

サカナに逃げろ！と指令する神経細胞の分子メカニズムを解明
— 個性的な神経細胞のでき方の理解につながり、難聴治療の創薬標的への応用に期待 —

【概要】

名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻の研究グループ（小田洋一教授、渡邊貴樹等）は、「大きな音から逃げろ！」とサカナに指令を送る神経細胞・マウスナー細胞がその“音の開始を伝える機能”を獲得する分子メカニズムを解明しました。これまで、マウスナー細胞は大きな音の開始にたった1回活動（単発発火）してサカナに逃避運動を駆動させることが古くから知られていましたが、その特別な活動特性の発達過程や分子メカニズムは謎のままでした。今回研究グループは、ゲノム情報や発達過程が詳細に解析されている熱帯魚ゼブラフィッシュを利用して、マウスナー細胞が特別の特性を獲得する過程を詳細に追うことに成功し、発達段階でサカナが音に反応し始める時期と一致して、マウスナー細胞が単発発火特性を獲得することを明らかにしました。その分子メカニズムを調べた結果、カリウムイオンを通す細胞膜タンパク質の Kv1.1 カリウムチャンネルと、このチャンネルに結合して機能を調節する細胞内タンパク質の Kvβ2 補助サブユニットとの組み合わせがキィであることを見出しました。

【ポイント】

- サカナに逃げろ！と指令する神経細胞・マウスナー細胞はたった1回しか活動しない特性（単発発火）によって逃避運動を駆動させる。
- マウスナー細胞の単発発火はサカナの聴覚の発達に相関して作られることが明らかになった。
- マウスナー細胞の単発発火を作るためには Kv1.1 カリウムチャンネルとそれに結合する Kvβ2 補助サブユニットをコードする遺伝子が必要であることを見出した。
- 単発発火する細胞は、哺乳類や鳥類の聴覚系に一般的に存在し、単発発火の異常が難聴を引き起こす可能性があることから、今回注目した分子が難聴治療の創薬標的になるかもしれない。

【背景】

脳を構成する神経細胞（ニューロン）は活動電位と呼ばれる全か無かのデジタル信号を出力します。活動電位は、シナプス入力が増加し、閾値に達したときに発生し、軸索を伝って遠くにある他のニューロンに情報を伝える役割を持っています。この情報伝達に加え、それぞれのニューロンは働きに応じて固有の“発火特性”を持ち、同じ入力に対しても活動電位の出力パターンを変えることで個別に情報処理をしています。そもそも活動電位は、細胞膜に存在するイオンチャンネルと呼ばれる“イオンを通す孔の空いたタンパク質”の働きで作られることが知られていますが、そのイオンチャンネルを作る遺伝子は非常に多く、複数の組み合わせで作られるため、ある固有の発火特性がどの遺伝子の組み合わせで作られるかはまだ世界中で研究されているところです。

本研究では、脊椎動物のモデル生物である小型魚類・ゼブラフィッシュの後脳に存在する網様体脊髄路ニューロン群の一つであるマウスナー (M) 細胞に着目しました。M 細胞は入力量をいくら大きくしても単発の活動電位しか発生しないという単発発火特性を示します。M 細胞はこの単発発火特性によって、大きな音の開始にたった 1 回だけ活動電位を発生させて、サカナに逃避運動を素早く駆動させることが古くから知られています。しかし、その特別な活動特性の発達過程や分子メカニズムはこれまでに明らかにされていませんでした。

【研究の内容】

本研究では、M 細胞で緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを利用することで、*in vivo* (生体内) ホールセル記録法によって M 細胞の発火特性の発達過程の解析に成功しました (図 1)。興味深いことに M 細胞の発火特性は、ゼブラフィッシュの発達初期では連続的に発火し、発達とともに発火頻度を減少させていき、受精後 4 日で単発発火特性を獲得することを見出しました。この M 細胞の単発発火の獲得時期は、面白いことに聴覚入力の発達時期と一致しています (図 2)。受精後 2 日の仔魚は音刺激を与えても全く逃げませんが、受精後 3 日になると音に反応して逃避運動が見られ始め、受精後 4 日ではほぼ 100% 音に反応して逃げるようになることが明らかになっています。したがって、M 細胞への聴覚入力の発達に依存して単発発火特性が獲得される可能性が考えられます。

この単発発火特性を作り出す分子メカニズムに迫るために薬理的な実験を行った結果、M 細胞の単発発火特性は、カリウムイオンを通す細胞膜タンパク質である電位依存性カリウムチャンネルを阻害するある種の薬剤を与えると連続的に発火することが示されました。そこで、その薬剤のターゲットである電位依存性カリウムチャンネル Kv1 ファミリーの α 及び β サブユニット遺伝子群の発現解析を行いました。チャンネルを形成する α サブユニットのうち Kv1.1 遺伝子だけが M 細胞で発現していたものの、意外にも、Kv1.1 は連続発火する発達初期の M 細胞にも発現していました。よって、このカリウムチャンネルの遺伝子発現だけでは、単発発火と連続発火の違いを作り出す説明ができないことが分かりました。一方、このチャンネルに結合して機能を調節する細胞内タンパク質である β サブユニットにおいては、Kv β 2 が単発発火を示す M 細胞に発現するのに対して、連続発火する発達初期の M 細胞には発現していないことが明らかになりました。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いて M 細胞で発現しているサブユニットの組み合わせを再構成して電気生理特性を調べた結果、Kv1.1 チャンネルと共に Kv β 2 補助サブユニットを共発現させると、Kv1.1 によるカリウム電流量が増加することが示されました。また、ゼブラフィッシュにおいて Kv β 2 遺伝子をアンチセンスモルフォリノオリゴでノックダウンすると、M 細胞の単発発火が連続発火のままだったことから、M 細胞の単発発火特性の獲得に Kv β 2 が必要であることが示されました。

以上の結果、ゼブラフィッシュの M 細胞は発達初期から Kv1.1 チャンネルを発現させているが、発達に伴い遅れて Kv β 2 補助サブユニットが発現し、Kv1.1 チャンネルによる

カリウム電流量を増加させることで固有の単発発火特性が獲得されることを明らかにしました (図 3)。

【成果の意義】

これまで、活動電位の発生においてイオンチャネルが重要であることは知られていましたが、本研究により、ある固有の発火特性の形成においてはイオンチャネルに結合する補助サブユニットによる調節が加わることがより重要であることを世界で初めて示しました。そして、この分子メカニズムは、ニューロンがどのようにして個性を獲得したかというひとつのモデルになると考えています。

単発発火特性を持つニューロンは、哺乳類や鳥類の聴覚系にも存在していて、音の高度な情報処理に重要だと考えられています。ヒトでも単発発火特性の異常が難聴を引き起こす可能性があることから、今回注目した分子が難聴治療の創薬標的になりうると期待されます。

【論文名】

“Coexpression of auxiliary Kv β 2 subunits with Kv1.1 channels is required for developmental acquisition of unique firing properties of zebrafish Mauthner cells”

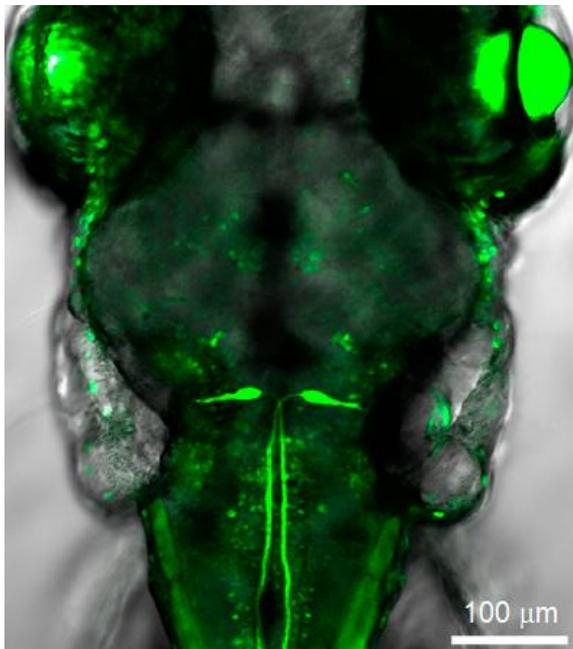
(Kv1.1 カリウムチャネルと Kv β 2 補助サブユニットの共発現がゼブラフィッシュ・マウスナー細胞の特異的発火特性の発達に伴う獲得に必要である)

Takaki Watanabe, Takashi Shimazaki, Aoba Mishiro, Takako Suzuki, Hiromi Hirata, Masashi Tanimoto, and Yoichi Oda

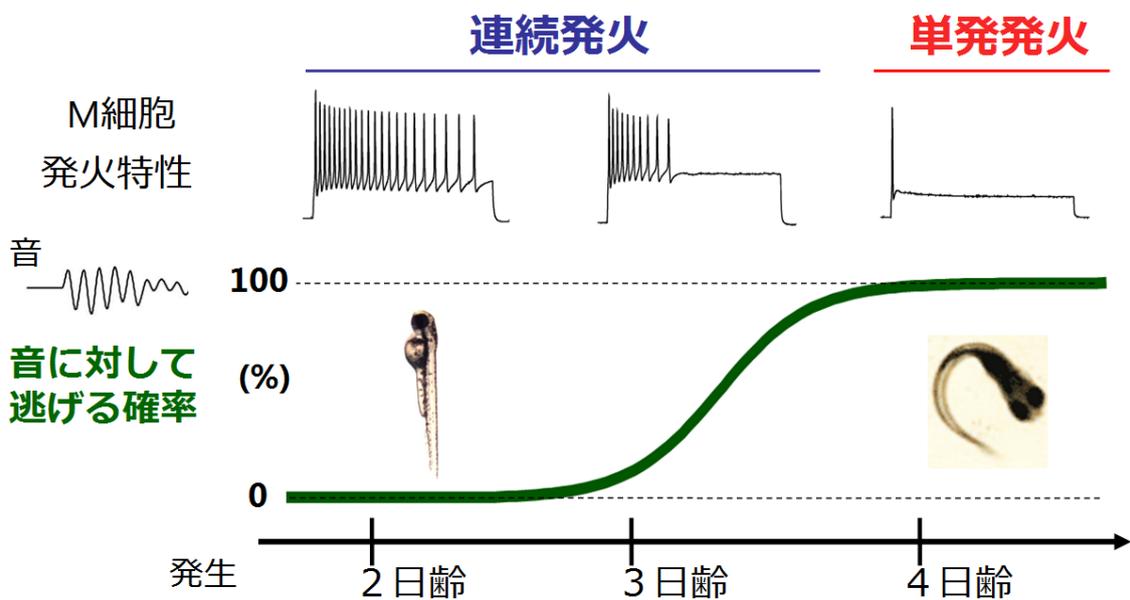
(渡邊貴樹, 島崎宇史, 三代青葉, 鈴木貴子, 平田普三, 谷本昌志 & 小田洋一)

掲載誌 ; *Journal of Neurophysiology* March 15, 2014: 1153-1164. 2014 年 3 月 15 日掲載

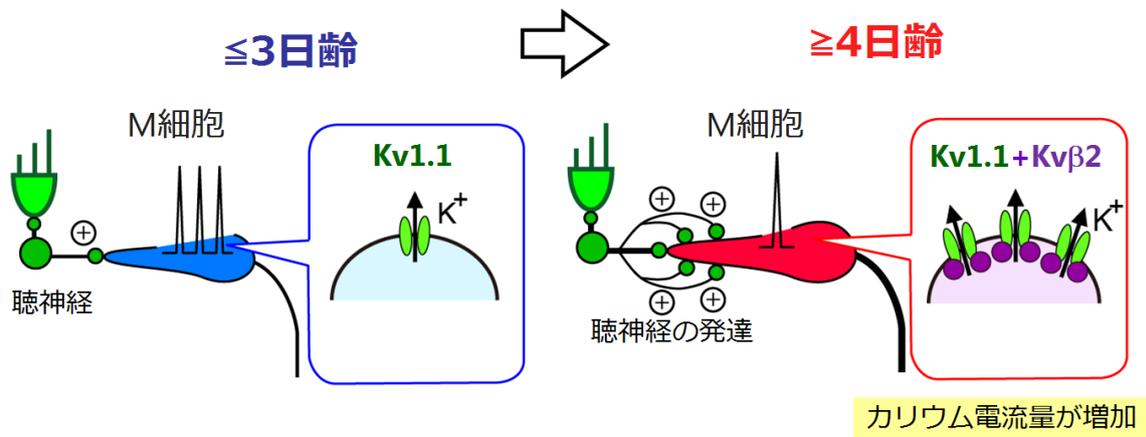
【参考図】



(図1) M細胞（中央：左右一対ある神経細胞）でGFPが発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ受精後5日



(図2) M細胞の単発発火特性は聴覚の発達と相関して獲得される



(図3) M細胞の単発発火特性の分子基盤: Kv1.1 チャンネルに Kvβ2 補助サブユニットが加わる必要がある