

細胞分子モーターの働きが脳の神経伝達や学習に関わる機構を解明

ポイント；研究の概要

- 細胞内の輸送タンパク、ミオシン Va の神経系における働きを、分子・細胞レベルから高次脳機能へと至る一連の過程で解明することを目的とした研究を行った。
- 上記目的のため、ミオシン Va 遺伝子に変異を持つ突然変異マウスを用いて研究した結果、このマウスの小脳プルキンエ細胞ではシナプス伝達を受容する場所である **スパイン*1** に小胞体（細胞内 Ca^{2+} ストア）と **IP3 レセプター** が欠如していた。
- これによって、小脳の **シナプス可塑性*2** である **長期抑圧(LTD)*3** が誘発されず、そのためこのマウスでは **瞬目反射条件付け*4** による **運動学習*5** が成立しなかった。
- マウスは、生後早期より歩行障害や痙攣などの神経症状を表すが、ヒトにおいても重篤な神経症状を持つミオシン Va 遺伝性疾患が報告されている。
- 本研究は、スパインという神経細胞の先端にあるローカルな場所でのミオシン Va の働きが、ヒトの遺伝性疾患の病因に関わっていることを示唆した。

背景

細胞内で絶えず新しく作られている様々な分子やオルガネラは、本来の働く場所へと正確に運ばれて始めて機能することができる。細胞内には、数種類の運び屋タンパク（モータータンパク）が存在するが、神経細胞のように長い突起を持つ特異な形態をした細胞においては、神経伝達機能に関わる分子を細胞体から遠く離れた局所へと運ぶモータータンパクの役割がことさら重要になる。ミオシン Va は、主に細胞の辺縁でアクチン線維に沿って動きながら、小胞や分泌顆粒、mRNA などをローカルに運ぶモータータンパクであり、ほ乳類では皮膚や神経組織に豊富に発現している。しかながら、神経細胞におけるミオシン Va の働きは、まだよく解明されておらず、特にどのような神経機能と結びついていのかは分かっていなかった。

研究の内容

ミオシン Va 遺伝子に変異を持ち、そのためミオシン Va タンパクがほとんど

作られない自然発症の突然変異マウス (dilute-neurological; *d-n*) を用いて以下の研究を行った。*d-n* マウスは、被毛の淡色と生後 10~11 日以降に運動失調や痙攣性発作を表す(図 1)。しかしながら、このような神経症状は生後 2~3 週をピークとして 1 ヶ月を過ぎると著しく軽減する。神経症状を表している生後発達期のマウス小脳を電子顕微鏡法や免疫組織化学法で研究したところ、小脳神経回路の中心となるプルキンエ細胞の樹状突起スパインに小胞体と IP3 レセプターが欠如していた。小胞体は、神経細胞では細胞内の Ca^{2+} ストアとして働き、また、IP3 レセプターは細胞内の Ca^{2+} 代謝の調節に重要な働きをしている。一方、プルキンエ細胞の細胞体や樹状突起には、小胞体と IP3 レセプターが正常に局在していた。

スパインでは、受容したシナプス刺激の伝達効率を変化させるなど、さまざま神経伝達の情報処理が行われている。電気生理学的な解析では、小脳運動学習の細胞レベルでの基礎過程と考えられている長期抑圧(LTD)が誘発されなかった。続いて、脳の高次機能である学習への関わりを研究するための行動実験として、瞬目反射条件付けを行った。瞬目反射条件付けは、これまで幼弱マウスへの適用が困難であったが、今回、実験技術(電極や手術法)の改良や解析方法を開発したことで、発達期の *d-n* マウスで小脳運動学習を研究することが可能となった。その結果、運動学習の障害が明らかとなった。なお、発達期 *d-n* マウスのプルキンエ細胞スパインにおける小胞体と IP3 レセプターの欠損、LTD の障害は、我々がすでにミオシン Va を完全に欠損したマウス(*dilute-lethal*, *d-l*) とラット (*dilute-opisthotonus*, *dop*) の研究で報告した結果 (Neuron, 28:233-244, 2000) と一致した。前研究では、これらの動物が重篤な神経症状のため生後 3 週目頃に死亡してしまうことから、行動実験を行うことが出来なかった。更に、正常な培養プルキンエ細胞に、ミオシン Va 遺伝子の siRNA *6 を導入して機能阻害を行ったところ、多くのスパインで IP3 レセプターが欠損していた。

ところで、神経症状の回復(軽減)した成獣マウスで同様の研究を行うと、大変興味深いことに、プルキンエ細胞のスパインに小胞体や IP3 レセプターが不完全ながら局在し、これによって LTD が誘発され、また瞬目反射条件付きも正常に学習が成立した。そして、この時期のプルキンエ細胞には弱いながらもミオシン Va の発現が観察された。

以上の研究は、ミオシン Va が、小脳プルキンエ細胞の樹状突起からスパイン

へ小胞体と IP3 レセプターを運ぶ働きを行っており、この働きが LTD の誘発や運動学習の成立に重要であることを示唆する(図 2)。更に、この一連の異常は、マウスの神経症状と関連すると考えられた。

研究の意義

ヒトでは、ミオシン VA の遺伝性疾患として 1 型 Griscelli 症 (GS1) が報告されている。また、遺伝性疾患 Elejalde 病 (ES) の幾つかのタイプでは、ミオシン VA が原因遺伝子と考えられている。患者はいずれも毛髪や皮膚の色弱ともに、生後早期から運動の発達遅延、筋緊張低下や精神遅滞の症状を表し、その神経病態は深刻で発育期に死亡する。我々の研究は、GS1 や ES の病因を解明しその治療法の開発に貢献すると考える。

また、ミオシン V (Va) は細胞内の動く分子として注目され、最近ではその動きのメカニズムを解明する研究が盛んに行われている。昨年、高速原子間力顕微鏡によってアクチンフィラメントの上を実際に歩いているミオシン V の姿を捉えた研究が Nature に発表された (Nature, 468:72-76, 2010)。本研究は、ミオシン V の動きが生体内でどのような機能と結び付いているのかを示した。

用語説明

* 1 : スパイン

神経細胞樹状突起の先端に突出した経 $1 \mu\text{m}$ 位の小さな突起。一個のプルキンエ細胞には、約 10 万個のスパインが形成されている。神経伝達受容の場であり、興奮性のシナプスが形成される。

* 2 & 3 : シナプス可塑性&長期抑圧 (LTD)

シナプス伝達効率が可塑的に変化する現象で、記憶や学習の基礎過程と考えられている。変化が長期に渡って増強する現象を長期増強 (LTP)、減少する現象を長期抑圧 (LTD) という。

* 4 : 瞬目反射条件付け

古典的条件付けの一種で、動物 (被験者) に条件刺激として音を、眼瞼への刺激を無条件刺激としてくり返し与えることにより、音を聞いただけで瞬きの条件反射が起こるようになる連合学習をいう。

* 5 : 運動学習

水泳やサッカーなどのスポーツ技能の上達や熟練に、あるいは自転車の乗り方を取得するなどの手続き記憶に関わる学習方法をいう。

* 6 : siRNA

21-23 塩基対から成る低分子二本鎖 RNA である。細胞内へ導入して、配列特異的に mRNA を分解することでタンパク翻訳阻害が生じる。これを、RNA 干渉法 (RNAi) と言う。

論文名

本研究は、北米神経科学会の機関誌でもある Journal of Neuroscience, Vol.31 No 16, pp (2011)に掲載された。

A role for myosin Va in cerebellar plasticity and motor learning: a possible mechanism underlying neurological disorder in myosin Va disease

Mariko Miyata, Yasushi Kishimoto, Masahiko Tanaka, Kouichi Hashimoto, Naohide Hirashima, Yoshiharu Murata, Masanobu Kano, and Yoshiko Takagishi

共同研究

本研究は、環境医学研究所の高岸芳子助教(発生・遺伝分野; 村田善晴教授)と東京女子医大の宮田麻理子教授、徳島文理大学香川薬学部の岸本泰司助教、名古屋市立大学薬学部田中正彦准教授らとの共同研究で行われた。

図 1



図 2

