなされ、非難され、闘争心は何度も萎えてしまつたが、時々認めていただいたときに頂く優しい言葉に感動し、何時しか好きな学会となっていました。サイエンスは自然と対峙するものと自覚はあったものの、当時は神経化学会の雷オヤジ達と対峙するための理論武装に命がけであったように思います。そのおかげで、どこに行っても怖くない肝っ玉が身にきました。今日ではこのような北風戦略だけで学生を教育するのは難し

い時代になっていると思いますが、底に流れるエンセンスはなんとか若者達に伝え、神経化学会仕様のラボに成長させたいと考えております。今年度富山で開催された第51回大会では、1グループ10人程度の班に分かれて、若者達と2晩討論する機会がありました。とてもよい企画だったと思います。普段からあのような雰囲気で、討議が出来るラボにする予定です。

### 2. 研究室のテーマ

前任の国立医薬品食品衛生研究所では、井上和秀先生（現九州大学教授）の御指導のもと、ATP/P2受容体を介したシナプス伝達の世界を知ることができました。その過程で半ば副次的に得られた知見が、グリア細胞の役割に関するものでした。グリア細胞は、今でこそ多くの研究者が注目しておりますが、当時は極限られた、マニアな人たちがする研究分野というイメージがありましたし、ATPもまたしかりでした。人の行かぬ道に花有り、と思ったわけではありませんが、そのポテンシャルの大きさに感動し、続けてきたことで、色々な事がみえるようになってきました。少し流行りだした分野ではありますが、世の中の動きにあまり左右されずに、真面目に極めてみたいと考えています。現在、山梨大学に移つても、グリア細胞は研究室のメインテーマであり、殆どのテーマにグリア細胞という言葉が入つております。また、本校は講座間の垣根が非常に低く、共同研究等がやり易い環境にあります。神経系の研究に携わっている他講座の研究者も引きずり込んで、現在、本学にグリア細胞の拠点形成をとのプランが進行中であります。特に、グリア細胞機能異常が関与する種々の疾患に注目しております。様々なバックグラウンドを

を持った研究者が、講座の枠を超えて自由に参画し、自由な視点でグリア細胞研究を展開することで、さらに新しいグリア細胞の機能が見えてくると考えています。小さなラボ、小さな研究グループではありますか、大きな成果を世界に発信する心意気でいっぱいあります。成果はまだですが…。



### 3. 研究室のメンバー達

現在、ラボでグリア細胞研究に携わっているのは、助教の藤下、大学院生2名、研究補助員1名、それから特進コースの学生4名の計9名です。基礎医学に進もうという学生さんは希ですし、地方は深刻な医師不足なので基礎研究をとの余裕も少なく、また臨

床医学系講座に所属しているが大学院は基礎医学系で、という人も少なくなりました。ならば、やる気のある学生を選抜して学部生のうちに鍛えてしまおう、というのが本学のライフサイエンス特進コース(特進コース)です。少しずつをして定員より多い4名の学生さんに在籍してもらっています。ピペットも知らない彼らが授業の合間に実験に来るだけで大丈夫かな、と思いましたが、多くの無駄を生みつつも、少しずつ結果が出てきています。大学院生、特進コース学生、それをまとめる姉貴・藤下が、絶妙なチームワークで、教室が上手く動き出した、といったところでしょうか。大きな発見をしてくれる日を信じて、日々戦っております。また、若者のエネルギーは絶大で、彼らのおかげで教室の行事が増え(つい先日は全員で新年の書き初めをさせられました)、セミナーでの自由な発言が増え、飲み会ばかり増え…、しかし飲んでも飲まなくてもサイエンスの議論が少しずつ出来るように成って参りました。まだまだですが、少しずつでも神経化学会仕様のラボに近づけるよう頑張る所存です。

未熟なラボですし、何より私自身が指導者として未熟ありますが、彼らと一緒に、大きくなっていく予定であります。神経化学会の皆様の暖かく、厳しい御指導と御鞭撻を今後ともどうぞよろしくお願い致します。



## 研究室紹介

# 琉球大学 医学部 形態機能医科学講座 生化学分野

山本 秀幸

私は平成18年4月1日付けで、琉球大学医学部生化学分野の教授に就任致しました。それから早いもので3年が経過しようとしています。

琉球大学医学部は、那覇市の首里城公園から5キロメートルほど東に行った小高い丘の上にあります。5階にある私の教室からは、コバルトブルーの太平洋と東シナ海の両方の水平線を見る事ができます。夏には、実験室から、短時間の集中豪雨の後、太平洋と青い空にかかる大きな虹を見る事ができました。また、私の部屋からは、30キロメートル以上も離れた残波岬(ざんぱみさき)と呼ばれる岬をきれいに見ることができます。東シナ海に突き出たこの岬の先端には白い灯台があり、晴れた夜には灯台からの明かりがパソコンのディスプレイに疲れた目と心を休ませてくれます。

私は、昭和56年に熊本大学医学部を卒業後、そのまま熊本大学大学院に入学し、宮本英七教授(現、熊本大学名誉教授)のご指導のもとに研究を始めました。それからこちらに移るまでの間、一貫してタンパク質リン酸化反応による神経細胞機能の制御機構を中心に研究してきました。現在の教室は、前任の田中龍夫教授(現、琉球大学名誉教授)のもとで世界に先駆けてリポソームタンパク質のクローニングや遺伝子の発現機構を研究してきた教室です。もちろん、分子生物学的実験および生化学的実験に必要な設備は整っています。また教室のスタッフも分子生物学の専門家ばかりで、着任当初から支障なく研究を開始する事ができました。

こちらに来て、これまでの研究に加えて、二つの内容で新しく研究を始めました。一つは、シナプスでのタンパク質の翻訳レベルでの調節機構です。具体的には、リポソームタンパク質のリン酸化反応を検討しています。御存知のように神経細胞では、

細胞体以外に樹状突起の後シナプス部位にもリポソームが存在します。そして、シナプス機能に重要なタンパク質は、後シナプス部位に輸送されたmRNAからその局所で翻訳されます。当然、シナプス活動が活発な後シナプス部位では、タンパク質の翻訳も活発であると考えられます。実際に、long term potentiation (LTP)の中・長時間の維持に後シナプス部位でのタンパク質の翻訳が必要であることが報告されています。さらに、最近、後シナプス部位に複数のリポソームタンパク質のmRNAも同定されています。このことは、後シナプス部位でリポソームタンパク質が翻訳されていることを示しています。リポソームは核内で形成されますが、後シナプス部位まで移動する間に傷んだりポソームタンパク質に替わって、新しく翻訳されたリポソームタンパク質が組み込まれているのではないかと想像されています。そこで、これらのリポソームタンパク質のリポソームへの組み込みがリン酸化反応により調節されているのではないかと考えました。最終的に、この考えを明らかにするためには、後シナプス部位で翻訳されているリポソームタンパク質について、LTPで活性化されるプロテインキナーゼでのリン酸化を網羅的に検討しなければいけないと考えています。しかし、私達は手始めにS19と呼ばれるタンパク質のリン酸化反応について検討することにしました。なぜなら、神経系の疾患ではありませんが、S19の一箇所のセリンの遺伝子変異で起こる遺伝病が知られていたからです。そして、CaMキナーゼ I が特異的にS19をリン酸化することがわかりました。そのリン酸化部位を検討したところ、報告されていた変異部位が強くリン酸化されることがわかりました(J.Neurochem., in press)。すなわち、この部

位のリン酸化がS19の機能に重要であると考えられます。このリン酸化は特に脳で強く、現在このリン酸化の生理的意義を検討中です。

もう一つの研究は、CaMキナーゼIIによる細胞膜直下でのタンパク質分解反応の調節機構です。2年前に、視床下部神経細胞由来の培養細胞を用いた実験で、CaMキナーゼIIの活性化により、MAPキナーゼが活性化されることを見出しました(Arch.Biochem.Biophys.,2007)。そこでその活性化機構を検討したところ、いわゆるMAPキナーゼカスケードを活性化しているのではないことがわかりました。そして、いくつかの証拠から、CaMキナーゼIIは、細胞膜に存在するEGF様因子の前駆体の分解を促進させて、EGF様因子を細胞外に遊離させ、遊離されたEGF様因子がEGFに対する自己受容体を活性化させていることがわかつてきました。EGF様因子の前駆体の分解にはADAMと呼ばれる細胞膜貫通型のタンパク質分解酵素が関与していると考えられており、この分解反応をCaMキナーゼIIが

活性化させている可能性があります。さらに同様の機構が $\alpha$ セクレターゼの反応にも関与していることが報告されており、CaMキナーゼIIが、これまで知られている分子機構とは異なる角度から、アルツハイマー病の病態生理に関与している可能性もあると考えています。

教育においては、薬理学教室から生化学教室に移り、薬理学と生化学の違いに戸惑いを感じながら、講義ノートを作り直す毎日が今も続いています。しかし、研究においては、そのような境界を考える必要はなく、これまで学んできた薬理学的手法も取り入れながら、神経細胞機能の制御機構を一つでも明らかにしたいと考えています。神経化学会は、基礎的学問間の境界どころか、臨床に直結する学問との間の境界をも取り扱った極めて学際的な学会であり、この会に参加して刺激を受け続ける事が私の研究者としての進歩にきわめて重要であると確信しています。これからも御指導、御鞭撻をどうぞよろしくお願い致します。



図「生化学分野」のメンバーと季桜花(きおか)ちゃん(2008年7月撮影)

**「第52回 日本神経化学会 大会」**  
**事前参加登録、宿泊・懇親会、育成セミナーのご案内**

大 会 長 田代 朋子  
 (青山学院大学 理工学部 化学・生命科学科)  
 組織委員長 石崎 泰樹  
 (群馬大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学)

「第52回 日本神経化学会大会」は、2009年6月21日(日)～24日(水)の4日間、群馬県・伊香保温泉ホテル天坊にて開催いたします。本大会は、6月21日に同会場で開かれる、「神経組織の成長・再生・移植研究会 第24回学術集会」と連携開催しており、会員皆様のご参加をお待ちしております。

現在、一般演題募集は締め切りましたが、事前参加登録、宿泊・懇親会、育成セミナーの受付中でございます。詳細は、大会ホームページ:<http://www.gakkai.co.jp/jsn52/> で公開しておりますので、ご覧いただきますようお願い申し上げます。

●日程概要

	午前	午後	夜
6月21日(日)	GRT研究会 シンポジウム	GRT研究会 招待講演、ポスター シンポジウム	神経化学会-GRT 研究会連携 オープンシンポジウム (17時～19時)
6月22日(月)	ISNシンポジウム 神経化学会シンポジウム	神経化学会 一般口演、ポスター	神経化学会 懇親会 若手育成セミナー
6月23日(火)	神経化学会 一般口演	神経化学会 シンポジウム、ポスター	神経化学会 ワークショップ、 若手育成セミナー
6月24日(水)	神経化学会 一般口演	神経化学会 シンポジウム(15:50終了)	

<特別シンポジウム>

理事会企画オープンシンポジウム

「成体脳における神経新生と中枢神経系の再生戦略」

オーガナイザー： 岡野栄之、 板倉 徹

ISNシンポジウム(国際神経化学会共催)

「Axon Homeostasis and Diseases」

オーガナイザー： 木山博資

日本神経化学会-日本生物学的精神医学会 合同シンポジウム

オーガナイザー： 池中一裕、 三國雅彦

<最優秀奨励賞選考シンポジウム>

## <シンポジウム>

- 1.「精神医学と神経学の統合的展開」 和田圭司
- 2.「霊長類を用いた精神神経疾患モデルの現況と展望」 中村克樹、那波宏之
- 3.「エピジェネティクスの精神疾患への挑戦」 福永浩司、久保田健夫
- 4.「基礎研究と創薬を結び付けるTranslational Research」小泉信一
- 5.「網羅的アプローチ(-omics)による、神経化学の新しい世界観」五十嵐道弘、古市貞一
- 6.「蛋白品質管理と脳神経疾患」工藤喬、今泉和則
- 7.「ニューラルコミュニケーションの新たな理解へのチャレンジ」関野祐子、熊倉鴻之助
- 8.「神経突起先端およびスペインにおける細胞骨格、内膜系の動態と機能」石川良樹、鈴木龍雄
- 9.「ミクログリアの機能と病態 一最近の研究動向と将来の展望ー」中西博、井上和秀
- 10.「シナプス可塑性・記憶形成におけるプロテインキナーゼの役割ー新たな展開」久永真市
- 11.「アストロサイトの発生と分化」石崎泰樹、中島欽一
- 12.「発達障害における基礎研究の成果を臨床像と照らしつつ今一度検証する」成田正明
- 13.「精神・神経・筋疾患のトランスレーショナルリサーチ」 橋本亮太

### ●事前参加登録: 4月30日(木)まで

		事前登録	当日登録
日本神経化学会大会のみ 参加登録	会員	12,000円	14,000円
	非会員	14,000円	16,000円
	大学院生	3,000円	4,000円
G R T研究会のみ 参加登録	一般	5,000円	5,000円
	大学院生	2,000円	2,000円
両大会とも参加登録	神経化学会 会員	14,000円	19,000円
	神経化学会 非会員	16,000円	21,000円
	大学院生	4,000円	6,000円

※ 両大会とも、筆頭著者発表を行わない学部学生の参加費は無料です。

筆頭著者発表を行う学部学生は、大学院生と同じ登録費で事前参加登録をお願い致します。

### ●宿泊・懇親会申し込み:5月15日(金)まで

(詳細は大会ホームページ[http://www.gakkai.co.jp/jsn52/info\\_stay.html](http://www.gakkai.co.jp/jsn52/info_stay.html)をご覧ください。)

#### [宿泊]

学会会場である「ホテル天坊」に宿泊ご希望の方は、学会専用の特別レートが適用されますので、大会ホームページより、予約手続きをして下さい。

お一人で宿泊申込みされる方で、「相部屋可能」な方(他の方＜複数の方＞との相部屋を希望される方は、氏名、性別、連絡先、宿泊希望日を明記の上、下記のホテル担当者まで、メールにてお申込み下さい。ホテル学会担当者:北村 貴治 E-mail:gakkai@tenbo.com  
なお、宿泊料金は、6月21日(日)、及び23日(火)は12,000円(税込)、22日(月)は、15,000円(懇親会費・税込)、懇親会不参加の方は12,000円(税込)となります。

- 「若手育成セミナー(6月22日、23日)」に参加希望の大学院生、学生の方につきましては、育成セミナー参加申込みと同時に、6月22日(月)と23日(火)の宿泊は自動的に予約されますので、両日の宿泊については、ご自身で予約を入れる必要はありません。  
但し、学会事務局側で補助致しますのは、23日(火)の宿泊(夕・朝2食付)分と、22日(月)夜の懇親会費のみですので、22日(月)の宿泊費については、別途ご負担いただきます。  
また、21日(日)の宿泊を希望される場合は、大会ホームページより予約手続きをして下さい。

〔懇親会〕6月22日夜、ホテル天坊・大広間「五万石」にて宴会形式で行います。

- 「ホテル天坊」に6月22日(月)の宿泊申込みをされた場合、宿泊料金にはあらかじめ懇親会費3,000円が加算された料金設定になっており、自動的に懇親会にも参加申込みされたことになります。
- 「ホテル天坊」に宿泊されない方で懇親会に参加される場合は、懇親会費は8,000円となります。  
参加ご希望の場合は、下記のホテル担当者まで、メールにてお申込み下さい。

ホテル学会担当者:北村 貴治 E-mail:gakkai@tenbo.com

## ●育成セミナー申し込み: 4月30日(木)まで

会期:2009年6月22日(月)～23日(火)

会場:群馬県伊香保温泉・ホテル天坊

### ■開催日程

6月22日(月) 21:00 (懇親会終了後)～ 23:00

6月23日(火) 18:40 ～ 育成セミナータ食会

19:30 ～ 育成セミナー講義 及び フリーディスカッション

### ■募集要項

#### 1. 参加資格・条件

- ・第52回日本神経化学会大会に参加する学部生および大学院生(大会参加費は自費)
- ・育成セミナーのすべてのプログラムに参加すること
- ・指導教官の推薦(署名)

#### 2. 募集人数:100名(国内外は問いません)

#### 3. セミナー参加費:無料

#### 4. 補助内容

- ・懇親会費 … 6/22(月) ホテル天坊「五万石」
- ・宿泊補助 … ホテル天坊 宿泊料金 (6/23の1泊分)
- ・夕 食 … 6/23(火) 育成セミナータ食会
- ・朝 食 … 6/24(水)はホテル天坊で朝食を用意いたします。

## ■申し込み方法 及び 期間

第52回日本神経化学会大会ホームページ(<http://www.gakkai.co.jp/jsn52/>)から申し込みフォームをダウンロードして下さい。必要事項をご記入の上、ファックスまたは郵送でJSN52東京事務局へお申し込み下さい。定員になり次第、申し込みを終了させていただきます。

### 【JSN52東京事務局】

青山学院大学理工学部 化学・生命科学科 田代研究室

〒229-8558 相模原市淵野辺 5-10-1 J-710

TEL & FAX:042-759-6462 E-mail:jsn52aoyama@chem.aoyama.ac.jp

## 神経組織の成長・再生・移植研究会第24回学術集会開催のご案内

第24回学術集会司会人 白尾 智明  
(群馬大学大学院医学系研究科 神経薬理学 教授)

「神経組織の成長・再生・移植研究会」は神経成長、再生、移植に関する研究成果の発表と討論を行なうフォーラムとして1986年に発足して以来、基礎医学系、臨床医学系の神経科学者が一堂に会し、この研究分野の発展に貢献して参りました。本研究会で取り上げられるテーマは、神経系の発生・可塑性・再生現象についての基礎研究から神経疾患の治療や移植に関する臨床研究まで、多岐にわたります。また、最近では再生医療への関心が深まる中、幹細胞についての研究発表も増えており、今後の再生医学・医療の発展にも本研究会の役割は大きいと考えられます。これからも、基礎と臨床がそれぞれの立場で研究成果を発表し、分子、細胞生物学から臨床神経科学に至る幅広い知見を集積し統合させる場として本研究会を発展させて参りたいと存じます。

第24回学術集会を下記の要領で開催致します。本学術集会では「神経回路の可塑性と再生戦略」を主要テーマとして、神経組織の成長・再生・移植に関するポスター演題を募集致します。今回は第52回日本神経化学会大会との連携学会となります。より多くの方にご参加いただきまして例年以上に充実した学術交流の場となりますことを、主催者一同願っております。

日 時:平成21年6月21日(日)9時~19時

会 場:伊香保温泉ホテル天坊

(群馬県渋川市伊香保温泉町396-20 代表:0279-72-3880 FAX:0279-72-4611)

### 【特別講演】

iPS細胞を用いた神経再生戦略 岡野 栄之(慶應義塾大学医学部生理学教室 教授)

### 【ランチョンセミナー】

小脳変性疾患の遺伝子治療-ウイルスベクターの可能性と今後の展望-

平井 宏和(群馬大学大学院医学系研究科神経生理学 教授)

ブレイン-マシン・インターフェースと神経回路網の再編成

櫻井 芳雄(京都大学大学院文学研究科心理学研究室 教授)

### 【シンポジウム】

・神経回路形成の分子メカニズム

・ニューロン-グリア・コミュニケーション

・視機能の再建と神経可塑性

・成体脳における神経新生と中枢神経系の再生戦略(日本神経化学会連携シンポジウム)

### 【一般演題】(ポスタープレゼンテーション)

演題登録〆切:平成21年3月19日(木)

参加登録は下記のGRT研究会WEBサイトよりオンラインでできます。

<http://www.wakayama-med.ac.jp/med/GRT>

参加費(講演集、懇親会費を含む):一般5,000円、大学院生2,000円、学部学生(無料)

※日本神経化学会大会と合わせて事前登録される場合には、一般4,000円、大学院生1,600円となります。

【お問い合わせ先】

神経組織の成長・再生・移植研究会 第24回学術集会 事務局  
群馬大学大学院医学系研究科 神経薬理学(担当 児島伸彦・礒野伴子)  
〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22  
(TEL) 027-220-8052, (FAX) 027-220-8053  
E-mail: neurosec@med.gunma-u.ac.jp

## 学会掲示板

### 千里ライフサイエンスセミナー 「エピジェネティクス:ゲノムを管理し活用する戦略」

日時:平成21年4月17日(金)10:00~16:10

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

主催:財団法人千里ライフサイエンス振興財団

着眼点:エピジェネティクスは真核生物が生み出したゲノムの高度活用戦略である。その仕組みには様々なクロマチンの修飾のほか、non-coding RNAが関わることが分かってきた。また、次世代シーケンサーをはじめとする最新技術の導入により、エピゲノム研究が一気に加速している。エピゲノムを知り、活用することは、幹細胞の作成・分化誘導・品質管理、がんの診断・治療、生活習慣病の解明に必須である。

コーディネータ:国立遺伝学研究所人獣遺伝研究部門 佐々木裕之  
京都大学ウイルス研究所 真貝洋一

プログラム:

1. はじめに 国立遺伝学研究所人獣遺伝研究部門 教授 佐々木裕之

2. small RNAとレトロエレメント抑制 JST さきがけ研究員・大阪大学生命機能研究科 宮川さとみ

3. 幹細胞のゲノム品質管理とリプログラミング 京都大学大学院医学研究科遺伝医学講座 教授 篠原隆司

4. 大規模エピゲノム解析と疾患 東京大学先端科学技術研究センター 教授 油谷浩幸

5. がん抑制遺伝子のDNAメチル化とRNAi 札幌医科大学生化学講座 教授 豊田実

6. おわりに 京都大学ウイルス研究所 教授 真貝洋一

参加費:無料

定員:300名

申込方法:氏名、勤務先、〒所在地、所属、電話およびFAX番号を明記の上、FAXまたはE-mailで下記宛にお申込み下さい。事務局より参加証を返送いたします。参加証はセミナー当日、受付で提示下さい。

申込先:(財)千里ライフサイエンス振興財団 セミナーZ1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20階  
TEL:06-6873-2001 FAX:06-6873-2002  
E-mail:tnb@senri-life.or.jp

# 千里ライフサイエンスセミナー 「統合的医療データベースを利用した個別化医療への応用」

日時:平成21年5月22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  
(大阪府豊中市新千里東町1-4-2、地下鉄御堂筋線／北大阪急行千里中央下車)

## 趣旨:

近年のゲノムを始めとする網羅的分子(omics)情報の発展は著しく、臨床情報だけでなく分子情報も含めた「統合的な医療データベース」の構築が始まっています。このような統合的医療データベースは、患者個人に適合した「個別化医療」、薬剤効果や疾患経過を正確に予測する「予測医療」を推進するものと期待されている。本セミナーではその現状、動向、将来の可能性を論じる。

## プログラム:

1. はじめに 大阪大学サイバーメディアセンター 特任教授 坂田 恒昭

2. オミックス情報に基づいた統合医療データベース — 個別化予測医療の到来  
東京医科歯科大学情報医科学センター センター長・教授 田中 博

3. 「ライフサイエンスにおける統合データベース戦略と個別化医療」  
国立遺伝学研究所 教授 五條堀 孝

4. 診療情報のデータベース化:循環器領域における試み  
東京大学大学院医学系研究科 教授 永井 良三

5. ヒト遺伝子変異データベースの現状とHuman Variome Project  
浜松医科大学光量子医学研究センター 教授 萩島 伸生

6. 理研サイネスが支える個別化医療研究群  
理化学研究所生命情報基盤研究部門 部門長 豊田 哲郎

7. 医療情報データベースとデータウェアハウス  
岐阜大学大学院医学系研究科 教授  
岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授  
紀ノ定 保臣

8. パネルディスカッション「統合的医療データベースと個別化医療」

五條堀孝、永井良三、蓑島伸生、豊田哲郎、紀ノ定保臣／モダレーター：田中 博

9. おわりに

東京医科歯科大学情報医科学センター センター長・教授 田中 博

コーディネーター：東京医科歯科大学情報医科学センター センター長・教授 田中 博

大阪大学サイバーメディアセンター 特任教授 坂田 恒昭

定員：300名

参加費：無料

申込要領：氏名、勤務先、所属、〒所在地、電話番号、Eメールアドレスを明記の上、Eメールで下記宛お申し込み下さい。件名は「千里ライフサイエンスセミナー」として下さい。

申込先：(財)千里ライフサイエンス振興財団セミナーZ 2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20階

E-mail sng@senri-life.or.jp TEL 06-6873-2001

URL <http://www.senri-life.or.jp>

主催：(財)千里ライフサイエンス振興財団

## 第4回トランスポーター研究会年会

日時:2009年5月23日(土)~24日(日)

会場:東京大学弥生講堂(東京都文京区弥生1-1-1)

代表世話人:藤原 徹(東京大学生物生産工学研究センター)

事務局長:前田和哉(東京大院・薬)

プログラム:

特別講演1 村上 聰先生(東京工業大学大学院生命理工学研究科教授)

特別講演2 西澤 直子先生(東京大学農学生命科学研究科教授)

☆口演並びにポスターによる一般演題

一般演題では、コンペティションによる優秀賞等を選考します。詳細は当研究会のホームページ(<http://www.jtra.jp/>)をご覧下さい。

演題応募締切:2009年4月8日(水)

トランスポーターに限らず、物質輸送を担う膜分子またはその複合体に関する一般演題を広く募集します。

参加費:学生(院生含む)3,000円、

一般5,000円

幹事・世話人6,000円(懇親会費無料、当日受付は 各2,000円増となります)

参加申込:事前参加の締切は、4月8日(水)です。

振込先や参加登録の詳細は、当研究会のホームページ(<http://www.jtra.jp/>)をご覧下さい。

問い合わせ先:

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学大学院薬学系研究科

分子薬物動態学教室内

第4回トランスポーター研究会事務局長 前田 和哉

[kmaeda@mol.f.u-tokyo.ac.jp](mailto:kmaeda@mol.f.u-tokyo.ac.jp)

Tel: 03-5841-4772, Fax: 03-5841-4766

<http://www.jtra.jp/>

## 第18回 日本バイオイメージング学会学術講演会

大会長:州崎 悅子(就実大学薬学部)

会期:平成21年9月3日(木)~5日(土)

(例年と時期が異なりますので、ご注意ください)

日程:9月3日(木)午後~5日(土)午前

学術集会(一般演題・シンポジウム・ランチョンセミナー)

その他(総会・懇親会・奨励賞等)

9月5日(土)午後

公開講座

公開講座は「明日をになう君たちへ～バイオイメージングと理工系分野へのいざない～」と題して、高校生や中学生、社会人まで楽しめる講演を用意しています。

また、2008年のノーベル化学賞は、バイオイメージングに非常に関係の深い受賞となりましたので、公開講座の中にも関連した内容を取り上げます。

同時に「オワンクラゲ螢光の展示館:研究者とおきのGFP写真と光る動物たち」も併設開催する予定です。公開講座と併設展示にはどなたでも参加(無料)できます。

多数のご来場をお待ちしています。

会場:就実大学

JR山陽本線・赤穂線で岡山駅から一駅4分

西川原駅から徒歩1分

大会の詳細は下記ホームページをご覧ください。

<http://www.nih.go.jp/niid/bioimaging/>

(連絡先)岡山市西川原1-6-1 就実大学薬学部人体構成学 州崎 悅子

TEL: 086-271-8365 Email: etchan@shujitsu.ac.jp

## 日本神経化学会 賛助会員(50音順)

旭化成ファーマ株式会社  
アストラゼネカ株式会社  
株式会社エイコム  
エーザイ株式会社  
株式会社クバプロ  
塩野義製薬株式会社  
シスメックス株式会社  
大正製薬株式会社  
武田薬品工業株式会社  
田辺三菱製薬株式会社  
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所  
日本ミリポア株式会社  
ノバルティスファーマ株式会社  
株式会社三菱化学生命科学研究所  
明治製薬株式会社  
レノバサイエンス株式会社

**複写される方へ**

日本神経化学会は有限責任中間法人 学術著作権協会(学著協)に複写に関する権利委託をしていますので、本誌に掲載された著作物を複写したい方は、学著協より許諾を受けて複写して下さい。但し、社団法人日本複写権センター(学著協より複写に関する権利を再委託)と包括複写許諾契約を締結されている企業の社員による社内利用目的の複写はその必要はありません。  
(※社外頒布用の複写は許諾が必要です。)

**権利委託先:**有限責任中間法人 学術著作権協会

〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル3階

電話:03-3475-5618 FAX:03-3475-5619 E-mail:info@jaacc.jp

注意:複写以外の許諾(著作物の転載・翻訳等)は、学著協では扱っていませんので、

直接日本神経化学会へご連絡ください。

(e-mail:jsn@imic.or.jp FAX:03-5361-7091)

**アメリカ合衆国において本書を複写されたい場合は、次の団体へご連絡下さい。**

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone 1-978-750-8400 FAX 1-978-646-8600

**Notice for Photocopying**

If you wish to photocopy any work of this publication, you have to get permission from the following organization to which licensing of copyright clearance is delegated by the copyright owner.

<All users except those in USA>

Japan Academic Association for Copyright Clearance, Inc.(JAACC)

6-41 Akasaka9-chome, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

Phone 81-3-3475-5618 FAX 81-3-3475-5619 E-mail: info@jaacc.jp

<Users in USA>

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone 1-978-750-8400 FAX 1-978-646-8600

## 編集後記

今回は、新進気鋭の若手会員による総説「輝け次代の担い手たち」と、比較的最近研究室を立ち上げられた会員による「研究室紹介」が掲載されています。大変お忙しい中をご執筆下さいました先生方に、心から感謝を申し上げます。この二年間本誌の編集を担当して参りましたが、会員の先生方からの様々な形でのフィードバックから、本学会の発展における本誌の役割の大きさをあらためて強く感じた二年間でもありました。これまでご協力・ご支援下さいました諸先生方と、献身的に頑張って下さいました事務の方々に感謝し、本誌がさらなる学会の活性化に貢献していくことを願って、新しい編集委員長に引き継ぎたいと思います。ありがとうございました。

(仲嶋一範)



**神経化学 48巻 第1号**

平成21年3月31日発行

編集兼発行者 日本神経化学会

代表者 高坂 新一

発行者 日本神経化学会

〒160-0016 東京都新宿区信濃町35 信濃町煉瓦館

(財)国際医学情報センター内

印 刷 所 有限会社 シー・ワークス