

細胞外グルタミン酸上昇による脳形成障害、神経細胞変性、精神疾患

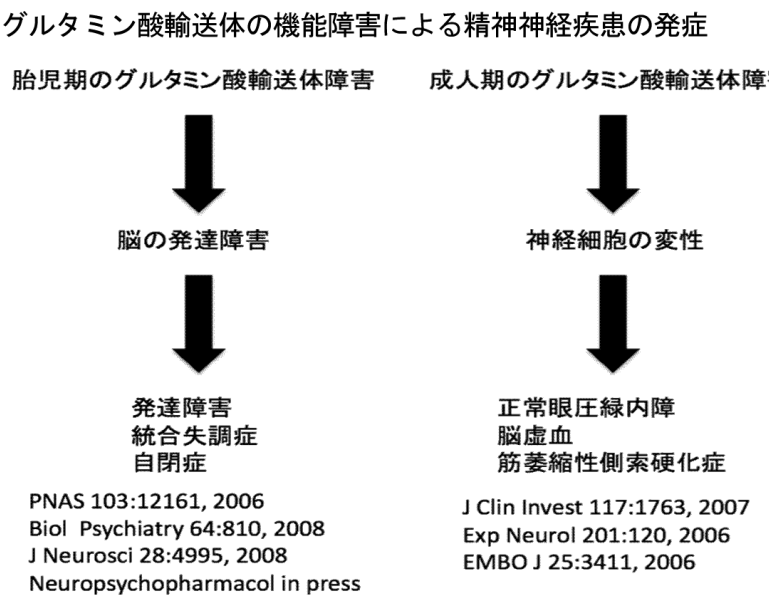
田中光一

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学研究部・分子神経科学

中枢神経系の興奮性シナプス伝達は主にグルタミン酸により担われており、グルタミン酸シグナル伝達の解明は脳機能解明の基礎となる。しかし、過剰な細胞外グルタミン酸は神経毒性を示し、様々な精神神経疾患の原因と考えられている。グルタミン酸トランスポーターは、神経終末から放出されたグルタミン酸を取り込み、細胞外グルタミン酸濃度を低く保つ機能的分子である。現在まで脳のグルタミン酸トランスポーターには、グリア型2種類(GLT1, GLAST)と神経型2種類(EAAC1, EAAT4)の計4種類のサブタイプが知られているが、細胞外グルタミン酸濃度の制御にはグリア型グルタミン酸トランスポーターが重要な役割を果たす。我々のグループは、グリア型グルタミン酸トランスポーターの機能異常が起こる時期と程度により、様々な精神神経疾患を引き起こすことを明らかにした。

2種類のグリア型グルタミン酸トランスポーターを胎児期から全く持たないdouble knockout mouse(DKマウス)は、大脳皮質・海馬・嗅球の層形成障害、扁桃体や視床の形成障害、脳の遠位部を結ぶ神経繊維の形成障害などの様々な発達異常が観察された。DKマウスの大脳皮質の形成異常をBrdUを用いて解析したところ、胎生14日以降に新生した神経細胞の法線移動の障害によるものであることがわかった。以上の結果は、脳の正常な発達にはグリア型グルタミン酸トランスポーターによる細胞外グルタミン酸濃度の厳密な制御が重要であり、その機能異常が脳の発達障害の原因の一つである可能性を示し、脳の発達障害の病態を解明する大きな手掛かりとなる。また、年少期における生育環境の重要性は、母国語形成や運動・楽器演奏能力涵養として社会的にも広く認知され、古来より「三つ子の魂百まで」として知られていた。神経科学領域では、シナプス回路発達における「臨界期可塑性」という研究テーマとして注目されていたが、その分子機構は不明なままであった。今回、感覚情報を脳に伝える伝達物質であるグルタミン酸に着目し、シナプス周囲でその濃度調節に関わっている主要な分子であるグルタミン酸トランスポーターの遺伝子欠損マウスを用いて解析を行った。その結果、この遺伝子欠損マウスでは新生児期より脳内グルタミン酸濃度が有意に上昇し、強い感覚刺激を受けた大脳皮質領域が拡大し周囲の弱い領域は縮小するという「臨界期可塑性」が障害されていた。この研究成果は、感覚刺激の大小をシナプス活動の強弱へと反映させる脳内グルタミン酸濃度調節機構が、臨界期に受けた刺激をシナプス回路の効率的な改築へと導く分子機構であることを示唆している。

最近、統合失調症の患者さんの遺伝子解析により、GLAST遺伝子に欠損のある症例が報告された (Science 320:539-543, 2008)。GLAST欠損マウスが統合失調症の新しいモデルマウスになるかどうか行動学的な解析を行った。GLAST欠損マウスは、新規環境下に置かれると、野生型に比べ行動量が増加する。さらに、グルタミン酸受容体のアンタゴニストにより誘発される行動量の増加が、GLAST欠損マウスで



グルタミン酸輸送体の機能障害による精神神経疾患の発症

は悪化し、その悪化はハロペリドールや代謝型グルタミン酸受容体2/3のアゴニストであるLY379268などの統合失調症治療薬で改善される。これらの行動異常は、統合失調症の陽性症状に相当する。また、GLAST欠損マウスは、新規マウスに対するsniffingなどの行動時間が減少し、巣作り行動も障害されており、社会行動に障害が見られた。これらの行動異常は、統合失調症の陰性症状に相当する。さらに、GLAST欠損マウスはpairwise discrimination taskに障害が観察された。この学習障害は、統合失調症の認知障害に相当する。以上の結果は、GLAST欠損マウスが統合失調症の陽性症状・陰性症状・認知障害を再現していることを示しており、グリア細胞の機能異常が精神疾患の発症に重要な役割を果たすことを示唆している。

細胞外グルタミン酸濃度の上昇は、グルタミン酸受容体の過剰な活性化をもたらし、神経細胞死を誘導することが知られている（興奮毒性）。網膜で最も多量に存在するグリア型グルタミン酸トランスポーターであるGLASTを欠損したマウスの網膜を調べたところ、眼圧は正常であるにもかかわらず、網膜神経節細胞が加齢に伴い変性し、視神経乳頭陥凹の拡大、視覚機能異常が起こることを発見した。こうした変化は、ヒトの正常眼圧緑内障において認められる所見とよく一致しており、正常眼圧緑内障のモデルマウスの確立に世界で初めて成功した。さらに、アルツハイマー病の治療薬として使われているメマンチンをGLAST欠損マウスに投与することにより、網膜神経節細胞の傷害を抑制できることを見いだした。本モデルマウスは、正常眼圧緑内障の病態解明・新規治療薬の開発に有用である。

以上のように、アストロサイトの機能異常によるグルタミン酸トランスポーターの機能障害は、細胞外グルタミン酸濃度の上昇をもたらし、様々な精神神経疾患の発症に関与する。幼弱な時期にグリア型グルタミン酸トランスポーターの機能障害が起こると、脳の発達障害をもたらし、統合失調症などの精神疾患の発症に関与する。また、成人になりグルタミン酸トランスポーターの機能障害が起こると、緑内障や筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患をもたらすと考えられる。

【文献】

1) Harada T*, Harada C, Wang Y-U, Osaka H, Amanai K, **Tanaka K**, Takizawa S, Setsuie R, Sakurai M, Sato Y, Noda M, Wada K Role of ubiquitin carboxy terminal hydrolase-L1 in neural cell apoptosis induced by ischemic retinal injury in vivo. Am. J. Pathol. 164: 59-64 (2004)
2) Sarthy VP*, Pignataro L, Marc R, **Tanaka K** The contribution of a glial glutamate transporter to GABA synthesis in the retina. NeuroReport 15: 1895-1898 (2004)
3) Sarthy VP*, Dudley VJ, **Tanaka K** Retinal glucose metabolism in mice lacking the L-glutamate/aspartate transporter. Vis. Neurosci. 21: 637-643 (2004)
4) Huang YH, **Tanaka K**, Rothstein JD, Bergles DE* Astrocyte glutamate transporters regulate metabotropic glutamate receptor-mediated excitation of hippocampal interneurons. J. Neurosci. 24: 4498-4509 (2004)
5) Maekawa F, Tsukahara S, **Tanaka K**, Ohki-Hamazaki H* Distributions of two chicken bombesin receptors, bombesin receptor subtype-3.5 (chBRS-3.5) and gastrin-releasing peptide receptor (chGRP-R) mRNA's in chicken telencephalon. Neuroscience 125: 569-582 (2004)
6) Maekawa F, Quah HMA, **Tanaka K**, Ohki-Hamazaki H* Leptin resistance and enhancement of feeding facilitation by melanin-concentrating hormone in mice lacking bombesin receptor subtype-3. Diabetes 53: 570-576 (2004)
7) Chen W, Mahadomrongkul V, Bergrer UV, Bassan M, DeSilva T, **Tanaka K**, Irwin N, Aoki C, Rosenberg PA* The glutamate transporter GLT1a is expressed in excitatory axon terminals of mature hippocampal neurons. J. Neurosci. 24: 1136-1148 (2004)
8) Harada C, Harada T*, Mitamura Y, Quah HMA, Ohtsuka K, Kotake S, Ohno S, Wada K, Takeuchi S, **Tanaka K** Diverse NF-kB expression in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopaty. Mol. Vision 10: 31-36 (2004)
9) Huang Y, Dykes Hoberg M, **Tanaka K**, Rothstein JD, Bergles DE* Climbing fiber activation of EAAT4 transporters and kainite receptors in cerebellar Purkinje cells. J. Neurosci. 24: 103-111 (2004)
10) Herard AS, Dubois A, Escartin C, **Tanaka K**, Delzescaux T, Hantraye P, Bonvento G* Decreased metabolic response to visual stimulation in the superior colliculus of mice lacking the glial glutamate transporter GLT-1. Eur. J. Neurosci. 22: 1807-1811 (2005)
11) Takayasu Y, Iino M, Kakegawa W, Maeno H, Watase K, Wada, K, Yanagihara D, Miyazaki T, Komine O, Watanabe M, **Tanaka K**, Ozawa S* Differential roles of glial and neuronal glutamate transporters on Purkinje cell synapses. J. Neurosci. 25: 8788-8793 (2005)
12) Harada C, Harada T*, Quah H-M A, Namekata K, Yoshida K, Ohno S, **Tanaka K**, Parada LF Role of Neurotrophin-4/5 in Neural Cell Death during Retinal Development and Ischemic Retinal Injury in Vivo. Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 46: 669-673 (2005)
13) Sarthy VP*, Pignataro L, Pannicke T, Weick M, Reichenbach A, Harada T, **Tanaka K**, Marc R Glutamate transporter in retinal Muller cells from glutamate/aspartate transporter (GLAST) knockout mice. Glia. 49: 184-196 (2005)
14) Maekawa F, Komine O, Sato K, Kanamatsu T, Uchimura M, **Tanaka K**,Ohki-Hamazaki H* Imprinting modulates processing of visual information in the visual wulst of chicks. BMC Neuroscience.7:75 (2006)
15) Pardo A,Wong V, Benson L, Dykes M, **Tanaka K**, Rothstein JD, Maragakis NJ* Loss of the astrocyte glutamate transporter GLT1 modifies disease in SOD1^{G39A} mice. Exp. Neurol. 201: 120-130 (2006)
16) Mieda M, Williams SC, Richardson JA, **Tanaka K**, Yanagisawa M* The dorsomedial hypothalamic nucleus as a food-entrainable circadian pacemaker. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 103: 12150-12155 (2006)
17) Matsugami RT, Tanemura K, Mieda M, Nakatomi R, Yamada K, Kondo T, Ogawa M, Obata K, Watanabe M, Hashikawa T, **Tanaka K*** Indispensability of glutamate transporters GLAST and GLT1 to brain development. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 103: 12161-12166 (2006)
18) Kiryu-Seo S, Gamo K, Tachibana T, **Tanaka K**, Kiyama H* Unique anti-apoptotic activity of EAAC1 in injured motor neurons. EMBO J. 25: 3411-3421 (2006)

19) Glowatzki E, Cheng N, Hiel H, Yi E, **Tanaka K**, Ellis-Davies GCR, Rothsetin JD, Gergles DE* The glutamate-aspartate transporter (GLAST) mediates glutamate uptake at inner hair cell afferent synapses in the mammalian cochlea. J. Neurosci. 26: 7659-7664 (2006)
20) Takayasu Y, Iino M, Shimamoto K, **Tanaka K**, Ozawa S* Glial glutamate transporters maintain one-to-one synapses by preventing glutamate spillover. J. Neurosci. 26: 6563-6572 (2006)
21) Mori T, **Tanaka K**, Buffo A, Wurst W, Kuhn R, Gotz M* Inducible gene deletion in astroglia and radial glia-a valuable tool for functional and lineage analysis. Glia. 54: 21-34 (2006)
22) Yamashita A, Makita K, Kuroiwa T, **Tanaka K*** Glutamate transporters GLAST and EAAT4 regulate postischemic Purkinje cell death: An in vivo study using cardiac arrest model in mice lacking GLAS T or EAAT4. Neurosci. Res. 55: 264-270 (2006)
23) Hasegawa J, Obara T, **Tanaka K**, Tachibana M* High density presynaptic transporters are required for glutamate removal from the first visual synapse. Neuron. 50: 63-74 (2006)
24) Iwabuchi M, **Tanaka K**, Ohki-Hamazaki H* Overexpression of gastrin-releasing peptide receptor induced layer disorganization in brain. Neuroscience. 138: 109-122 (2006)
25) Takatsuru Y, Takayasu Y, Iino M, Nikkuni O, Ueda Y, **Tanaka K**, Ozawa S* Roles of glial glutamate transporters in shaping EPSCs at the climbing fiber-Purkinje cell synapses. Neurosci. Res. 54: 140-148 (2006)
26) Harada C, Nakamura K, Namekata K, Okumura A, **Tanaka K**, Ichijo H, Harada T* Role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in stress-induced neural cell apoptosis in vivo. Am. J. Pathol. 168: 261-269 (2006)
27) Harada C, Harada T*, Nakamura K, Sakai Y, **Tanaka K**, Parada LF. Effects of $p75^{NTR}$ on the regulation of naturally occurring cell death and retinal ganglion cell number in the mouse eye. Dev. Biol. 290: 57-65 (2006)
28) Harada T, Harada C, Nakamura K, Qua H-MA, Okumura A, Namekata K, Saeki T, Aihara M, Yoshida H, Mitani A, **Tanaka K*** The potential role of glutamate transporters in the pathogenesis of normal tension glaucoma. J. Clin. Invest. 117: 1763-1770 (2007)
29) Kiryk A, Aida T, **Tanaka K**, Banerjee P, Wilczynski GM, Meyza K, Knapska E, Filipkowaski RK, Kaczmarek L, Danysz W* Behavioral characterization og GLT1(+/-) mice as a model of mild glutamatergic hyperfunction. Neurotox. Res. 13: 19-30 (2008)
30) Nikkuni O, Takayasu Y, Iino M, **Tanaka K**, Ozawa S* Facilitated activation of metabotropic glutamate receptors in cerebellar Purkinje cells in glutamate transporter EAAT4-deficient mice. Neurosci. Res. 59: 296-303 (2007)
31) Komine O, Nagaoka M, Watase K, Gutmann DH, Tanigaki K, Honjo T, Radtke F, Saito C, Chiba S, **Tanaka K*** The monolayer formation of Bergmann glial cells is regulated by Notch/RBP-J signaling. Dev. Biol. 311: 238-250 (2007)
32) Tanimoto S, Suzuki M, Ue T, Okumichi H, Aoyama H, Souchelnytskyi S, **Tanaka K**, Agarwal N, Mishima HK, Kanamoto T* Proteomics in retina of Excitory Acid Carrier 1(EAAC1) knockout mice. Proteome Science 5: 13 (2007)
33) Maekawa F, Nakamori T, Uchimura M, Fujiwara K, Yada T, Tsukahara S, Kanamatsu T, **Tanaka K**, Ohki-Hamazaki H* Activation of cholecystokinin neurons in the dorsal pallium of the telencephalon is indispensable for the acquisition of chick imprinting behavior. J. Neurochem. 102: 1645-1657 (2007)
34) Takatsuru Y, Iino M, **Tanaka K**, Ozawa S* Contribution of glutamate transporter GLT-1 to removal of synaptically released glutamate at climbing fiber-Purkinje cell synapses. Neurosci. Lett. 420: 85-89 (2007)
35) Takasaki C, Okada R, Mitani A, Fukaya M, Yamasaki M, Fujihara Y, Shirakawa T, **Tanaka K**, Watanabe M* Glutamate transporters regulate lesion-induced plasticity in the developing somatosensory cortex. J. Neurosci. 28: 4995-5006 (2008)
36) Karlsson, RM., **Tanaka, K.,** Heilig, M., Holmes, A. Loss of Glial Glutamate and Aspartate Transporter (Excitatory Amino Acid Transporter 1) Causes Locomotor Hyperactivity and Exaggerated Responses to Psychotomimetics: Rescue by Haloperidol and Metabotropic Glutamate 2/3 Agonist. *Biol Pschiatry* 64. 810-814, (2008)
37) Karlsson, RM., **Tanaka, K.,** Saksida, LM., Bussey, TJ., Heilig, M., Holmes, A. Assessment of glutamate transporter GLAST (EAAT1) deficient mice for phenotypes relevant to the negative and executive/cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* (in press)
38) Soma, M., Aizawa, H., Ito, Y., Maekawa, M., Osumi, N., Nakahira, E., Okamoto, H., **Tanaka, K.,** Yuasa, S. Development of the mouse amygdala as revealed by enhanced green fluorescent protein gene transfer by means of in utero electroporation. *J. Comp. Neurol.* (in press)