

第3回 公開シンポジウム
 特定領域研究「グリアニューロンに回路網による情報処理機構の解明」

「グリア細胞の機能と病態」

日時 2006年1月11日(水) 13:00-18:00
 場所：シェーンバッハサボウ(砂防会館)1階ホール

別項1

別項2

別項3

別項4

別項5

別項6

別項7

別項8

別項9

別項10

特定領域研究「グリアニューロン回路網による情報処理機構の解明」公開シンポジウム

グリア細胞の機能と病態

開催期日
 2006年1月11日(水) 13:00~18:00

開催場所
 シェーンバッハ・サボウ
 (砂防会館別館)1階ホール
 〒102-0093 東京都千代田区平河町2-7-5
 TEL: 03-3261-8386 **参加無料**

プログラム

はじめに：脳機能発現とその異常におけるグリア細胞の役割
 工藤 佳久(東京薬科大学)

セッション1：グリア細胞による脳機能の広域制御
 ATPによる脳機能の広範囲制御
 小泉 修一(国立医薬品食品衛生研究所)
 介在ニューロン付随グリア細胞による調節機構
 加藤 宏司(山形大学)

情動におけるグリア型GPCRの役割
 和田 圭司(国立精神・神経センター神経研究所)

セッション2：脳機能疾患発症におけるグリア細胞の関与
 神経外傷時のグリアによるマクロファージ制御
 木山 博資(大阪市立大学)
 神経因性疼痛発症におけるミクログリアの関与
 井上 和秀(九州大学)

ホモシチン尿症における高次脳機能障害へのアストロサイトの関与
 櫻戸 靖(東京医科歯科大学)

アレキサンダーモデル動物の関与とそのグリア研究における意義
 池中 一裕(自然科学研究機構・生理学研究所)

おわりに：グリア研究の新しい展開と展望
 高坂 新一(国立精神・神経センター神経研究所)

主催：特定領域研究「グリアニューロン回路網による情報処理機構の解明」
 工藤 佳久(東京薬科大学・生命科学部)

会場代表者：
 工藤 佳久(東京薬科大学・生命科学部)

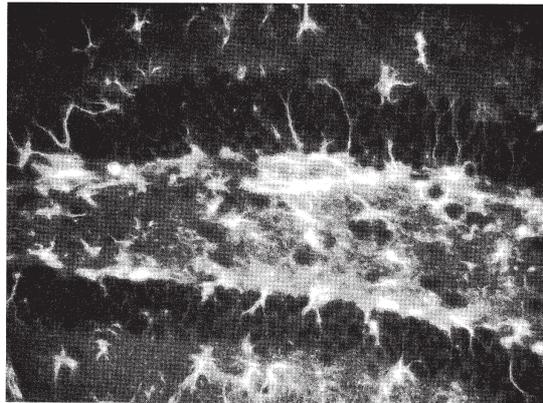
問い合わせ先：
 〒192-0392
 東京都八王子市幸町之内1432-1
 東京薬科大学・生命科学部
 脳神経機能学研究室
 TEL: 0426-76-7164
 FAX: 0426-76-8841
 E-mail: kudoy@is.toyoku.ac.jp

詳細はホームページをご覧ください <http://www.glia-neuron-network.jp/>

特定領域研究「グリアニューロン回路網による情報処理機構の解明」公開シンポジウム

グリア細胞の機能と病態

2006年1月11日(水) 13:00~18:00
 シェーンバッハ・サボウ(砂防会館別館)1階ホール
 〒102-0093 東京都千代田区平河町2-7-5
 TEL: 03-3261-8386



<http://www.glia-neuron-network.jp>

特定領域研究「グリアーニューロンに回路網による情報処理機構の解明」
公開シンポジウム「グリア細胞の機能と病態」

日時 2006年1月11日(水) 13:00-18:00

場所：シェーンバッハサボウ(砂防会館)1階ホール

13:00 - 13:10

はじめに：脳機能発現とその異常におけるグリア細胞の役割

工藤佳久 (東京薬科大学)

セッション1：グリア細胞による脳機能の広域制御

座長：高橋正身(北里大学)

13:10 - 13:45

ATPによる脳機能の広範囲制御

小泉修一(国立医薬品食品衛生研究所)

13:45 - 14:20

介在ニューロン付随グリア細胞による調節機構

加藤宏司(山形大学)

14:20 - 14:55

情動におけるグリア型GPCRの役割

和田圭司(国立精神・神経センター神経研究所)

14:55 - 15:15

コーヒーブレイク

セッション2：脳機能疾患発症におけるグリア細胞の関与(1)

座長：馬場広子(東京薬科大)

15:15-15:50

神経外傷時のグリアによるマクロファージ制御

木山博資(大阪市立大学)

15:50-16:25

神経因性疼痛発症におけるミクログリアの関与

井上和秀(九州大学)

16:25 - 16:40

コーヒーブレイク

セッション3：脳機能疾患発症におけるグリア細胞の関与(2)

座長：小澤静司(群馬大学)

16:40 - 17:15

ホモシチン尿症における高次脳機能障害へのアストロサイトの関与

榎戸 靖(東京医科歯科大学)

17:15 - 17:50

アレキサンダーモデル動物の開発とそのグリア研究における意義

池中一裕(自然科学研究機構・生理学研究所)

17:50 - 18:00

おわりに：グリア研究の新しい展開と展望

高坂新一(国立精神・神経センター神経研究所)



挨拶：特定領域研究「神経－グリア回路網」の三年

特定領域研究班 総括代表 工藤佳久

(東京薬科大学・生命科学部)

平成15年度に発足した特定領域研究「神経－グリア回路網」は順調に展開してきた。この間に、最初の公開シンポジウムに始まり、昨年度の国際シンポジウム、さらに本年5月にアムステルダムで開催されたヨーロッパグリア会議において二件のワークショップ、8月にインスブルックで行われた国際神経化学会における二件のシンポジウムを私どもの研究班から提案して実施した。いずれも充実したレベルの高い内容で、有意義であった。そして、今回の公開シンポジウム「グリア細胞の機能と病態」に繋がるのであるが、この間の研究成果は期待を遙かに上回り、本シンポジウムにおいてだれに講演していただくか、大いに悩まされた。とりあえず、7名の講演者を選ばせていただいた。このシンポジウムを聴いて頂ければ、グリア細胞の重要性の一部は間違いなく理解して頂けると確信している。

私どもの特定領域は平成17年9月に三年目の中間評価を受けた。代表者としては大変なプレッシャーであったが、それは評価に対するプレッシャーというより、14の計画班、32の公募班において着実に挙げている実績のすばらしさをいかに正確に中間報告書に盛り込むか、中間報告当日に許されたわずか15分間プレゼンテーションの中でいかに確かに審査員の先生方に伝えるかということであった。そこにはサマーワークショップ、成果報告会そしてシンポジウムでの熱い討論の雰囲気も伝えたいとの欲張りな思いがあった。ほぼ一ヶ月の準備期間の間に班員の先生方から様々なアドバイスを頂き、何度も修正してなんとか形を整えることができた。

結果として、非常によい中間評価を受けることができ、当初の計画を変更することなく残りの二年間の研究を進めてもよいとの判定を頂いた。班員に対する責任が果たせたことと、グリア研究を「特定領域研究」という形で推進することの意義を認めて頂けたことが素直に嬉しい。

グリア研究は文字通り日進月歩の状態に進んでいる。その結果、ますます脳機能発現におけるグリア細胞の重要性が明らかにされてきている。とはいえ、まだまだ脳研究分野での認識は十分ではない。グリア研究を進めるにつれて、脳機能発現メカニズムや脳機能疾患発症メカニズムをグリア細胞抜きで考えることはできないとの確信は強まるばかりである。

本特定領域研究の使命は、与えられた期間にグリア細胞の脳機能とその疾患発症における役割を明らかにし、グリア研究が脳研究における必須の研究分野の一つであることを認識して頂き、さらに大きなグリア研究へ展開できる足掛かりを作ることにあると考えている。本日、参加して下さった皆様の忌憚のないご意見を頂ければ幸いです。

(2005.12.8)

別項1

別項2

別項3

別項4

別項5

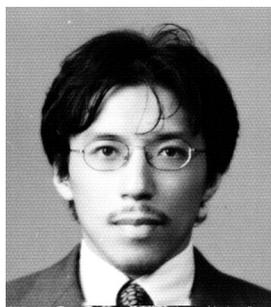
別項6

別項7

別項8

別項9

別項10



ATPによる脳機能の広範囲制御

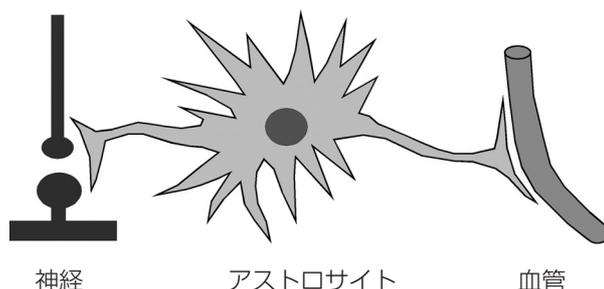
小泉 修一（国立医薬品食品衛生研究所）

The wide-ranging regulation by astrocytic ATP of brain functions.

Schuichi Koizumi, National Institute of Health Sciences

これまでニューロンの支持細胞と考えられてきたグリア細胞、特にアストロサイトが実に多様な働きを有していることが明らかとなってきた。アストロサイトは種々の神経伝達物質受容体を有し、刺激に応じて液性因子を放出するが、この液性因子（gliotransmitter）として、細胞外ATPが中心的な役割を果たす。これまでに、アストロサイトから放出された細胞外ATPが①アストロサイト間の情報連絡を担う中心的な因子として働いていること、②近傍の神経細胞に作用してシナプス伝達を即時的に制御していることを報告してきた。また、アストロサイトは各種刺激に応じてATPを放出するばかりでなく、自発的にもATPを放出していることから、周辺細胞の機能を恒常的に制御している可能性も示唆してきた。我々を含めこれまでの他の研究成果の多くが培養系等の*in vitro*系で得られた結果であったため、実際の脳内での作用との違いが危惧されていたが、最近、複数のグループからスライス標本さらに*in vivo*実験系による検討が行われ、グリア細胞機能が神経細胞機能に影響すること、さらに痙攣等の病態にアストロサイトの機能変化が関与すること等、グリアー神経細胞連関の重要性さらにはgliotransmitter ATPの重要性が認識されつつある。アストロサイトはシナプスを囲む一方で、血管壁にそのendfeetを伸ばし、深部微小血管及び毛細血管を取り囲んでいる。これら血管の反管腔側には血管平滑筋や血管周皮細胞が存在するが、これらの細胞にはP2Y2受容体等、各種P2受容体が発現している。深部微小血管や毛細血管は神経系の支配が小さく、アストロサイトのendfeetで周囲を囲まれていることを考慮すると、血管平滑筋や血管周皮細胞P2受容体へのATP供給源はアストロサイトである可能性が高い。実際、アストロサイトのendfeetではATP依存的なCa²⁺ waveが観察される。今回、血管周皮細胞に注目して、細胞外ATPの作用を検討したところ、ATPは血管周皮細胞のP2Y2受容体に作用し、Ca²⁺依存的に収縮を引き起こした。また、アストロサイトー血管周皮細胞間のATPを介したコミュニケーションも観察された。これらの結果は、アストロサイトはATPを用いてその局所血流量を制御していること、アストロサイトが神経ー血管系のインターフェースとして機能していること、さらにこの制御過程にATPが重要な役割を果たしている可能性を示唆するものである。アストロサイトはATPを用いて、極めて広範囲な脳機能制御に関与していると考えられる。

We have already shown that astrocytic ATP is an important “gliotransmitter” that mediates intercellular communications in adjacent cells including astrocytes, microglia and neurons. Astrocytes release ATP in response to various stimuli and even spontaneously, which results in modulation of activity-dependent and tonic regulation of synaptic transmission. In addition, astrocytes surround vascular walls by their endfeet where P2Y2 receptors are localized and the ATP-dependent Ca²⁺ wave can be seen. ATP might be a critical mediator at perivascular cells that control local blood flow. Astrocytes using ATP/P2 receptors, may function as an interface between neurons and blood vessels, leading to a wide-ranging regulation of brain functions.



小泉 修一（国立医薬品食品衛生研究所・薬理部・第一室・室長）

ポスドク時代に運よくATPと出会い、以来中枢神経系とATP/P2受容体研究に従事。グリア細胞の応答を除去しようと苦労しているうちに、より強くATPに反応するアストロサイト研究に傾倒。アストロサイトだからこそ出来ることを丁寧に精査しながら、アストロサイトが脳機能のダイナミズムに果たす役割を明らかにしたい。



介在ニューロン付随グリア細胞による調節機構

加藤宏司（山形大学医学部神経機能統御学分野）

Classification of perineuronal glial cells and direct evidence for mutual interactions between interneurons and astrocytes studied in the stratum radiatum of rat hippocampal CA1 region

Kato Hiroshi

グリア細胞によるシナプス伝達やシナプス前あるいは後ニューロンへの直接的な調節効果を実験的に調べた。そのために、海馬CA1領域の放線層に細胞体を持つ介在ニューロンに付随するグリア細胞（perineuronal glial cell, PN-Glia, 図）に着目した。これに焦点を当てた理由は、グリア細胞とニューロンが近接しているからである。ラット（Sprague-Dawley, 生後23-30日）から海馬薄切片(400 μm)を作成し、シナプスの入力刺激のために刺激電極(SE)を置き、介在ニューロン(Post-S-Neu)およびPN-Gliaにパッチ電極を刺入して実験を行った。その結果は以下のものであった。

Post-S-NeuとPN-Gliaは実験中の顕微鏡で細胞体の大きさにより区別できたが、脱分極による活動電位の発火の有無によっても実験中に明らかに識別できた。この結果は、実験後の形態の検討と免疫組織学的方法でも確認できた。

PN-Gliaは、静止膜電位と入力抵抗により、オリゴデンドログリア (Oli) とアストログリア(Ast)とに分類できた。Oliは浅い静止膜電位と、高い入力膜抵抗を持ち、一方Astは膜電位が深く膜抵抗が低かった。両者を区分する境界はそれぞれ、-65 mV および 300 MΩであった。この二者の区別は、biocytin注入による形態観察、およびOliのマーカーのCNPaseとAstのマーカーであるGFAPの免疫組織染色で確認できた。以下の実験ではAstに注目し、AstとPost-S-Neuとから同時にホールセル記録を行い両者の相互的作用を直接検討した。

(1)入力刺激に対してAstは緩徐な脱分極を示し、この電流はDNQXで阻止される成分を含んでいた(図①)。(2) EPSCを発生させる電気刺激に先行してAstを脱分極させると、EPSC振幅の低下が観察された。この低下は脱分極の大きさに依存し、また、Astの脱分極をEPSC発生の200-400ミリ秒先行させたときに最も強くみられた(図②)。(3) Astの脱分極により、Post-S-Neuの通電刺激誘発性の発火パターンが変化した(図③)。(4) 2発刺激によって得られるpaired-pulse ratioの増大を伴っていたことから、Astによるシナプス伝達に対する効果のメカニズムには、シナプス前の伝達物質の放出抑制効果が含まれることがわかった。この効果は、アデノシンA₁受容体の拮抗薬である8-CPTによって阻害された(図④)。(5) Post-S-Neuの直接発火によりAstの脱分極と入力抵抗の減少が起こった(図③)。

以上の結果から、AstはPost-S-Neu間のシナプス伝達を“直接”抑制し、この機序にはシナプス前終末にあるアデノシンA₁受容体を介する可能性があるかと結論した。以上の結果の一部はNeuroscience, 134 (2005)に発表した。

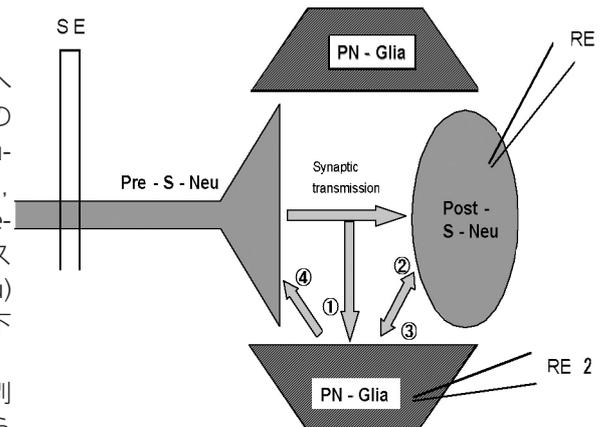
Abstract- Classification of perineuronal glial cells into astrocyte and oligodendrocyte was performed based on electrical properties of resting membrane potentials and input resistance, and intracellular stained configuration of each cell. The classification scheme was confirmed histochemically with specific antibody for each type of glial cells. The direct mutual interactions among components of tripartite synapse, astrocyte and pre- and postsynaptic interneurons were demonstrated by dual whole-cell recording.

加藤宏司（山形大学 医学部 医学科 器官機能講座 神経機能分野 教授）

私のグリアについての報告は、今から約20年前、丁度スライス法で如何に生きの良いスライスを作り細胞内記録を成功させるか、という方法論の改良をしていた頃である。けっこう活動電位を出さない細胞に刺さることもあり、この時の結果は、ネコ視覚野の薄切片のグリア細胞の同定と膜の性質として報告した（山形大学医学部受託研究報告書、1-9, 1983: Vision Res., 25, pp. 349-356, 1985）。

その後、海馬スライスで、電気刺激で誘導されるLTPの時の[Ca²⁺]_iの変化を工藤佳久先生と共同で研究する機会に恵まれた。その時は、スライス全体にCa²⁺感受性蛍光色素（fura-2）をかけていたため、2-5分にわたる長時間のCa²⁺増大は、あるいはグリア由来の可能性があった（Brain Res., 407,168-172,1987）。これを単一細胞のレベルで工藤先生の教室で研究がすすめられた。

1997年（平成9年）仙台で開催された第20回日本神経科学大会で、工藤先生と一緒に世話人として“グリア細胞の構造と機能（シンポジウム-5）”を受け持った。演者は順に、渡辺雅彦、池田一裕、高坂新一、生田房弘、福井裕行、の各先生であった。最後に、工藤先生が次のようにまとめている：“・・・これらを介して神経回路の形成や発達維持、神経情報の統合さらには病巣回復に直接関わっている可能性が高い。脳機能の完全な理解にはグリア細胞の研究は不可欠であり、やがて神経研究の中心的テーマになるであろう（大会の抄録集p. 35から）”。



別項 1

別項 2

別項 3

別項 4

別項 5

別項 6

別項 7

別項 8

別項 9

別項 10



情動におけるグリア型GPCRの役割

和田圭司、山内玲奈、青木俊介、*中澤敬信、和田恵津子

国立精神・神経センター神経研究所、*東京大学医科学研究所

Functional role of glial GPCRs in emotional behaviors

G蛋白質共役型受容体（GPCR）はゲノム上最大のファミリーを形成する。医療用薬剤の約60%はGPCRを標的にすると考えられており、創薬の重要な標的分子でもある。我々は、嗅覚受容体を除くほぼすべてのマウスGPCRに対して定量的PCRを迅速に行う方法を考案し、これまで神経系前駆細胞、運動神経核などに対して適用してきた。他方、アストロサイトに代表されるグリア細胞は、これまでの研究から、神経細胞の単なる支持細胞でなく神経細胞と積極的な物質的相互作用を行い、神経情報伝達の処理に深く関わっている細胞であることが明らかになっている。さらにアストロサイトには多様性・領域特異性が存在し、高度なグリア・ニューロン回路網を形成する要素となっていることも示されつつある。本特定領域研究において我々は情動行動とグリアの関連性に着目し研究を展開しているが、今回その一端として、マウス海馬由来培養アストロサイト、大脳皮質由来培養アストロサイト、扁桃体由来培養アストロサイトに前記定量的PCR法を適用し、各アストロサイトに特異的に、あるいは高レベルで発現するGPCRの同定を行うことにした。その結果、およそ20種以上のGPCRが各アストロサイトでその発現が高まっていることが判明した。その発現パターンは各アストロサイトで異なり、GPCRの発現においてもアストロサイトの多様性が検出される結果となった。現在同定されたGPCRの機能解析を進めているが、そのなかの一つであるニューロテンシン2型受容体（Ntsr2）は、神経細胞での発現が低くアストロサイトに特異性が極めて高かった。扁桃体由来培養アストロサイトにおいてもその高度な発現が確認されたことから、Ntsr2遺伝子欠損マウスについて扁桃体機能を反映すると考えられるfear conditioning testなどの行動学的解析を行ったところ、野生型対照に比べ恐怖記憶の形成が障害されていることが判明した。この結果はアストロサイトに特異的に発現するGPCRが扁桃体機能の制御に関わっていることを示す一例と考えられる。今後機能解析を行うGPCRを増やし情動におけるグリアの役割を明らかにしていく予定である。

G-protein coupled receptors (GPCRs) form the largest super-family of receptors. About 60% of medicines are thought to target GPCRs. We recently developed a novel strategy to screen GPCRs that are highly or selectively expressed in particular cells in the brain. Among ~300 GPCRs expressed in the adult mouse brain, we found that type 2 neurotensin receptor (Ntsr2) was highly expressed in mouse astrocytes. Mice lacking Ntsr2 showed altered emotional behaviors. Our observation suggests that Ntsr2 contributes to the proper function of the amygdala.

和田圭司（国立精神・神経センター神経研究所、部長）

ひとこと、グリアの重要性を諸先生方とともに研究できる喜びに浸っています。



神経外傷時のグリアによるマクロファージ制御

木山博資

(大阪市立大学医学研究科機能細胞形態学)

Glia/macrophage/neuron-interaction during neuronal regeneration

外傷や虚血により損傷を受けた中枢の神経細胞は脆弱であるが、末梢神経系の神経細胞には耐性があり生存再生する。この違いにはグリア細胞が大きく関与している。末梢神経系のグリア・ニューロン間相互作用の分子基盤の解明は、中枢神経系の保護再生へ向けて多くの情報を提供してくれる。私たちはこのような観点から、末梢神経系の損傷時に生存あるいは再生のために発現する分子の同定とその発現動態を解析してきた。一連の研究の中で、膵炎の時に分泌される蛋白として同定された *Pancreatitis-associated protein* (PAP)ファミリーが、神経の再生過程でグリア・神経・マクロファージをつなぐ新たなメディエーターとして浮かび上がってきた。PAPは *Regenerating gene* (Reg)とともに PAP/Reg ファミリーを形成する。このうち運動神経軸索損傷後に、運動神経細胞では PAP-I が、損傷神経（シュワン細胞）では PAP-III が発現することが明らかになった。PAP-II は損傷神経細胞からシュワン細胞へ動き、シュワンの増殖や運動ニューロンの保護に作用する。PAP-III の機能は不明であったが、マクロファージのケモアトラクタントとしての機能を有することを最近私たちは明らかにした。PAP-III は、既知のマクロファージケモアトラクタントである MCP-1 と同様あるいはそれ以上の活性を有しており、損傷神経にマクロファージを呼び込み障害遠位側の神経の変性を促進する。損傷遠位側では、マクロファージがミエリンや軸索の debris を取り除き、再生に有利な環境を作り出すと考えられており、マクロファージが再生に重要な役割を担っていると考えられている。実際ウイルスベクターを用いて PAP-III を過剰発現やノックダウンすることにより、マクロファージの集積を制御でき、さらに末梢神経の再生を促進あるいは抑制することができた。これらのことから、PAP-III は神経損傷に応答してシュワン細胞から放出され、マクロファージを介して、神経再生を促進する作用があると考えられる。このような PAP-III の発現応答は脊髄損傷の様な中枢神経系の障害ではあまり見られない。そこで、脊髄損傷において PAP-III の投与が神経再生促進作用を示すかどうかを検討したところ、PAP-III は損傷中枢神経修復作用を有することが明らかになった。

以上のことから、PAP-III は新たなグリア由来のマクロファージ作用因子であり、損傷神経の修復にかかわる新たな因子として位置づけられる。また、PAP/Reg ファミリーは神経損傷時の神経・グリア・マクロファージ間の液性因子と考えられ、グリアを加えた新たなネットワークの確立が期待される。

Pancreatitis-associated protein (PAP) family members are newly identified molecules. Of the family members, a function of PAP-III is revealed. PAP-III is induced and released from injured nerve (Schwann cells), and functions as a macrophage chemoattractant. In vivo the application of PAP-III in injured nerve and spinal cord promotes their recovery. PAP-III may be a major mediator between Schwann cells and macrophages as well as a factor that is crucial for neuronal regeneration.

木山博資（大阪市立大学医学研究科機能細胞形態学（第一解剖）、教授）

グリアは神経細胞が損傷や変性に立ち向かう上で不可欠な細胞です。グリアと神経細胞はいろいろな言葉でクロストークしています。またグリアは免疫系の細胞群ともクロストークできます。これらのトークをしっかりと聴き完全解読したいと考えています。

別項 1

別項 2

別項 3

別項 4

別項 5

別項 6

別項 7

別項 8

別項 9

別項 10



神経因性疼痛発症におけるミクログリアの関与

井上和秀

(九州大学大学院薬学研究院)

Involvement of microglia in neuropathic pain

痛みは我々が日常体験する感覚であり危険から回避するための大切な情報であるが、行き過ぎた痛みは抑えなければならぬ。現在、世界にはモルヒネも効かない痛み「神経因性疼痛」に罹患する患者が数百万人も存在し、救われ難い痛みを苦しんでいる。その原因は、ガンの浸潤、糖尿病性神経炎、外科手術の不手際、ヘルペスなど様々であるが、詳細なメカニズムは不明である。従って有効な治療法は確立されていない。

神経因性疼痛は知覚に關与する末梢および中枢神経が損傷をうけた結果生じることから、これまでは「神経損傷により異常な神経回路網が形成され、痛み伝達機能に変調が生じ、痛み認識に重大な錯誤が生じて引き起こされる」と考えられて来た。しかし、神経損傷情報がどのようにして神経回路網形成・異常機能発現を引き起こすのかなどメカニズムの全貌は現在ほとんど不明のままである。このような状況の中で、我々は、2003年に「神経因性疼痛が脊髄内ミクログリアの異常な活性化と、そこに発現するATP受容体P2X4の刺激により発症する」(図1)ことを報告し (*Nature* 424,778-783,2003 ;)、世界的な大きな反響を生んだ (*Nature* 424, 729-730, 2003; *Nature Review Drug Discovery* 2, 772-773, 2003; *JAMA* 290, 2391-2392, 2003 ; *Science* 308, 778-781,2005)。この論文を契機に、神経因性疼痛とグリアに関する研究が世界的に発展しつつあり、多くの研究者がこの分野に参入してきている。実際、昨年度の米国神経科学大会では、グリアーニューロン相互作用とATP、ミクログリアと神経因性疼痛などに関する報告が多かった。我々は、ごく最近、「P2X4刺激によりミクログリアから神経栄養因子が放出され、神経因性疼痛を引き起こす」という更に深化した発症メカニズムを発表した (*Nature*, in press ;)。本シンポジウムでは、研究の発端から、直近の研究成果までを紹介し、今後の研究のステラテジー (*Trend Neurosci* 28, 101-107, 2005)について多くの方々のご意見をいただきたいと思う。

Microglia play an important role as immune cells in the central nervous system. Recently, accumulating evidences indicate the important role of ATP receptors of activated microglia in the neuropathic pain. Neuropathic pain is often a consequence of nerve injury through surgery, bone compression, cancer, diabetes or infection. The expression of P2X4 receptor, a subtype of ATP receptors is enhanced in spinal microglia after peripheral nerve injury model, and blocking pharmacologically and suppressing molecularly P2X4 receptors produce a reduction of the neuropathic pain (Tsuda et al. *Nature* 424, 778-783, 2003). Diffusible factors released from activated microglia by the stimulation of purinergic receptors may have an important role in the development of neuropathic pain (Tsuda, M., Inoue, K., & Salter, M.W. *Trend Neurosci* 28, 101-107, 2005).

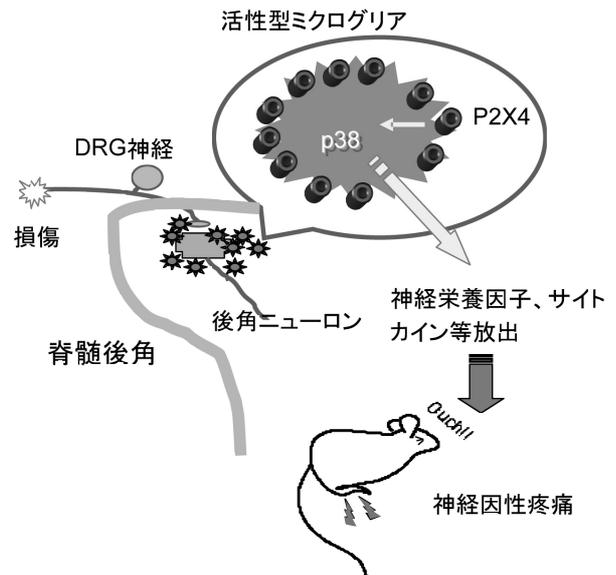


図 後根神経節ニューロン損傷による神経因性疼痛発症仮説

井上 和秀 (九州大学大学院薬学研究院・薬効解析学分野・教授)

本音で申し上げると嫌々開始した「ミクログリアにおけるATP受容体機能の解明」であったが、たちまちその魅力にとりつかれ、今では、アストログリアやミクログリアにおける機能こそATP受容体の最も重要な働きではないかと信じはじめています。特に、病態時のグリア系の働きとそこでのATP受容体の役割は極めて重要であると思う。それらがどのようにして神経機能を制御し、病態と関連するのかについて考えると、興味が尽きず、頭の中が異常興奮しそうである。とりあえず正常を保っているのはATPのお陰に違いない。また、モルヒネも効かない痛みにもミクログリアのATP受容体が関与している。多くの患者さんを救うためにも、いつか自分が自分の人格の破綻をきたさずに従容として死を迎えるためにも、現在の研究の成果として、過剰な痛みを抑える薬を開発したい。もっと話せば長くなるので、思い入れのほんの一端まで。



ホモシスチン尿症における高次脳機能障害へのアストロサイトの関与

榎戸 靖

(東京医科歯科大学 難治疾患研究所 神経病理学分野)

Cystathionine β -synthase and homocystinuria: possible involvement of astrocytic lineage cells in neurological disorders.

ホモシスチン尿症 (MIM236200) は先天性ホモシステイン代謝異常を特徴とするヒト常染色体性劣勢遺伝子疾患であり、骨形成異常、心臓疾患に加え、精神発達遅延、てんかん、うつ病、人格障害などの精神神経症状を示すことが知られている。責任遺伝子産物であるシスタチオニン β -シンターゼ (CBS) とホモシスチン尿症との関係は、精神発達遅延を指標としたスクリーニングによって今から40年以上前に既に明らかとされているが (Mudd et al., (1964) *Science* **143**, 1443-1445)、脳神経系におけるCBSの機能はこれまで多くの研究にも関わらず依然明らかではない。一方興味深いことに、近年、生体内におけるホモシステイン代謝異常がアルツハイマー病やうつ病、統合失調症等のリスクファクターとなることが報告され (Seshadri et al., (2002) *N Eng. J. Med.* **346**, 476-483; Morris (2003) *Lancet Neurol.* **2**, 425-428; Mattson and Shea (2003) *TINS* **26**, 137-146; Muntjewerff et al., (2005) *Mol. Psychiatry* e-pub ahead of print)、脳神経系におけるホモシステイン代謝の重要性について多くの関心が集まりつつある。

こうした中、我々はホモシステイン代謝経路の鍵酵素として脳神経系に広く存在すると考えられてきたCBSが、胎生期から成熟期のアストロサイト系譜細胞で特異的に発現していることを見出した。CBSの発現は幼若期の脳神経系で最も高く、その後成熟に伴って減少する。また、てんかん発作後に出現する活性化アストロサイトで顕著なCBSの発現誘導が見られることに加え、CBS遺伝子欠損マウスでは神経芽細胞の増殖低下を伴った脳形態形成異常が観察された (Enokido et al., (2005) *FASEB J.* **19**, 1854-1856)。さらに興味深いことに、アストロサイトにおけるCBSの発現はいくつかの神経伝達物質によって制御されるとともに、幼若期のCBS遺伝子欠損マウス脳ではNMDA型グルタミン酸受容体の活性調節に働くと考えられるD-セリンの含量が有意に低下していた。

本研究はホモシスチン尿症で見られる精神神経症状が脳神経系の発達障害に起因するものだとする仮説を支持するとともに (Rosenquist and Finnell (2001) *Proc. Nutr. Soc.* **60**, 53-61; Mattson and Shea (2003) *TINS* **26**, 137-146)、今後、ニューロン-アストロサイト相互作用の異常によって生じる様々な精神神経疾患の発症メカニズムおよびその治療法を考える上で貴重な手がかりとなることが期待される。

A deficiency of cystathionine β -synthase (CBS) causes homocystinuria (MIM 236200), one of the most prevalent inborn errors, characterized by mental retardation, seizures, psychiatric disturbances, skeletal abnormalities and vascular disorders; however, the underlying mechanisms remain largely unknown. To elucidate the role of CBS in the nervous system, we have examined the regional and cellular distribution of CBS in the CNS and the effect of CBS deficiency on the normal brain development.

榎戸 靖 (えのきど やすし)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 神経病理学分野 助教授

大学院に入学して以来、これまで脳神経に関わる仕事を続けてきました。今回、全くの偶然からグリア研究の門を叩くこととなり、ある先輩からは「なんちゃってグリア？」などと冷やかされたりもしています。が、しかし、予想もしていなかった結果から新しい研究テーマが見つかることは、研究者にとってとても幸せなことだと思っています。特に、神経疾患とアストロサイトとの関係については現在でも未知のテーマが多いことを知り、「これはチャンス！」とばかりにがんばって行きたいと考えています。

1. Enokido Y, Suzuki E, Iwasawa K, Namekata K, Okazawa H and Kimura H. (2005) Cystathionine β -synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. *FASEB J.* **19**, 1854-1856.
2. Namekata K, Enokido Y, Ishii I, Nagai Y, Harada N and Kimura H (2004) Abnormal lipid metabolism in cystathionine β -synthase-deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. *J. Biol. Chem.* **279**, 52961-52969.

別項 1

別項 2

別項 3

別項 4

別項 5

別項 6

別項 7

別項 8

別項 9

別項 10



アレキサンダーモデル動物の開発と そのグリア研究における意義

池中一裕

(自然科学研究機構 生理学研究所)

Alexander disease model mouse

アストロサイト特異的に発現する遺伝子の異常が原因となるアストロサイト特異的疾患は意外と知られていない。アストロサイト特異的マーカーとして広く知られている Glial fibrillary acidic protein (GFAP) の点変位によってアレキサンダー病が発症することが2001年に発表され、これが最初のアストロサイト特異的疾患の報告であった。我々は、アストロサイトの機能を明らかにするために、アストロサイト特異的疾患モデルとしてアレキサンダー病モデルマウスを樹立することを試みた。

マウス GFAP プロモーター制御下で変異ヒト GFAP を発現させたトランスジェニックマウスを作成した。アレキサンダー病の2大病理所見として Rosenthal fiber と呼ばれるエオジン好性の凝集体と leukodystrophy がある。まず、モデルマウスにおいて病理所見が再現されているか調べた。モデルマウスにおいてもエオジン好性、GFAP 陽性、低分子量ヒートショック蛋白質陽性の凝集体が存在していた。電子顕微鏡による観察では、オスミウム親和性の電子密度の高い構造物が細胞質内に存在し、その構造物は中間径フィラメントに連続していた。凝集体の分布は、海馬、嗅球、淡蒼球、白質、グリア境界膜、血管周囲といった内因性マウス GFAP の発現の強いところに限って分布していた。ミエリンは正常に保たれており、leukodystrophy は認められなかった。凝集体は生後14日から観察されるようになり、生後21日で凝集体形成がほぼ完成する。それ以後、凝集体の量・分布に大きな変化は無く、成体まで持続する。エオジン染色では、凝集体は一つの大きな塊として染色されるが、GFAP 染色では棒状や球状の小さな塊が細胞質内に散在するかたちで染色される。中間径フィラメントによる細胞骨格が異常になったときに、アストロサイトの形態にどのような変化が観察されるか調べた。ルシファーイエローをアストロサイト細胞質内に注入し、細胞の形態と GFAP を同時に観察したところ、モデルマウスのアストロサイトの形態は正常と同様であり、微細な突起も正常と同様であった。モデルマウスではアストロサイト細胞質内に GFAP 凝集体を持つ以外に、大きな形態変化は認められなかった。

次にアレキサンダー病の臨床症状がモデルマウスに出現するか調べた。アレキサンダー病の患児ではてんかん、精神発達遅滞、巨大脳症がおり、最終的に死に至る。モデルマウスでは脳のサイズは正常であり、情動が関与する記憶に関しては正常群と比べて差がなかった。寿命については検討中であるが、生後1年は生存する。自発的なけいれん発作は観察されなかった。以上の結果から、てんかんや精神発達遅滞は、GFAP の凝集体の存在そのものよりもむしろヒトで併発する leukodystrophy に依存すると考えられた。他の研究者もアレキサンダー病モデルマウスを発表しているが、そこでも leukodystrophy は再現出来ていない。なぜヒトにおいて GFAP の凝集体が存在するとミエリンの異常が起こるのか、なぜマウスにおいて GFAP の凝集体が存在してもミエリンの異常が起こらないのかについてはトピックの一つになっており、まだ解答は得られていない。

モデルマウスでは自発性てんかんを起こさないが、カイニン酸投与後のけいれん感受性が正常マウスよりも有意に高かった。遺伝子組み換えの手法を用いて、モデルマウスから海馬を含む背側終脳の凝集体を消失させ、凝集体の発現部位とカイニン酸のけいれん易感受性にどのような関連があるか調べた。海馬を含む背側終脳の凝集体が消失したマウスにおいてもけいれん易感受性は残存したが、致死率の減少が観察された。この手法を展開していけば脳のどの部位のアストロサイトに凝集体が形成されるとけいれん易感受性が獲得されるか明らかにすることが出来る。同様に、別の表現型に対しても、この手法を用いることが出来、どの領域のアストロサイトに凝集体が存在するとその表現型が出現するのか調べることが出来る。

Alexander disease is caused by heterozygous mutation in glial fibrillary acidic protein (GFAP). The pathological hallmark is the presence of astrocytic GFAP aggregation called Rosenthal fibers (RF). To understand the pathophysiology of Alexander disease and utilize those results to the understanding of normal function of astrocytes in vivo, we have established transgenic mice that express human GFAP R239H mutant under the control of mouse GFAP promoter.

池中一裕 (自然科学研究機構・生理学研究所、教授)

グリア細胞が脳機能発現に大きな役割を果たしていると言って多くの人が驚かなくなる時代が来るとは思いませんでした。今度はニューロンより大事だと言っても良い時代を作りたいですね。