

研究課題別評価

1.研究課題名 神経幹細胞の分化過程と神経回路網の再構築

2.研究者氏名 田中 光一

グループメンバー 天内 和人 (研究期間 H15.4.1. ~ H15.9.30.)

伊東 三穂 (研究期間 H12.11.1. ~ H.15.3.31.)

堀川 洋 (研究期間 H13.2.19. ~ H15.3.31.)

3.研究の狙い：

日本がこれから迎える超高齢化社会において、虚血などによる脳障害は痴呆・運動麻痺・言語障害をもたらす、活力ある社会の維持にとって大きな障害となる。近年、神経発生研究の進展により哺乳類の脳にも神経幹細胞が存在することが明らかになり、それを用いた脳機能の再建の可能性が出てきた。しかし、損傷した脳の再構築、さらには機能の再建には、未だ多くの問題が残されている。本研究では、脳形成のメカニズムを明らかにし、それに基づいた神経回路網の再構築法の確立を目指す。

4.研究結果：

(1) 脳形成におけるグルタミン酸の役割の解析

グルタミン酸は、ほ乳類の中枢神経系において記憶・学習などの脳高次機能に重要な役割を果たす神経伝達物質としての作用だけでなく、神経系の発生・分化にも関与するシグナル分子としての作用を持っていると考えられているが、その詳細は不明である。我々は、細胞外グルタミン酸濃度調節にとって重要な役割を果たす2種類のグリア型グルタミン酸トランスポーター(GLT1, GLAST)を完全に欠損したマウス(DK マウス)を作製した。DK マウスの脳には、胎生16日以降様々な形態異常が観察された。嗅球の僧帽細胞層・海馬の錐体細胞層・大脳皮質の層構造の形成不全が観察された。これらの異常は細胞外グルタミン酸濃度の上昇による、神経前駆細胞の分裂能の低下、神経細胞の移動能の低下によるものであることがわかった。これらの実験結果は、グルタミン酸が脳の形成に重要な役割を果たすことを *in vivo* で初めて証明したものである。

(2) 形成期に見られるグリア細胞の自発性活動の機序

脳は遺伝的なプログラムだけでなく、環境からの入力や脳自身の活動により改変を受け完成されていく。生後の脳形成初期には、同期した自発性の神経活動が観察され、その活動が脳の形成に関与している可能性が示唆されている。近年、自発性の活動は神経細胞だけでなくアストロサイトでも細胞内カルシウム濃度の変動として観察され、それが脳の形成に何らかの役割を果たしていると考えられている。本研究により、生後の脳形成初期に見られる自発性アストロサイト内カルシウム濃度変動は、神経細胞から放出されるグルタミン酸が、アストロサイトに存在するグルタミン酸に取り込まれ、それにより生じるわずかな脱分極（グルタミン酸トランスポーターはelectrogenicなトランスポーターで、1分子のグルタミン酸を輸送する毎に1つの陽イオンが細胞内に輸送される）がL型カルシウムチャネルを活性化することにより起こることが明らかになった。

(3) 神経回路網の活動を維持するためのエネルギー補給のメカニズム

神経系は他の臓器に比べエネルギー要求性が高く、神経回路網が正常に形成し機能を維持するためには、神経活動の亢進した脳部位に選択的に代謝エネルギーを補充する必要がある。本

研究により、神経活動の亢進、シナプス間隙のグルタミン酸濃度上昇、グリア型グルタミン酸トランスポーターによるグルタミン酸の再吸収の活性化（同時に Na^+ がグリア内へ流入）、グリアの Na-K ATPase の活性化（グリア内でのエネルギー消費増大）、グリアによる毛細血管からのブドウ糖の取り込み増加、グリアの解糖系によるブドウ糖から乳酸の生成（グリア内の消費したエネルギーの補充）、生成した乳酸を神経細胞が取り込みエネルギーを補充、という経路が重要であることを、in vivo, in vitro で証明した。

5. 自己評価：

本研究により神経幹細胞の分裂に関与する因子としてグルタミン酸を同定し、さらに脳の形成への関与が示唆されているグリア細胞の自発活動の機序を明らかにした。いずれの結果も、脳形成の新しいメカニズムの一端を明らかにしたものである。当初の研究計画であった神経幹細胞の単離に関しては、マウスの作成に時間がかかったが、いくつかのマウスに関して作成を継続しており、近い将来この分野に貢献できると考えている。また、神経回路網の形成・維持に、グリア細胞が必要であることを示した本研究は、神経細胞を補充し、神経回路網を再構築するだけでは脳機能の再建は困難であり、グリア細胞網の再構築も必要であることを示唆しており、神経細胞自体の補充ではなく、グリア細胞の制御による脳機能の再建という再生医療の新しい方向性を示した。

6. 研究総括の見解：

対象とする神経幹細胞は、体性幹細胞という新たに開拓されつつある領域の主要な立役者として、胚性幹細胞（ES 細胞）とともに現在注目を急速に集めている。本研究者はこの領域の我が国における代表的研究者の一人と目されている。今後の成長を期待してよい。

7. 主な発表等：

1. Espinosa-Parrilla, J.F., Carmona, M.A., Pozas, E., Senserrich, J., Tanaka, K., Soriano, E., Aguado, F. Activation of glial glutamate transporters underlie spontaneous calcium oscillations in astrocytes in situ. *Nature Neurosci.* (under revision)
2. Huang, Y., Dykes Hoberg, M., Tanaka, K., Rothstein J.D., Bergles D.E. Climbing fiber activation of EAAT4 transporters and kainite receptors in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.* in press
3. Mitani, A., Tanaka, K. Functional changes of glial glutamate transporter GLT-1 during ischemia: An in vivo study in the hippocampal CA1 of normal mice and of mutant mice lacking GLT-1. *J. Neurosci.* 23. 7176-7182, 2003
4. Voutsinos-Porche, B., Bonvento, G., Tanaka, K., Welker, E., Chatton, J.-Y., Magistretti, P.J., Pellerin, L. Glial glutamate transporters mediate a functional metabolic crosstalk between neurons and astrocytes in the mouse developing cortex. *Neuron* 37. 275-286, 2003.
5. Harada, T., Harada, C., Kohsaka, S., Wada, E., Yoshida, K., Ohno, S., Mamada, H., Tanaka, K., Parada L.F., and Wada, K. Microglia-Müller glia interactions control neurotrophic factor productions during light-induced retinal degeneration. *J. Neurosci.* 22. 9228-9236, 2002.

特許出願

1. 「グルタミン酸トランスポーターGLAST 機能欠損マウス」(特願 2003-114793)

研究課題別評価