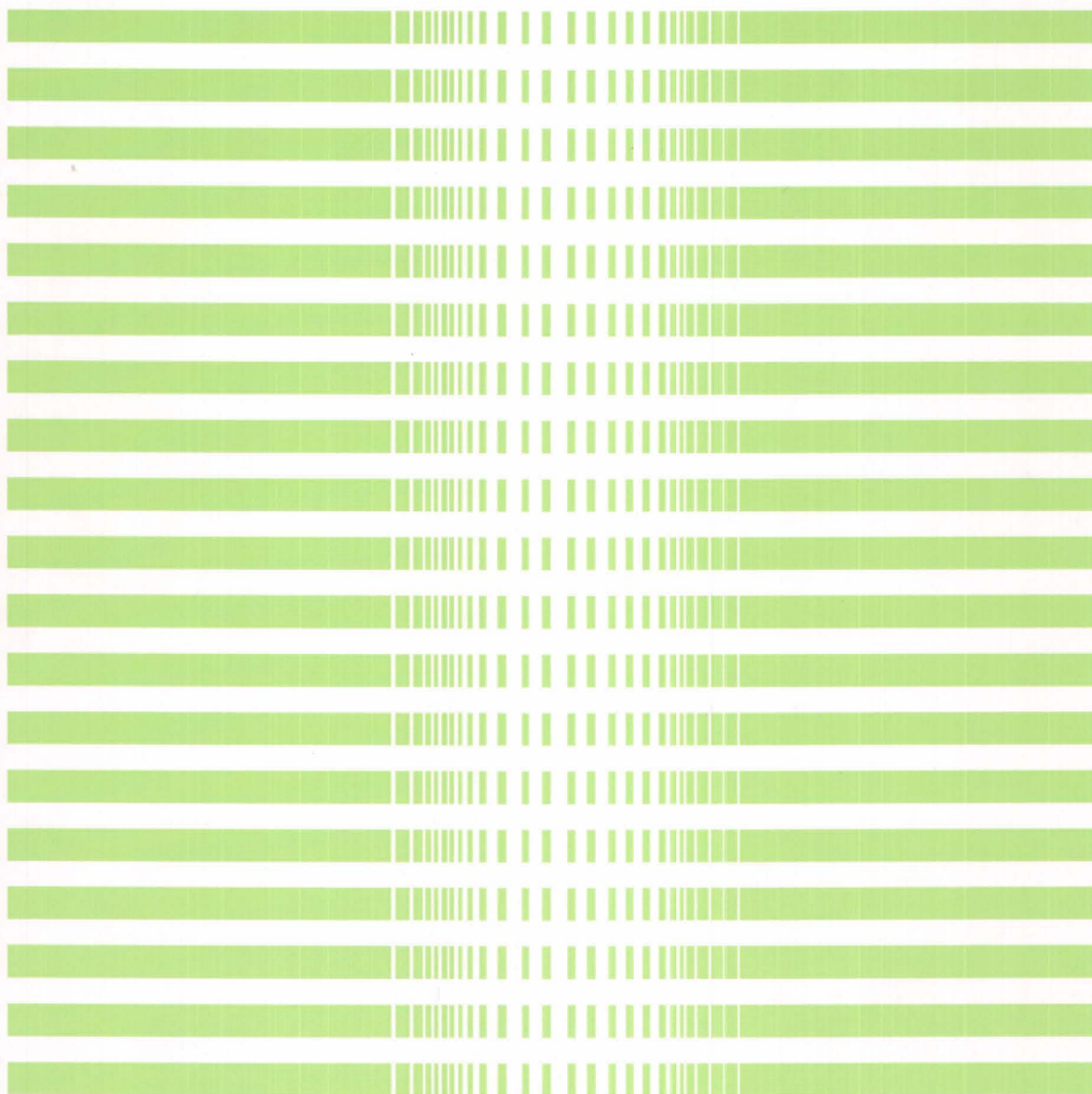


ISSN: 0037-3796



神経化学

Bulletin of the Japanese Society for Neurochemistry
Vol.50 (No.1), 2011



平成 23 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	
「リスク遺伝子による精神疾患へのアプローチ— DISC1 から学ぶべきこと—」	3
松谷 篤 (ジョンズホプキンス大学医学部精神医学部門)	
「中枢神経細胞における BDNF の作用とその様式」	12
松本 知也 (広島大学精神神経医科学研究室)	
「プレセニリン γ セクレターゼによる切断機構の解析」	21
田上 真次ほか (大阪大学大学院医学系研究科精神医学教室)	
「成体脳内で産生され長距離を移動する 新生ニューロンとアストロサイトの相互作用」	29
金子奈穂子 (名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野)	
研究室紹介	
東京医科歯科大学 脳統合機能研究センター 分子生物学分野	38
味噌 逸樹	
広島大学 医歯薬学総合研究科 神経生理学	40
橋本 浩一	
学会参加レポート	
「Society for Neuroscience 40 th Annual Meeting 参加レポート」	42
猪口 徳一 (福井大学 医学部 形態機能医科学講座 組織細胞形態学・ 神経科学領域)	
次期大会のご案内	44
日本神経化学会最優秀奨励賞候補者および奨励賞候補者募集のお知らせ	47
学会掲示板	49
賛助会員一覧	53
編集後記	55

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、次回は 2011 年 8 月 28 日から 9 月 2 日まで Athens (Greece) 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 に入会されますと、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行うことが期待できる人。

年会費：US\$60

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て 3 年以内の人、または今後も神経化学分野での活動を行うことが期待される博士課程にある人は会費を減額(US\$25)される資格があります。

入会方法：オンラインで入会申し込みを行うことが出来ます。以下のページの Membership application で行って下さい。入会する場合は ISN の会員 1 名の名前、連絡先が必要です(これについてはもし心当たりが無ければ和中 (akiow@naramed-u.ac.jp) までご連絡下さい。)

<http://www.neurochemistry.org/Membership/tabid/58/Default.aspx>

(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下さい。

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科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 2012 年 9 月 30 日から 10 月 2 日にかけて神戸において第 55 回日本神経化学会総会と共同で開催されます。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きており、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。是非この機会にご入会下さい。

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

入会申込書及び送付先が少し変更になったため、現在オンラインで入手できなくなっておりますが、入会申込書を日本神経化学会のホームページからダウンロード出来るようにいたしました。URL アドレスは http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsn/apsn/file/APSN_Membership_application.doc です。

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）。

Professor Andrew Lawrence

Howard Florey Institute, University of Melbourne

Royal Parade

Parkville

Vic 3010

AUSTRALIA

Email : Andrew.Lawrence@florey.edu.au

Tel : (+) 613 8344 0414 ; Fax (+) 613 9348 1707

輝け次代の担い手たち

リスク遺伝子による精神疾患へのアプローチ —DISC1 から学ぶべきこと—

神谷 篤

(ジョンズホプキンス大学医学部精神医学部門)

1. はじめに

遺伝学の発展に伴い、多くの精神疾患脆弱性に関わる遺伝因子（リスク遺伝子）が明らかになってきた。これらのリスク遺伝子の機能を解析することで、病因に基づいた研究が展開でき、統合失調症や躁うつ病といった精神疾患の病態生理の本質にいいよ迫ることができるのではという期待がある。こうした期待は、臨床サイドの研究者のみでなく、多くの基礎神経科学者の参入を促し、フィールドが非常ににぎわっているのが、今日の精神疾患研究の現状である。しかしながら、精神疾患は高次脳機能が障害されるアプローチが困難な疾患群であること、多数の遺伝的要因と環境要因に関わる病因の複雑性などから、その本質に迫るにはまだまだ長い道のりが予測され、むしろ近代神経科学を用いた研究が漸く可能な時代にはいつつつあるといったところであろう。本稿では、リスク遺伝子の機能研究、特に筆者がこの10年間関わってきたDisrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1)におけるこれまでの研究の流れを概説し、今後の精神疾患研究における課題について考えたいと思う。

2. リスク遺伝子：分子神経科学的アプローチによる精神疾患研究

精神疾患遺伝学の分野では、連鎖関連研究やcytogeneticアプローチにより、Neuregulin-1、DISC1、Dysbindinなど多くのリスク遺伝子が報

告されてきた¹⁾²⁾。様々な神経科学的知見から、これらの多くは成熟後を含む様々な神経発達段階において、多様な細胞内、細胞間のイベントに関与することが明らかになりつつある。これらの知見は、精神疾患(特に統合失調症や自閉症圏の疾患)には神経発達異常としての側面が重要であるとのepidemiologicalな知見を支持するものである¹⁾³⁾⁴⁾。こういったリスク遺伝子の機能解析結果は、多くの主要ジャーナルに掲載されるようになったが、これは昨年Nature誌が巻頭で“A decade for psychiatric disorders”と宣言しているように⁵⁾、精神疾患群を“サイエンス”の対象として捉え研究することへの期待を反映しているものであるといえる。しかしながら、多様なリスク遺伝子の機能のどの側面が、精神疾患の病態生理に関わっているかは全く不明である。さらには、最近のGenome-wide association studies (GWAS)に代表される遺伝研究におけるさらなる技術的進歩により、copy number variation (CNV) や *de novo* mutationを含む新たな遺伝子変異が多数見つかりつつあり、遺伝要因といっても我々の想像以上に複雑なものであることが明らかになりつつある⁶⁾⁷⁾。これらの遺伝子変異には、頻度は高いが相対危険度の低いもの (common variant) から、稀ではあるが相対危険度の高いもの (rare variant) も含まれ、これらの遺伝子変異の精神疾患への分子レベルでの関与、メカニズムについては、これから探求すべき課題である。

ところで精神疾患においては、Huntington's disease や Parkinson's disease を代表とする神経変

性疾患にみられるような、疾患特異的原因遺伝子は見つかっていないが、これはある意味当然であるかもしれない。というのも、精神疾患においては etiological なベースが不明であり、診断に有用な生物学的指標 (biomarker) も見つかっていない以上、現在世界共通の診断基準の一つとして用いられている Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) をみてもわかるように、症状をベースにカテゴリー化して診断せざるを得ないからである。いくつかのリスク遺伝子が、複数の精神疾患に共通の危険因子として報告されているように、病因という観点にたつと、現行の診断基準に限界があることは明白である。それゆえ現在検討されている診断基準の改訂版 (DSM-V) では、精神病の脱構築 (Deconstructing Psychosis) と題され、カテゴリー方式に加え、次元方式による記述を加えることが検討されている⁸⁾。この次元方式により得られる新たな情報を付加することで、特に臨床研究においては、従来の診断方法による臨床サンプルのカテゴリー化では見逃されていた知見を得ることができる可能性がある。こういった流れに関連して、現在、米国国立精神衛生研究所 (NIMH; National Institute of Mental Health) は、Research Domain Criteria project (RDoC) を立ち上げ、臨床特徴に基づく現在の診断カテゴリーの枠組みを越え、中間表現型 (endophenotype) から診断の枠組みを捉えなおし、遺伝学、基礎神経科学的アプローチを推進しようとしている⁹⁾。さてこういった背景をもとに、精神疾患リスク遺伝子の生物学的研究はいかなる方向に進むべきであるのか、DISC1 研究の流れから学ぶべきことを筆者らの知見も含めて述べたい。

3. DISC1 研究から学ぶべきこと

DISC1 は、もともと St. Clair, D によりスコットランドにおける染色体異常と関連した精神疾患多発家系から発見された¹⁰⁾¹¹⁾。この遺伝子は、Disrupted-in-Schizophrenia-1 と名づけられているものの、実際には、この家系においては、統合

失調症のみならず、躁うつ病、うつ病を含む多彩な精神疾患罹患者がみられる。したがって、DISC1 は特定の精神疾患でなく、複数の精神疾患共通の生物学的脆弱性に関わっている可能性が高い。この家系でみつかった変異それ自身 (1 番と 11 番染色体の転座により、1 番染色体上の DISC1 と DISC2 (non-coding RNA) が切断される) は、いわゆる rare mutation であるが、その後、統合失調症、躁うつ病、自閉症など一般精神疾患患者を対象にした多くの遺伝研究によって、DISC1 とこれらの疾患の関連が支持された。並行して DISC1 の生物学的機能についても多くの研究が進められた。我々は、子宮内電気穿孔法により DISC1 の in vivo ノックダウンを試みることにより、DISC1 の大脳皮質の発達における役割を示し¹²⁾、同じ頃 UK の Millar, JK と Porteous, DJ は、DISC1 が cAMP 分解酵素である phosphodiesterase 4B (PDE4B) との結合により、脳内 cAMP レベルを調節しているとのモデルを発表した¹³⁾。これらの研究結果が発表されたのは 2005 年であるが、この年は、Tourette syndrome や dyslexia といった他の神経精神疾患においても遺伝子と脳疾患とのリンクを brain biology という範疇で示した研究報告がいくつかなされ、これらの報告も含めてこの年の SCIENCE 誌による major breakthrough に選ばれている¹⁴⁾。以後さらに多くの研究グループが DISC1 の機能解析に参入し、多くの優れた仕事報告された。現在では、多くの様々な機能を持ったタンパク質が DISC1 と結合することが知られており、DISC1 は anchoring molecule としてそれらの結合タンパク質に関わる多様な分子経路で、その機能調節に関わっていると考えられている¹⁵⁾ (Table 1)。重要なことは、それらの結合タンパク質のうちいくつかのものは、それ自身リスク遺伝子によりコードされており、これら複数のリスク遺伝子が機能を持つ共通の分子経路を探索することが、精神疾患の disease pathway の解明につながるのではと期待されている。

DISC1 をエントリーポイントとして、disease pathway を模索するのは有効な戦略であると考えられる一方で、DISC1 それ自身には、

Table 1 DISC1 結合タンパク質とその機能

DISC1 結合分子	Function	risk gene	References
Centrosome/cytoskeleton			
NDEL1	Neurite extension, migration	+	(12, 29-32)
NDE1	Proliferation	+	(32, 33)
PCMI	Microtubule organization	+	(34)
BBS4	Migration, primary cilia function	-	(34, 35)
KIF5A	Neuronal transport	-	(30)
14-3-3 ϵ	Migration, Axon growth	+	(30)
FEZ1	Neurite extension	+	(36)
Kendrin	Centrosome function	-	(37)
MAP1A	Microtubule associated	-	(31)
MIPT3	Microtubule associated	-	(31)
Synapse			
Kalirin-7	Synapse function, dendritic spine dynamics	-	(38)
TNFK	Synapse function, dendritic spine dynamics	+	(39)
Citron	Rho signaling, synapse function	+	(29)
Nucleus			
ATF4	Transcription factor	-	(31, 40)
N-CoR	Corepressor for gene transcription	-	(40)
Other			
PDE4B	cAMP signaling	+	(13)
Girdin	AKT signaling	+	(41, 42)
Grb2	Tyrosine kinase mediated signal transduction	-	(43)
DBZ	PACAP signaling	-	(44)

多くの DISC1 結合タンパク質が同定されている。DISC1 は anchoring molecule として、これらのタンパク質群の機能に関わることで、様々な分子経路で役割を担っているものと考えられる。いくつかの DISC1 結合分子はそれ自身リスク遺伝子として知られており、これら複数のリスク遺伝子に関わる共通の分子経路を探索することが、疾患病態生理の理解に結びつく可能性がある。

極めて重要ないくつかの問題が、未解決のまま残されている。まず第一に、DISC1 が発見されたスコットランドの家系におけるこの分子の意味付けが、いまだ十分になされていないことである。染色体転座により、C 末端の欠損した truncated DISC1 が発現していることを想定し、我々も含めいくつかのグループが、truncated DISC1 を発現させたトランスジェニックマウスを発表している¹⁶⁾。しかしながら、truncated DISC1 が本当にスコットランド家系における患者の脳内において発現し、dominant negative としての機能を持つのか、あるいは haploinsufficiency として説明できるものなのか証明がなされていない。さらには最近になり、11 番染色体上にもこの染色体転座により切断される遺伝子の存在が報告されており¹⁷⁾、スコットランド家系においてさえ、DISC1 だけで疾

患脆弱性の説明ができるのか不明である。つぎに DISC1 は、極めて多くのバリエーションの存在がタンパク質レベル、mRNA レベルで報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。これらのバリエーションがそれぞれいかなる DISC1 の機能に関わるのかは不明である。こういった複雑なバリエーションの問題については、RNA 干渉 (RNAi) を用いたノックダウンとそのレスキュー実験が有効なアプローチであるかもしれない。異なったターゲットシーケンスを持つ複数の RNAi によるノックダウン効果と各バリエーションの overexpression によるレスキュー効果を検証することで、バリエーションスペシフィックな機能を検出できる可能性がある。RNAi によるアプローチの有効性については、大脳皮質、海馬における cell proliferation, migration, axon/dendrite growth における役割など DISC1 の *in vivo* での機能の多

Table 2 DISC1 の neuronal migration におけるノックダウン効果

Stage	Region	RNAi	Target exon	Species/Strain	Phenotype	References
Development	CC	Plasmid	10	Mouse/Swiss Webster	Disturbed migration	(45)
		Plasmid	10 and 6	Mouse/ICR	Disturbed migration	(12, 34)
		Plasmid	10	Rat/Sprague Dawley	Disturbed migration	(46)
		Retrovirus	2	Mouse/C57BL/6	Disturbed migration	(47)
		Plasmid	2, 6, and 10	Mouse/C57BL/6, ICR, 129X1/SvJ	Disturbed migration	(22)
		Lentivirus	2	Mouse/C57BL/6	Disturbed migration	(22)
Adult	DG	Plasmid	2	Mouse/Swiss Webster	Disturbed migration	(48)
		Retrovirus	2	Mouse/C57BL/6	Overextended migration	(47)
		Retrovirus	2	Mouse/C57BL/6 and 129S6	Overextended migration	(41)

子宮内電気穿孔法、ウイルスを用いた gene delivery によるノックダウンアプローチにより、DISC1 の機能解析が多く行われている。このテーブルでは neuronal migration における報告のみまとめた。RNAi によるターゲットシーケンス、RNAi の導入方法、種差、strain 差を考慮し慎重にデータを解釈する必要がある。CC, cerebral cortex ; DG, dentate gyrus. 文献 (22) より改変。

くがノックダウン効果により同定されていることにより示されている (Table 2)。この際 RNAi の持つ off-target 効果に留意する必要があるのはもちろんであるが、*in vivo* での phenotype を検証する際には、strain 差にも十分留意する必要がある。実際 DISC1 の場合、129strain では、DISC1 の open reading frame に 25bp の deletion があることが報告されている²⁰⁾。この 25bp deletion により、フレームシフトが起こり、その下流でストップコドンが生じる可能性が提示されている。しかしながら 129strain では、この 25bp deletion をもちつつも、多くの DISC1 isoform が発現していることが確認されており²¹⁾、これは 129strain においても DISC1 ノックダウン効果がみられることと一致する²²⁾。したがって、129strain は一部の DISC1 isoform が欠損しているマウスと考えるのが妥当であろう。こういったマウスの strain 差に内在する問題を避けるために、現在我々は C57BL/6 などこの deletion を持たないことが確認された inbred strain を DISC1 のノックダウン効果を検証する際に用いている。この問題は近い将来期待される DISC1 knockout mice の作製の際にも十分注意を

払われるべきであろう。

4. リスク遺伝子から精神疾患動物モデルへ

ターゲット分子の *in vivo* での機能を探る際に knockout mice の作製が当然期待される。しかしながら分子によっては、functional compensation が起こり、本来その分子の持つ重要な機能が見えない可能性もある。Doublecortin (DCX) のケースはその一例である。ヒト DCX に変異があることで、大脳皮質層構造に異常が生じ (Doublecortex)、知能低下を引き起こすことは良く知られているが、DCX knockout mice の大脳皮質には、そういった異常は見られない²³⁾。しかしながら、RNAi によるノックダウンアプローチにより、マウス脳においてもヒト脳でみられるような皮質構築異常を再現できる²⁴⁾。これは acute にターゲット分子の発現レベルを下げることで、compensation が起こり難いためであると考えられる。現在では traditional なノックアウトマウスのみでなく時期空間特異的に発現を調節できる conditional な動物モデルも作製可能である。先に述べたように、多

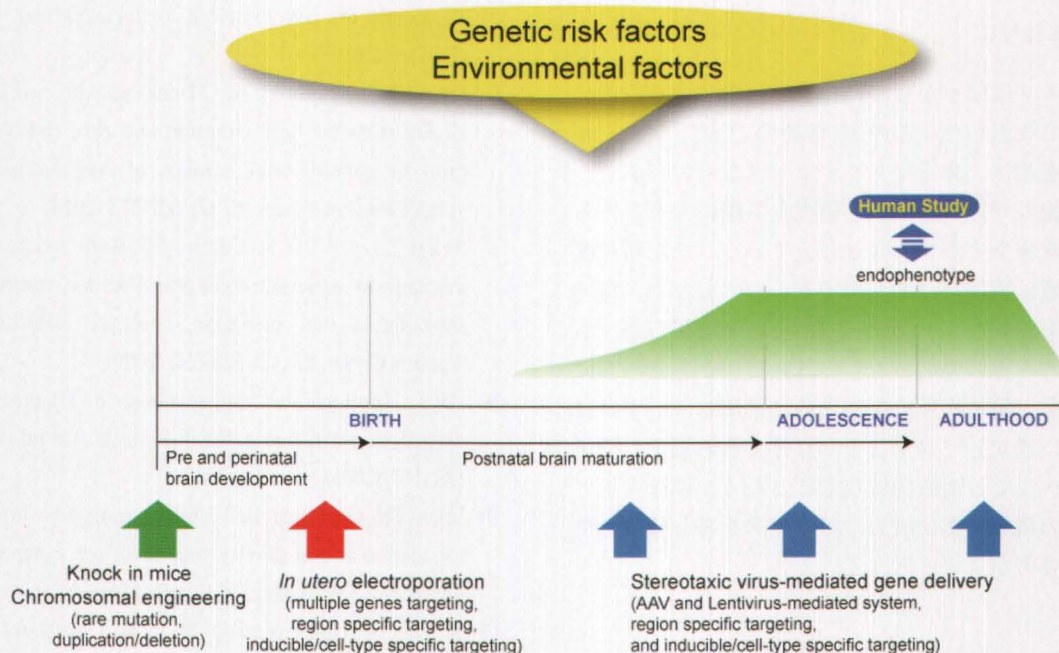


図1 リスク遺伝子に基づいた精神疾患動物モデルの可能性

ヒトでみられる遺伝子変異を導入したモデル動物、子宮内電気穿孔法、ウイルスを用いた gene targeting 技術などが、動物モデル作製に有用である。神経発達という時間軸を考慮しながら、ヒトと動物でトランスレータブルな中間表現型に注目し、責任分子経路を明らかにしていく必要がある。文献 (25) より改変。

くのリスク遺伝子は様々な発達段階において多様な機能に関わっていることから、子宮内電気穿孔法やウイルスによる gene delivery system などによる RNAi を用いたアプローチも含め²⁵⁾、こういった新しい技術を用い、疾患病理に本当に重要な分子機能の同定を目指すことが重要と思われる。また、より病態に近いモデル動物の作製という観点からは、ヒトで見られる遺伝子変異を導入したマウスの作製解析が重要であるが、一部の精神疾患関連遺伝子変異に関してはすでにいくつか報告されている。自閉症の一部の症例の責任遺伝子である Neuroligin3 におけるミスセンス変異²⁶⁾、15q11-13 重複²⁷⁾、統合失調症の合併が良く知られている 22q11 deletion syndrome におけるヒト染色体 22q11 のマウスにおける相同領域の欠損マウス²⁸⁾などが、そういったモデル動物であるが、これらはよりダイレクトに疾患病態の理解に役立つ可能性があるものとして期待される。

こういったリスク遺伝子に基づく遺伝子改変動

物モデルであるが、先に述べたように、遺伝的脆弱性、症状ベースによる現在の疾患分類カテゴリーの限界を考慮すると、特定の精神疾患特異的な動物モデルを作るのは困難であることが予測される。それ故、今後の戦略としては、working memory や PPI (prepulse inhibition) といったヒト、動物間でトランスレーション可能な中間表現型とそれにかかわる neuronal circuit に焦点を当てることが重要であろう。その上で、複数のリスク遺伝子に関わる分子経路を想定し (たとえば DISC1 の場合、多様な分子経路のどれが disease pathway として関わっているのか検討していく必要がある)、表現型における役割とそのメカニズムを神経発達という観点も含めて検証していくことが、もっとも有効であると思われる (図1)。

5. おわりに

リスク遺伝子からの精神疾患へのアプローチについて概説した。この10年間のDISC1フィールドの変遷は、非常にダイナミックなものであり、今後他のリスク遺伝子を研究する際にもそこから得た経験を生かすべきと考えている。また精神疾患は遺伝要因だけで説明できるものでなく、環境因子も重要なファクターであることは明らかである。どちらの要因、もしくは両要因からせめるにしても、精神疾患を生物学的に理解し、いずれは治療に還元していくことが目標である以上、分子のレベルで近視眼的になることなく、臨床疾患としての側面を常に眺め、アイデアを練り検証していく姿勢が重要と考えている。

謝 辞

本稿執筆の機会を与えてくださった仲嶋一範先生はじめ、日本神経化学会編集委員の先生方に感謝いたします。

文 献

- 1) Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular psychiatry*, 10 (1), 40-68 (2005); image 5.
- 2) Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC. Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet*, 21 (9), 518-525 (2005).
- 3) Jaaro-Peled H, Hayashi-Takagi A, Seshadri S, Kamiya A, Brandon NJ, Sawa A. Neurodevelopmental mechanisms of schizophrenia: understanding disturbed postnatal brain maturation through neuregulin-1-ErbB4 and DISC1. *Trends in neurosciences*, 32 (9), 485-495 (2009).
- 4) Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Molecular psychiatry*, 10 (15), 434-449 (2005).
- 5) A decade for psychiatric disorders. *Nature*, 463 (7277), 9 (2010).
- 6) Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC. Suggestion of roles for both common and rare risk variants in genome-wide studies of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 67 (7), 667-673 (2010).
- 7) Sebat J, Levy DL, McCarthy SE. Rare structural variants in schizophrenia: one disorder, multiple mutations; one mutation, multiple disorders. *Trends Genet*, 25 (12), 528-535 (2009).
- 8) APA. Dimensional Approaches in Diagnostic classification: refining the Research Agenda for DSM-V. (2008).
- 9) Insel TR, Cuthbert BN. Endophenotypes: bridging genomic complexity and disorder heterogeneity. *Biol Psychiatry*, 66 (11), 988-989 (2009).
- 10) St Clair D, Blackwood D, Muir W, Carothers A, Walker M, Spowart G, et al. Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. *Lancet*, 336 (8706), 13-16 (1990).
- 11) Millar JK, Christie S, Semple CA, Porteous DJ. Chromosomal location and genomic structure of the human translin-associated factor X gene (TRAX; TSNA-X) revealed by intergenic splicing to DISC1, a gene disrupted by a translocation segregating with schizophrenia. *Genomics*, 67 (1), 69-77 (2000).
- 12) Kamiya A, Kubo K, Tomoda T, Takaki M, Youn R, Ozeki Y, et al. A schizophrenia-associated mutation of DISC1 perturbs cerebral cortex development. *Nat Cell Biol*, 7 (12), 1167-1178 (2005).
- 13) Millar JK, Pickard BS, Mackie S, James R, Christie S, Buchanan SR, et al. DISC1 and PDE4B are interacting genetic factors in schizophrenia that regulate cAMP signaling. *Science*, 310 (5751), 1187-1191 (2005).
- 14) Breakthrough of the year: the runners-up. *Science*, 310 (5756), 1880-1885 (2005).
- 15) Camargo LM, Collura V, Rain JC, Mizuguchi K, Hermjakob H, Kerrien S, et al. Disrupted in Schizophrenia 1 Interactome: evidence for the

- close connectivity of risk genes and a potential synaptic basis for schizophrenia. *Molecular psychiatry*, 12 (1), 74-86 (2007).
- 16) Kellendonk C, Simpson EH, Kandel ER. Modeling cognitive endophenotypes of schizophrenia in mice. *Trends in neurosciences*, 32 (6), 347-358 (2009).
- 17) Zhou X, Chen Q, Schaukowitch K, Kelsoe JR, Geyer MA. Insoluble DISC1-Boymaw fusion proteins generated by DISC1 translocation. *Molecular psychiatry*, 15 (7), 669-672 (2010). PMID: 2891102.
- 18) Ishizuka K, Paek M, Kamiya A, Sawa A. A review of Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1): neurodevelopment, cognition, and mental conditions. *Biol Psychiatry*, 59 (12), 1189-1197 (2006).
- 19) Nakata K, Lipska BK, Hyde TM, Ye T, Newburn EN, Morita Y, et al. DISC1 splice variants are upregulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (37), 15873-15878 (2009). PMID: 2736903.
- 20) Koike H, Arguello PA, Kvajo M, Karayiorgou M, Gogos JA. Disc1 is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (10), 3693-3697 (2006). PMID: 1450143.
- 21) Ishizuka K, Chen J, Taya S, Li W, Millar JK, Xu Y, et al. Evidence that many of the DISC1 isoforms in C57BL/6J mice are also expressed in 129S6/SvEv mice. *Molecular psychiatry*, 12 (10), 897-899 (2007).
- 22) Kubo K, Tomita K, Uto A, Kuroda K, Seshadri S, Cohen J, et al. Migration defects by DISC1 knock-down in C57BL/6, 129X1/SvJ, and ICR strains via in utero gene transfer and virus-mediated RNAi. *Biochem Biophys Res Commun*, 400 (4), 631-637 (2010). PMID: 2949544.
- 23) Corbo JC, Deuel TA, Long JM, LaPorte P, Tsai E, Wynshaw-Boris A, et al. Doublecortin is required in mice for lamination of the hippocampus but not the neocortex. *J Neurosci*, 22 (17), 7548-7557 (2002).
- 24) 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 (12), 1277-1283 (2003).
- 25) Taniguchi Y, Young-Pearse T, Sawa A, Kamiya A. *In utero* electroporation as a tool for genetic manipulation *in vivo* in order to study psychiatric disorders: from genes to circuits and behaviors. *Neuroscientist*, (2010) In press.
- 26) Tabuchi K, Blundell J, Etherton MR, Hammer RE, Liu X, Powell CM, et al. A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. *Science*, 318 (5847), 71-76 (2007).
- 27) Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F, Ise S, Ohta H, Inoue K, et al. Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell*, 137 (7), 1235-1246 (2009).
- 28) Stark KL, Xu B, Bagchi A, Lai WS, Liu H, Hsu R, et al. Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model. *Nature genetics*, 40 (6), 751-760 (2008).
- 29) Ozeki Y, Tomoda T, Kleiderlein J, Kamiya A, Bord L, Fujii K, et al. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC-1): mutant truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (1), 289-294 (2003).
- 30) Taya S, Shinoda T, Tsuboi D, Asaki J, Nagai K, Hikita T, et al. DISC1 regulates the transport of the NUDEL/LIS1/14-3-3epsilon complex through kinesin-1. *J Neurosci*, 27 (1), 15-26 (2007).
- 31) Morris JA, Kandpal G, Ma L, Austin CP. DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia 1) is a centrosome-associated protein that interacts with MAP1A, MIPT3, ATF4/5 and NUDEL: regulation and loss

- of interaction with mutation. *Hum Mol Genet*, 12 (13), 1591-1608 (2003).
- 32) Burdick KE, Kamiya A, Hodgkinson CA, Lencz T, DeRosse P, Ishizuka K, et al. Elucidating the relationship between DISC1, NDEL1 and NDE1 and the risk for schizophrenia: evidence of epistasis and competitive binding. *Hum Mol Genet*, 17 (16), 2462-2473 (2008). PMID: 2486442.
 - 33) Bradshaw NJ, Christie S, Soares DC, Carlyle BC, Porteous DJ, Millar JK. NDE1 and NDEL1: multimerisation, alternate splicing and DISC1 interaction. *Neurosci Lett*, 449 (3), 228-233 (2009). PMID: 2631193.
 - 34) Kamiya A, Tan PL, Kubo K, Engelhard C, Ishizuka K, Kubo A, et al. Recruitment of PCM1 to the centrosome by the cooperative action of DISC1 and BBS4: a candidate for psychiatric illnesses. *Arch Gen Psychiatry*, 65 (9), 996-1006 (2008).
 - 35) Ishizuka K, Kamiya A, Oh CE, Kanki H, Seshadri S, Robinson FJ, et al. A DISC1-dependent switch from neuronal proliferation to migration in the developing cortex. *Nature*, (2011) In Press.
 - 36) Miyoshi K, Honda A, Baba K, Taniguchi M, Oono K, Fujita T, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth. *Molecular psychiatry*, 8 (7), 685-694 (2003).
 - 37) Miyoshi K, Asanuma M, Miyazaki I, Diaz-Corrales FJ, Katayama T, Tohyama M, et al. DISC1 localizes to the centrosome by binding to kendrin. *Biochem Biophys Res Commun*, 317 (4), 1195-1199 (2004).
 - 38) Hayashi-Takagi A, Takaki M, Graziane N, Seshadri S, Murdoch H, Dunlop AJ, et al. Disrupted-in-Schizophrenia 1 (DISC1) regulates spines of the glutamate synapse via Rac1. *Nat Neurosci*, 13 (3), 327-332 (2010). PMID: 2846623.
 - 39) Wang Q, Charych EI, Pulito VL, Lee JB, Graziane NM, Crozier RA, et al. The psychiatric disease risk factors DISC1 and TNK1 interact to regulate synapse composition and function. *Molecular psychiatry*. (2010).
 - 40) Sawamura N, Ando T, Maruyama Y, Fujimuro M, Mochizuki H, Honjo K, et al. Nuclear DISC1 regulates CRE-mediated gene transcription and sleep homeostasis in the fruit fly. *Molecular psychiatry*, (2008).
 - 41) Kim JY, Duan X, Liu CY, Jang MH, Guo JU, Powanpongkul N, et al. DISC1 regulates new neuron development in the adult brain via modulation of AKT-mTOR signaling through KIAA1212. *Neuron*, 63 (6), 761-773 (2009).
 - 42) Enomoto A, Asai N, Namba T, Wang Y, Kato T, Tanaka M, et al. Roles of disrupted-in-schizophrenia 1-interacting protein girdin in post-natal development of the dentate gyrus. *Neuron*, 63 (6), 774-787 (2009).
 - 43) Shinoda T, Taya S, Tsuboi D, Hikita T, Matsuzawa R, Kuroda S, et al. DISC1 regulates neurotrophin-induced axon elongation via interaction with Grb2. *J Neurosci*, 27 (1), 4-14 (2007).
 - 44) Hattori T, Baba K, Matsuzaki S, Honda A, Miyoshi K, Inoue K, et al. A novel DISC1-interacting partner DISC1-Binding Zinc-finger protein: implication in the modulation of DISC1-dependent neurite outgrowth. *Molecular psychiatry*, 12 (4), 398-407 (2007).
 - 45) Singh KK, Ge X, Mao Y, Drane L, Meletis K, Samuels BA, et al. Dixdc1 is a critical regulator of DISC1 and embryonic cortical development. *Neuron*, 67 (1), 33-48 (2010).
 - 46) Young-Pearse TL, Suth S, Luth ES, Sawa A, Selkoe DJ. Biochemical and Functional Interaction of Disrupted-in-Schizophrenia 1 and Amyloid Precursor Protein Regulates Neuronal Migration during Mammalian Cortical Development. *J Neurosci*, 30 (31), 10431-10440 (2010).
 - 47) Duan X, Chang JH, Ge S, Faulkner RL, Kim JY, Kitabatake Y, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. *Cell*, 130 (6), 1146-1158 (2007).
 - 48) Meyer KD, Morris JA. Disc1 regulates granule

cell migration in the developing hippocampus. 2722990.
Hum Mol Genet, 18 (17), 3286-3297 (2009). PMCID:

中枢神経細胞における BDNF の作用とその様式

松本 知也

(広島大学精神神経医科学研究室)

はじめに

1950年代、末梢神経細胞の生存を維持する分泌性蛋白質として神経成長因子 (nerve growth factor, NGF) が Levi-Montalcini らによって発見された¹⁾。神経系の発生初期において神経細胞は過剰に作られるが、最終的に生存できる細胞数は限られており、残りは細胞死に至り除かれる。ここで神経細胞の生と死は、その標的細胞から供給される限られた量の生存維持因子に依存する。トロフィック仮説として提唱されたこの仮説を裏付ける証拠として NGF の発見は非常に重要であり、この功績により 1986 年、Levi-Montalcini らはノーベル賞を受賞した²⁾。その NGF 発見から遅れること約 30 年、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) が Barde らによって発見された³⁾。その後 10 年以内に、ニューロトロフィン-3 (neurotrophin-3, NT-3)、NT-4/5 が相次いで報告された^{4)~8)}。BDNF、NT-3、NT-4/5 の研究は、しばらくの間、既に数多くの知見が集まっていた NGF 研究を追う形で進んだ。即ち NGF 同様、神経系の発生期における生存維持作用、神経細胞の分化促進作用、神経細胞保護作用が報告された^{9)~11)}。

一方、中枢神経系における NT 研究は、末梢神経系に比べ遅れていた。中枢神経系が複雑で解析が難しいことに加え、脳内 NGF 量が少ないためであった。しかし、BDNF の発見、培養技術の向上、遺伝子改変動物の開発により、この 20 年間で大幅に研究が進んだ。BDNF は、その名にある通り、主に脳、特に成熟脳において広く発現してい

る¹²⁾¹³⁾。まもなく BDNF がシナプス可塑性に重要であることが明らかになっていった¹⁴⁾。2003 年には、ヒトの脳機能 (記憶や学習) に BDNF が関与することが報告された¹⁵⁾。近年ではうつ病をはじめとする精神疾患の発症およびその治療に BDNF が関わると考えられており¹⁶⁾、BDNF はますます注目されている。筆者は、中枢神経系における BDNF の作用様式に関心を持ち、1998 年より故畠中寛研究室 (大阪大学蛋白質研究所) にて BDNF 研究を始めた。そこでは、BDNF による神経伝達物質放出増強作用メカニズムの解析を行った。その後、2004 年より BDNF 発見者 Barde Yves-Alain 研究室 (スイス、バーゼル大学バイオセンター) に留学し、中枢神経細胞における BDNF の生合成過程およびその局在について研究を行った。本稿では、これまでの研究成果を紹介したい。

1. BDNF による神経伝達物質の開口放出増強作用

1995 年、BDNF ノックアウト (KO) マウスにおいて海馬における長期増強 (long-term potentiation, LTP) が著しく減弱すると報告された¹⁷⁾。以降、BDNF によるシナプス伝達制御に関する研究は進んだが、そのメカニズムに関しては十分に明らかではなかった。そこで我々は、シナプス伝達の基礎過程である神経伝達物質の開口放出に対する BDNF の作用に着目し、そのメカニズムについて解析を行った¹⁸⁾¹⁹⁾。生後 2 日齢ラットより培養した大脳皮質ニューロンから放出される興奮性伝達

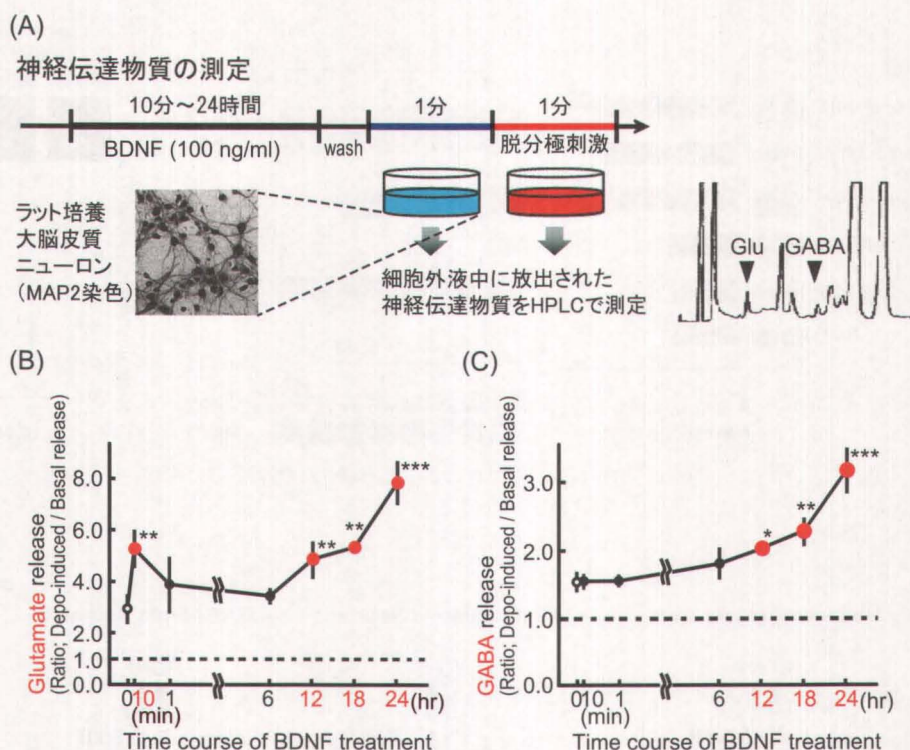


図1 BDNFによる神経伝達物質放出増強作用
文献19より改変して転載。

物質であるグルタミン酸 (Glu) および抑制性 GABA の量を HPLC によって測定した(図 1A)。その結果、BDNF 処理により脱分極刺激に伴う Glu および GABA の開口放出が増強されることを見出した (図 1BC)。興味深いことに、BDNF による Glu 放出増強作用は BDNF 処理 10 分後をピークに一旦弱まるが、12-24 時間後再び見られた (図 1B)。一方、GABA 放出増強作用は 12-24 時間処理でのみ観察された(図 1C)。これらの結果から、BDNF による神経伝達物質開口放出に対する作用は、短時間と長時間、および Glu と GABA で、それぞれ異なるメカニズムを介して発揮されることが予想された。そこで各作用に対し、i) 転写、翻訳依存性、ii) シグナル経路、および iii) 神経活動依存性について調べた。

1-1. BDNF短時間処理によるGlu放出増強作用[®] BDNF 10 分間処理による Glu 開口放出増強作

用は、転写、翻訳による新たな蛋白質の合成を必要としなかった。転写、翻訳阻害剤である actinomycin D および cycloheximide 存在下でも、BDNF による放出増強作用は見られた。開口放出には細胞外からの Ca^{2+} 流入が重要であるが、BDNF は脱分極刺激後の細胞内 Ca^{2+} 濃度をさらに高めていた。興味深いことに、thapsigargin により細胞内 Ca^{2+} ストアの Ca^{2+} を枯渇させることにより、脱分極刺激に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度増加および Glu 放出に対する BDNF の増強作用は抑えられた。次にシグナル経路について調べた。BDNF による放出増強作用にはその特異的受容体 TrkB の活性化が必要であった。TrkB 下流として、主に 3 つのシグナル経路、MAPK 経路、PI3K 経路、PLC- γ 経路が知られている。そこで各経路の阻害剤を用いて BDNF 増強作用に必要なシグナル経路を調べたところ、PLC- γ 経路が重要であることが分かった。さらに、細胞内 Ca^{2+} ストアに局在す

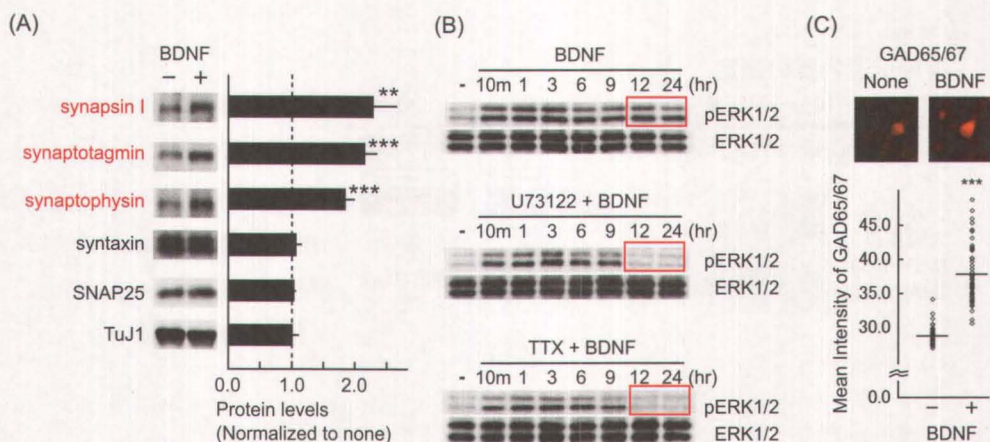


図2 BDNF長時間処理によって観察された作用
文献19より改変して転載。

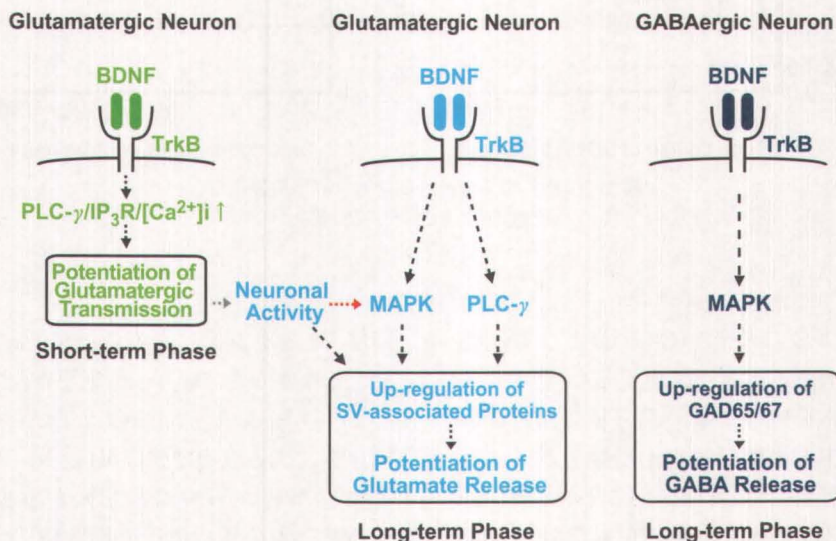


図3 BDNFによる神経伝達物質放出増強作用のメカニズム
文献19より改変して転載。

るCa²⁺チャネルであるIP₃受容体阻害剤 xest-
spongin CもまたBDNFによる放出増強作用を
抑えた。PLC-γ活性化によりIP₃が産生することが
知られており、BDNFは短時間でTrkB/PLC-γ
経路を介してIP₃産生を促進し、脱分極刺激による
細胞外からのCa²⁺流入に加え、細胞内Ca²⁺ストア
のIP₃受容体を介したCa²⁺流出が促進され、Glu
開口放出を増強させているのかもしれない(図3
左)。

1-2. BDNF長時間処理によるGlu放出増強作用[®]

BDNF 24時間処理によるGlu放出増強作用に
は、PLC-γ経路に加えMAPK経路の活性化が必要
であった。さらに転写、翻訳の過程を伴った。そ
こで、BDNFが開口放出に関わる蛋白質の発現を
制御する可能性を検討したところ、BDNF 24時間
処理によりシナプス小胞の構成蛋白質であるシナ
プシン、シナプトタグミン、シナプトフィジンの
発現が顕著に増加していた(図2A)。これらの発

現上昇には MAPK 経路と PLC- γ 経路の活性化が必要であった。一方、開口放出に関わる細胞膜側の蛋白質である SNAP25 及びシンタキシンの発現には変化が見られなかった (図 2A)。次に神経活動依存性を調べた。ナトリウムチャネルの阻害剤 tetrodotoxin (TTX)、およびグルタミン酸受容体阻害剤処理によって神経活動を抑えると、BDNF による放出増強作用は見られなかった。またシナプス小胞蛋白質の発現上昇も抑えられた。以上から、BDNF 長時間処理により神経活動依存的にシナプス小胞の数が増え、Glu 開口放出が増強される可能性が示唆された。興味深いことに、BDNF による MAPK 活性化は長時間持続したが、神経活動阻害剤 TTX および PLC- γ 阻害剤 U73122 により MAPK 持続的活性化が顕著に抑えられた (図 2B 赤四角)。「1-1.」の結果と合わせて考えると、BDNF 短時間処理により PLC- γ 経路を介して増強された興奮性神経活動が MAPK 活性化の持続に重要であり、転写、翻訳を伴う長期的なシナプス伝達効率の増強につながるのかもしれない (図 3 真ん中)。

1-3. BDNF 長時間処理による GABA 放出増強作用¹⁹⁾

BDNF 24 時間処理による GABA 開口放出増強作用には、TrkB/MAPK 経路の活性化が必要であった。また神経活動非依存的であった。BDNF 24 時間処理による Glu 放出増強作用と同様に転写、翻訳の過程が必要であったが、シグナル経路および神経活動依存性が異なることから、GABA 増強作用にはシナプス小胞蛋白質以外の蛋白質発現が関与する可能性が示唆された。そこで我々は GABA 合成酵素である glutamic acid decarboxylase 65/67 (GAD65/67) に着目したところ、BDNF は MAPK 経路依存的におよび神経活動非依存的に、GAD 65/67 を増加させていることが分かった (図 2C)。従って、BDNF は TrkB/MAPK 経路を介して、神経活動非依存的に GAD 65/67 を増加させることにより、GABA 開口放出を増強させているのかもしれない (図 3 右)。

1-4. BDNF による神経伝達物質開口放出増強作用のまとめ (図 3)

BDNF が短時間あるいは長時間で、Glu および GABA 開口放出を増強させること、そして、それぞれ異なるメカニズムが働いていることを見出した。BDNF 長時間処理による Glu 放出増強作用は神経活動依存的であった。これまでに BDNF の発現²⁰⁾²¹⁾やその分泌^{22)~24)}が神経活動依存的に起こることが報告されている。BDNF は短時間で興奮性神経活動を増強させるので¹⁸⁾²⁵⁾²⁶⁾、今回見出した BDNF 短時間および長時間処理による Glu 放出増強メカニズムは、BDNF によって増強された神経活動が BDNF の発現、分泌を誘引し、さらに神経活動を増強するという正のフィードバックを説明するものとして重要であろう。一方、BDNF による GABA 開口放出の増強は、神経回路のホメオスタシス維持のためのメカニズムとして重要なものかもしれない²⁷⁾。

2. 中枢神経細胞における BDNF の生合成

2000 年に入ると、BDNF がシナプス可塑性、さらには脳の高次機能に重要であることはもはや前提になっており、そのメカニズムについても詳細に分かってきていた。今日では BDNF と様々な精神・神経疾患に関する新たな知見が日々更新されている。しかし、そもそも中枢神経細胞において BDNF はどのように作られ、どこに運ばれるのであろうか? NT はまず前駆体 (pro-NT) として作られる (図 5)。古典的には「pro-NT は細胞内プロテアーゼ furin ファミリーに特異的に認識される領域で切断され、成熟体 NT として分泌し、主に Trk を介してその生理作用を発揮する」と信じられてきた。しかし、2001 年、Murphy グループにより BDNF を強制発現させた神経細胞から pro-BDNF が細胞外に分泌することが報告された²⁸⁾。さらに同年にリコンビナント pro-NGF、2005 年にはリコンビナント pro-BDNF が、もう 1 つの NT 受容体、p75^{NTR} を介して成熟体とは異なる生理作用を発揮しうることが報告された²⁹⁾³⁰⁾ (図 5)。従って、内在性 BDNF の生合成、プロセッシング、

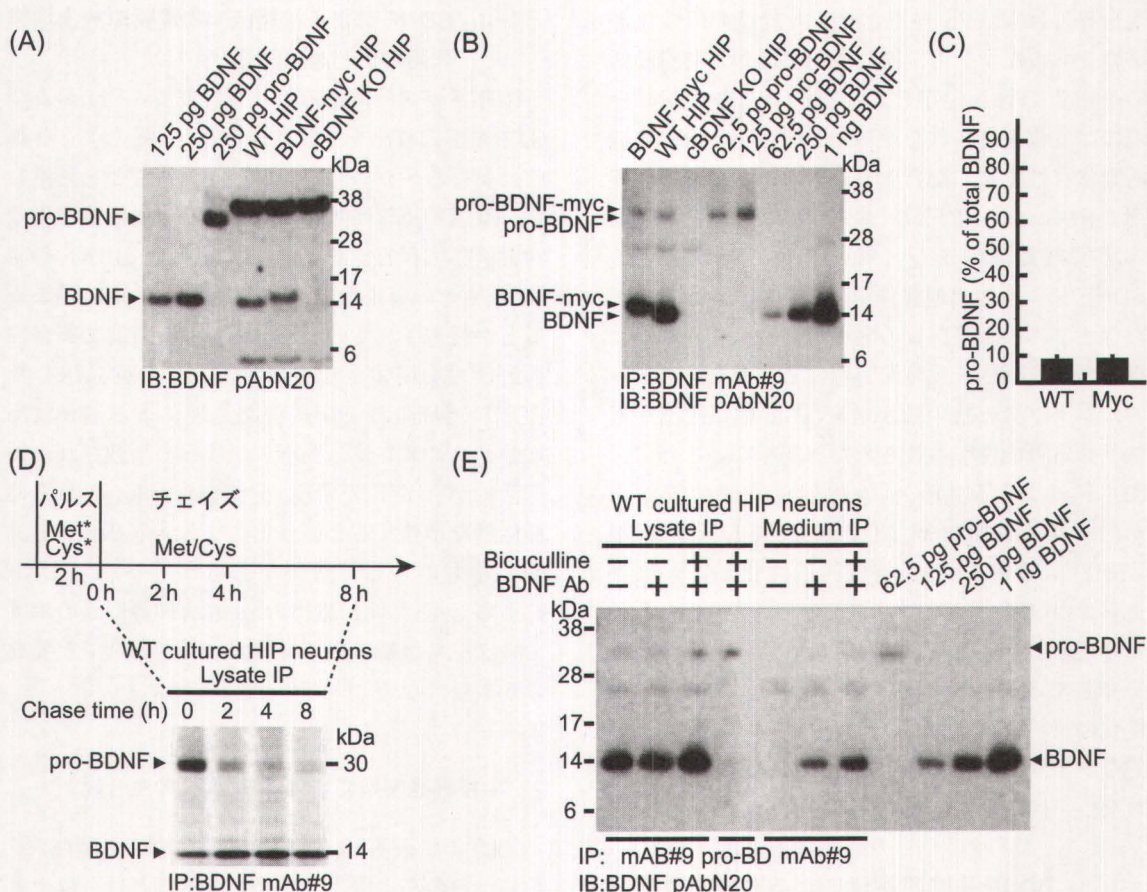


図4 中枢神経細胞において pro-BDNF は細胞内で速やかに BDNF に変換される
文献 34 より改変して転載。

分泌あるいは局在についての詳細な検証がますます求められていた。しかしながら、これらの疑問に対してこれまでほとんど研究されてこなかった。正確には出来なかったと言ってよい。BDNFは主に成熟脳で他の臓器に比べて発現が高いが、絶対量は極めて少ない。実際、Bardeらは2 μ gのBDNFを単離するのに、3kgのブタ脳を必要とした³⁾。つまり、内在性BDNF蛋白質を生化学的に検出することは極めて難しい。上述のMurphyグループは論文の中で、“Because biosynthesis of neurotrophins normally occurs at low levels in neurons and non-neuronal cells, it is impossible to analyze endogenous neurotrophin processing with currently available techniques.”と述べている²⁸⁾。

微量な蛋白質の生化学的な検出にはKOサンプルなどで抗体特異性を確かめる必要がある。しかしBDNF KOマウスは生後3週間で死に至り、BDNFがその作用を発揮する成熟脳を解析することはできない。BDNFは肺や心臓でも発現しており、BDNF KOマウスは生命維持機能の崩壊により死に至ると考えられている。そこで我々は中枢神経系特異的にBDNFを欠損させたBDNF conditional KO (cKO) マウスを作製した³¹⁾。このマウスは生後8カ月以上生存することができた。さらに、BDNFのC末端にc-mycタグを付加したものをノックインしたBDNF-mycマウスを作製した。これらマウスの海馬ライセートを用いてBDNF抗体を用いてウエスタンブロット(WB)した結果、野生型サンプルにおいて14および35

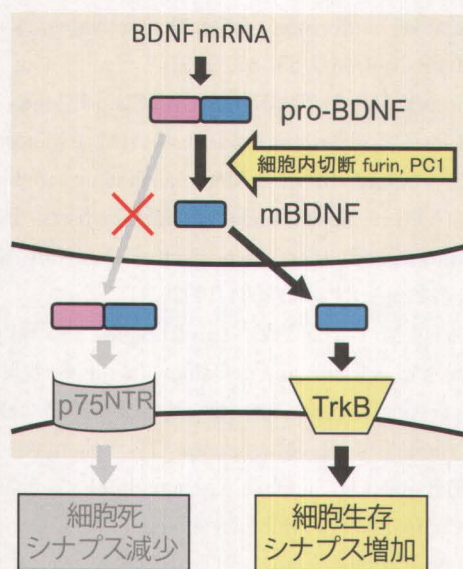


図5 中枢神経細胞におけるBDNFの生合成過程

kDaあたりに強いシグナルが得られた(図4A)。それぞれリコンビナントBDNF、pro-BDNFと良く似た位置であった。14kDaシグナル強度に比べ35kDaは強く、BDNFに比べpro-BDNFの方が豊富に存在することが示唆された。同じBDNF抗体を用いて脳ライセートWBを行った最近の論文でも同様な結果が報告されている^{32/33}。しかしながら、35kDaシグナルはBDNF cKOサンプルにおいても見られたことから非特異的なシグナルであった。一方14kDaシグナルは、BDNF cKOサンプルでは検出されず、またBDNF-mycサンプルでは分子量がわずかに高くシフトしていた。付加されたmycタグによるものと考えられ、シグナル特異性が示唆された。非特異的なシグナルとして検出された35kDaシグナルにより内在性pro-BDNFシグナルを覆い隠している可能性が考えられる。そこで、別のBDNF抗体を使って免疫沈降(IP)することにより、WBにおける非特異的なシグナルを除くことを試みた。その結果、内在性pro-BDNFおよびBDNFの特異的な検出に成功した(図4B)。驚いたことに、これまでの報告に反して、海馬におけるpro-BDNF量はBDNFに比べわずか10%に満たなかった(図4C)。

次に我々は、新規に合成されたpro-BDNFが

BDNFにプロセッシングされる過程をパルスーチェイズ実験により調べた(図4D)。培養海馬神経細胞にS35 Met*/Cys*を取りこませると、この曝露の間に合成されるpro-BDNFは放射線標識される。回収した細胞ライセートをBDNF抗体でIPし、SDS-PAGE後、オートラジオグラフィーを行った。Met*/Cys*曝露2時間後、神経細胞により合成されたpro-BDNFが検出された。しかし既にBDNFシグナルも見られ、プロセッシングが始まっていることが示唆された。Met*/Cys*除去2時間後には、ほとんどのpro-BDNFはBDNFに変換されていた(図4D)。このような速やかなpro-BDNFからBDNFへの変換は、BDNF抗体の細胞外液存在下でも見られたことから、細胞内プロセッシングであることが示唆された。さらに分泌を調べたところ、BDNFは神経活動依存的に細胞外へ分泌されることが分かった(図4E)。pro-BDNF分泌は見られなかった。以上の結果から、中枢神経細胞においてpro-BDNFは生合成過程における一時的な中間体であり、細胞内で速やかにプロセッシングを受けBDNFに変換され、神経活動依存的に分泌し、その作用を発揮するのではないかと考えられる³⁴(図5)。

おわりに

これらの知見は、脳におけるBDNFの作用様式を理解する上で重要であろう。しかし、課題はまだ山積みである。例えば、pro-BDNFのもう1つの切断産物であるBDNF pro-peptideについては、実はその存在さえこれまで無視されてきた。もちろんその生理作用は全く知られていない。内在性BDNFの神経細胞内局在についても、前シナプスか後シナプスか未だ結論が出ていない。これらを明らかにしていきたい。また、“健常な”状態におけるBDNFの作用様式が明らかになれば、さらにうつ病といった精神疾患における、すなわち脳の“異常な”状態におけるBDNFの作用様式を調べていくことが重要であろう。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、主に大阪大学蛋白質研究所、故畠中寛先生、沼川忠弘さん（現所属：国立精神神経医療研究センター神経研究所）およびバーゼル大学バイオセンター、Barde Yves-Alain 先生の指導の下で行ったものである。また、「おわりに」で触れた現在の研究は、広島大学大学院医歯薬学研究科、山脇成人先生、森信繁先生および産業技術総合研究所関西センター小島正己さんの指導の下で行っている。このほか多くの先生方、先輩、後輩、仲間のサポートをいただいた。この場を借りて厚く御礼申し上げたい。末筆ながら、この度執筆の機会を与えていただいた本学会出版広報委員、今泉和則先生および榎戸靖先生に深く感謝申し上げる。

文 献

- 1) Levi-Montalcini R, Cohen S. In Vitro and in Vivo Effects of a Nerve Growth-Stimulating Agent Isolated from Snake Venom. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 42, 695-699 (1956).
- 2) 畠中 寛. 神経成長因子ものがたり. 羊土社, (1992).
- 3) Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J*, 1, 549-553 (1982).
- 4) Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde YA. Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor / brain-derived neurotrophic factor family. *Nature*, 344, 339-341 (1990).
- 5) Maisonpierre PC, Belluscio L, Squinto S, Ip NY, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD. Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*, 247, 1446-1451 (1990).
- 6) Hallbook F, Ibanez CF, Persson H. Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron*, 6, 845-858 (1991).
- 7) Berkemeier LR, Winslow JW, Kaplan DR, Nikolics K, Goeddel DV, Rosenthal A. Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron*, 7, 857-866 (1991).
- 8) Ip NY, Ibanez CF, Nye SH, McClain J, Jones PF, Gies DR, Belluscio L, Le Beau MM, Espinosa R 3rd, Squinto SP, et al. Mammalian neurotrophin-4: structure, chromosomal localization, tissue distribution, and receptor specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89, 3060-3064 (1992).
- 9) Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev*, 14, 2919-2937 (2000).
- 10) Yamagishi S, Matsumoto T, Yokomaku D, Hatanaka H, Shimoke K, Yamada M, Ikeuchi T. Comparison of inhibitory effects of brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor on low potassium-induced apoptosis and activation of p38 MAPK and c-Jun in cultured cerebellar granule neurons. *Brain Res Mol Brain Res*, 119, 184-191 (2003).
- 11) Pasutto F, Matsumoto T, Mardin CY, Sticht H, Brandstatter JH, Michels-Rautenstrauss K, Weisschuh N, Gramer E, Ramdas WD, vanKoolwijk LM, Klaver CC, Vingerling JR, Weber BH, Kruse FE, Rautenstrauss B, Barde YA, Reis A. Heterozygous NTF4 mutations impairing neurotrophin-4 signaling in patients with primary open-angle glaucoma. *Am J Hum Genet*, 85, 447-456 (2009).
- 12) Hofer M, Pagliusi SR, Hohn A, Leibrock J, Barde YA. Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *EMBO J*, 9, 2459-2464 (1990).
- 13) Kolbeck R, Bartke I, Eberle W, Barde YA. Brain-derived neurotrophic factor levels in the nervous system of wild-type and neurotrophin gene mutant mice. *J Neurochem*, 72, 1930-1938 (1999).
- 14) Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 270, 593-598 (1995).
- 15) Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR. The BDNF val66met polymorphism affects activity-

- dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 112, 257-269 (2003).
- 16) Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*, 59, 1116-1127 (2006).
- 17) Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 8856-8860 (1995).
- 18) Matsumoto T, Numakawa T, Adachi N, Yokomaku D, Yamagishi S, Takei N, Hatanaka H. Brain-derived neurotrophic factor enhances depolarization-evoked glutamate release in cultured cortical neurons. *J Neurochem*, 79, 522-530 (2001).
- 19) Matsumoto T, Numakawa T, Yokomaku D, Adachi N, Yamagishi S, Numakawa Y, Kunugi H, Taguchi T. Brain-derived neurotrophic factor-induced potentiation of glutamate and GABA release: different dependency on signaling pathways and neuronal activity. *Mol Cell Neurosci*, 31, 70-84 (2006).
- 20) Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca^{2+} influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron*, 20, 709-726 (1998).
- 21) Shieh PB, Hu SC, Bobb K, Timmusk T, Ghosh A. Identification of a signaling pathway involved in calcium regulation of BDNF expression. *Neuron*, 20, 727-740 (1998).
- 22) Hartmann M, Heumann R, Lessmann V. Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutamatergic synapses. *EMBO J*, 20, 5887-5897 (2001).
- 23) Kohara K, Kitamura A, Morishima M, Tsumoto T. Activity-dependent transfer of brain-derived neurotrophic factor to postsynaptic neurons. *Science*, 291, 2419-2423 (2001).
- 24) Kojima M, Takei N, Numakawa T, Ishikawa Y, Suzuki S, Matsumoto T, Katoh-Semba R, Nawa H, Hatanaka H. Biological characterization and optical imaging of brain-derived neurotrophic factor-green fluorescent protein suggest an activity-dependent local release of brain-derived neurotrophic factor in neurites of cultured hippocampal neurons. *J Neurosci Res*, 64, 1-10 (2001).
- 25) Numakawa T, Matsumoto T, Adachi N, Yokomaku D, Kojima M, Takei N, Hatanaka H. Brain-derived neurotrophic factor triggers a rapid glutamate release through increase of intracellular Ca^{2+} and Na^{+} in cultured cerebellar neurons. *J Neurosci Res*, 66, 96-108 (2001).
- 26) Numakawa T, Yamagishi S, Adachi N, Matsumoto T, Yokomaku D, Yamada M, Hatanaka H. Brain-derived neurotrophic factor-induced potentiation of Ca^{2+} oscillations in developing cortical neurons. *J Biol Chem*, 277, 6520-6529 (2002).
- 27) Turrigiano GG, Nelson SB. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci*, 5, 97-107 (2004).
- 28) Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem*, 276, 12660-12666 (2001).
- 29) Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science*, 294, 1945-1948 (2001).
- 30) Woo NH, Teng HK, Siao CJ, Chiaruttini C, Pang PT, Milner TA, Hempstead BL, Lu B. Activation of p75^{NTR} by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci*, 8, 1069-1077 (2005).
- 31) Rauskolb S, Zagrebelsky M, Dreznjak A, Deogracias R, Matsumoto T, Wiese S, Erne B, Sendtner M, Schaeren-Wiemers N, Korte M, Barde YA. Global deprivation of brain-derived neurotrophic factor in the CNS reveals an area-specific requirement for dendritic growth. *J Neurosci*, 30, 1739-1749 (2010).
- 32) Chen ZY, Ieraci A, Teng H, Dall H, Meng CX,

- Herrera DG, Nykjaer A, Hempstead BL, Lee FS. Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J Neurosci*, 25, 6156-6166 (2005).
- 33) Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnestock M. Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 93, 1412-1421 (2005).
- 34) Matsumoto T, Rauskolb S, Polack M, Klose J, Kolbeck R, Korte M, Barde YA. Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nat Neurosci*, 11, 131-133 (2008).

輝け次代の担い手たち

プレセニリン γ セクレターゼによる切断機構の解析

田上 真次

大河内正康

武田 雅俊

(大阪大学大学院医学系研究科精神医学教室)

はじめに

プレセニリン γ セクレターゼ (γ セクレターゼ) は細胞外シェディングを受けたいくつかの 1 型膜蛋白質の膜貫通ドメインを加水分解する。 β APP と Notch-1 の場合、 γ セクレターゼにより膜貫通ドメインの中央部と膜・細胞質の境界の少なくとも 2 箇所切断される。膜中央部での切断 (γ /S4 切断) により、 β APP と Notch-1 からそれぞれアミロイドベータ ($A\beta$) と Notch ベータ ($N\beta$) が細胞外に分泌される。特徴的なのはこれらの切断は 1 箇所での起こるのではなく、多様性があるため、産生される $A\beta$ と $N\beta$ には複数の分子種が存在することである。この多様性は病的に非常に重要である。なぜなら C 末端が数アミノ酸延長した $A\beta_{42}$ や $A\beta_{43}$ は非常に凝集しやすい性質を持ち、アルツハイマー病 (AD) 脳に特異的に蓄積しているからである。一方、膜と細胞質の境界で起こる切断 (ϵ /S3 切断) はそれぞれの細胞質ドメイン (ICD: intracellular cytoplasmic domain) を産生する。APP からは AICD が Notch-1 からは個体の発生や分化に重要な Notch シグナルを担う Notch ICD (NICD) が産生される。 ϵ 切断にも多様性があり、複数の AICD 分子種が存在する。しかしながら、生理的に重要な活性を持つ NICD に複数の分子種があるかどうか、つまり S3 切断に多様性があるかどうかは不明であった。本稿では γ セクレターゼによる切断機構について、特に S3 切断の多様性について述べたい。

γ セクレターゼによる切断の特徴①; 異なる基質間で多くの共通点がある

γ セクレターゼは 1 型膜貫通蛋白質が細胞外でシェディングを受けた後に膜に残存する membrane remnant の膜貫通ドメインを加水分解する。現在までに数十種類の γ セクレターゼの基質が同定されているが、中でも病理学的には β APP が、生理学的には Notch-1 が最も重要視されている。なぜなら β APP が γ セクレターゼによる切断 (γ 切断) を受けて AD 脳に特異的に蓄積している $A\beta_{42}$ が産生され、Notch-1 受容体が同じく γ セクレターゼによる切断 (S3 切断) を受けて Notch シグナルを担う転写因子、NICD (Notch intracellular cytoplasmic domain) が産生されるからである。NICD は直接核に移行し、個体の発生や分化を担う分子の転写を促進する (図 1)。図 2 のように γ 切断は細胞膜のほぼ中央部で起こるが、一方で S3 切断は膜と細胞質の境界面で起こる。このため当初は γ セクレターゼによる切断は β APP と Notch-1 で異なるプロセスによるのではないかと考えられていた。しかし 2001 年に β APP にも Notch-1 の S3 切断に相当する部位、つまり膜と細胞質の境界面で起こる切断が発見された (ϵ 切断)¹⁾。次いで 2002 年には Notch-1 にも β APP の γ 切断に相当する部位、膜の中央部付近で起こる切断が大河内らにより発見された (S4 切断)²⁾。このことは S4 切断により、Notch-1 から $A\beta$ 様の

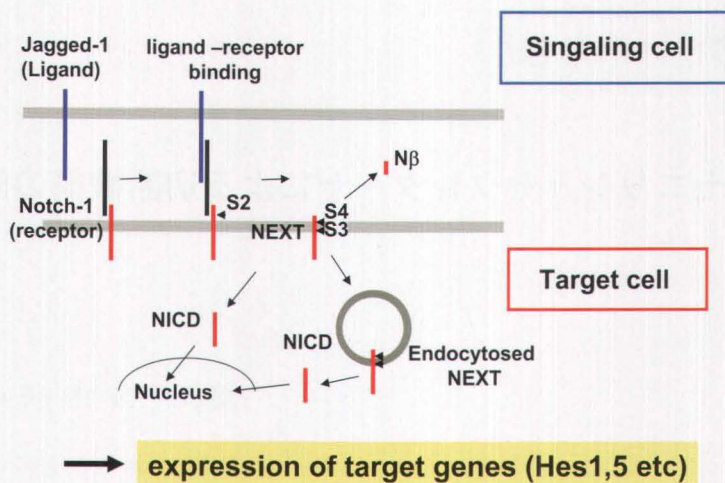


図1 Notch-1 シグナルの模式図 文献10 を改変して掲載

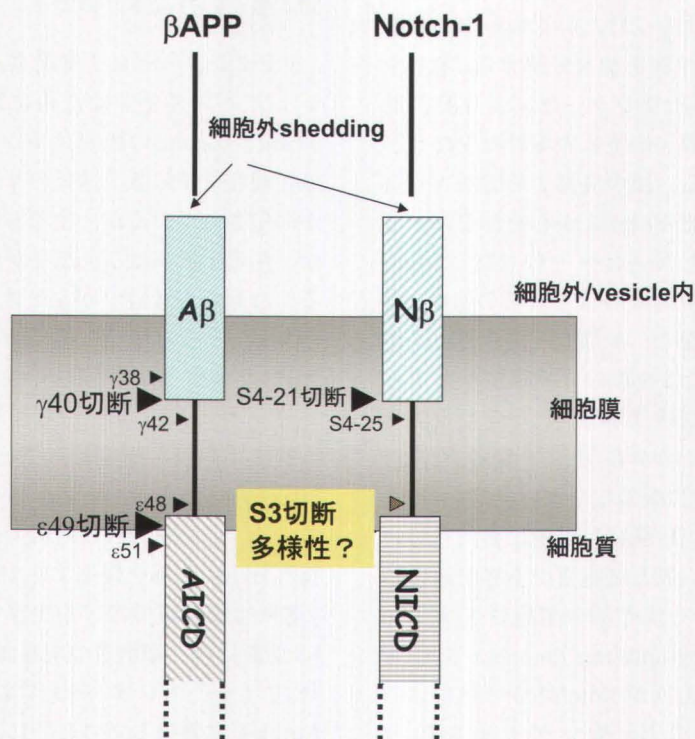


図2 Notch-1 と β APP の膜内蛋白分解。プレセニリン γ セクレターゼによる β APP 膜貫通ドメインの γ 切断、 ϵ 切断および Notch-1 の S4 切断にはすべて多様性がある。NICD を産生する S3 切断に多様性があるかどうかは？であった。文献10 を改変して掲載

ペプチド ($A\beta$ 様ペプチド) が分泌されることを示しており、実際に培養細胞系で Notch-1 発現細胞

と Notch-1 リガンドである Jagged1 発現細胞を co-culture したときに NICD が産生されるのと同

時に Notch ベータ ($N\beta$) が産生されることが明らかにされた³⁾。以上をまとめると、 γ セクレターゼによる β APP と Notch-1 の膜貫通ドメインの切断は両者とも膜と細胞質の境界部分 (ϵ , S3 切断) および膜の中央部分 (γ , S4 切断) で起こっており、異なる基質間で共通であることがわかった。さらに重要なことに、我々はヒト脳脊髄液中に β APP の類縁蛋白である APLP1 由来の $A\beta$ 様ペプチド、APL1 β を同定した⁴⁾。この発見は $A\beta$ 以外にも数多くの $A\beta$ 様ペプチドが生体内に存在することを示唆している。

γ セクレターゼによる切断の特徴②；切断部位が複数箇所ある

$A\beta$ には C 末端が異なる複数の分子種 ($A\beta$ 37~43) が存在する。つまり γ 切断は複数の箇所で行われており、多様性が存在する (図 2)。この多様性を生む機序は AD の病理過程において大変重要である。C 末端が数アミノ酸延長した $A\beta$ 42 は総 $A\beta$ 量の約 10% 産生される⁵⁾ことがわかっているが、 $A\beta$ 42 は主たる分子種である $A\beta$ 40 に比較して非常に凝集しやすい性質を持ち、アルツハイマー病 (AD) を引き起こす主たる病原性因子であると考えられている。重要なことに、 γ 切断の正確さはプレセニリンや β APP の病原性変異の効果により変化し、これらの多くは $A\beta$ 42 の比較的産生量を増大させることが培養細胞系および動物実験レベルではわかっている^{6,7)}。つまりこの切断の正確さが微妙に変化することが、AD の発症のきっかけとなっている可能性がある。また興味深いことに、プレセニリンの病原性変異の効果により Notch-1 の $A\beta$ 様ペプチドを切り出す S4 切断の多様性も変化し、 $A\beta$ 42 産生比が増えるのと並行して C 末延長型 $N\beta$ の産生比が増える^{2,3)}。

さらに重要なことに、近年プレセニリンや β APP に病原性変異がなくとも NSAID などの一部の薬剤が γ 切断の多様性を変化させ $A\beta$ 42 の比較的産生量を増減させることがわかってきた^{3,8,9)}。なかでも、 $A\beta$ 42 の比較的産生量を減じる作用のある薬剤は γ -secretases modulators : GSM とよ

ばれ、AD 根本治療薬の有力候補となっている。大変興味深いことに、これらの薬剤は Notch-1 の S4 切断にも γ 切断に対する効果に似た影響を及ぼし、産生される $N\beta$ 分子種の組成を変化させる³⁾。つまり、 γ 切断にも S4 切断にも i) 多様性があり、ii) それらは GSM や PS の病原性変異体の効果により変化し、iii) その変化はパラレルに起こることがわかった。

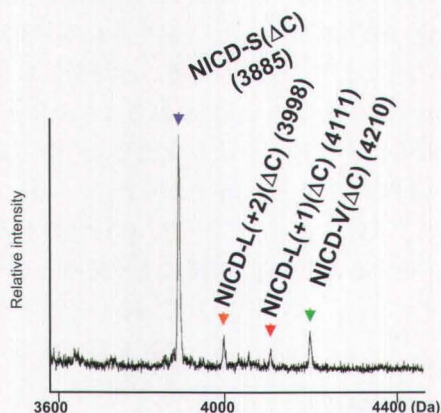
一方、 β APP のもう片方の切断部位である、 ϵ 切断にも γ 切断と同様に多様性があることがわかっている。ところが、生理的に重要な因子である NICD を産生する S3 切断に多様性があるかどうかは不明であった (図 2)。このため $A\beta$ 42 の比較的産生量を増減させる薬剤が S3 切断に影響を及ぼすのかどうか、つまり Notch シグナル強度が変わることで副作用を惹起するリスクがあるのかどうかを詳細に検討することが不可能であった。

γ セクレターゼによる S3 切断には多様性が存在する

そこで我々は γ セクレターゼによる S3 切断に多様性があるかどうかを検討することにした。質量分析器による解析を容易にするために、Notch-1 の膜貫通ドメインを含む短いコンストラクト (NEXT Δ C、図 3) を作製しそれを発現する細胞から膜分画を抽出し、各種プロテアーゼ阻害剤の存在下でセルフリーアッセイを行った。その結果、複数の NICD Δ C 分子種が産生されていることが確認できた (図 3)¹⁰⁾。これらすべての分子種の産生は γ セクレターゼ阻害剤処理により阻害された。さらにこれらの分子種を一旦産生されたあと、 γ セクレターゼ阻害剤を添加して長時間反応させても分子量の大きな産物 (NICD-V Δ C) が小さな産物 (NICD-S Δ C など) に分解される現象は認められなかった。以上の事実より、従来 NICD は N 末が Val である NICD-V のみが同定されていたが Ser (NICD-S) などを N 末に持つ NICD 分子種が存在する可能性が示唆された (図 3)。

我々は NICD-S 或いは NICD-V を特異的に認識する断端特異的抗体 (anti-NT-S, NT-V) を用意し、

Notch-1由来NEXT Δ C cell-free assay



NEXT Δ Cのアミノ酸配列



図3 Notch-1 セルフリーアッセイによって産生される NICD (Δ C) 分子種の MALDI-TOF MS 解析。NEXT (Δ C) を発現する細胞から膜分画を抽出し、セルフリーアッセイを行ったところ、N 末端の異なる複数の NICD (Δ C) 分子種を検出した。文献 10 を改変して掲載

実際に細胞内や生体に複数の NICD 分子種が存在するかどうかを調べた。Notch-1 発現細胞と Notch のリガンドである Jagged1 発現細胞 (図 4A、1—2 列目) を混ぜて培養すると、NICD が産生され (図 4A、3 列目)、NICD のターゲットである Hes1 プロモーター活性は上昇する (図 4A、4 列目)。この条件下で断端特異的抗体を用いてプロットすると NICD-S と NICD-V を検出することができた (図 4A、5—6 列目)。このアッセイ系では NICD-S と NICD-V の比は 1.5:1 であった (図 4A、7 列目)。以上の結果より生体内で起きている Notch シグナル経路を模倣した培養細胞系において、NICD には少なくとも NICD-V と NICD-S の 2 種類の N 末の異なる分子種が存在することがわかった。

次に生体内に N 末の異なる NICD が存在する

かどうかを調べるために、胎生 12 日目のマウス脳組織より核分画を抽出し、Notch-1 の C 末を特異的に認識する抗体 (mN1) で免疫沈降し、断端抗体でプロットした。その結果、NICD-S と NICD-V を *in vivo* で検出することができた (図 4B)。免疫沈降に用いた抗体とプロットに用いた抗体を交換しても同様の結果を得ることができた。従って Notch シグナルに伴って Notch-1 が段階的膜内蛋白を受け、最終的にその膜貫通ドメインが γ セクレターゼによる S3 切断を受けて産生される NICD は単一の分子ではないことがわかった。つまり γ /S4 切断や ϵ 切断と同様に S3 切断にも多様性があり、その結果複数の NICD 分子種が生体内に存在することが明らかになった。

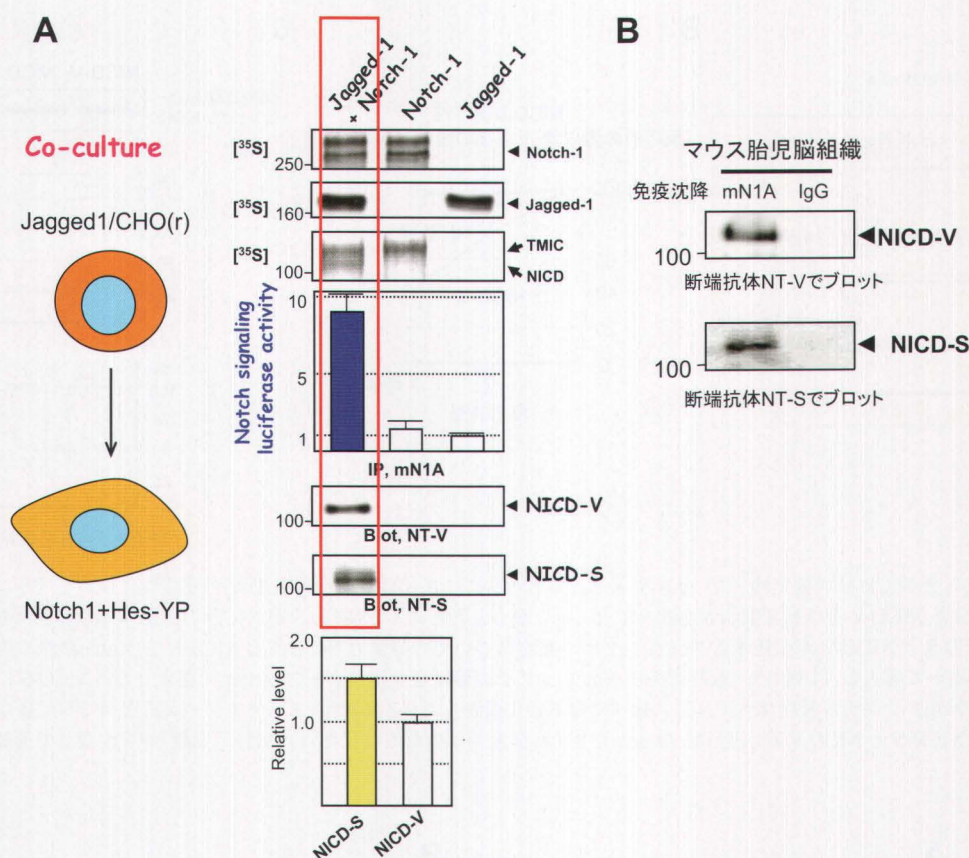


図4 生体内および培養細胞内に存在するNICD分子種。A. Notch-1発現細胞とリガンド(Jagged1)発現細胞を混せて培養(co-culture)すると、NICD-SとNICD-Vが産生された。Notchシグナル強度はデュアルシフェラーゼレポーターアッセイ法で測定した。B. マウス胎児脳組織においてNICD-SとNICD-Vの存在を確認した。mNotch-1のC末部位に特異的に反応するmN1Aで組織中の核分画を免疫沈降し、断端特異的抗体(anti-NT-V、anti-NT-S)でプロットした。文献10を改変して掲載

NICD-Vは比較的安定でシグナル伝達強度が強く、NICD-Sは不安定でシグナル伝達強度が弱い

我々はNICD-SとNICD-Vの生化学的特徴を検討した。NICDはプロテアソーム系で分解される^{11)~13)}。この系で分解される蛋白の安定性はN末端のアミノ酸に依存する。ValやMetをN末端に持つ蛋白は比較的安定であり、それ以外のアミノ酸をN末端に持つ蛋白は比較的不安定であり、the N-end ruleとよばれている¹⁴⁾¹⁵⁾(図5A)。我々はまずNICD-SとNICD-Vの安定性を調べるためにN末がValから始まるリコンビナント蛋白

白質とSerから始まるリコンビナント蛋白を精製し、ウサギ網状血球細胞のライセート中での分解速度を調べた。その結果、NICD-SはNICD-Vに比較してプロテアソーム系で分解されやすいことがわかった(図5B)。この結果はthe N end ruleに合致する。引き続いてNotchシグナル伝達強度に違いがあるかどうかを、NICD-S、NICD-Vのリコンビナント蛋白を細胞に導入し、Hes1プロモーター活性を測定することで検討した。図5Cに示すように、NICD-Sを導入したことによるNotchシグナル強度はNICD-Vにより伝達されるシグナル強度よりはるかに弱かった。また重要なことに、NICDの分解をプロテアソーム阻害剤で

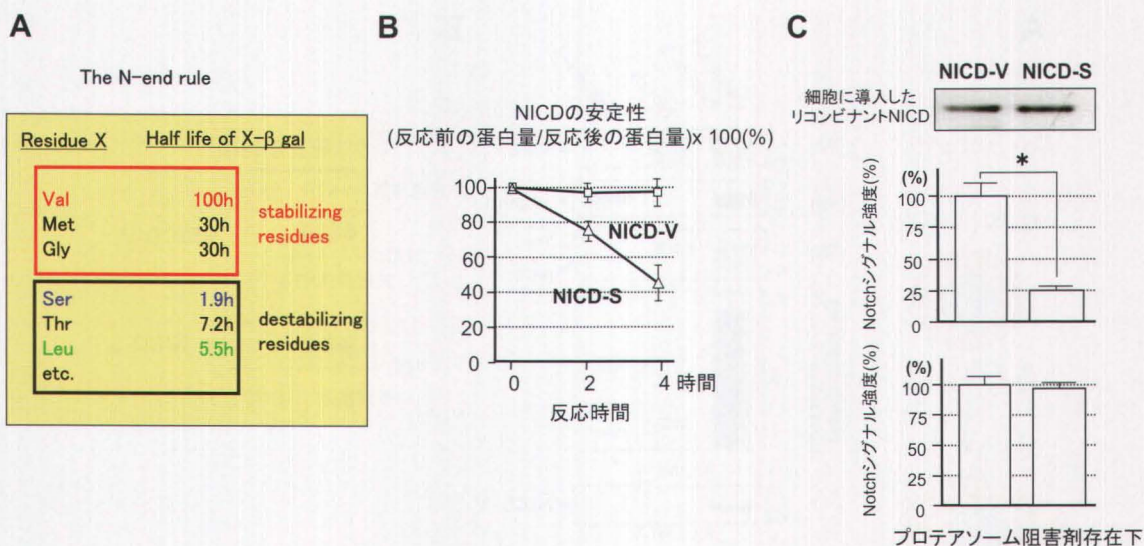


図5 NICD-SとNICD-Vの安定性。A. the N end-ruleについて B. NICD-SとNICD-Vの安定性について リコンビナントNICD-SとNICD-Vをウサギ網状赤血球ライセートと混合したところ、NICD-SがNICD-Vに比べて分解されやすかった。C. NICD-SとNICD-Vが伝達するNotchシグナル強度について 等量のNICD-SとNICD-VをHeLa細胞に蛋白質導入キットを用いて導入し(1列目)、数時間後にNotchシグナル強度をレポーターアッセイで推定した。NICD-Sによって誘導されるNotchシグナル強度はNICD-Vに比べてはるかに弱かった(2列目)。プロテアソーム阻害剤でNICDの分解を阻害するとNICD-SとNICD-Vが伝達するNotchシグナル強度の差はなくなった(3列目)。文献10を改変して掲載

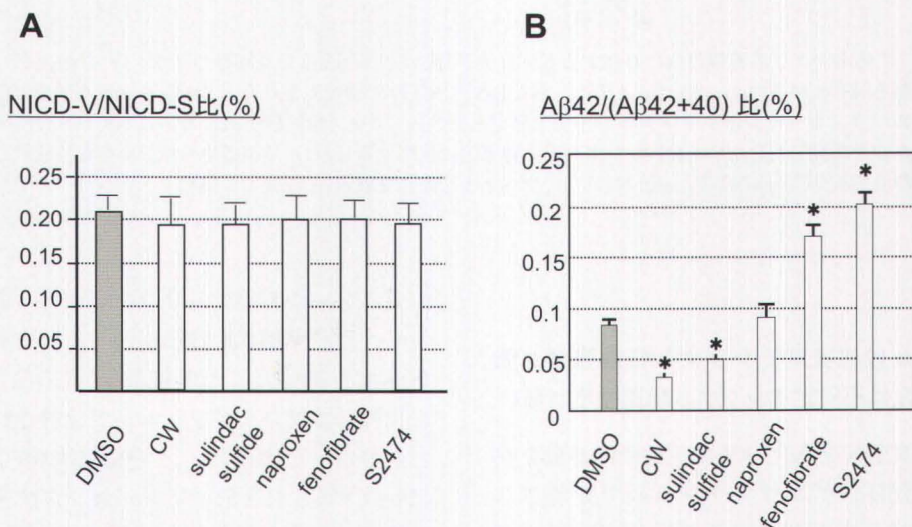


図6 GSMがS3切断の正確さに及ぼす影響。A. NEXT/Swedish変異型βAPP発現細胞を各種γセクレターゼ修飾薬で処理したところ、S3切断の正確さは殆ど変化しなかった。B. それらの薬剤はγ切断の正確さを修飾し、Aβ42の比較的産生量を大きく変化させた。文献10を改変して掲載

止めると両者のシグナル伝達強度の差は認められなくなった(図5C、3列目)。これらの実験により、

細胞内でNICD-Sは比較的不安定であり、Notchシグナル伝達強度がNICD-Vに比べて非常に弱

いことが示唆された。

Aβ42の比較的産生量を劇的に変化させるGSMの何種類かはS3切断の正確さには大きな影響を及ぼさない

NSAIDなどの一部の薬剤はGSMと呼ばれ、 γ 切断の多様性を変化させAβ42の比較的産生量を劇的に増減させるものがある。数多くある γ セクレターゼの基質の中でもNotch受容体は重要な生理活性を持っている。よってAβの産生をターゲットにしたGSIやGSMの開発において、Notchシグナルを下げないような配慮が常になされてきた。このような背景のもと、今回我々が発見した γ セクレターゼによるS3切断の正確さが、Aβ42の比較的産生量を増減させる効果を持つ薬剤により変化するかどうかを検討した。

Notch-1の細胞外ドメインの多くを欠き、膜貫通ドメインを含むNEXTは細胞外sheddingを受けることなしに恒常的に γ セクレターゼによるS3切断を受ける。このNEXTとβAPP Swedish変異体を共発現する細胞を準備した。この細胞をAβ42比較的産生量を下げる活性を持つcompound W、sulindac sulfide およびAβ42比較的産生量を上げる活性を持つfenofibrate、S2474で処理した。図6Bに示すように分泌されるAβ42量はこれらの薬剤の効果により大きく変化した。また、NEXTがS4切断を受けて分泌されるC末延長型Nβ比はAβ42比の増減と並行して変化した(data not shown)。ところが、このような条件下においてもNICD-Vの量もNICD-Sの量もほとんど変化がなくそれらの比率は概ね一定であった(図6A)。以上の結果より、いくつかのGSMは膜中央部付近で起こる γ 切断やS4切断の正確さは大きく変化させるが、膜と細胞質の境界で起こるS3切断には殆ど影響を及ぼさないことがわかった。

おわりに

病原性・凝集性が高いAβ42産生を特異的に阻

害することが可能なGSMはADの根治療法薬として最有力候補の一つである。今回、GSMの一部がNotch-1のS3切断に対しては大きな影響を及ぼしていないことを示した。GSMの作用機序や作用点に関してはまだまだ不明な点が多く議論が盛んである。GSMの作用点に関しては、 γ セクレターゼには直接ターゲットせず、基質であるβAPPに結合しているという報告がされた¹⁶⁾。しかし、これを真っ向から否定する論文や γ セクレターゼのある膜貫通ドメインに結合するというスタディもあり、現時点では作用点は不明瞭である。GSMの作用機序に関しては、βAPPのε切断に対して影響を及ぼすのかどうかさえもわかっていない。向後これらに関する研究が進み、より効果的な抗AD治療薬・予防薬が開発されることに期待する。

謝 辞

今回このような研究内容を述べる機会を頂いた神経化学学会の皆様へ感謝します。また年余に亘り辛苦を共にして、研究を進めている上司と仲間達に感謝します。とりわけ予算が乏しい中、薄給にも関わらず日々努力してくれている柳田・児玉両博士、実験を常に補助してくれている藤井加奈さんに御礼申し上げます。尚、本研究は独立行政法人医薬基盤研究所の「保健医療分野における基礎研究推進事業」(05-26)、科学研究費補助金および財団法人 先進医薬研究振興財団によるものです。

参考文献

- 1) Sastre M, et al. Presenilin-dependent gamma-secretase processing of beta-amyloid precursor protein at a site corresponding to the S3 cleavage of Notch. EMBO Rep, 2, 835-841 (2001).
- 2) Okochi M, et al. Presenilins mediate a dual intramembranous gamma-secretase cleavage of Notch-1. Embo J, 21, 5408-5416 (2002).
- 3) Okochi M, et al. Secretion of the Notch-1 Abeta-like peptide during Notch signaling. J Biol Chem,

- 281, 7890-7898 (2006).
- 4) Yanagida K, et al. The 28-amino acid form of an APLP1-derived Abeta-like peptide is a surrogate marker for Abeta42 production in the central nervous system. *EMBO Mol Med*, 1, 223-235 (2009).
 - 5) Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 81, 741-766 (2001).
 - 6) Borchelt DR, et al. Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate Abeta1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron*, 17, 1005-1013 (1996).
 - 7) Citron M, et al. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med*, 3, 67-72 (1997).
 - 8) Weggen S, et al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*, 414, 212-216 (2001).
 - 9) Kukar T, et al. Diverse compounds mimic Alzheimer disease-causing mutations by augmenting Abeta42 production. *Nat Med*, 11, 545-550 (2005).
 - 10) Tagami S, et al. Regulation of notch signaling by dynamic changes in the precision of s3 cleavage of notch-1. *Mol Cell Biol*, 28, 165-176 (2008).
 - 11) De Strooper B, et al. A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. *Nature*, 398, 518-522 (1999).
 - 12) Schweisguth F. Notch signaling activity. *Curr Biol*, 14, R129-R138 (2004).
 - 13) Selkoe D, Kopan R. Notch and Presenilin: regulated intramembrane proteolysis links development and degeneration. *Annu Rev Neurosci*, 26, 565-597 (2003).
 - 14) Bachmair A, Finley D, Varshavsky A. In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science*, 234, 179-186 (1986).
 - 15) Gonda DK, et al. Universality and structure of the N-end rule. *J Biol Chem*, 264, 16700-16712 (1989).
 - 16) Kukar TL, et al. Substrate-targeting gamma-secretase modulators. *Nature*, 453, 925-929 (2008).

輝け次代の担い手たち

成体脳内で産生され長距離を移動する新生ニューロンと アストロサイトの相互作用

金子奈穂子

(名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野)

1. はじめに

脳は生命維持に不可欠な植物機能から感情・思考・認知・記憶など精神活動や社会生活に関与する高次の機能まで、様々な局面で生命活動を制御している。この複雑な機能はニューロンを主体として形成される緻密な神経回路を基盤としたものであるが、詳細な制御メカニズムについては未だに不明な点が多い。個体が環境や状況の変化に適応して生存するために、脳では常に神経回路の再編成が行われ、機能の調節がなされている。この神経回路の可塑性は、ニューロン相互の情報を伝達する場であるシナプスの構造や伝達効率の変化によるもので、ニューロン自体が入れ替わることはないと考えられてきた。しかし近年、成体の脳においても特定の領域では常に新たにニューロンが産生され、神経回路に付加されていることが明らかになった¹⁾²⁾。この「ニューロン新生」という現象の研究は1990年代に本格的に始まったばかりであるが、ヒトを含む霊長類においても存在が確認されている^{3)~6)}。現在のところ、新生ニューロンの機能や成体脳におけるニューロン新生の生理的意義はまだ十分には解明されていない。しかし、ニューロン新生が活発に起こっているのが、記憶形成や精神機能との関与が示されている海馬と、危険回避や採食・繁殖行動に重要な嗅覚入力を直接的に受容する嗅球であることはたいへん興味深い。更に、新生ニューロンは傷害後の神経回路の再生に関与する可能性が示唆され¹⁾²⁾、潜在的な脳の自己修復システムとしても注目されている。本

稿では、成体脳におけるニューロン新生について我々の研究内容を含めた最近の知見について概説する。

2. ニューロン新生

神経回路の主役を担うニューロンの大部分は、胎生期から生後早期に神経幹細胞によって産生される⁷⁾⁸⁾。神経幹細胞とは、神経系のすべての細胞に分化する能力（多分化能）と同時に自己と同等の細胞を産生する能力（自己複製能）を備えた細胞であるが、発達期を終えるとほとんどの神経幹細胞は分化・消失する。しかし、成体でも海馬歯状回や側脳室外側壁の細胞層「脳室下帯（subventricular zone）」には増殖能を維持した神経幹細胞が存在し、新たなニューロンが持続的に産生されていることが明らかになった¹⁾²⁾。

i) 海馬歯状回のニューロン新生

海馬は記憶形成において重要な機能を担っている大脳辺縁系の一部である。海馬は、重篤な記憶障害をきたすアルツハイマー型認知症で最も早期に傷害されることや、うつ病や不安障害などの精神疾患との関連が知られており、私たちの社会生活において重要な役割を果たしている。ニューロン新生は大脳皮質から海馬への入力の入り口である歯状回で生じている（図1A）¹⁾²⁾。歯状回高密度に顆粒細胞が配置された顆粒細胞層を主体として構成されており、顆粒細胞層の直下に存在する「顆粒下層（subgranular zone）」に神経幹細胞が存

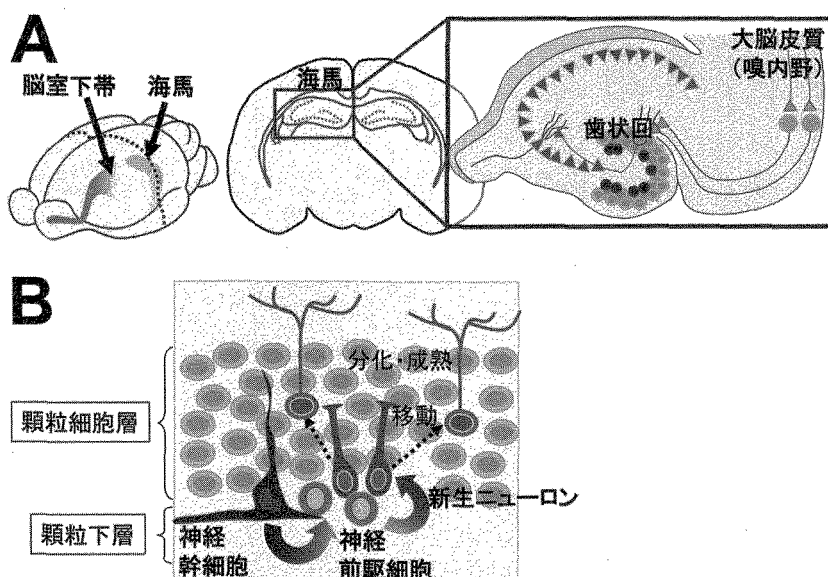


図1 海馬歯状回のニューロン新生

A: げっ歯類の海馬の模式図。

B: 歯状回におけるニューロン新生。顆粒下層に存在する神経幹細胞は活発に増殖する神経前駆細胞を介して新生ニューロンを産生する。新生ニューロンは顆粒細胞層へと移動し、分化・成熟する。

在する。神経幹細胞はゆっくりと増殖を続け、より増殖能の高い中間的な前駆細胞を産生し、この細胞から幼若な新生ニューロンが産生される(図1B)。新生ニューロンは隣接する顆粒細胞層へと移動して分化・成熟したのち、約1ヶ月で海馬神経回路に統合される⁹⁾。

海馬のニューロン新生は、様々な内因・外因に影響を受けることが知られている。海馬機能と関連したある種の学習や遊具などが配置された豊かな飼育環境においてニューロン新生は促進される^{10)~12)}。一方、実験動物に抑うつ行動を惹起させるような慢性のストレス曝露によってニューロン新生は抑制される¹³⁾¹⁴⁾。一方、複数の作用機序の異なる抗うつ薬や気分安定薬は、長期間の投与によってニューロン新生を増加させ¹⁵⁾¹⁶⁾、慢性ストレスによるニューロン新生の減少も抑制することができる¹³⁾¹⁴⁾。また、ニューロン新生を抑制する処置を行った動物に抗うつ薬を投与しても、抗うつ効果の指標と考えられている行動変化が生じなくなることから、ニューロン新生の促進が抗うつ薬の

作用機序の一端を担っている可能性も示唆されている¹⁷⁾。

臨床的に、糖質コルチコイド製剤がうつ病を誘発することはよく知られているが、過剰の糖質コルチコイドもニューロン新生を強力に抑制することが報告されている¹⁸⁾。慢性肝炎や悪性腫瘍の治療薬として用いられているインターフェロンも同様に高頻度とうつ病を誘発するが、筆者らはインターフェロンにも歯状回のニューロン新生を抑制する作用があることを見いだした¹⁹⁾。これらの知見から、歯状回のニューロン新生と抑うつ症状の病態生理との関連性が示唆されるが、両者の因果関係は現在まで確証には至っていない。その大きな原因のひとつは、主要な実験動物であるげっ歯類ではヒトの精神症状を再現するのが困難なことにある。個体間の社会的交流に富んだ高次の精神活動がみられる霊長類を用いた研究が、今後の重要な課題である。筆者らも現在、霊長類モデルにおけるニューロン新生と行動解析に取り組んでいる。

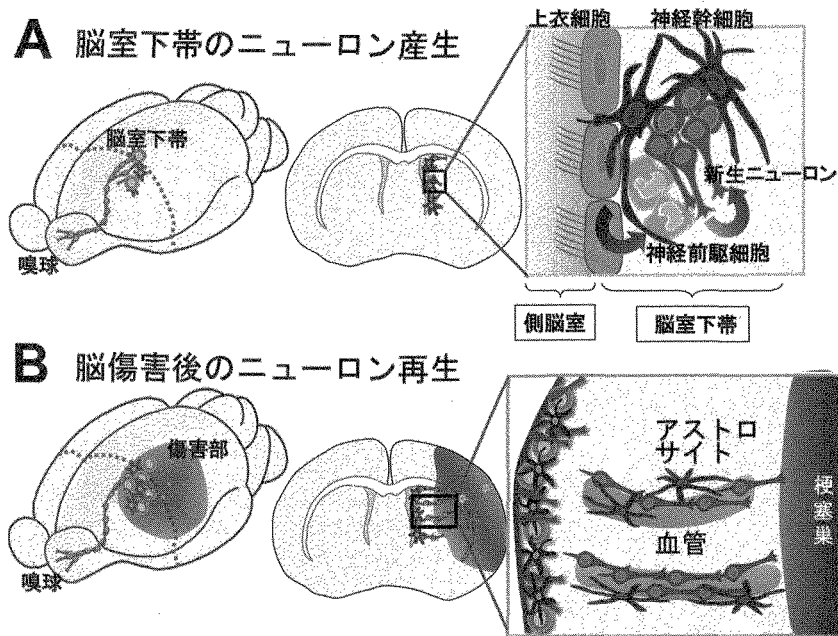


図2 脳室下帯のニューロン産生と傷害後のニューロン再生

A: げっ歯類の脳室下帯の模式図。神経幹細胞から中間的な前駆細胞を経て産生された新生ニューロンは嗅球までの長距離を高速で移動していく。

B: 脳傷害後のニューロン再生。脳室下帯で産生された新生ニューロンの一部は傷害部に移動してニューロンを再生する。脳梗塞モデルにおいて、梗塞部へと移動する新生ニューロンは血管・アストロサイトに接している。

ii) 脳室下帯一嗅球のニューロン新生

脳室下帯は側脳室の外側壁に存在する細胞層で、最表面に一行に並ぶ上衣細胞によって脳室と隔てられている²⁰⁾。脳室下帯においても、新生ニューロンは歯状回と同様に神経幹細胞から増殖能の高い前駆細胞を経て産生されるが(図2A右)、ここで産生された新生ニューロンの特筆すべき特徴として、非常に高い移動能が挙げられる。幼若な新生ニューロンは軸索や樹状突起は持たないが、先導突起と呼ばれる短い突起の伸長・収縮を繰り返しながら、脳の前端に位置する嗅球までの長距離をげっ歯類ではわずか数日で移動する(図2A左)^{21)~23)}。嗅球に達した新生ニューロンは表層へと移動し、介在ニューロンに分化して嗅球神経回路に統合される。嗅球の介在ニューロンは、嗅覚入力の高次中枢への伝達を行う投射性ニューロンの機能の調節を行っており、新生ニューロンがにおいの弁別に関与しているとの報告もある

が²⁴⁾、その生理的意義はよくわかっていない。

一方、脳梗塞などの急性の脳傷害モデルやハンチントン病・パーキンソン病などの緩徐な神経変性モデルにおいて、脳室下帯で産生された新生ニューロンの一部が傷害部である線条体へと移動してニューロンを再生することが報告されている(図2B)^{25)~29)}。実際には、再生されるニューロンはごく少数であり、傷害によって喪失したニューロンの機能を補うには不十分である。しかしこの過程を何らかの介入によって促進することができれば、これらの難治性・不可逆性の病態に対する効果的な治療戦略となり得る。外傷や疾患など、脳の傷害部位や脱落するニューロンの種類が多彩であるのに対し、成体脳ではニューロンを新たに産生できる部位は限定されている。従って、様々な病態において傷害部でニューロンを再生するには、移動能の高い脳室下帯の新生ニューロンの移動メカニズムを理解し、目的の部位へと誘導する

手法の開発が必要である。次項において、成体脳内での新生ニューロンの移動メカニズムについて、最近筆者らが明らかにした知見を含めて紹介する。

3. 成体脳における新生ニューロンの移動メカニズム

i) 成体脳特有の新生ニューロンの移動経路

脳の基本構造の形成過程である胎生期には、ニューロンは産生された部位から最終的に定着する部位まで脳内を大規模に移動する⁷⁾⁸⁾。このときニューロンは細胞外微小環境との相互作用による移動制御を受けながら、脳内各部位に局在する誘引・忌避因子の誘導により特定の領域に配置される。このメカニズムの一部は、成体脳の新生ニューロンの移動においても同様に機能していることが報告されている。

一方で、成体脳は軸索や樹状突起が張り巡らされ、多数のグリア細胞が分布する複雑な構造であり、胎生期脳と比較するとニューロンの移動には不利な環境であると考えられる。実際、脳室下帯から嗅球への新生ニューロンの移動はRMS (rostral migratory stream: 吻側移動経路) と呼ばれる細長い経路内に限定されており、このRMSにおける新生ニューロンの移動には、胎生期には見られないふたつの重要な特徴がある。ひとつは新生ニューロンが鎖状の細長い細胞塊をつくり、互いを足場として連なって移動していく「鎖状細胞移動」(chain-migration)であり、この鎖状の構造の形成に必要ないくつかの分子が同定されている。もうひとつは、この新生ニューロンの鎖を取り巻くアストロサイトのトンネル構造 (glial tube) である (図3A)²¹⁾³⁰⁾³¹⁾。アストロサイトのトンネルは、RMSを周囲の脳実質から隔てる物理的障壁であると同時に、近年では新生ニューロンの移動制御にも関与することが報告されている^{32)~35)}。しかし、この非常に特徴的なトンネル構造がどのように形成・維持されているのかは分かっていなかった。

RMSの原型となる新生ニューロンの移動経路は、まだ脳内にほとんどアストロサイトが存在し

ない時期からはっきりと確認できる。その後RMS内でアストロサイトは徐々に増加し、新生ニューロンの移動方向に沿って突起を伸長させて、げっ歯類では3週齢で成体 (8週齢以降) と同様の構造が完成する³⁶⁾。筆者らはこのRMS形成過程で、新生ニューロンとの相互作用がRMSにおけるアストロサイトのトンネル構造の形成に関与しているのではないかと考えた。そこで、新生ニューロンの産生を増殖抑制薬 Ara-C の脳内持続投与によって強力に抑制し、RMSを移動する新生ニューロンを除去したところ、アストロサイトの突起の配列が乱れ、トンネル構造は失われた (図3B)。しかし Ara-C 投与を中止し新生ニューロンの産生が再開して、RMS内が再度移動性の新生ニューロンで満たされると、アストロサイトのトンネルは再生された (図3C)。この結果は、アストロサイトのトンネルが固定的なものではなく、その構造維持には内部を移動する新生ニューロンが必要であることを示唆している³⁷⁾。

ii) 新生ニューロンによるアストロサイトのトンネル形成・維持機構

新生ニューロンは、周囲の細胞や細胞外基質との相互作用に関与する様々な分子を発現している。Slit1 タンパク質は、胎生期の脳形成において軸索の伸長や細胞の移動方向の制御を反発性・忌避性に制御する分泌性の分子であり、細胞の移動経路に分泌された Slit1 は濃度勾配を形成して分布して、その受容体 Robo を発現する移動細胞を Slit1 濃度の低い方向へと誘導する³⁸⁾³⁹⁾。しかし成体の RMS においては、移動する新生ニューロン自身が Slit1 を発現しており⁴⁰⁾、筆者らはこのタンパク質が成体 RMS においては脳形成過程とは異なった役割を果たしているのではないかと考え解析を行った。

まず、Slit1 遺伝子欠損 (*Slit1*^{-/-}) マウスにおいて、RMS における新生ニューロンの移動をスライス培養法を用いて詳細に観察したところ、新生ニューロンの移動速度が低下していた。次に、*Slit1*^{-/-}マウスの RMS を組織学的に解析したところ、新生ニューロンの鎖状の連結は保持されてい

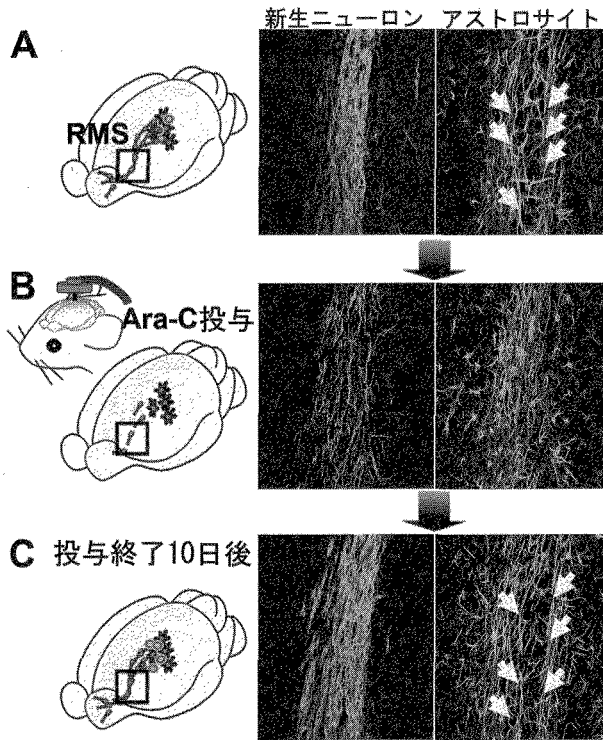


図3 RMSにおけるアストロサイトのトンネル構造と新生ニューロン

A: マウス RMS の水平断切片の免疫染色像。細長い鎖状の細胞塊を形成する新生ニューロン (Dcx 染色) を、並行して伸長しているアストロサイト (GFAP 染色) の突起がとり囲みトンネル様の構造を作っている (矢印)。

B: Ara-C を 5 日間脳内投与した直後の RMS 免疫染色像。新生ニューロンの鎖状細胞塊の消失とともに、アストロサイトのトンネル構造も崩壊している。

C: Ara-C 投与終了 10 日後の RMS 免疫染色像。神経幹細胞の増殖が再開し、RMS 内では新生ニューロンの鎖状細胞塊が再生され、アストロサイトのトンネルも再形成されている。

るものの、アストロサイトの突起の伸長方向が乱れ、新生ニューロンの鎖状細胞塊の内部に不規則にアストロサイトの突起が侵入していた (図 4 A)。これらの所見は、新生ニューロンが発現する Slit1 がアストロサイトのトンネル形成に必要であることを示唆している。そこで Slit 受容体である Robo の発現パターンを免疫染色により解析したところ、RMS では Robo2・Robo3 タンパク質が強く発現しているが、特にトンネルを形成するアストロサイトの突起に強く局在していることが明らかとなった。このリガンド—受容体発現パター

ンから、成体 RMS において新生ニューロン—アストロサイトが Slit-Robo シグナル経路を介して相互作用している可能性が示唆された。

では、Slit1 はアストロサイトの挙動にどのような影響を与えているのだろうか。Robo 受容体を発現する脳室下帯・RMS のアストロサイトを単離し、ゲルに包埋した Slit タンパク質を大量に分泌する細胞株との共培養を行い、Slit に対するアストロサイトの反応を解析した。4 日間の培養により、突起を伸長したアストロサイトが培養皿を埋めたが、Slit を含んだゲル上にはごく少数のアス

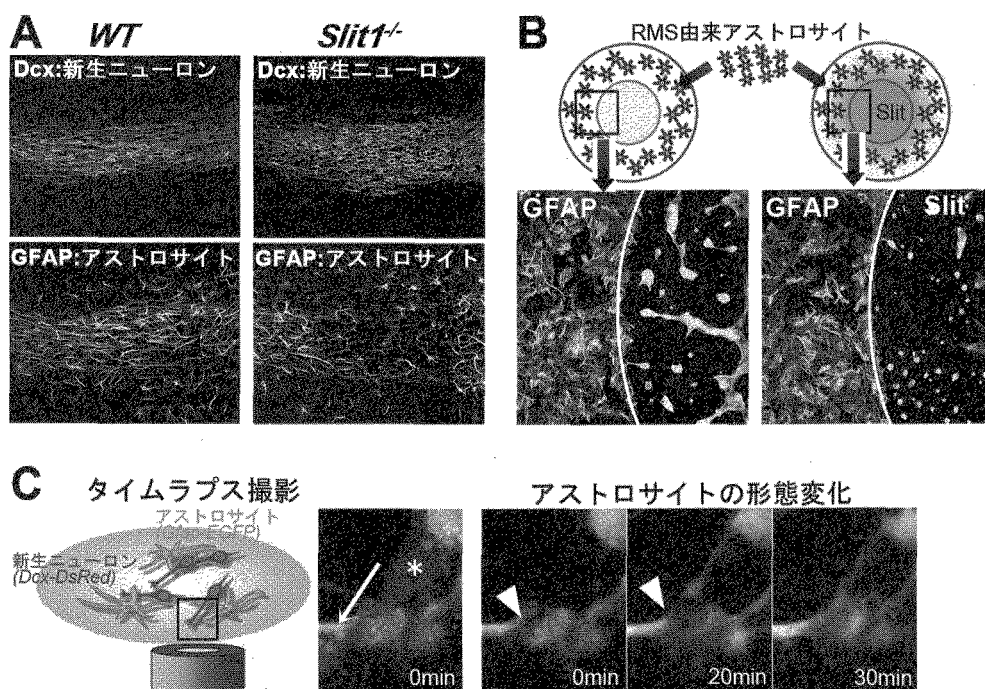


図4 Slit-Robo シグナルによる新生ニューロン-アストロサイトの相互作用

A: *Slit1* 遺伝子欠損 (*Slit1*^{-/-}) マウスの RMS 矢状断切片の免疫染色像。野生型 (WT) マウスではアストロサイト (GFAP 染色) の突起の多くは新生ニューロン (Dcx 染色) の鎖状細胞塊に沿って伸長しているが、*Slit1*^{-/-} の RMS ではこの配向は不規則である。

B: Slit によるアストロサイトの分布制御。培養皿上に均一に蒔かれた RMS 由来アストロサイトはゲル表面にも分布するが (左、画像右半分)、Slit を大量に含むゲル上 (右、画像右半分) に分布する細胞は少ない。

C: 新生ニューロン-アストロサイトの相互作用のタイムラプス撮影像。移動する新生ニューロン (*)、矢印は移動方向) と接したアストロサイト表面には一過性に凹みが形成され、ダイナミックに形態が変化していく。

トロサイトしか分布しなかった (図 4B)。この結果から、Slit がこれらのアストロサイトの分布を反発性に制御していることが示唆された。この反発作用はアストロサイトの Robo 発現を抑制すると消失することから、Robo 受容体を介するものであると考えられた。

そこで、RMS において *Slit1* を発現し移動する新生ニューロンとアストロサイトの相互作用を細胞レベルで詳細に観察した。移動中の新生ニューロンが接したアストロサイト表面は新生ニューロンの移動方向に沿って溝のような凹みが生じ、新生ニューロンの移動に伴い活発に形態を変化させていることが明らかになった (図 4C)。この形態変化は、アストロサイトの Robo 受容体の発現を抑制した場合や *Slit1*^{-/-} マウスの新生ニューロンを

用いた場合には減少した。更に、形態変化が抑制されたアストロサイト上では、新生ニューロンの移動速度も有意に低下していた。これらの結果から、新生ニューロンは Slit-Robo シグナルを介して周囲のアストロサイトの形態や分布を制御して、自身の移動経路の形成・維持を行うことにより、成体脳での高速移動を可能にしていることが明らかになった (図 5)³⁷⁾。

iii) 傷害脳における新生ニューロンの移動

前述したように、脳室下帯で産生された新生ニューロンは線条体などの周囲実質に移動してニューロンを再生する。この過程の研究モデルとして、中大脳動脈の一過性閉塞により作製される脳梗塞モデルが広く用いられている^{26)~27)}。このモ

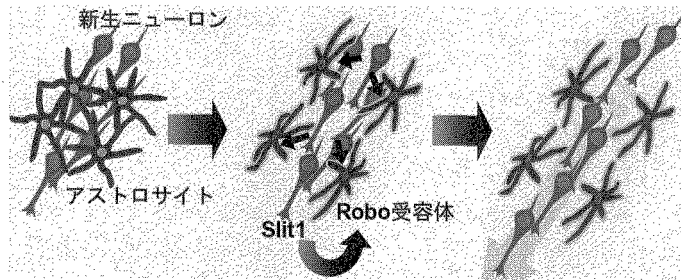


図5 アストロサイトとの相互作用による新生ニューロンの移動制御モデル

新生ニューロンはSlit1の発現により、周囲のアストロサイトの分布や形態を制御して、自身の移動経路の形成・維持を行っている。この相互作用により新生ニューロンは成体脳内を長距離にわたって高速で移動することができる。

デルでは、虚血により線条体から隣接する大脳皮質のニューロンが脱落し、顕著な血管新生とアストロサイトの増生・活性化が生じる。そののち脳室下帯における細胞増殖が亢進し、産生された新生ニューロンの一部は嗅球への移動経路から外れて梗塞巣周囲に向かって移動する。梗塞巣に向かって線条体内を移動する新生ニューロンの一部はRMS内にみられるような鎖状の細胞塊を形成しており、筆者の所属する研究室ではその鎖状の新生ニューロンの多くが血管やその周囲を取り巻くアストロサイトの突起と接していることを見出した²⁶⁾⁴¹⁾。従って、ニューロン再生過程における新生ニューロンの移動にも、前述したRMS内の移動と同様にアストロサイトとの相互作用が関与している可能性がある。

4. おわりに

ニューロン新生の制御メカニズムに関する我々の知見はまだ断片的であるが、様々な精神・神経疾患の病態生理に関与している可能性が示唆される、生物学的にも臨床医学的にも大変興味深い現象である。脳は他の器官に比して非常に自己修復・再生能力が低いことが広く知られているが、今後の研究により成体脳におけるニューロン新生機構を包括的に理解することができれば、現行の治療に抵抗性の脳疾患に対する再生医学的アプ

ローチの開発に貢献するものとなることが期待される。

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の諸先生方に深く感謝申し上げます。本稿で紹介致しました研究内容は、精神科臨床医として過ごした4年間と大学院から現在に至るまでの基礎研究者としての過程における多くの方々のご指導の成果です。特に、日頃より厚くご指導頂いております名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野・澤本和延教授、精神科臨床医時代の恩師である九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・神庭重信教授、大学院博士課程においてご指導頂きました慶應義塾大学医学部生理学教室・岡野栄之教授、本稿で紹介致しました論文の共著者の先生方、そして日常の研究・業務をご支援頂いている澤本研究室の皆様にこの場を借りて御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kaneko N, Sawamoto K. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions. *Neurosci Res*, 63, 155-164 (2009).
- 2) Kaneko N, Sawamoto K. [Adult neurogenesis in physiological and pathological conditions]. *Brain*

- Nerve, 60, 319-328 (2008).
- 3) Curtis MA, et al. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science*, 315, 1243-1249 (2007).
 - 4) Eriksson PS, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, 4, 1313-1317 (1998).
 - 5) Quinones-Hinajosa A, et al. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol*, 494, 415-434 (2006).
 - 6) Sanai N, et al. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*, 427, 740-744 (2004).
 - 7) Hatten ME. New directions in neuronal migration. *Science*, 297, 1660-1663 (2002).
 - 8) Marin O, Rubenstein JL. Cell migration in the forebrain. *Annu Rev Neurosci*, 26, 441-483 (2003).
 - 9) van Praag H, et al. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, 415, 1030-1034 (2002).
 - 10) Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci*, 2, 260-265 (1999).
 - 11) Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 386, 493-495 (1997).
 - 12) Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, Wojtowicz JM. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience*, 130, 843-852 (2005).
 - 13) Czeh B, et al. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 12796-12801 (2001).
 - 14) Malberg JE, Duman RS. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1562-1571 (2003).
 - 15) Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*, 25, 836-844 (2001).
 - 16) Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*, 20, 9104-9110 (2000).
 - 17) Santarelli L, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, 301, 805-809 (2003).
 - 18) Gould E, Cameron HA, Daniels DC, Woolley CS, McEwen BS. Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci*, 12, 3642-3650 (1992).
 - 19) Kaneko N, et al. Suppression of cell proliferation by interferon-alpha through interleukin-1 production in adult rat dentate gyrus. *Neuropsychopharmacology*, 31, 2619-2626 (2006).
 - 20) Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci*, 22, 629-634 (2002).
 - 21) Doetsch F, Alvarez-Buylla A. Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 14895-14900 (1996).
 - 22) Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*, 264, 1145-1148 (1994).
 - 23) Petreanu L, Alvarez-Buylla A. Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction. *J Neurosci*, 22, 6106-6113 (2002).
 - 24) Gheusi G, et al. Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 1823-1828 (2000).
 - 25) Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med*, 8, 963-970 (2002).
 - 26) Yamashita T, et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci*, 26, 6627-6636 (2006).

- 27) Zhang R, et al. Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 24, 441-448 (2004).
- 28) Batista CM, et al. A progressive and cell non-autonomous increase in striatal neural stem cells in the Huntington's disease R6/2 mouse. *J Neurosci*, 26, 10452-10460 (2006).
- 29) Curtis MA, et al. Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 9023-9027 (2003).
- 30) Jankovski A, Sotelo C. Subventricular zone-olfactory bulb migratory pathway in the adult mouse: cellular composition and specificity as determined by heterochronic and heterotopic transplantation. *J Comp Neurol*, 371, 376-396 (1996).
- 31) Lois C, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Chain migration of neuronal precursors. *Science*, 271, 978-981 (1996).
- 32) Bolteus AJ, Bordey A. GABA release and uptake regulate neuronal precursor migration in the postnatal subventricular zone. *J Neurosci*, 24, 7623-7631 (2004).
- 33) Garcia-Marques J, De Carlos JA, Greer CA, Lopez-Mascaraque L. Different astroglia permissivity controls the migration of olfactory bulb interneuron precursors. *Glia*, (2009).
- 34) Mason HA, Ito S, Corfas G. Extracellular signals that regulate the tangential migration of olfactory bulb neuronal precursors: inducers, inhibitors, and repellents. *J Neurosci*, 21, 7654-7663 (2001).
- 35) Snapyan M, et al. Vasculature guides migrating neuronal precursors in the adult mammalian forebrain via brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci*, 29, 4172-4188 (2009).
- 36) Law AK, Pencea V, Buck CR, Luskin MB. Neurogenesis and neuronal migration in the neonatal rat forebrain anterior subventricular zone do not require GFAP-positive astrocytes. *Dev Biol*, 216, 622-634 (1999).
- 37) Kaneko N, et al. New neurons clear the path of astrocytic processes for their rapid migration in the adult brain. *Neuron*, 67, 213-223 (2010).
- 38) Hu H. Chemorepulsion of neuronal migration by Slit2 in the developing mammalian forebrain. *Neuron*, 23, 703-711 (1999).
- 39) Wu W, et al. Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature*, 400, 331-336 (1999).
- 40) Nguyen-Ba-Charvet KT, et al. Multiple roles for slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream. *J Neurosci*, 24, 1497-1506 (2004).
- 41) Kojima T, et al. Subventricular zone-derived neural progenitor cells migrate along a blood vessel scaffold toward the post-stroke striatum. *Stem Cells*, 28, 545-554 (2010).

研究室紹介

東京医科歯科大学 脳統合機能研究センター 分子生物学分野

味岡 逸樹

日本の大学の研究室と言えば、教授、准教授、講師などのシニアスタッフが1つの研究室で活動する大講座制を思い浮かべる方が多いと思いますが、最近、米国等で一般的となっている、若手研究者が小さなグループを主宰して活動する研究室が増えています。私が所属する東京医科歯科大学・脳統合機能研究センターの専任教員は後者のタイプの研究室を主宰しています。

私は、2009年10月まで、慶應義塾大学医学部・総合医科学研究センター・咸臨丸プロジェクトの特別研究講師として研究と教育に従事し、2009年11月に東京医科歯科大学・脳統合機能研究センター・分子生物学分野の准教授として赴任しました。前任の咸臨丸プロジェクトとは、文部科学省「若手研究者の自立的研究環境整備促進」事業で支援される、慶應義塾大学医学部のテニユアトラック・プログラムのことです。咸臨丸プロジェクトでは、メンター教員（私の場合は解剖学教室の仲嶋一範教授）から、若手研究者が独立するために必要なトレーニングを受けつつ、独立する際に研究室の核となるような研究成果を出すことが求められていました。言い換えると、咸臨丸プロジェクトは、独立するための準備期間として位置づけられているので、組織全体の発展に貢献するというより、個々の研究成果が重要視されていました。一方、センターの専任教員として活動している現在は、個人の研究成果にとどまらず、センター全体の発展に貢献することが大きなミッションとなっています。

脳統合機能研究センターは、21世紀COE「脳の機能統合とその失調」(2003～2007年度)の成果として2007年度に発足し、COEの終了と共に学内



で独立した脳神経精神疾患研究教育組織となりました。センター長は臨床部門に属する脳神経病態学分野の水澤英洋教授で、脳神経病態学分野を含めた臨床部門6分野と基礎部門11分野からなります。基礎と臨床の融合が最大の特長で、センターでは年に1度、若手研究者が主催する「若手インスパイアシンポジウム」が開催されており、基礎と臨床の若手研究者が一堂に会し、親交が深められています。日本では基礎と臨床の交流が難しいと考える方も多いと思いますが、脳統合機能研究センターでは、基礎と臨床の融合型センターという利点を生かして、若手研究者が率先して基礎と臨床の共同研究を行っています。私が主宰する分子生物学分野の研究室は、私と研究技術員の2名で活動していますが、2011年4月から新たにポスドク1名が加わり、合計3名で活動して行く予定です。研究スペースは、分子遺伝学分野（渡瀬啓准教授）と脳神経病態学分野（横田隆徳教授）の合計3研究室がシェアしています。渡瀬先生は私と同じく脳統合機能研究センターの基礎部門の専

任教員で、横田先生は神経内科の臨床にも従事しています。まさに、同じスペースの中で基礎研究者と臨床研究者が切磋琢磨しています。

分子生物学分野では、2つの研究プロジェクトを進めています。1つは、神経細胞を増殖させる技術の開発、もう1つは、神経細胞分化と細胞周期制御に関する研究です。これまで約1世紀にわたり、分化した神経細胞は増殖しないと考えられてきましたが、私たちは、網膜神経細胞の1つである水平細胞が癌抑制遺伝子である Rb ファミリーを欠損すると、分化状態を保ったまま増殖することを発見しました。現在、*in vitro* で分化状態を保った初代培養神経細胞を増殖させる技術はありませんが、この発見を基に、生体内環境を模倣したバイオマテリアルを用いて、神経細胞を増殖させる技術開発に挑んでいます。私は大学の学部時代から博士課程修了時まで、東京工業大学・生命理工学部の赤池敏宏教授の研究室で、肝臓を生体内で異所的に再構築させる技術開発に従事しました。赤池先生は、バイオマテリアル分野のパイオニアの1人として知られておりますが、私も肝臓の異所的再構築を、バイオマテリアルを利用した工学的なアプローチで目指していました。ポストク以降は、神経発生学の基礎研究のみに従事してきましたが、独立をきっかけに、中枢神経系組織を標的に、工学的なアプローチで斬新な技術開発を目指しています。もう1つのプロジェクトは基礎研究です。神経変性疾患へと導く神経細胞死は、細胞周期をS期へと進めることがそのきっかけになると考えられるようになってきました。しかし、水平細胞は細胞周期をS期へと進めた後に増殖し、最終的には悪性腫瘍として振る舞います。従来、神経変性疾患研究と悪性腫瘍研究は独立した研究領域で発展を遂げてきましたが、神経細胞の細胞周期制御に着目することで、中枢神経系の神経変性疾患発症と悪性腫瘍発症の統合的理解を

目指して研究を進めています。

私たちの研究室で進めているプロジェクトは、個人的な研究の興味だけでなく、将来的に、脳統合機能研究センター全体の発展に貢献することを視野に入れて進めています。例えば、網膜神経細胞の足場となるバイオマテリアルは、細胞移植医療のツールとして眼科領域への展開が期待されます。また、神経変性疾患と中枢神経系の悪性腫瘍研究は、現在、神経内科と脳神経外科が個別に研究を進めていますが、細胞周期に着目した統合的理解により、2つの臨床部門と基礎部門が三位一体となり、従来では成し得なかった病態の理解と治療法開発への展開が期待されます。

脳統合機能研究センターの今後の発展は、私たち若手専任教員のこれからの研究活動にかかっています。そのような大きな責任感の中、多くの先生方のサポートをいただきながら活動しており、この場を借りて感謝の意を表したいと思います。センター長の水澤先生には、素晴らしい研究環境だけでなく、センター発展に向けたディスカッション等、広い視野からの御指導、御助言をいただいております。慶應義塾大学医学部・解剖学教室の仲嶋先生には、独立前後のサポートのみならず、ラボの立ち上げ時からポストク及び助手として参加させていただいたことで、研究室の運営手法を学ばせていただきました。留学先の米国セント・ジュード小児研究病院のMike Dyer 博士には、週1回のキャリアデベロップメントトレーニングを通じて、国は違えども、研究室を運営するのに必要な概念を学ばせていただきました。また、日本神経化学会の先生方には、国際対応委員会委員での活動も通じて、幅広い御指導、御助言をいただいております。研究室の発展が神経化学領域の発展にもつながるよう全力を尽くして参りますので、今後とも御指導、御鞭撻の程、宜しくお願い申し上げます。

研究室紹介

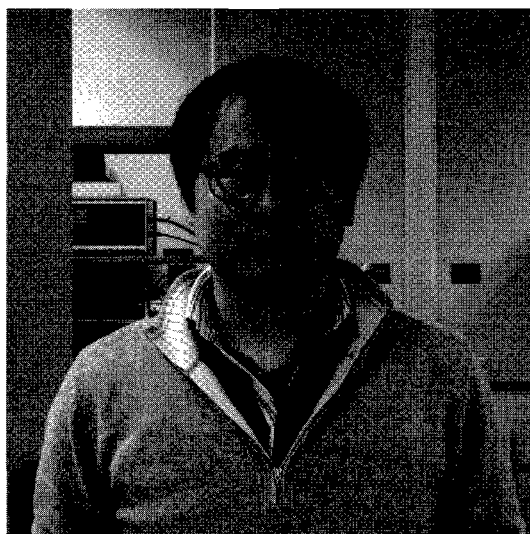
広島大学 医歯薬学総合研究科 神経生理学

橋本 浩一

緒方宣邦教授の後任として、平成 22 年 7 月 1 日付で、広島大学 医歯薬学総合研究科 神経生理学教室の教授に就任いたしました。当研究室では、主に電気生理学的手法を用いて、神経細胞の電気活動の発生・制御の機序、神経回路の発達などの解析を行っています。また、細胞内のカルシウムイオンなどの動態をイメージングして、その機能的意義を明らかにする解析も行っています。

現在の研究活動

脳の神経細胞は、軸索を伸ばして他の神経細胞に結合し、複雑な神経回路を形成しています。この結合は電気回路の配線にも例えられることがあります。電気回路と同様に、でたらめに配線されてしまうと脳の正常な機能発現ができなくなってしまうので、適切な強度で形成されることが必要不可欠となります。しかし、生まれたばかりの動物の神経回路には、大人の動物の機能的に成熟した神経回路に比べて、過剰な回路が多数形成されています。その後の生後発達の間、神経機能の発現に必要な神経回路が残存して強化され、不必要な回路が弱化・除去されることにより、次第に機能的な神経回路が形成されていきます。この過程は、「シナプスの刈り込み」と呼ばれており、正常な脳機能発達の礎とも考えられている現象です。シナプスの刈り込みが起こる時期は生後発達の比較的初期に限られており、大人になると神経回路のダイナミックな変化は起こりにくくなります。この時期は「臨界期 (critical period)」と呼ばれています。また多くの研究から、シナプスの刈り込みが正常に起こるためには、臨界期に神経回路が電気



的に活動することが必要であることが示されています。

通常、中枢神経系で見られる神経回路は非常に複雑で、結合関係の生後変化を解析するのが難しいですが、神経回路の変化をシナプスレベルで解析できる実験系もいくつか存在します。私達は、小脳プルキンエ細胞への興奮性入力線維の一つである、登上線維の生後発達変化を解析しています。成熟動物のプルキンエ細胞は、たった 1 本の登上線維により支配されています(単一支配)、生まれたばかりの幼若動物では、複数の登上線維が 1 つのプルキンエ細胞を支配しています(多重支配)。その後の生後発達の過程で、将来残存する 1 本の登上線維のみが強化され、それ以外の過剰な登上線維が除去されることにより(登上線維の刈り込み)、次第に大人の回路が形成されていきま

す。私達はこの実験系を用いて、シナプス刈り込みの原理の解明を目指して日夜研究を続けており、これまでに登上線維の発達プロセスの詳細や、関与する分子機構の一部を明らかにしてきました。

今後の展開

シナプスの刈り込みの神経活動依存性は多くの神経回路で確認されており、脳内で普遍的にみられる現象です。しかし、具体的に神経活動の履歴がどのように神経細胞にコードされ、神経回路再編成プロセスの何を、どのように調節しているかについては、具体的なことはあまり明らかになっていません。これらの点を、神経活動に伴うシナプスの形態学的・機能的変化や、遺伝子発現の生

後変化などの解析を通じて明らかにしていきたいと考えています。

また今後は、神経回路が複雑で解析が難しかった脳領域のシナプス刈り込みについても解析を進め、刈り込みのメカニズムの相同性、あるいは多様性を明らかにしていきたいと考えています。

現状はまだ研究スタッフも揃っておらず、こつこつと研究体制の整備を進めている最中です。現在、できたての研究室で立ち上げに協力してくれる、若手の大学院生を募集しています。生きている神経細胞の電気活動をリアルタイムで観察してみたい方、新しい研究室で新たな研究を始めてみたい方はぜひご連絡ください（橋本浩一：hashik@hiroshima-u.ac.jp）。

学会参加レポート

Society for Neuroscience 40th Annual Meeting 参加レポート

福井大学 医学部 形態機能医科学講座 組織細胞形態学・神経科学領域 猪口 徳一

2010年11月13日から17日にアメリカ・サンディエゴで開催された第40回北米神経科学学会に参加したので報告させていただきます。メキシコとの国境に接するサンディエゴはカリフォルニア州の最南端に位置し、年間を通じて温暖で過ごし易い都市として知られています。好天に恵まれた学会期間中は半袖の人も多く、福井から着込んできたダウンジャケットは、帰国までスーツケースで眠ることになりました。学会会場までは多くのホテルから無料シャトルバスが10分おきに出ており、帰りもホテルの前まで運んでくれるため移動は大変便利になっていました。これは、後でも述べますが、学会規模が非常に大きいために会場近くのホテルではその人員をカバーできず、比較的離れたホテルから足を運ぶ人が多いためだと思われます。

自身初めての参加となった北米神経科学学会ですが、学生時代にアメリカ細胞生物学会で発表した経験から、似たような雰囲気だろうと思いながら会場へと向かいました。しかし、ポスター会場に足を踏み入れると、この学会のスケールの大きさは別次元のものだということに気付いたのです。ポスターボードがどこまでも続いており(写真1:ポスター会場の様子。これでもほんの一部に過ぎない!)、これを端から端まで歩くと軽く10分はかかってしまいます。毎日歩き続けることになるので、すこし健康になったのではと思うくらいです。参加人数は31,975人、ポスターについては15,116演題で、午前・午後で張り替えられてしまうので、発表を逃さないためにも事前のチェックが不可欠となります。会場は、無線LANが入っており、調べ物や日本への通信にラップトップPCは大変役立ちました。どうやら、重い学会プログラムの代わりに、KindleやiPad等のE-readerを片手に会場を歩き歩くスタイルが最新のように、学会HPには専用のPDFファイルも用意されていました。SNS(ソーシャルネットワークサービス)である



写真1 ポスター会場の様子

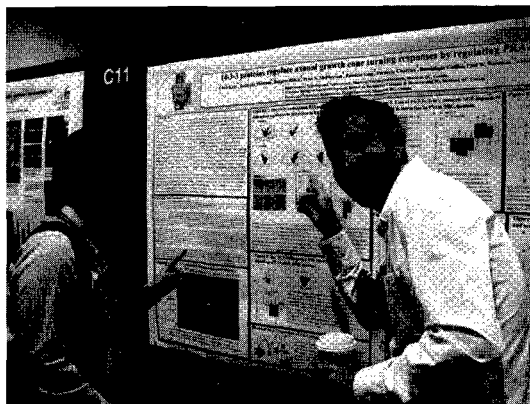


写真2 デイスカッション風景(左が筆者)

FaceBook でも学会情報が発信され、学会のスタイルもまさに時代の変化に対応した新鮮さを感じることが出来ました。

さて、肝心の学会の中身についてですが、演題数だけでなくその発表や研究の質の高さにも感心させられました。私は自らの専門でもある神経発生の分野を中心にシンポジウムやポスター会場を回りました。聞くところによると一昔前と比較してこの分野の演題数は減少しているみたいでした。今大会で目立って多かったのは神経変性疾患の研究およびその治療法の研究であり、疾患患者の細胞より作成した iPS 細胞を使った疾患メカニズムの解明へ向けた研究もなされていました。また、ES 細胞より分化させた神経細胞の病変部への移植実験とその機能回復評価も行われていました。自身の研究に関わる発表として、レーザーで局所的な脳梗塞を誘導し、特定脳領域での神経細胞死とその影響を調べた発表があり、大変参考になりました。昨年の学会で全盛であると聞かされていた光刺激による神経機能操作技術である Optogenetics はすでに基礎から応用へとその範囲を広げており、脳研究分野がスピードを増して発展していることを実感しました。

会場では、下手な英語を駆使して興味のあるポスターの前で質問を繰り返し、様々な国の様々なポジションの研究者と議論することが出来ました(写真2:ポスター演者とのディスカッション)。まずは手始めにと、学生の発表者をみつけて質問をしてみると、豊富な知識に基づく的確な答えが返ってきて、自分の学生時代にこのような発表が出来ていたかな?などと考えてみたり、「あれ、日本人の発表が多いな」と思って近づくと、中国・韓国・台湾といったアジア諸国から参加している研究者の場合が多かったり、とても印象的でした。そして、日本の学会で感じることはまず無いと思いますが、世界の中での日本の存在感を、もっと示していかなければと、危機感にも似た感覚を持ちました。

もう一つ印象的だったのは、ポスター会場に、神経発生分野で高名な先生がたが、ふらっと現れ、フランクな感じで、他の参加者と議論をしている姿でした。それら先生がたのうち、昨年に国際研究会議で福井大学を来訪された Dennis O'Leary 教授と会場で再会し握手を交わすことが出来ました。Dennis 教授は、ソーック研究所の Molecular Neurobiology Laboratory のラボヘッドで、大脳皮質の領野発生や軸索投射の研究をされています。因みに、ソーック研究所はラホーヤというところにあり、道を挟んだ反対には UCSD 校が、さらに近くにはスクリプス研究所やバイオサイエンス関連企業が多く集まっており、研究環境としては最高の場所の一つと言ってよいと思います。学会でも、このような所から多くの優れた研究発表があり、大変刺激をもらいました。

最後に、プレジデンシャルレクチャーで印象的な発表が心に残ったので書き留めておきます。視覚発達と臨界期の研究についての発表で、演者である MIT の Pawan Sinha 教授は、先天的に盲目の子供達を救うプロジェクトに研究を生かそうとしていました。そして、講演の最後に「才能を授かった者はそれを社会に還元する義務がある」と語られていました。この視点を心にとめて、帰国の途についたのです。

次期大会のご案内

第 54 回日本神経化学会大会

大会長 米田 幸雄

(金沢大学医薬保健研究域 薬学系 教授)

◇開催概要◇

会 期：平成 23 年 9 月 26 日（月）～28 日（水）
会 場：山代温泉 瑠璃光（石川県加賀市山代温泉）
大 会 長：米田 幸雄（金沢大学医薬保健研究域・薬学系 教授）
組織委員長：東田 陽博（金沢大学医薬保健研究域・医学系 教授）
大会事務局：〒920-1192 石川県金沢市角間町
金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬物学研究室内
事務局長：檜井 栄一
TEL：076-264-6242 FAX：076-264-6293
E-mail：jsn54@p.kanazawa-u.ac.jp
URL：http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/~jsn54/
運営事務局：〒920-0348 石川県金沢市松村 7 丁目 135-1
株式会社 金沢舞台 企画制作部
TEL：076-266-0246 FAX：076-266-0237

演題募集：一般口演（日本語）と大学院生口演（日本語）、およびポスター発表を募集します。一般口演は一演題につき口演 15 分・討論 5 分ですが、大学院生口演は一演題につき口演 10 分・討論 10 分の予定です。また、ポスターは英語で作成して頂きますが、ご説明・討論は原則として日本語の予定です。

一般演題募集開始 5 月 6 日（金）

一般演題募集締め切り 7 月 1 日（金）

事前参加登録：事前参加登録開始 5 月 6 日（金）

事前参加登録終了 7 月 29 日（金）

事前参加登録費 会員¥12,000 非会員¥14,000 大学院生¥3,000

※ 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、大学院生と同じ参加費をお願いします。

※ 同行者（参加者の配偶者など）の参加費は¥1,000 です。

日程概要：

月日	午前	昼食	午後	夕刻
9月26日 (月)	シンポジウム 一般口演 大学院生口演 追悼シンポジウム	ランチョンセミナー	公開シンポジウム シンポジウム 一般口演 大学院生口演 追悼シンポジウム ポスター討論	懇親会 育成セミナー
9月27日 (火)	生物学的精神医学会 合同シンポジウム シンポジウム 一般口演 大学院生口演 追悼シンポジウム	ランチョンセミナー	シンポジウム 一般口演 大学院生口演 追悼シンポジウム ポスター討論	イブニングセ ミナー 夕食会 育成セミナー
9月28日 (水)	シンポジウム 一般口演 若手奨励賞シンポ ジウム 追悼シンポジウム	総会 ランチョンセミナー	シンポジウム 一般口演 追悼シンポジウム	

懇親会：9月26日（月）夜に瑠璃光に宿泊される参加者は全員、宴会場「花離宮」にて開催される懇親会にご参加頂けます。

若手育成セミナー：第51回富山大会から導入されました本企画を今年も実施致します。
詳細はメールあるいはホームページにてご連絡致します。

宿 泊：瑠璃光宿泊料金には割安感のある三連泊特別価格を設定しております。伝統ある山代温泉宿に宿泊できる良い機会ですので、是非ともご家族お誘いあわせの上、ホームページよりお申込みください。小学生未満は無料です。料金は一室利用人数により異なりますので、詳細はホームページをご覧ください。

日本神経化学会最優秀奨励賞候補者および 奨励賞候補者募集のお知らせ

日本神経化学会では神経化学分野の優秀な若手研究者を対象に、日本神経化学会最優秀奨励賞および奨励賞候補者を募集致します。下記の事項を注意深くお読みいただき、奮ってご応募下さい。

なお、今年度の最優秀奨励賞と奨励賞受賞者の発表と授賞式は第54回日本神経化学会大会（石川県加賀市）の会期中に行います。最優秀奨励賞受賞者には副賞が贈られ、第54回日本神経化学会大会の総会後に研究成果を発表していただきます。各受賞者は「神経化学」誌にご自身が書かれた総説を掲載することができます。最優秀奨励賞受賞者は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

本会の会員歴3年以上（応募締切までに3年満了以上）、研究歴3年以上で、2011年4月1日現在満40歳未満の方。最優秀奨励賞は神経化学の進歩に寄与する顕著な研究を発表した方に、奨励賞は将来の発展を期待される方に授与されます。

(2) 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。なお、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（和英両方のタイトルをつけて下さい）><背景・目的><結果><学術的意義・特色・独創的な点><下記4）の主要論文におけるご自身の役割><自己アピール>に分けて、A4用紙3枚以内に記入して下さい。

2) 申請者の略歴

大学卒業からの略歴を記載して下さい。学位の種類、取得年月日、取得機関も明示して下さい。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して下さい。なお、同一研究内容による重複受賞を回避するため、他の受賞歴がある場合にはその詳細を記載して下さい。

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して下さい。申請者名は太字にするか、下線を引いて下さい。学会の抄録や要旨、Proceedingsなどは含めず、業績目録の書式は“Journal of Neurochemistry”の投稿規定に準じるようにして下さい。

4) 選考に関連する主要論文の別刷り

3編を8部ずつ添付して下さい。

(3) 選考方法

本年度の選考委員会による書類審査で、原則として1名の最優秀奨励賞受賞者と若干名の奨励賞受賞者を選出します。

本年度選考委員は以下の通りです。

和田 圭司（委員長/国立精神・神経医療研究センター）

植田 弘師（長崎大）

佐野 輝（鹿児島大）

塩坂 貞夫（奈良先端科学技術大学院大）

馬場 広子（東京薬科大）

久永 眞市（首都大学東京）

柳澤 勝彦（国立長寿医療研究センター）

*「選考委員は自らが所属する研究室からの自薦者についてはその審査にあたらない（奨励賞内規 6.）」と定められております。

(4) 応募締切

2011 年 5 月 27 日（金）必着

(5) 応募書類の送付先

〒160-0016 新宿区信濃町 35 信濃町煉瓦館

財団法人国際医学情報センター内

日本神経化学会 奨励賞選考委員会

TEL：03-5361-7107 FAX：03-5361-7091

学会掲示板

第6回トランスポーター研究会年会

日 時 2011 年 6 月 11 日 (土)~12 日 (日)

会 場 東北大学 片平さくらホール (仙台市青葉区片平 2-1-1)

代表世話人 大槻純男 (東北大院薬)

事務局長 内田康雄 (東北大院薬)

プログラム

◆特別講演

魚住信之 (東北大院工) 「植物イオンチャネル・トランスポーターの機能制御と分子基盤」

◆教育講演

寺崎哲也 (東北大院薬)

◆一般講演

西野邦彦 (阪大産研) 「細菌多剤耐性化・病原性発現におけるトランスポーターの役割」

黄 基旭 (東北大院薬) 「メチル水銀毒性発現における細胞内小胞輸送の役割」

浜瀬健司 (九大院薬) 「キラリ識別分析による内在性 D-アミノ酸の新たな創薬・診断への可能性探索」

青木一洋 (京大院生命) 「実測パラメーターに基づく細胞内シグナル伝達系の定量的シミュレーション」

神崎 展 (東北大院医工) 「GLUT4 のソーティング障害と 2 型糖尿病」

本間 雅 (東大病院薬剤) 「無機イオン・ホメオスタシスの理解を指向した骨代謝調節系の分子基盤研究」

阿部敬悦 (東北大未来研) 「細菌由来アスパラギン酸：アラニン交換輸送体 AspT の proteoliposome を用いた Kinetics 解析」

◆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。詳細は当年会のホームページをご覧ください。

演題応募締切 2011 年 4 月 22 日 (金)

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) 1,000 円 一般 5,000 円 幹事・世話人 6,000 円 (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 22 日 (金) です。

振込先や参加登録の詳細は、当年会のホームページをご覧ください。

問い合わせ先 〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

東北大学大学院薬学研究科薬物送達学分野内

第 6 回トランスポーター研究会事務局 内田康雄

e-mail : jtra2011@mail.pharm.tohoku.ac.jp

Tel : 022-795-6833 Fax : 022-795-6886

ホームページ <http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~soutatsu/jtra2011/>

第 33 回日本生物学的精神医学会年会

テ ー マ A decade for psychiatric disorders : この 10 年を「こころの科学」の時代に
会 期 2011 年 5 月 21 日 (土) ~22 日 (日)
5 月 20 日 (金) 前夜祭 : 若手研究者育成プログラム (有明ワシントンホテル)
会 場 ホテルグランバシフィック LE DAIBA (〒153-8701 東京都港区台場 2-6-1)
会 長 加藤 進昌 (昭和大学医学部精神医学教室)
ご連絡先 第 33 回日本生物学的精神医学会 運営事務局
株式会社ケイ・コンベンション内
Tel : 03-5367-2382 Fax : 03-5367-2187
e-mail : 33jsbp@k-con.co.jp
ホームページ <http://www.k-con.co.jp/33jsbp.html>

※生物学的精神医学会では、平成 25 年度までの時限措置として、入会后 1 年間を年会費無料としております。会員には学会参加費の割引がありますので、この機会に日本生物学的精神医学会ホームページよりご入会下さい。(<http://plaza.umin.ac.jp/~jsbp/index.html>)

第 32 回内藤コンファレンス 募集要項

コンファレンステーマ	Biological Basis of Mental Functions and Disorders こころの機能と疾患の分子機構
開催日程	2011 年 10 月 18 日 (火) ~ 21 日 (金)
開催場所	ハヶ岳ロイヤルホテル (山梨県北杜市) http://www.daiwaresort.co.jp/yatsugadake/
組織委員	委員長：西川 徹 (東京医科歯科大学) 内匠 透 (広島大学) 南 雅文 (北海道大学) 宮川 剛 (藤田保健衛生大学) 吉川 武男 (理化学研究所)
セッション	Session A : Molecular basis of schizophrenia Session B : Molecular basis of anxiety and mood disorders Session C : Molecular basis of developmental disorders Session D : Molecular basis of abuse and negative emotion Session E : Molecular basis of impulsivity and aggression
招待講演者	井ノ口 馨 (富山大学) Gary ASTON-JONES (USA) 加藤 忠史 (理化学研究所) Joshua GORDON (USA) 加藤 進昌 (昭和大学) René HEN (USA) 吉岡 充弘 (北海道大学) Thomas INSEL (USA) 古市 貞一 (理化学研究所) Peter KALIVAS (USA) 森信 繁 (広島大学) Pat LEVITT (USA) 成宮 周 (京都大学) Bruce McEWEN (USA) 曾良 一郎 (東北大学) Akira SAWA (USA) 鍋島 俊隆 (名城大学) Stephen SCHERER (Canada) 野村 理朗 (京都大学) Lawrence WILKINSON (UK) Catharine WINSTANLEY (Canada)
費 用	登録料不要、交通費のみ自己負担 * 宿泊費 (食事代含む) は財団法人内藤記念科学振興財団が負担致しますが、 会場までの交通費は、自己負担にてお願い致します。 (なお、部屋は原則 2 名 1 室です。あらかじめご了承ください。)
特定研究助成金の贈呈	当日発表されたポスター演題の中から、組織委員会にて優秀と認められた発表者には、若手研究者を中心に特定研究助成金を贈呈致します。
参加方法	参加を希望される方には、必ずポスター発表を行っていただきます。 http://www.naito-for.jp/ にアクセスし、必要事項を記入の上演題をご登録下さい。組織委員会において約 60 件を採択致します。
参加選考基準	1) ポスター発表の内容が優秀であること 2) テーマ関連で活発に研究している若手研究者であること 3) 英語で討論できること 4) 4 日間を通して参加できること

ポスター発表募集期間	<u>2011 年 3 月 22 日（火）～4 月 19 日（火）正午必着</u>
選考結果	2011 年 6 月～7 月頃 *財団法人内藤記念科学振興財団より E メールにてお知らせする予定です。
問い合わせ先	第 32 回内藤コンファレンス事務局 〒113-0033 東京都文京区本郷 3-42-6 NKD ビル 8 階 TEL : 03-3813-3005 E-MAIL : conference@naito-f.or.jp

日本神経化学会 賛助会員

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
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
日本ミリボア株式会社
ノバルティスファーマ株式会社
明治製菓株式会社
レノバサイエンス株式会社

(50 音順)

複写をご希望の方へ

日本神経化学会は、本誌掲載著作物の複写に関する権利を一般社団法人学術著作権協会に委託しております。

本誌に掲載された著作物の複写をご希望の方は、(社)学術著作権協会より許諾を受けて下さい。但し、企業等法人による社内利用目的の複写については、当該企業等法人が社団法人日本複写権センター((社)学術著作権協会が社内利用目的の複写に関する権利を再委託している団体)と包括複写許諾契約を締結している場合にあっては、その必要はございません。(社外頒布目的の複写については、許諾が必要です。)

権利委託先：一般社団法人 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

複写以外の許諾(著作物の引用、転載、翻訳等)に関しては、(社)学術著作権協会に委託致しております。直接日本神経化学会(e-mail：jsn@imic.or.jp FAX：03-5361-7091)へお問合せ下さい。

Reprographic Reproduction outside Japan

Making a copy of this publication

Please obtain permission from the following Reproduction Rights Organizations (RROs) to which the copyright holder has consigned the management of the copyright regarding reprographic reproduction. Obtaining permission to quote, reproduce; translate, etc. Please contact the copyright holder directly.

Users in countries and regions where there is a local PRO under bilateral contract with Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC).

Users in countries and regions of which RROs are listed on the following website are requested to contact the respective RROs directly to obtain permission.

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

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

Website <http://www.jaacc.jp/>

E-mail info@jaacc.jp

Fax +81-33475-5619

編集後記

2年間本誌の編集を担当させていただきましたが、本号をもって次の編集長に引き継ぐことになりました。ご執筆を快くお引き受け下さった先生方、編集作業をサポートしていただきました事務局の方々には心より感謝申し上げます。本誌の編集作業を通し、これまで面識がなかった諸先生方と接する機会を得、本学会員が分子から脳機能に至るまで幅広い分野でご活躍されていることを改めて認識させられました。心・行動・病気などをキーワードとして神経化学研究が今まで以上に注目されています。脳神経系の壮大な未知なるメカニズムを解き明かしていくには研究者間のインターアクションが必要不可欠と思われます。本誌がそのような有機的なネットワーク形成のための足場の一つとして活用され、神経化学研究が益々発展していくことを期待したいと思います。

(今泉和則)

神経化学 50巻 第1号

平成 23 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 株式会社 杏林舎