

2006年10月18日

独立行政法人 理化学研究所
独立行政法人 科学技術振興機構

神経細胞の“樹状突起”を形成する仕組みに新たな知見

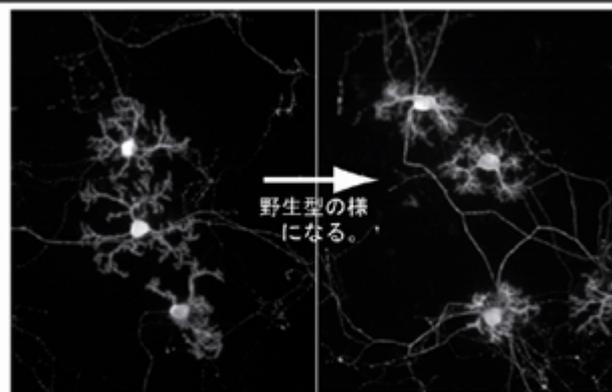
- 顆粒細胞中のIP₃受容体が神経ネットワークの形成に関与 -

私たちは熱湯を触ると“熱い!”と感じ、水で冷やそうと手で水道の蛇口をひねりまします。このような感覚や運動は、実は、脳の中にある神経伝達物質を用いた情報のリレーによって起こっています。そして、情報伝達の間である神経ネットワークの異常で、行動や学習に障害を来たすことが知られています。

理研脳科学総合研究センター 発生神経生物研究チームらは、神経細胞がネットワークを作るのに重要な「樹状突起」の形成において、神経細胞のひとつである顆粒細胞中の「イノシトール三リン酸 (IP₃) 受容体」が重要な働きをすることを明らかにしました。顆粒細胞中のIP₃受容体が、神経栄養因子のひとつ「BDNF」の発現を調節することにより、小脳皮質内の「プルキンエ細胞」の樹状突起形成を制御していたのです。

今後は、この制御機構が運動を司る小脳以外の神経細胞にも共通する現象なのかを明らかにするとともに、3種類のIP₃受容体が脳における神経ネットワークの形成、記憶や学習などの複雑な脳機能にどのような働きをするのか総合的に理解することが期待されます。ゆくゆくは、神経の発達異常や脳機能障害の病因解明・治療、老化の制御など、未来への医療へとつながっていくでしょう。

IP₃受容体欠損型プルキンエ細胞



BDNF無し

BDNF添加

(図) IP₃受容体が欠損し異常な形態となったプルキンエ細胞に、BDNFを与えると、正常な野生型のような形態となる。

2006年10月18日

独立行政法人 理化学研究所
独立行政法人 科学技術振興機構

神経細胞の“樹状突起”を形成する仕組みに新たな知見

- 顆粒細胞中のIP₃受容体が神経ネットワークの形成に関与 -

◇ポイント◇

- ・ イノシトール三リン酸 (IP₃) 受容体の欠損により樹状突起形成に異常が発生
- ・ IP₃受容体からのカルシウム放出が樹状突起形成に重要な神経栄養因子の発現を調節
- ・ プルキンエ細胞の樹状突起の形成制御は、顆粒細胞中のIP₃受容体を介して行われる

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、独立行政法人科学技術振興機構（JST、沖村憲樹理事長）と共同で、神経細胞が神経ネットワークを構築する際に必要な樹状突起の形成において、神経細胞の一つである顆粒細胞中のイノシトール三リン酸 (IP₃) 受容体*1が重要な働きをしていることを発見しました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）発生神経生物研究チーム及びJST発展研究カルシウム振動プロジェクトの研究代表者である御子柴克彦チームリーダー（東京大学医科学研究所教授）、久恒智博研究員（同研究所助手）らによる研究成果です。

神経細胞は、樹状突起にある受容体で神経伝達物質を受け取ると、それを電気信号に変換します。この電気信号は、軸索を伝達してゆき、末端に達するとグルタミン酸などの神経伝達物質を放出します。この神経伝達物質を次の神経細胞が受け取ることで、情報を伝達していきます。このように神経細胞及び神経伝達物質を介して情報をリレーすることにより、神経細胞はネットワークを形成していきます。この神経細胞のネットワークは、学習や記憶、運動の制御にとって非常に重要で、このネットワークの異常は、行動や学習に障害をきたすことが知られています。

研究グループでは、IP₃受容体の一つのタイプを働かなくしたマウスの小脳*2で、プルキンエ細胞*3の樹状突起の形成に異常が発生することを発見しました。また、IP₃受容体からのカルシウム放出が、樹状突起形成に重要な働きをする神経栄養因子*4の一つBDNF*5の発現を調節していることが分かりました。さらに、樹状突起形成制御は、自身の細胞内にあるIP₃受容体が関与しているのではなく、神経細胞の一つである顆粒細胞に発現しているIP₃受容体に依存していることを突き止めました。つまり、顆粒細胞中のIP₃受容体が、神経栄養因子の一つBDNFの発現を調節することにより、プルキンエ細胞の樹状突起形成を制御していたのです。

これまでの研究から、IP₃受容体は、神経の軸索伸展に重要な働きをすることは示唆されてきました。今回の発見は、顆粒細胞中にIP₃受容体が存在することを明らかにするとともに、神経樹状突起の形成という、神経ネットワークの形成に貢献していることを生体内で初めて示した大変意義のある研究成果です。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*The Journal of Neuroscience*』（10月18日号・オンライン）において、“This Week in The Journal”として大きく取り上げられます。

1. 背景

脳は、神経細胞同士が結びつき、巨大なネットワークを形成することにより、学習や記憶、運動の制御といった、さまざまな機能を発揮します。ネットワークの構築に重要な働きを果たす神経細胞は、樹状突起、細胞体（細胞本体）、軸索の3つの部分から成り立っており、軸索の先端にあるシナプスを介して、別の神経細胞とつながり合っています。外部からの刺激は、樹状突起が受け取り、神経細胞内で電気信号に変換され、軸索を通り、軸索の末端に達するとグルタミン酸などの神経伝達物質を放出し、この神経伝達物質を次の神経細胞が受け取ることで、情報を伝達します（図1）。

一方、カルシウムは、細胞内の情報伝達物質として非常に重要な働きをしています。しかしながら、その機能を発揮するためには、適切な濃度とその時間的変化が大切であり、多大なカルシウム上昇は細胞を死に至らすことが知られています。イノシトール3リン酸（IP₃）受容体は、細胞内のカルシウム貯蔵庫にあるイオンチャンネルで、細胞外の刺激に応じて貯蔵庫からカルシウムを放出し細胞内カルシウムの濃度を変化させる大切な分子の一つです。これまでこのIP₃受容体には、3種類のタイプがあることが明らかになっており、このうちタイプ1のIP₃受容体（IP₃R1）は、脳の神経細胞で非常に多く発現しています。

研究グループは、1996年に遺伝子組み換え技術を用いて、IP₃R1を欠失したマウスを作成し、この組み換えマウスが小脳失調やてんかんを起こすこと、記憶のモデルとされる神経可塑性に異常があることを発見しています。しかしながら、これまでIP₃R1を欠損したマウスの神経樹状突起の伸展に異常があるかどうかはまったく明らかにされていませんでした。

2. 研究手法と成果

研究グループは、まず初めに、野生型のマウスとIP₃R1を欠損した組み換えマウス、それぞれの小脳にある細胞を培養しました。培養した細胞中には、小脳の主要な神経細胞であり、樹状突起が発達しているプルキンエ細胞のほか、数種類の神経細胞とグリア細胞が含まれています。培養したプルキンエ細胞の樹状突起の伸展の異常の有無を調べた結果、IP₃R1を欠損した組み換えマウス由来のプルキンエ細胞は、野生型のものに比べ、樹状突起の枝分かれが少なく、また長く伸びていることが分かりました（図2）。

次に培養細胞中のどの細胞にあるIP₃R1が、プルキンエ細胞の樹状突起伸展を調節しているかを明らかにすることにしました。その際、二つの仮説を立てました。一つ目は、プルキンエ細胞にあるIP₃R1が、自身の樹状突起伸展を制御する仮説。二つ目は、プルキンエ細胞以外の細胞にあるIP₃R1が、細胞間のコミュニケーションを介してプルキンエ細胞の樹状突起の伸展を制御するという仮説です（図3A）。

この二つの仮説を調べるために、研究グループでは、野生型の細胞とIP₃R1欠損型の細胞を混ぜて培養するという、非常に単純な実験を行いました。つまり、この実験系では、野生型とIP₃R1欠損型のプルキンエ細胞の周りの環境はどちらも同じであり、もしプルキンエ細胞自身のIP₃R1が樹状突起の伸展に重要であれば、もともとIP₃R1が非常に多く発現している野生型のプルキンエ細胞とIP₃R1欠損型のプルキンエ細胞との樹状突起の伸展に差が出るはずですが、ところが、野生型とIP₃R1

欠損型のプルキンエ細胞の樹状突起の伸展には差が無くなりました。(図 3B)。つまり、この結果は、プルキンエ細胞以外の培養細胞中にあったIP₃R1 が、細胞間のコミュニケーションでプルキンエ細胞の樹状突起の伸展を制御していることを示唆しています。

次に、プルキンエ細胞に情報伝達する主な神経細胞の一つである顆粒細胞がプルキンエ細胞樹状突起伸展制御に関わる可能性を調べました。まず顆粒細胞に3種類のIP₃受容体の内、今まではあまり存在していないと考えられていたIP₃R1 が一番多く発現していることを明らかにしました(図 4A)。

顆粒細胞は、細胞外刺激に応じて、樹状突起伸展に重要な働きをする神経栄養因子の一つ「BDNF」を産生することが知られています。また一方、この細胞外刺激がIP₃R1 を介してカルシウムを放出する可能性があることから、カルシウム放出とBDNFの発現の関係に着目しました。その結果、IP₃R1 を欠損した組み換えマウスの顆粒細胞では、細胞外刺激に応じたカルシウム貯蔵庫からのカルシウムの放出がほとんどないことが分かり、また刺激に応じたBDNFの発現上昇も少ないことを明らかにしました(図 4B,C)。さらにこの結果をもとに、BDNFをIP₃R1 欠損型の小脳の培養細胞に添加すると、IP₃R1 欠損型のプルキンエ細胞の樹状突起伸展は正常に戻ることも分かりました(図 4D)。

さらに研究グループでは、実際のマウスの小脳においてプルキンエ細胞の樹状突起の形態を明らかにすることにしました。プルキンエ細胞に蛍光物質をいれて特殊な顕微鏡で樹状突起を可視化して観察した結果、野生型のプルキンエ細胞が非常に整然とした美しい樹状突起伸展を示すのに対し、IP₃R1 欠損型のプルキンエ細胞の樹状突起伸展は大きく乱れていることを発見しました(図 5A)。これは樹状突起の枝分かれが減少していることが原因の一つと考えられ、上記の培養細胞を用いた知見と一致しました。また、電子顕微鏡による観察の結果、IP₃R1 欠損型の小脳顆粒細胞の軸索の末端には、神経伝達物質を含むと思われる顆粒が異常に蓄積していることが分かり、顆粒細胞とプルキンエ細胞間のコミュニケーションに異常があることを示唆しています(図 5B)。

また、神経栄養因子のBDNFが軸索末端からの神経伝達物質の放出を調節するという以前の研究の知見と合わせると、顆粒細胞でIP₃受容体を介して作られたBDNFが、顆粒細胞自身の軸索に作用して神経伝達物質の放出を制御していると考えられます(図 6)。

3. 今後の期待

研究グループは、生体内でプルキンエ細胞の樹状突起の伸展が、小脳顆粒細胞に発現するIP₃R1 を介して、細胞間の情報伝達を制御していることを初めて明らかにしました。今後は、IP₃受容体を介した貯蔵庫からのカルシウム放出の下流で、BDNFの発現を調節している詳細な分子メカニズムが解明されることが期待されます。また、今回示したIP₃受容体を介した神経樹状突起の伸展制御機構が、他の脳領域の神経細胞にも共通する現象なのかどうかも明らかにする必要があります。

一方、以前から培養細胞を用いて示唆されているIP₃受容体が神経細胞の軸索伸展やガイダンスに重要な働きをするという現象に関しては、既存のIP₃受容体欠損マウスには明らかな異常が見られていません。その一つの可能性として、3種類の

IP₃受容体が、相互に他のIP₃受容体の欠損を補っていることが考えられます。今後は、たくさんある神経細胞のうち、ある一部の神経のIP₃受容体を無くしたマウスや、IP₃受容体の3種類をすべて欠損したマウスを作成し、それぞれの神経のIP₃受容体が脳における神経ネットワークの形成、記憶や学習などの複雑な脳機能にどのような働きをしているのかが、総合的に明らかにされることが期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 発生神経生物研究チーム

チームリーダー 御子柴 克彦

Tel : 048-467-9745 / Fax : 048-467-9744

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

独立行政法人科学技術振興機構

戦略的創造事業本部特別プロジェクト推進室

調査役 黒木 敏高

Tel : 048-226-5623 / Fax : 048-226-5703

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

独立行政法人科学技術振興機構

広報・ポータル部 広報室

Tel : 03-5214-8404 / Fax : 03-5214-8432

<補足説明>

※1 イノシトール三リン酸(IP₃)受容体

細胞内のカルシウム貯蔵庫の一つである小胞体膜上に存在するカルシウム放出チャネル。細胞外情報物質(ホルモンや神経伝達物質など)であるイノシトール三リン酸(IP₃)が、細胞膜にある受容体に結合することでチャネルが開き、小胞体内のカルシウムを細胞質に放出する。IP₃受容体のカルシウム放出活性は低濃度のカルシウムで活性化され、高濃度で抑制される。

※2 小脳

運動や平衡感覚の調節の中枢。

※3 プルキンエ細胞

小脳皮質に一層に並ぶ大型の神経細胞。小脳の中で唯一の出力細胞。

※4 神経栄養因子

神経細胞の生存や機能の維持に重要なタンパク質の一つ。

※5 BDNF

Brain-Derived Neurotrophic Factor（脳由来神経栄養因子）の略。

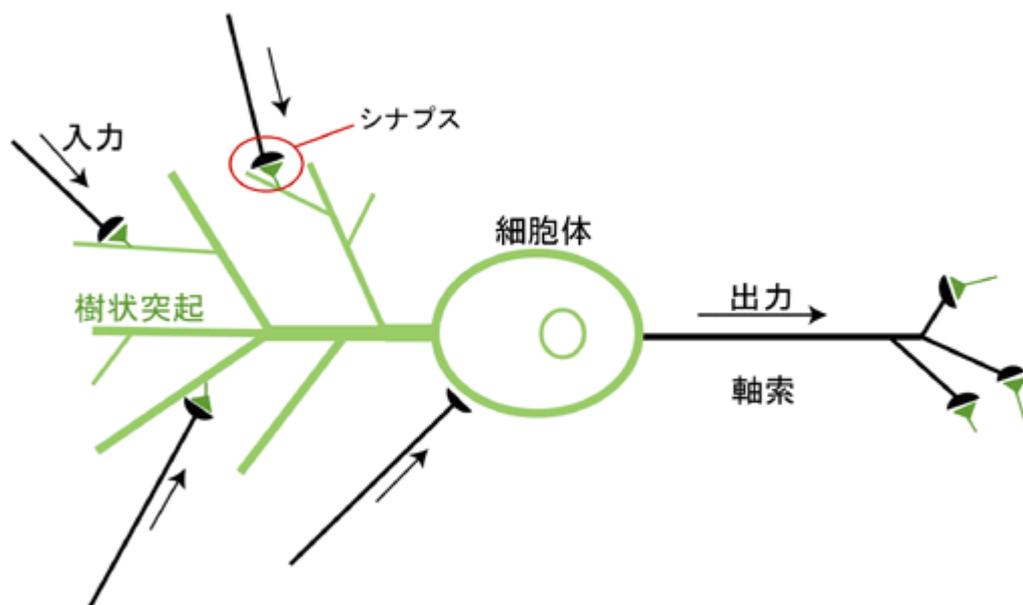


図1 神経細胞の構造

樹状突起、細胞体、軸索の3つの部分からなる。細胞体が本体で、樹状突起（入力部分）から刺激を受け、その刺激を軸索（出力部分）からシナプス（情報伝達部分）を介して次の神経に伝えることで、神経ネットワークを形成する。

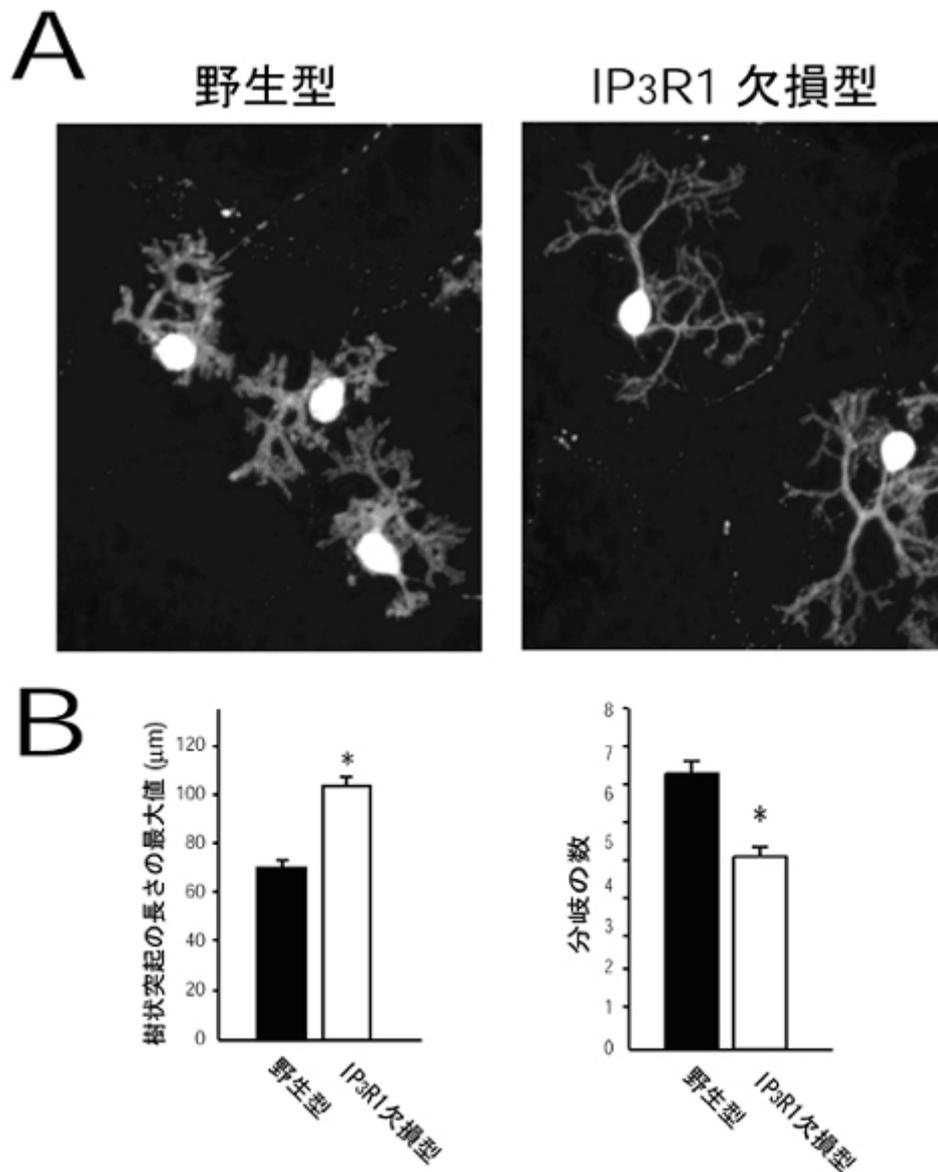


図2 IP₃受容体タイプ1 (IP₃R1) を欠損したプルキンエ細胞の樹状突起伸展異常

プルキンエ細胞に発現するカルビンデインタンパク質を抗体で染色してある。IP₃R1を欠損したプルキンエ細胞の樹状突起は長くなり、また分岐数が野生型のものに比べ少ない。注意：図では、プルキンエ細胞のみが標識してあるが、その周りにはたくさんのほかの種類細胞が存在する。

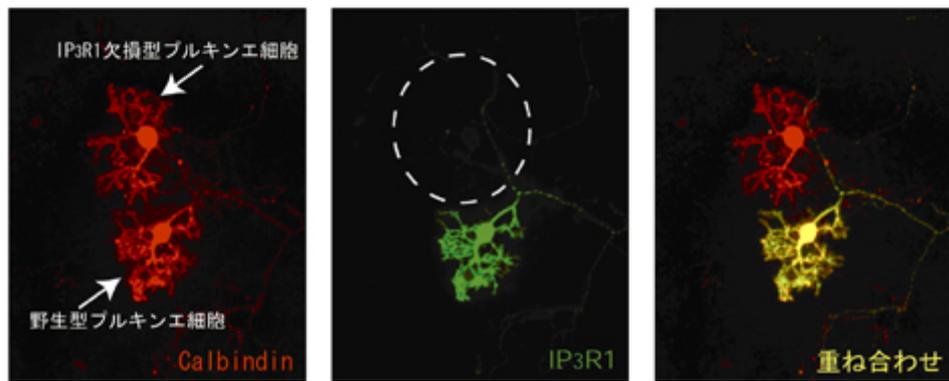
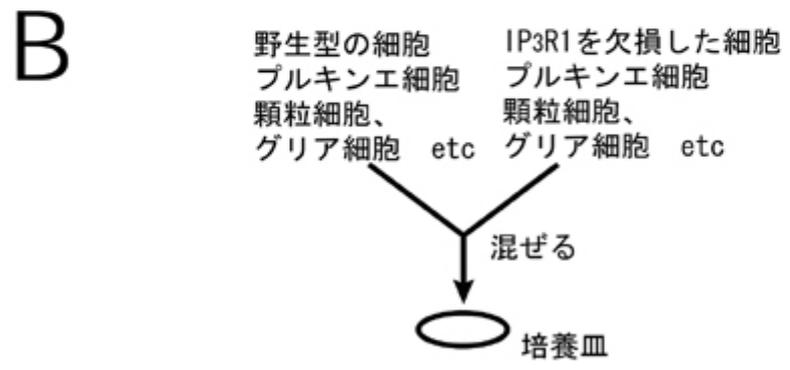
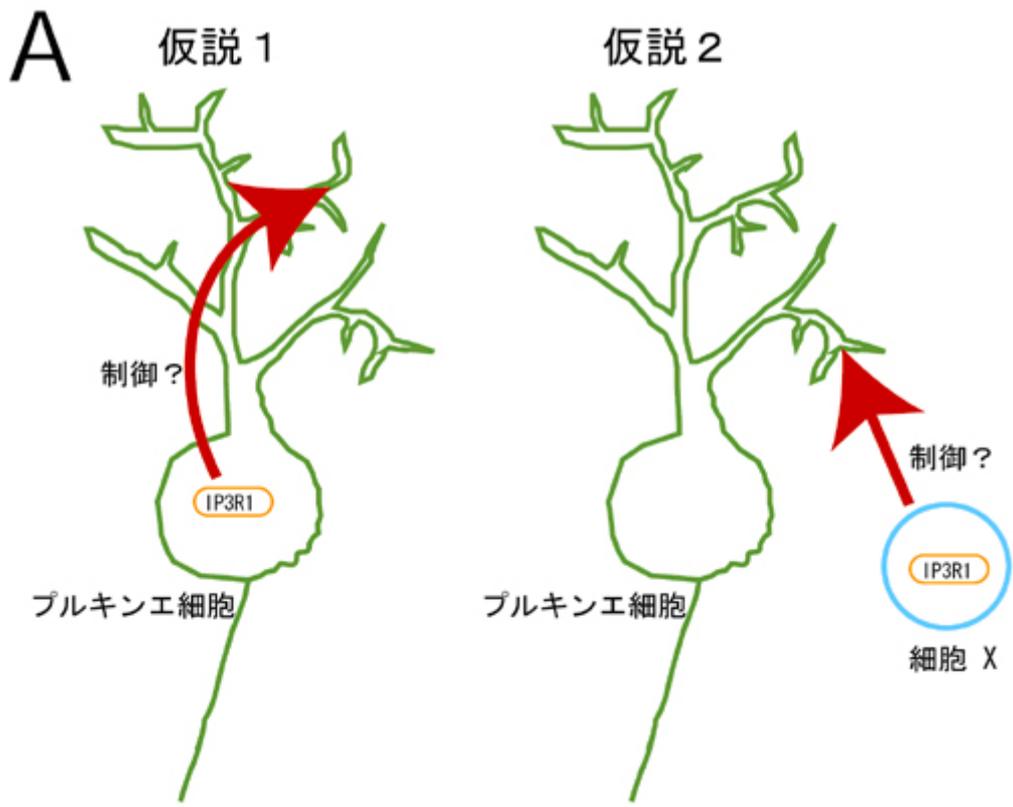


図3 プルキンエ細胞以外の細胞にあるIP₃R1によるプルキンエ細胞樹状突起伸展の制御

(A) IP₃R1がプルキンエ細胞の樹状突起形成を制御する二つの可能性。
 (仮説1) プルキンエ細胞にあるIP₃R1が自身の樹状突起伸展を制御する場合。

(仮説 2) プルキンエ細胞以外の細胞XにあるIP₃R1 がプルキンエ細胞の樹状突起伸展を制御する場合。

(B) 野生型の細胞とIP₃R1 を欠損した細胞を混ぜて培養し、周りの環境を同じにすると、野生型とIP₃R1 欠損型のプルキンエ細胞の形態に差が無くなる。これは、プルキンエ細胞以外の細胞にあるIP₃R1 がプルキンエ細胞の樹状突起伸展に重要な働きをすることを示唆する。

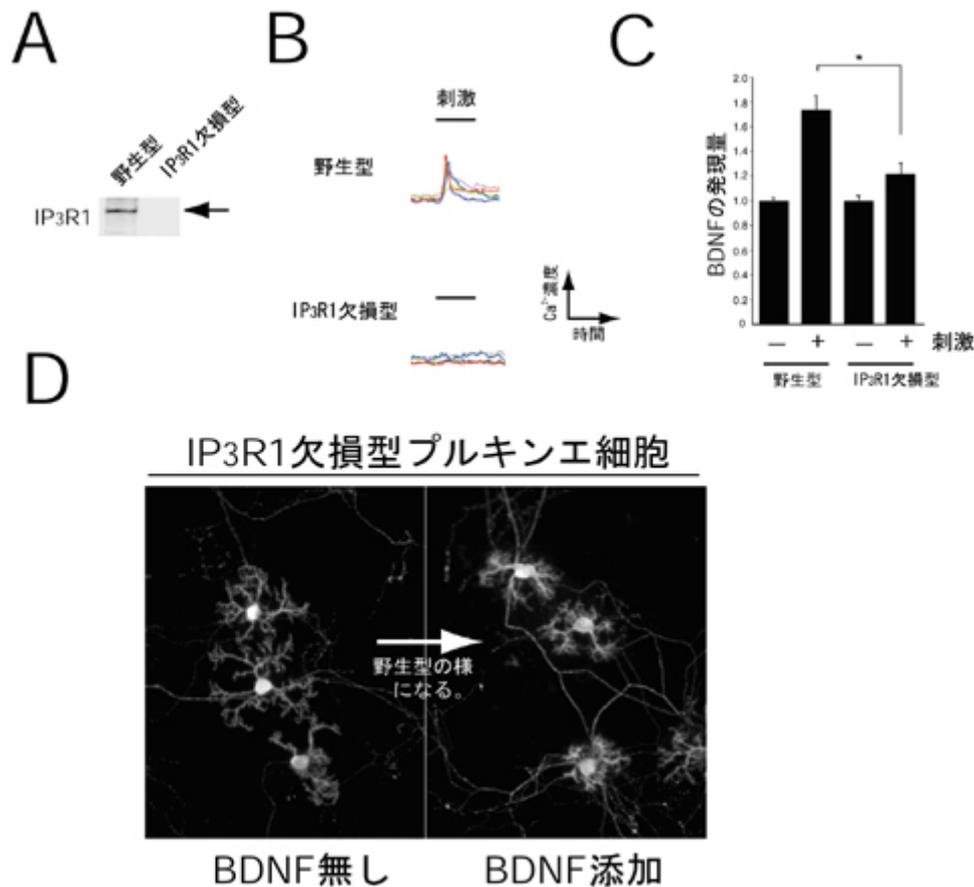


図 4 顆粒細胞にIP₃R1 が発現し、細胞内カルシウム貯蔵庫からカルシウムを放出する

- (A) 顆粒細胞にIP₃R1 が発現する。矢印がIP₃R1 タンパク質であり、IP₃R1 欠損マウスにはこのタンパク質が見られない。
- (B) 刺激に応じたカルシウム貯蔵庫からのカルシウムの放出が、野生型の顆粒細胞にはあるが、IP₃R1 欠損型の細胞には見られない。
- (C) 刺激に応じた神経伝達物質のBDNFの発現がIP₃R1 欠損型の顆粒細胞は野生型に比べて少ない。
- (D) BDNFを与えると、IP₃R1 欠損型プルキンエ細胞の異常な形態は正常に戻り、

野生型のようになる。

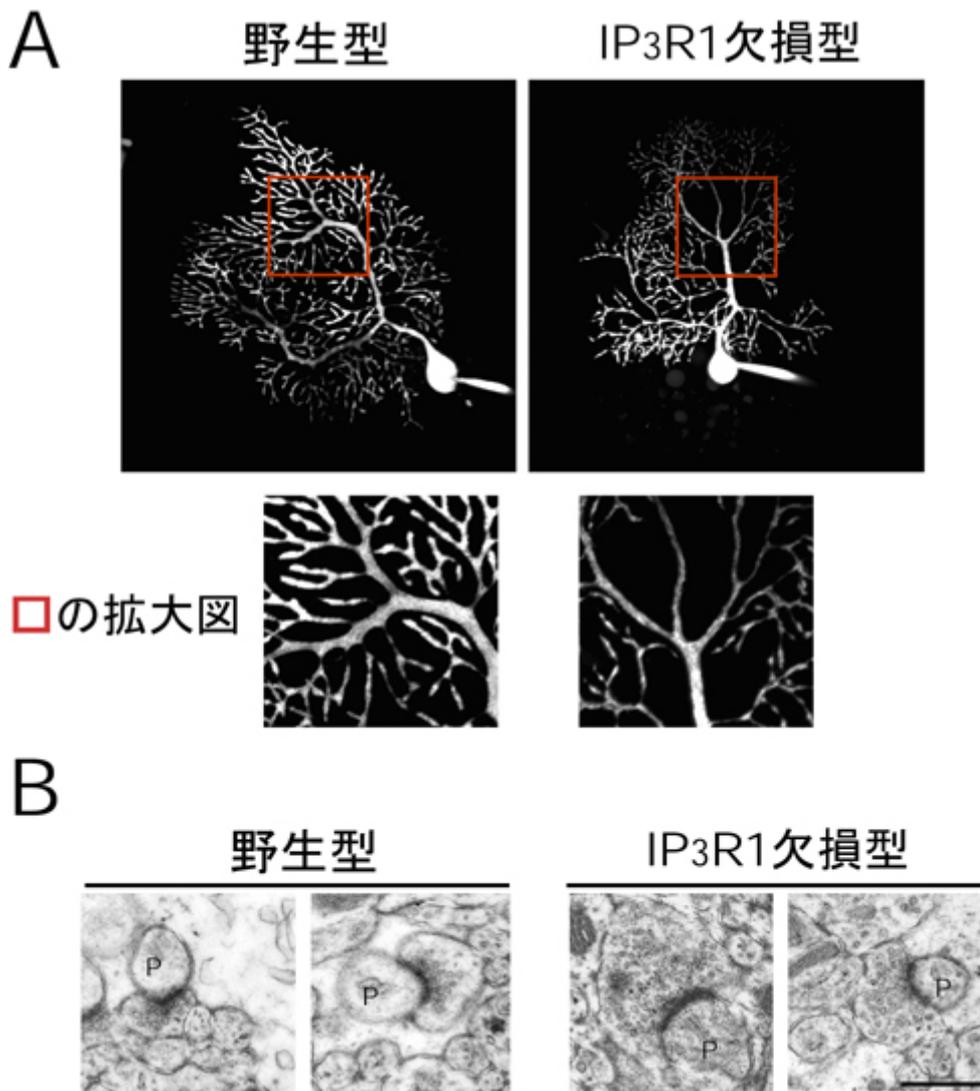


図5 野生型とIP₃R1欠損型マウスのプルキンエ細胞の生体内での形態

- (A) IP₃R1欠損型プルキンエ細胞は、分岐数が減っており、樹状突起の全く無い領域が存在する。
- (B) プルキンエ細胞と顆粒細胞のシナプスの電顕像。IP₃R1欠損型の顆粒細胞の神経終末は、肥大し中にたくさんの神経伝達物質を含んだ粒が見られる。これは、顆粒細胞からプルキンエ細胞への情報伝達がうまくいっていないことを意味する。

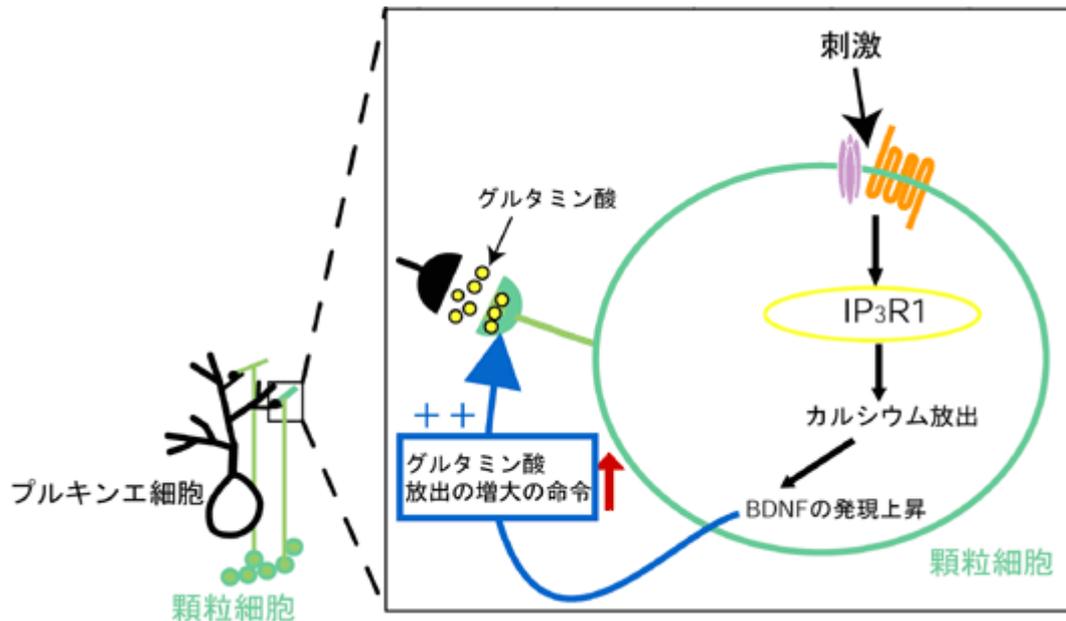


図6 今回の研究で予想されるIP₃R1を介したプルキンエ細胞の樹状突起の形成制御

顆粒細胞にあるIP₃R1は、細胞外刺激によりカルシウムを貯蔵庫から放出する。その結果、神経栄養因子のBDNFが作られる。顆粒細胞で作られたBDNFは、自身の軸索終末に作用してグルタミン酸の放出を増大させる。プルキンエ細胞は、顆粒細胞からのグルタミン酸を情報として、樹状突起の形成を行う。