



Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) の 電気眼振図所見*

上山 秀嗣** 荒川 竜樹** 成迫 智子**
一宮 一成*** 熊本 俊秀**

Key Words : spinocerebellar ataxia, SCA6, electronystagmogram, nystagmus, dizziness

はじめに

Spinocerebellar ataxia type 6 (以下, SCA6と略)は, 第19染色体短腕に位置する電位依存性Caチャンネル α 1Aサブユニット遺伝子のCAGリピート伸長により発症する常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症である¹⁾²⁾. 臨床症状は小脳症状を主体とし, その他, 眼振の出現頻度が高いことが知られているが, 本症の電気眼振図(以下, ENGと略)を検討した報告は少ない³⁾⁴⁾. われわれはSCA6の2症例についてENGを施行するとともに, 責任病巣に関して考察したので報告する.

症 例

[症例 1] 51歳, 男性.

主訴: 歩行障害, 構音障害.

家族歴: 父親に同症状を認めた.

現病歴: 45歳頃から上を向いた時にフワッとするめまいを自覚し, 同時期から歩行時のふらつきと構音障害が出現したため, 47歳時, 当科に第1回目の入院となり, オリーブ橋小脳萎縮症と診断された. 退院後外来で父親にも同様の

症状があったことが判明し, 50歳時に遺伝子検査でSCA6であると診断された. その後も歩行障害が徐々に進行したため, 51歳時, 当科に第2回目の入院となった.

入院時理学所見: 一般内科所見では異常を認めなかった. 神経学的所見では, 知能は正常で, 注視方向性垂直および水平性眼振, 構音障害, 筋トーンス軽度低下, 四肢の深部腱反射減弱, 四肢失調, 失調性歩行および発汗過多を認めた.

検査所見: 血液生化学では, 軽度の肝機能障害を認める他は正常であった. 頭部MRIでは小脳の萎縮を認めたが, 脳幹は保たれていた. 髄液検査, 脳波は正常であった.

[症例 2] 56歳, 男性.

主訴: 歩行障害, 動揺視.

家族歴: 父親および同胞3名に同様の症状を認めた.

現病歴: 54歳頃から歩行時のふらつきが出現し, 55歳頃から頭部を動かした際の一過性の動揺視, および構音障害を自覚したため, 56歳時, 当科に入院となった.

入院時理学所見: 一般身体所見には異常はな

* Electronystagmographic findings in two patients with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). (Accepted June 10, 2005).

** Hidetsugu UHEYAMA, M.D., Ryuki ARAKAWA, M.D., Tomoko NARUSAKO, M.D., ***Issei ICHIMIYA, M.D. & Toshihide KUMAMOTO, M.D.: 大分大学医学部脳・神経機能統御講座(内科学第三), ***免疫アレルギー統御講座(耳鼻咽喉科)〔〒879-5593 大分県大分郡挾間町医大ヶ丘1-1〕; Department of Neurology and Neuromuscular Disorders and ***Department of Otolaryngology, Oita University Faculty of Medicine, Oita 879-5593, Japan.

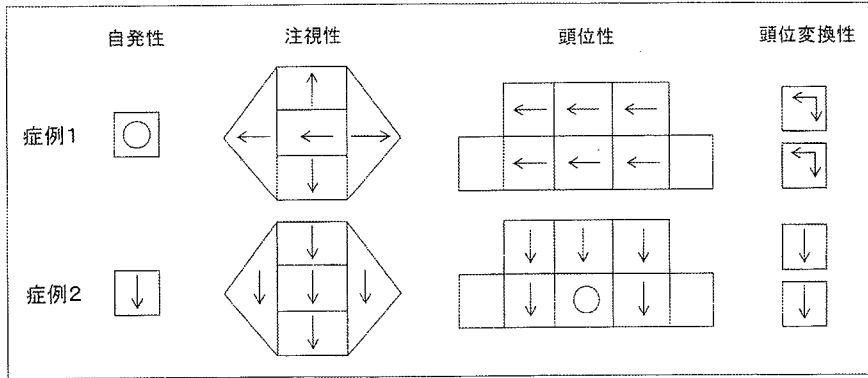


図1 自発ならびに誘発眼振検査

症例1では注視方向性に垂直および水平性眼振を認め、頭位、頭位変換でも出現している。
症例2では自発性下向き眼振がいずれにおいても認められる。

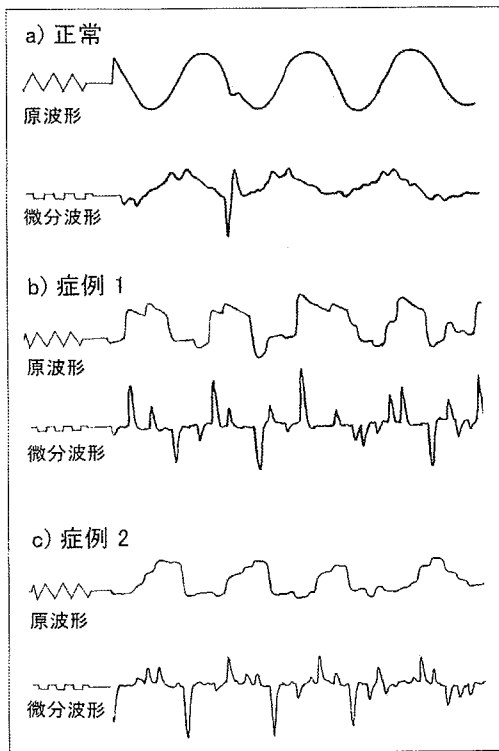


図2 視標追跡検査

a)正常, b)症例1, c)症例2. 2例ともsaccadicパターンを反映した階段状を呈し, 症例1では小脳障害による測定異常を反映したovershootを認める.

く、神経学的所見では、知能は正常であるが、滑動性眼球運動はsaccadicで、注視方向性垂直および水平性眼振、失調性言語、四肢および体幹失調を認め、歩行は失調性であった。Romberg

徴候は陰性で、深部腱反射も正常であった。自律神経では軽度の残尿感と便秘を認めた。

検査所見：検血、血液生化学、髄液検査、末梢神経伝導速度検査はすべて正常であった。頭部MRIでは、小脳皮質および虫部の萎縮を認めたが、脳幹は保たれていた。自律神経検査では、心電図R-R間隔でCV値が1.25%と低下していたが、シストメトリー、起立試験、瞳孔薬物点眼試験は正常であった。

SCA6遺伝子診断：両患者について同意を得た後に末梢血白血球を採取し、ゲノムDNAを用いZhuchenkoら¹⁾の報告したプライマーによりPCRを行った。アガロースゲル電気泳動によりCAGリピートの伸長を認め、SCA6と診断した。なお、CAGリピート数は算出していない。

ENG所見：2症例の暗所開眼における眼振所見を図1に示す。症例1では、注視方向性に垂直および水平性眼振を認め、頭位および頭位変換性でも出現していた。症例2では、自発性下向き眼振を認め、注視方向性、頭位、頭位変換性いずれにおいても下向き眼振が認められた。視標追跡検査(eye tracking test; ETTと略)では、正常ではスムーズな波形となるのに対して、2例ともsaccadicパターンを反映した階段状を呈し、とくに症例1では小脳障害による測定異常を反映したovershootを認めた(図2)。視運動性眼振検査(optokinetic potential; OKPと略)では、2例ともに眼振頻度の低下が明らかであり、櫛の歯状を呈した(図3)。また、緩徐相の振幅低下に加

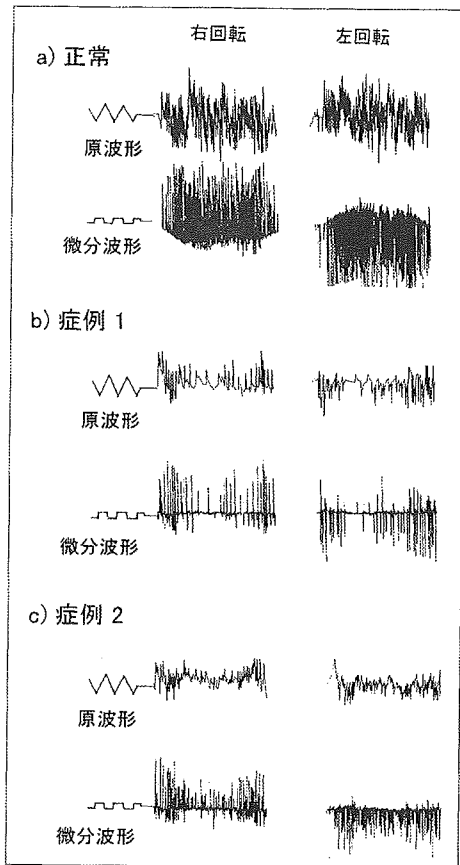


図3 視運動性眼振検査

a)正常, b)症例1, c)症例2. 2例ともに眼振頻度の低下が明らかであり, 櫛の歯状を呈している.

え, 急速相の振幅低下も認められた. 温度眼振検査時に明所開眼固視をさせると正常であれば眼振の抑制がみられ, これを視性抑制 (visual suppression; VSと略) と称するが, 2症例ともにVSの消失が認められた(図4).

考 察

ここに報告した2症例は常染色体優性遺伝を思わせる家族歴を有し, 四肢および体幹失調を主徴とし, 遺伝子検査でSCA6と確定診断された. 症例1は発症から6年, 症例2は2年経過しており, 両者ともに失調性歩行を呈していたが自力歩行は可能であった. 興味深い点として両者ともに多彩な眼振を認めたことから, その病態解析を行う目的でENGを施行した.

SCA6では注視眼振を認める頻度が高いとされ,

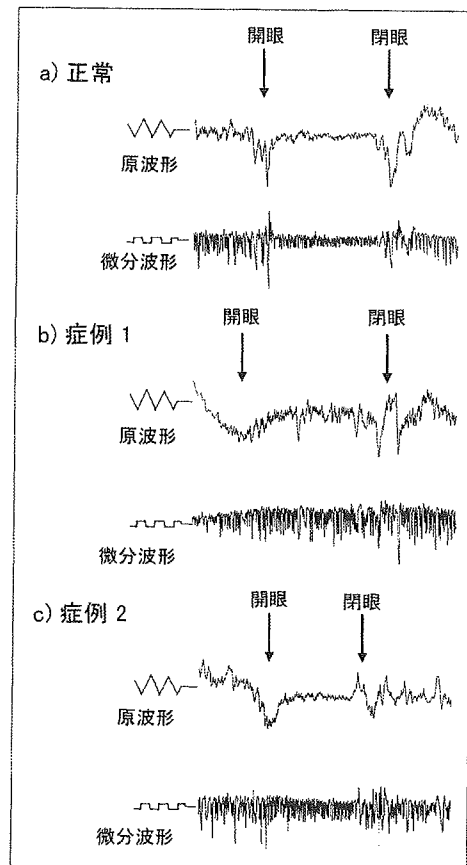


図4 視性抑制検査

a)正常, b)症例1, c)症例2. 2症例ともにVSの消失を認める.

65~96%の頻度で水平または垂直性の注視眼振を認める^{5)~8)}. われわれの症例においても, 症例1では注視方向性に垂直および水平性眼振を認め, 症例2では自発性下向き眼振を認め, 注視方向性, 頭位, 頭位変換性いずれにおいても下向き眼振が認められた. 小松崎⁹⁾は, SCA6では自発性下向き眼振が出現しやすく, とくに頭位変換性垂直性眼振は小脳症状が出現する以前のごく早期から認められることを指摘している. われわれの症例においても2例ともに同様の眼振が出現しており, SCA6の発症早期の神経徴候として重要な所見であると思われた.

今回施行したENG所見からは, EITでは2症例ともに脳幹障害を示すsaccadicパターンを反映した階段状を示し, さらに症例1では小脳障害による測定異常を反映したovershootを認めた.

OKPにおいては、櫛の齒状を示す眼振頻度の低下および緩徐相の振幅低下は小脳障害を反映すると思われた。さらに2症例ともに急速相の振幅低下も認められたことから傍正中橋網様体を含む脳幹の障害も示唆された⁹⁾¹⁰⁾。われわれの症例では頭部MRI上脳幹の萎縮は明らかではなかったが、小脳のみならず橋の萎縮を示す症例の存在も報告されており¹¹⁾¹²⁾、今回のENG所見を支持するものと思われた。

VSは温度刺激により解発された眼振に対する視覚系の影響をみる検査であり、人における正常値は66±11%とされる¹³⁾。VSが10～40%の場合をVSの減弱、10%以下の場合を消失とする。VSの減弱は小脳片葉の障害により起こるのに対して、消失あるいは増強は脳幹、とくに橋の障害時にみられるとされる¹⁴⁾。われわれの症例では2症例ともにVSの消失を認めたことから脳幹の障害が示唆された。水野¹⁰⁾によると、VSの障害は脊髄小脳変性症の85.7%に認められ、減弱ないし消失を示したものはその半数であり、晩発性小脳皮質萎縮症やオリブ橋小脳萎縮症に多くみられたとのことである。Gomezら⁵⁾によると、SCA6患者8例全例にVSの高度の減弱を認め、この所見は他の脊髄小脳変性症と対照的であったという。また、Tsutsumiら³⁾の報告ではSCA6患者2例中2例にVSの異常を認めている。以上のことから、SCA6ではVSの異常は高頻度に認められ、それは小脳片葉あるいは脳幹の障害による前庭動眼反射への視覚性抑制機構の障害を示唆しているものと考えられた。ENG検査は脳幹小脳の機能検査として重要であるが、SCA6患者においても病巣の推定にきわめて有用であると思われた。

まとめ

遺伝子診断により確定したspinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)の2症例における電気眼振図(ENG)検査所見について検討した。両者ともに垂直性の自発および注視眼振と頭位変換眼振を認め、とくに下向き眼振はSCA6に特徴的であると思われた。ENG所見上は小脳半球のみならず脳幹の障害が示唆された。

文 献

- 1) Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the α 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997; 15 : 62-9.
- 2) Ikeuchi T, Takano H, Koide R, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 : CAG repeat expansion in α 1A voltage-dependent calcium channel gene and clinical variations in Japanese population. *Ann Neurol* 1997; 42 : 879-84.
- 3) Tsutsumi T, Kitamura K, Tsunoda A, et al. Electronystagmographic findings in patients with cerebral degenerative disease. *Acta Otolaryngol* 2001; 545 Suppl : 136-9.
- 4) 小松崎 篤. 変性疾患と眼球運動異常. *脳の科学* 2003; 25 : 675-83.
- 5) Gomez CM, Thompson RM, Gammack JT, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 : Gaze-evoked and vertical nystagmus, Purkinje cell degeneration and variable age of onset. *Ann Neurol* 1997; 42 : 933-50.
- 6) 矢部一郎, 佐々木秀直, 山下 功, ほか. 周期性方向交代性眼振をみとめたspinocerebellar ataxia type 6の1例. *臨床神経* 1998; 38 : 203-8.
- 7) 矢部一郎, 佐々木秀直, 山下 功, ほか. Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)の初期症状ならびに神経症候の推移に関する検討. *臨床神経* 1998; 38 : 489-494.
- 8) 矢部一郎, 佐々木秀直, 山下 功, ほか. 15年間にわたり、「めまい」発作を主症状としたspinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)の1例. *神経内科* 1998; 51 : 75-8.
- 9) 李 汝培. Greenfieldの分類による脊髄小脳変性症各病型における神経耳科学的診断. *耳鼻臨床* 1973; 66 : 85-112.
- 10) 水野正浩. 脊髄小脳変性症における神経耳科学的所見. *耳鼻臨床* 1981; 74 : 63-88.
- 11) Murata Y, Kawakami H, Yamaguchi S, et al. Characteristic magnetic resonance imaging findings in spinocerebellar ataxia 6. *Arch Neurol* 1998; 55 : 1348-52.

- 12) Sugawara M, Toyoshima I, Wada C, et al. Pontine atrophy in spinocerebellar ataxia type 6. *Eur Neurol* 2000 ; 43 : 17-22.
- 13) 竹森節子. Visual suppressionについて. *神経眼科* 2000 ; 17 : 21-6.
- 14) 杉原里恵, 藤本 伸, 上山秀嗣, ほか. Bickerstaff 型脳幹脳炎の1例—脳幹機能検査による検討—. *臨床神経* 1997 ; 37 : 388-92.

<Abstract>

Electronystagmographic findings in two patients with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6).

by

Hidetsugu UEYAMA, M.D., Ryuki ARAKAWA, M.D.,
Tomoko NARUSAKO, M.D., *Issei ICHIMIYA, M.D.
& Toshihide KUMAMOTO, M.D.

from

Department of Neurology and Neuromuscular Disorders and *Department of Otolaryngology, Oita University Faculty of Medicine, Oita 879-5593, Japan.

We report electronystagmographic findings in two patients with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). Both patients had spontaneous, gaze-evoked and head-positioning vertical nystagmus ; in particular, downbeat nystagmus was characteristic of SCA6. On eye tracking test, both patients showed saccadic pattern and one patient exhibited overshoot pattern reflecting dysmetria. On optokinetic potential, both patients showed reduced nystagmus frequency and low amplitude of the slow and fast phases. Moreover, both patients showed loss of visual suppression. These findings demonstrated the involvement of brainstem in SCA6 patients.

* * *

グルタミン酸受容体チャンネルの構造と機能

森 寿

中枢神経系において興奮性の速い神経伝達を担うグルタミン酸受容体 (GluR) チャンネルは、グルタミン酸の結合により陽イオンを透過するとともに神経細胞内にシグナル伝達を行うタンパク質分子である。遺伝子クローニングの結果、哺乳類の GluR チャンネル遺伝子ファミリーには、七つのサブファミリーに分類される 18 種のサブユニット分子が含まれることが明らかにされた。それぞれのサブユニット分子は RNA レベルでの多様性、時空的な発現分布の多様性、機能修飾さらにサブユニット集合により機能的多様性を示し、この GluR チャンネル分子の多様性が脳機能の多様性の基盤と考えられる。遺伝子操作マウスを用いた GluR チャンネルの機能解析から、それぞれのサブユニットが記憶・学習におけるシナプス可塑性、神経回路形成、病態に関わることが明らかにされてきた。

はじめに

グルタミン酸受容体 (GluR) チャンネルは、中枢神経系において速い興奮性のシナプス伝達を担う主要な分子である。GluR チャンネルは神経伝達のみならず、記憶・学習や入力依存的神経回路形成の基盤と考えられるシナプス可塑性、さらには病態時の神経細胞死や精神病などにも深く関わると考えられている。GluR チャンネルは特異性の高いアゴニスト、アンタゴニストを用いた研究から、薬理的にまず NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) 型と non-NMDA 型に分類された。non-NMDA 型はさらに薬理的に、AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 型と KA (kainic acid) 型に分類された¹⁾。1989年に最初のチャンネル型 GluR サブユニット分子の遺伝子クローニングが報告され²⁾、それ以降、我々を含む多くのグループにより GluR チャンネルサブユニットのクローニングと分子レベルでの機能解析研究が展開された。

その結果、GluR チャンネルファミリーは、七つのサブファミリーに分類される 18 種のサブユニットから構成されることと、アミノ酸配列を元にした分子構造の相同性による分類が薬理的性質によく一致していることが明らかにされた。本稿では我々の研究を中心として、GluR チャンネルの分子的多様性と機能調節機構、ならびに遺伝子操作マウスの表現型解析より明らかにされたサブユニット分子の生理機能研究を紹介する。

1. GluR チャンネルの分子的多様性

1989年に Hollmann らが、アフリカツメガエル卵母細胞の発現系と電気生理学的手法を用い AMPA 型 GluR1 サブユニットのクローニングを報告した²⁾。この先駆的な研究を受け、世界中のいくつかの研究室が同様の発現クローニング法や、塩基配列の相同性を元にした PCR 法ならびにクロスハイブリダイゼーション法を用いて遺伝子クローニングを進め 1992 年までに、六つのサブファミリーに分類される 16 種類の GluR サブユニットの存在が明らかにされた³⁾。さらに 1995 年に七つめの NR3 サブファミリーがクローニングされ、最後のメンバーとなった NR3B サブユニットのクローニングが報告されたのは 2002 年である⁴⁾。クローニングされたサブユニットは、研究グループにより異なる命名がなされている。我々は、マウス GluR サブユニットを遺伝子クローニングした順に、サブファミリーごとに GluR α , GluR β , GluR γ , GluR δ , GluR ϵ ,

富山医科薬科大学大学院医学系研究科分子神経科学教室
(〒930-0194 富山市杉谷 2630 番地)

Structure and function of divergent glutamate receptor channels

Hisashi Mori (Department of Molecular Neuroscience, Graduate School of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan)

表1 グルタミン酸受容体チャンネルサブユニットファミリー

サブタイプ	サブファミリー	サブユニット
AMPA 型	GluR1-4 (GluR α)	GluR1 (GluRA, GluR α 1) GluR2 (GluRB, GluR α 2) GluR3 (GluRC) GluR4 (GluRD)
カイニン酸型	GluR5-7 (GluR β)	GluR5 GluR6 (GluR β 2) GluR7
	KAI ₂ (GluR γ)	KAI1 KA2 (GluR γ 2)
δ 型	GluR δ	GluR δ 1 GluR δ 2
NMDA 型	GluR ϵ (NR2)	GluR ϵ 1 (NR2A) GluR ϵ 2 (NR2B) GluR ϵ 3 (NR2C) GluR ϵ 4 (NR2D)
	NR1 (GluR ζ)	NMDAR1 (GluR ζ 1, NR1)
	GluR χ	GluR χ 1 (NR3A) NR3B

GluR ζ と命名した⁹⁾(表1)。このアミノ酸配列を元に分類された GluR チャンネル遺伝子サブファミリーは極めてよく薬理学的分類に一致した。つまり GluR α が AMPA 型受容体に、GluR β と GluR γ がカイニン酸型受容体に GluR ϵ と GluR ζ が NMDA 型受容体に対応していた。一方、遺伝子クローニングにより薬理学的性質が不明であるが非常に重要な生理機能を担う GluR δ サブファミリーの存在が明らかにされた。

1.1 GluR チャンネルの基本構造

GluR チャンネルサブユニットは、アミノ末端部分にシグナルペプチド配列をもち、分子内に4箇所の疎水性領域(M1-M4)を有していることから、当初はアセチルコリン受容体、GABA 受容体、グリシン受容体などのリガンド依存性チャンネルと同様に、アミノ末端とカルボキシル末端が細胞外に存在する構造が想定された。しかしながら、NMDA 受容体サブユニットにおいて M4 よりカルボキシル末端が細胞内に存在するリン酸化酵素によりリン酸化され機能修飾されること^{6,7)}や、GluR1 の糖鎖付加部位の解析⁸⁾などから、現在では M1 よりアミノ末端側が細胞外に存在し、M2 領域が細胞膜内でループし、M3-M4 間が細胞外に存在し、M4 からカルボキシル末端が細胞内に存在する3回膜貫通型モデルが想定されている(図1)。また、リガンド結合の中間状態の解析などから、GluR チャンネルサブユニットは、四量体として機能していると考えられている^{9,10)}。最近、脳内に存在する AMPA 型 GluR チャンネル多量体を精製し、その粒子の全体構造を電子顕微鏡で観察した結果が報告された。その結果、AMPA 型 GluR チャンネルはグルタミン酸などのリガンド存在下で全体構造が変化し、特に N 末端部分の構造が大きく変化することが

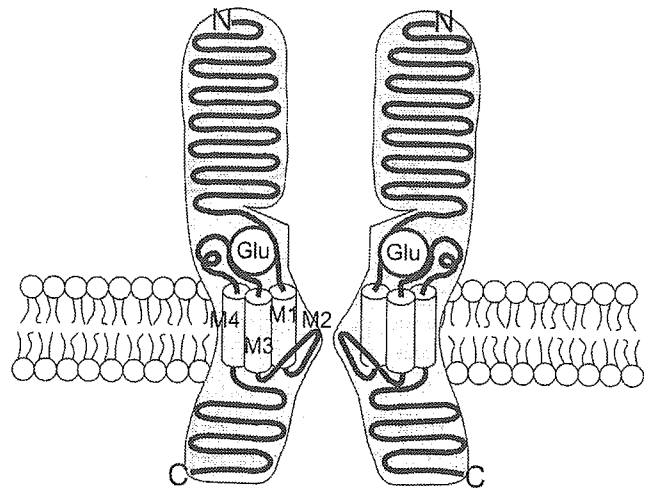


図1 GluR チャンネルサブユニットの構造

GluR チャンネルはサブユニットの四量体から構成される。ここでは、機能部位をあらわすために2サブユニットの組み合わせを示している。リガンド結合部位が M1 に近いアミノ末端部分と M3-M4 間の二つの領域で構成される。リガンド結合部位よりアミノ末端には、サブユニットの会合などの機能があると考えられている。イオン透過選択性が M2 ループ領域で決められている。細胞内カルボキシル末端はシナプス局在やシグナル伝達に関わるタンパク質複合体との相互作用部位である。

明らかにされている¹¹⁾。

1.2 RNA レベルでの制御によるサブユニットの構造的多様性

GluR チャンネルサブユニット分子は、mRNA スプライシングによりさらに多様性を示す。AMPA 型の GluR1-GluR4 では、M4 領域直前のアミノ末端側に flip あるいは flop と名付けられたエクソンが挿入されることにより2種類のスプライス変異が生じる¹²⁾。また、M4 以降のカルボキシル末端部分にスプライス変異が存在する¹³⁾。KA 型の GluR5-GluR7 でも、同様に M4 以降のカルボキシル末端にスプライス変異が存在する¹⁴⁾。NMDA 型の GluR ζ 1 (NR1) では、M1 のアミノ末端側で1カ所、M4 よりカルボキシル末端側で2カ所のスプライス部位があり、これらのスプライスの組み合わせにより合計8種類のスプライス変異体を構成する¹⁵⁾。これらの GluR サブユニットのスプライス制御は脳内部位特異性があり、さらに入力依存的スプライスの制御が起きることも示唆されている¹⁶⁾。

また、AMPA 型ならびに KA 型では RNA 編集 (editing) により特定部位のアミノ酸置換が生じる。特に AMPA 型 GluR2 では、M2 内に存在するアルギニン (R) に対応する染色体遺伝子上の配列はグルタミン (Q) をコードしているが、これは RNA のプロセッシング過程で dsRNA 依存的アデノシンデアミナーゼを介した編集により R をコードするように変換されるためである¹⁷⁾。KA 型の GluR5-GluR7 でも M2 内および M1 内で RNA 編集に

よりアミノ酸置換を生じる¹⁸⁾。このような mRNA レベルの制御により形成されるサブユニットの多様性が、GluR チャンネルサブユニットのさらなる分子的多様性を担っている。

1.3 サブユニット分子集合に基づく機能的多様性

GluR サブユニットは分子的に多様性を示し、サブユニットが組み合わさることで機能的多様性を示す。

神経細胞で発現している AMPA 型 GluR チャンネルは一般的には Ca^{2+} を透過しない。再構成系において GluR1 のみを発現させた場合には、 Ca^{2+} の透過が観察される。GluR1 と GluR2 を共発現させるとチャンネル活性の増加、リガンドに対する親和性の上昇とともに Ca^{2+} 透過性が抑制される¹⁹⁻²¹⁾。従って、GluR1 と GluR2 サブユニットが集合し AMPA 型 GluR を形成すると共に、イオン透過性は GluR2 に担われている。このように、AMPA 型 GluR サブユニットはサブファミリー内で組み合わさり機能している。

KA 型 GluR には、イオンチャンネル活性を示す GluR5, GluR6, GluR7 のサブユニットファミリーと、それ自体はチャンネル活性を示さないが高親和性カイニン酸結合能を有する KA1, KA2 サブユニットファミリーの二つが含まれる。これら二つの異なるサブユニットファミリーが組み合わさり、より親和性の高い、かつ大きな活性を示す KA 型 GluR チャンネルを形成する^{22,23)}。

NMDA 型の GluR ϵ (NR2) と GluR ζ 1 (NR1) は組み合わせることにより非常に活性の高い NMDA 型 GluR を形成する²⁴⁾。NMDA 型 GluR は、大きなチャンネル活性を示す際には、リガンドとしてグルタミン酸とともにグリシンを必要とするが、グルタミン酸は GluR ϵ (NR2) サブユニットに結合し、グリシンが GluR ζ 1 サブユニットに結合する²⁵⁾。一方、NR3 サブファミリーは、NMDA 型 GluR に組み込まれ、 Ca^{2+} 透過性を低下させチャンネル活性を低下させる機能がある^{4,26)}。

GluR δ サブファミリーは、アミノ酸相同性から non-NMDA 型 GluR と NMDA 型 GluR の中間に位置するサブユニットファミリーである²⁷⁾。GluR δ 1 は主に胎児期の中樞神経系に弱いながら広く発現し出生後は発現が低下する胎児型サブユニットである。一方、GluR δ 2 は小脳の発生に伴って発現し、プルキンエ細胞に特異的に発現する分子である。興味深いことに GluR δ 2 サブユニットは、プルキンエ細胞樹状突起の中で平行線維とのシナプスに局在する²⁸⁾。現在までに GluR δ サブユニットにはグルタミン酸結合能は検出されておらず、また、他の GluR サブユニットと組み合わせても性質の変化を引き起こさないことから薬理学的性質も不明のままである。

さらに、それぞれの GluR チャンネルサブユニットの発現は脳内部位および発達段階で大きく変化している^{3,29)}。

従って以上の事実から、脳内の GluR チャンネルは、発達段階および脳内部位により機能的多様性が生じるものと考えられる。

2. GluR チャンネル分子の機能部位

GluR チャンネル分子の重要な機能の一つはシナプス可塑性の制御である。記憶・学習あるいは神経回路形成の基礎と考えられているシナプス可塑性は、経験あるいは入力依存的にシナプスにおける神経伝達効率に変化する現象である³⁰⁾。シナプス伝達効率の変化は両方向的に起こり増強される場合と抑圧される場合がある。特に解析が進んでいる海馬 CA1 領域の長期増強 (LTP) は、通常のシナプス伝達を担っている AMPA 型 GluR チャンネルの応答がテタヌス刺激等の強い入力後に増強し、増強状態が長く続く現象である。強い入力はプレシナプス側からのグルタミン酸の放出を増大しポストシナプス側の AMPA 型 GluR を活性化して神経細胞の脱分極を継続させる。このことが、通常では Mg^{2+} により活性阻害されている NMDA 型 GluR チャンネルの活性化を引き起こし、 Ca^{2+} を流入させる。このような強い入力を経験したシナプスでは、AMPA 型 GluR チャンネルの応答が増大する。従ってシナプス可塑性における GluR の制御機構を明らかにする際には、GluR チャンネル分子のグルタミン酸の結合部位とイオン選択性を決定するチャンネル部位、ならびにチャンネル分子の活性制御部位などの同定が重要となる。

2.1 リガンド結合部位

GluR のリガンド結合部位は、M1 に近いアミノ末端側細胞外領域の約 150-170 アミノ酸からなる部分 (S1) と、M3-M4 間の約 150-170 アミノ酸からなる細胞外領域 (S2) により構成されている。S1 と S2 部分は GluR チャンネルファミリー全体にわたり相同性のある部分で、バクテリアのアミノ酸結合タンパク質と低いながらも相同性を示す。S1 と S2 をリンカー配列で結合させたポリペプチド鎖が GluR チャンネル分子と同様のリガンド結合能を持つ³¹⁾。GluR2 サブユニットの S1-S2 部位にカイニン酸を結合させた分子の結晶構造が解析され、1 サブユニット分子内の S1 と S2 から形成されるポケット構造にカイニン酸が結合することが示されている³²⁾。

2.2 イオンチャンネル部位

AMPA 型 GluR は通常 Ca^{2+} を透過しない。このイオン選択性に関わると考えられる M2 内のアミノ酸配列を AMPA 型の GluR1-GluR4 の四つのサブユニット間で比較すると、他のサブユニット全てでグルタミン (Q) である位置が GluR2 サブユニットのみでアルギニン (R) である。この GluR2 の R を Q に変異導入することで、AMPA 型 GluR が Ca^{2+} を透過する³³⁻³⁵⁾。従って、AMPA 型 GluR のイオン透過性は RNA 編集により構成される GluR2 の

M2のRで決定されている。KA型GluRのGluR6においても同じ位置の(Q/R)がイオン透過性に関与している³⁶⁾。AMPA型およびKA型GluRチャンネルサブユニットのM2の(Q/R)に対応する位置にNMDA受容体サブユニットであるGluRε, GluRδ1サブユニットではアスパラギン(N)が存在する。変異の導入により、このNがNMDA受容体の電位依存性の基礎となっているMg²⁺による阻害と、シナプス可塑性制御の基礎となっているCa²⁺の透過性を制御していることが明らかにされた^{37,38)}。また、NMDA受容体の多くのチャンネルブロッカーが作用する部位もこの部分である³⁹⁾。

2.3 機能修飾部位

シナプス可塑性の分子機構としてAMPA受容体の活性制御が集中的に研究されている。特に海馬CA1におけるLTPはNMDA受容体からのCa²⁺流入によるシグナル伝達の結果引き起こされるAMPA受容体の機能増強であり、分子機構としてGluR1のリン酸化によるチャンネル活性増強と、シナプスへのAMPA受容体の輸送増加が考えられている。一方LTDは、GluR2のリン酸化と内在化(internalization)により制御されていると考えられている(図2)。GluR分子のこれらの機能修飾に関わる領域は細胞内カルボキシル末端である。

リン酸化による機能修飾としてAMPA型GluR1サブユニットの細胞内C末端に位置する831番目のセリン(S)が、カルシウム-カルモジュリン依存的リン酸化酵素II(CaMKII)とCキナーゼ(PKC)によりリン酸化され、845番目のSがAキナーゼ(PKA)によりリン酸化される。そしてこれらの部位のリン酸化がAMPA受容体チャンネルの活性を直接亢進することや、LTPとこれらの部位のリン酸化に相関があることが報告されている^{40,41)}。また、小脳プルキンエ細胞におけるLTDの誘導にはGluR2の880番目のSのリン酸化が関わるということが報告されている⁴²⁾。

GluRチャンネルサブユニットの細胞内カルボキシル末端は、シナプスにおける多くのタンパク質群との会合領域として機能している。この領域に結合する多くの分子が明らかにされ、特にポストシナプスの足場(scaffold)タンパク質群が、GluRのシナプス局在やシグナル伝達制御に大きな機能を果たしている。たとえば、AMPA受容体サブユニットにはGRIP(glutamate receptor interacting protein)などのPSD(post-synaptic density)タンパク質群が結合している⁴³⁾が、LTP誘導時のAMPA受容体のシナプスへの輸送増加は、CaMKIIによるPSDタンパク質群の制御を介したGluR1サブユニットの輸送増加により行われていることが示唆されている⁴⁴⁾。NMDA受容体が脳から抗体を用いて精製され、足場タンパク質と共にシグナル伝達と細胞接着に関わる分子群が複合体を形成し

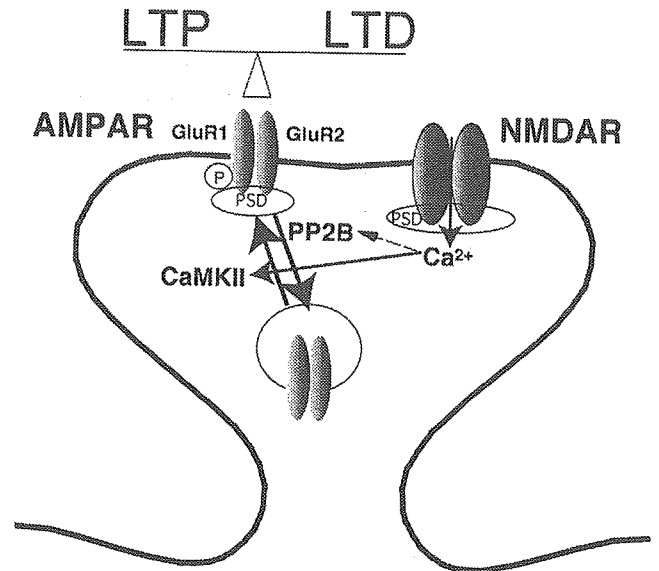


図2 シナプス可塑性とGluRチャンネル
NMDA受容体はCa²⁺を透過し、また細胞内タンパク質分子との相互作用を介して細胞内シグナル伝達を行っている。NMDA受容体からのシグナル伝達により制御される細胞内リン酸化酵素と脱リン酸化酵素の作用により、AMPA受容体の機能とシナプスへの輸送が制御され、シナプス可塑性が引き起こされると考えられている。CaMKII (calcium calmodulin-dependent protein kinase II), PSD (postsynaptic density タンパク質分子群), PP2B (protein phosphatase 2B/calcineurin)。

ていることが明らかにされている⁴⁵⁾。このように、シナプスにおけるGluRを中心とした複合体の形成はシグナル伝達とシナプス機能の効率的な制御に重要であると考えられる。前述のようにGluRδサブファミリーの機能は不明であるが、GluRδ2サブユニットは小脳LTDの誘導に非常に重要な分子である。結合分子の検索が行われGluRδ2の細胞内カルボキシル末端に結合するPSDタンパク質群が同定されている⁴⁶⁻⁴⁹⁾。GluRδ2がLTDに関わるメカニズムは不明であったが、細胞内カルボキシル末端で足場タンパク質の一つであるShankと結合しGRIPを介してAMPA受容体と複合体を形成しLTD制御に関わる可能性があることを、我々は明らかにしている⁵⁰⁾。

2.4 その他の機能制御部位

AMPA型GluRの細胞表面への輸送とシナプス局在の制御⁵¹⁾、あるいはAMPA受容体の活性増強⁵²⁾の観点からAMPA受容体と特異的に相互作用する分子Stargazinファミリーの分子機能と制御機構に注目が集まっているが、AMPA受容体側の会合部位は明らかになっていない。

S1領域よりアミノ末端部分はGluR分子でも相同性が低く機能は不明である。また、この部分を欠損させてもチャンネル機能に影響しないことがGluR4で示されている⁵³⁾。しかしながら、培養神経細胞に過剰発現させた

GluR2 サブユニットアミノ末端部位が樹状突起のスパイン形成に重要であることが示されており、なんらかの分子との相互作用を介してシナプス構造の制御に関わる可能性がある⁵⁴⁾。

RNA スプライシングにより構成される M4 直前の細胞外領域に存在する flip-flop エキソンにより構成される領域は AMPA 受容体チャンネルの脱感作の制御に関わる¹²⁾。

3. GluR 遺伝子操作マウスを用いた 個体レベルでの機能解析

遺伝子操作が可能なマウス個体レベルでの機能解析が行われ、それぞれの GluR サブユニットが多様な生理機能に関わることが明らかにされている。

3.1 AMPA 受容体遺伝子操作マウス

1) GluR1 遺伝子ノックアウト (KO) マウス

海馬には AMPA 型 GluR のうち GluR1 と GluR2 が主に発現している。GluR1 KO マウスは CA1 領域の LTP が消失していたが、海馬依存的な空間学習能力を調べるモリスの水迷路では学習障害は検出されなかった⁵⁵⁾。さらに詳しい解析の結果、LTP 誘導直後のシナプス電流の上昇が小さいことと海馬依存的な T 字迷路を用いた空間作業記憶において学習障害が検出された⁵⁶⁾。従って、作業記憶の獲得に GluR1 依存的な急速なシナプス伝達の変化が関わっていると考えられている。

2) GluR1 リン酸化部位点変異マウス

前述のように GluR1 サブユニットの細胞内カルボキシル末端に位置する 831 番目の S と 845 番目の S はリン酸化され、これらのリン酸化状態が LTP と LTD に関連することが知られていた。従って、これら 2 カ所の S をアラニン (A) に変換しリン酸化されない GluR1 を発現させたマウスが作製され解析されている⁵⁷⁾。その結果、この変異マウスでは、海馬 CA1 の LTP が減弱し、LTD が消失していた。このマウスは通常モリス水迷路学習には障害はないが、迷路のゴール位置を変更し新しく学習させた場合の記憶保持に有為な障害が検出された。従って GluR1 のこれらの部位のリン酸化が、シナプスでの AMPA 受容体の維持と可塑性の制御、さらに特定の学習課題における記憶保持に重要であると考えられている。

3) GluR2 KO マウス

AMPA 型 GluR の Ca^{2+} を透過しない性質は GluR2 により担われている。GluR2 KO マウスは、正常マウスと一緒に育てると競合に負けて生後 2-3 週で発育が遅れ約 20% の変異マウスが死亡する。競合を下げることで十分成長するが、探索行動量の減少や協調運動障害が観察される⁵⁸⁾。シナプス伝達解析の結果、 Ca^{2+} 透過性が約 9 倍上昇しており、LTP も約 2 倍増強していた。従って、GluR2 は

個体レベルでの Ca^{2+} 透過性の制御とシナプス可塑性、行動発達に関わることが明らかとなった。

4) GluR2 RNA 編集変異マウス

GluR2 サブユニットの M2 内の RNA 編集が起こらないマウスが作成し解析されている。GluR2 の M2 をコードしているエキソン 11 下流のイントロン 11 に RNA 編集に関わる dsRNA 依存的アデノシンデアミナーゼの認識部位が存在する。この配列をヘテロに破壊したマウスでは生後 12 日までにてんかん発作が出現し 3 週齢までに死亡する⁵⁹⁾。従って、GluR2 (Q) の変異はドミナントネガティブとして機能する。これらの結果から、GluR2 の RNA 編集は脳機能と生存に必須である。

5) GluR3 KO マウス

GluR3 遺伝子は X 染色体上に位置し KO マウスの雄は繁殖効率が悪い。しかしながら GluR3 KO マウスはコントロールマウス同様に成長し通常の行動において異常も見いだされていない。この変異マウスでは、基本的なシナプス伝達も変化していないが、海馬 CA1 の LTP が増強している一方 LTD には差が無い⁶⁰⁾。GluR2 と GluR3 の両遺伝子 KO マウスでも、海馬 CA1 の LTP も LTD も観察されることから、GluR1 単独で様々なシナプス可塑性を引き起こせると考えられる⁶⁰⁾。

3.2 KA 受容体遺伝子操作マウス

1) GluR5 KO マウス

GluR5 は海馬 CA1 領域の GABA 作動性の抑制性介在神経細胞に高く発現することから、この細胞の KA 受容体サブユニットとして重要と考えられていた。しかしながら GluR5 KO マウスは正常に成長し繁殖可能であり、解析の結果、KO マウスにおいても CA1 介在神経細胞での KA 受容体には異常は観察されず、この細胞の KA 受容体には GluR6 サブユニットが重要であることが示唆された⁶¹⁾。

2) GluR6 KO マウス

GluR6 KO マウスは体重が少し減少するが成長し繁殖可能である。KA 受容体が多い海馬 CA3 領域でカイニン酸による電流応答が減少しており、またカイニン酸投与により誘導される神経毒性に抵抗性を示す⁶²⁾。この変異マウスでは海馬 CA1 介在神経細胞での KA 受容体応答が無くなることから GluR6 が関与していると考えられる。また特に、GluR6 KO マウスでは、CA1 内の介在神経細胞間のプレシナプス機能に影響が出ることから、プレシナプスに存在する KA 受容体として機能していると考えられる⁶¹⁾。

3) KA2 KO マウス

KA2 KO マウスは正常に成長し繁殖可能であり行動学的異常も見いだされていない。海馬の苔状線維-CA3 間シナプス伝達のプレシナプス成分にもポストシナプス成分にも影響を与えることから、KA2 はシナプスの両側で機能

していると考えられる⁶³⁾。

3.3 NMDA 受容体遺伝子操作マウス

1) GluR ϵ 1 (NR2A) KO マウス

GluR ϵ 1 KO マウスは海馬 CA1 領域での NMDA 受容体チャンネル活性が半減しており LTP も減弱していた。さらにモリスの水迷路学習で障害が見いだされた⁶⁴⁾。これらのことから、分子的に多様な GluR ϵ サブユニットのうち、GluR ϵ 1 はシナプス可塑性とともに記憶・学習に関わる分子であることが明らかにされた。また、文脈依存的恐怖条件付け学習の解析から、GluR ϵ 1 はシナプス可塑性と文脈学習の閾値に関わることが示された⁶⁵⁾。さらに、運動学習の一つである瞬目反射条件付け学習のうち、条件刺激 (CS) である音と非条件刺激 (US) である脛への電気ショックの時間間隔が長い課題において学習獲得に障害を示した⁶⁶⁾。この課題の運動学習には、脳破壊実験から海馬が必要なことが明らかにされており、海馬の GluR ϵ 1 を含む NMDA 受容体が重要と考えられる (図 3)。

GluR ϵ 1 KO マウスでは、脳虚血により引き起こされる脳障害の程度が軽減する⁶⁷⁾。従って虚血に伴う神経細胞死に GluR ϵ 1 サブユニットを含む NMDA 受容体が関わっていることが分子遺伝学的観点から明らかにされた。

さらに、GluR ϵ 1 KO マウスでは、統合失調症の陽性症状様の行動量の増加が観察され、ドーパミンとセロトニン

系の機能亢進が明らかにされた。解析の結果、これらの影響は GABA 作動性の抑制性介在性神経細胞の機能低下によると考えられる⁶⁸⁾。統合失調症の病態生理としてドーパミン系の機能亢進と NMDA 受容体の機能低下が示唆されていることから、GluR ϵ 1 KO マウスは統合失調症のモデル動物として有用と考えられる。

2) GluR ϵ 2 (NR2B) KO マウス

GluR ϵ 2 は胎生期の中枢神経に広く発現するが、生後発達に従って発現が前脳に限局する。GluR ϵ 2 KO マウスは、正常に出生するが哺乳反射の欠如により生後 24 時間以内に死亡する⁶⁹⁾。人工哺乳により生存させた KO マウスでは、海馬 CA1 の NMDA 受容体活性が欠損しており、この時期に検出される海馬 LTD も観察されなかった。また、脳幹三叉神経脊髄路核での体性感覚地図が形成されないことから、GluR ϵ 2 はシナプス可塑性とシナプス形成に関わる重要な分子であることが明らかになった。

3) GluR ϵ 2 細胞内カルボキシル末端欠損マウス

GluR ϵ サブユニットの細胞内カルボキシル末端領域はポストシナプスにおけるタンパク質複合体との会合に重要な部位である。この部分を欠損させた GluR ϵ 2dC マウスは、GluR ϵ 2 KO マウスと同様に脳幹三叉神経脊髄路核での体性感覚地図が形成されず生後死亡する。解析の結果、NMDA 受容体のシナプス局在が障害されていることが明

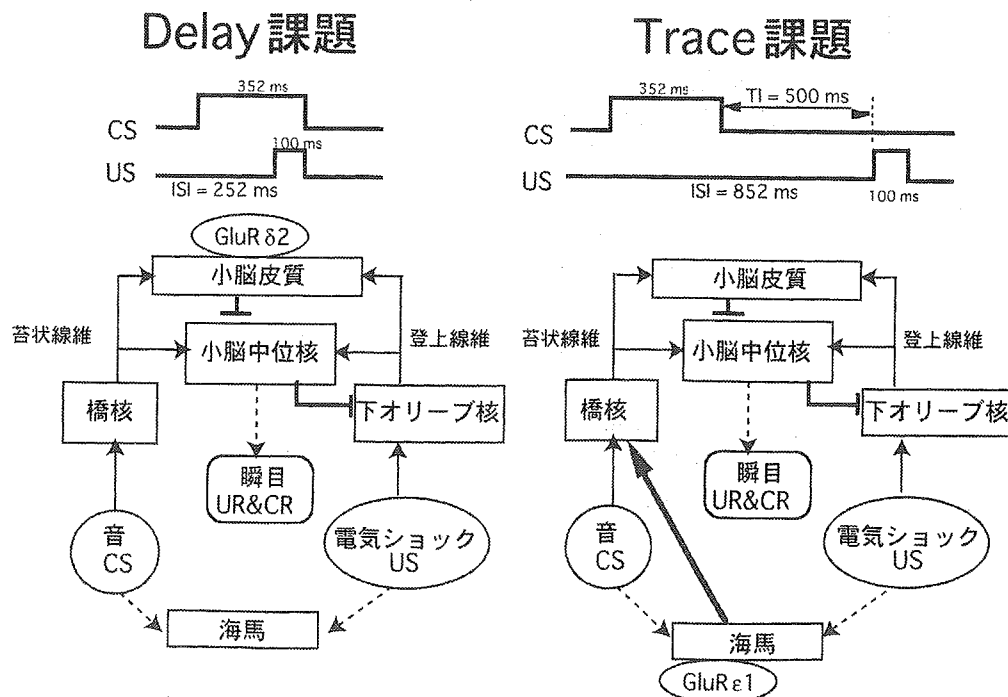


図 3 GluRKO マウスの解析より明らかにされた課題依存的な瞬目反射条件付け運動学習
 瞬目反射条件付け運動学習は、与える条件刺激 (CS) と非条件刺激 (US) の時間的重なりにより、異なる神経回路と異なる GluR が関わる。CS と US が重なる場合には小脳プルキンエ細胞の GluR δ 2 が重要であり (左)、CS と US の時間間隔が長い場合には、海馬の NMDA 受容体 GluR ϵ 1 サブユニットが重要である (右)。

らかとなった⁷⁹⁾。また、同様の GluR ϵ の細胞内部分の欠損によりシグナル伝達が障害されることが示唆されている⁷³⁾。

4) GluR ϵ 2 ヘテロ欠損マウス

GluR ϵ 2 KO マウスは出生後致死となるが、ヘテロ欠損マウスはコントロールマウスと同様に成長し繁殖も可能である。ところが、GluR ϵ 2 ヘテロ欠損マウスは、他の GluR ϵ サブユニットのヘテロ欠損マウスやホモ欠損マウスよりも著明に音驚愕反射が亢進していた⁷²⁾。音驚愕反射の一次回路は脳幹に存在し、GluR ϵ 2 は成体では前脳に局限して発現することから、前脳の GluR ϵ 2 サブユニットが驚愕反射の修飾に重要であると考えられる。

5) GluR ϵ 2 過剰発現マウス

KO マウスとは逆に GluR ϵ 2 サブユニットを前脳部でのみ過剰発現させたトランスジェニックマウスが作成され解析されている。このマウスでは NMDA 受容体チャンネルの機能亢進、海馬 CA1 の LTP の上昇が観察され、複数の課題において学習の向上が認められ smart マウスと呼ばれている⁷³⁾。この結果から、GluR ϵ 2 は NMDA 受容体依存的シナプス可塑性と記憶・学習に関わる重要な分子であると考えられる。

6) GluR ϵ 3 (NR2C) KO マウス

GluR ϵ 3 は生後に小脳顆粒細胞に発現するサブユニットである。GluR ϵ 3 KO マウスでは、コンダクタンスの小さな NMDA 受容体応答が欠損しているが行動学的異常はほとんど無い^{74,75)}。

7) GluR ϵ 4 KO マウス

GluR ϵ 4 は胎生期の間脳、脳幹を中心として広く発現するが、出生後は発現が低下する胎児型の NMDA 受容体サブユニットである。GluR ϵ 4 KO マウスは、対照マウスと同様に成長、繁殖する。このマウスでは新奇環境での自発運動が低下しており、恐怖反応を引き起こすストレスに対する感受性が低下していることから、情動に障害があることが示唆されている^{76,77)}。

8) GluR ζ 1 (NR1) KO マウス

GluR ζ 1 は胎児期から中枢神経系に広く強く発現している。GluR ζ 1 KO マウスは出生直後に死亡する。NMDA 受容体チャンネル活性が欠損しており、三叉神経脊髄路核の体性感覚地図の形成が障害されていた^{78,79)}。

9) 終脳特異的 GluR ζ 1 欠損マウス

GluR ζ 1 KO マウスは出生直後致死であるために、脳内特定領域で遺伝子欠損させたコンディショナルノックアウトマウスが作成されている。終脳特異的発現遺伝子 *emx1* のプロモーターを用いて Cre 組換え酵素 (Cre) を発現させ、終脳特異的に GluR ζ 1 を欠損させたマウスでは、大脳皮質 4 層に形成される頬ヒゲに対応したパレルと呼ばれる体性感覚地図のパターン形成が障害されていた⁸⁰⁾。従っ

て、NMDA 受容体が大脳皮質体性感覚野の入力依存的シナプス発達に重要であることが示された。

10) 海馬 CA1 領域特異的 GluR ζ 1 KO マウス

海馬 CA1 領域特異的に Cre を発現させたトランスジェニックマウスを用い、CA1 領域特異的 GluR ζ 1 KO マウスが作成されている。このマウスでは、海馬 CA1 特異的に NMDA 受容体が欠損し、LTP も起こらなかった⁸¹⁾。また、空間記憶が必要な水迷路学習が阻害されているとともに、海馬内に形成される場所細胞の協調的な発火に障害が観察された⁸²⁾。従って、海馬 CA1 の NMDA 受容体依存的シナプス可塑性が空間学習と海馬 CA1 内の空間表現に重要であると考えられた。また、CS と US に時間間隔のある恐怖条件付けを用いた行動解析から海馬 CA1 の NMDA 受容体は時間的記憶にも重要であることが示されている⁸³⁾。

11) 海馬 CA3 領域特異的 GluR ζ 1 KO マウス

海馬 CA3 領域特異的に Cre を発現させたトランスジェニックマウスを用い、CA3 領域特異的 GluR ζ 1 KO マウスが作成され解析されている。このマウスでは CA3 領域の反回性回路における NMDA 受容体依存的な LTP が障害されており、空間学習の獲得と保持は正常であるが、十分な手がかり情報がないと記憶の想起に障害があることが示されている⁸⁴⁾。また、手がかりが減少した場合に CA1 領域の場所細胞の受容野が十分に保持されないことが示されている。これらの結果は、海馬内でも領域特異的に NMDA 受容体が異なる機能を担っていることを示す。

12) GluR ζ 1 on-off マウス

海馬 CA1 特異的 GluR ζ 1 KO マウスに、テトラサイクリン遺伝子発現制御システムを導入することにより、海馬 CA1 領域特異的に NMDA 受容体の発現を on-off できるマウスが作成されている。このマウスを用い空間学習課題の記憶獲得前、獲得後の保持強化、および想起における CA1 領域 NMDA 受容体の役割が調べられた。その結果、記憶獲得前の GluR ζ 1 発現抑制が記憶の獲得を阻害したのみならず、記憶獲得後の GluR ζ 1 の発現抑制も記憶の保持強化を障害した⁸⁵⁾。一方、想起前の NMDA 受容体の抑制は影響しなかった。従って、記憶の保持強化過程においても海馬 CA1 の NMDA 受容体の活性化が重要であることが示唆された。

13) NR3A KO マウス

NR3A KO マウスは対照マウスと同様に成長、繁殖し行動学的異常は認められていない。しかしながら、KO マウス由来神経細胞では NMDA 受容体チャンネル反応が増大しており、樹状突起スパイン数の上昇とスパインヘッドの拡大、スパインネックの伸長が見られることから、シナプス形成の制御に関わっていると考えられている⁸⁶⁾。

3.4 GluRδ2 遺伝子操作マウス

1) GluRδ2 KO マウス

GluRδ2 は、小脳プルキンエ細胞の平行線維シナプスに局在する分子であることから、小脳の重要な機能を担うと考えられた。実際に GluRδ2 KO マウスは運動失調を示し、平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの可塑性である長期抑圧 (LTD) が障害されていた⁸⁷⁾。また、平衡障害時の運動適応が障害されている⁸⁸⁾。GluRδ2 は小脳プルキンエ細胞特異的発現を示すことから、運動学習におけるプルキンエ細胞の機能を検証する優れたマウス系統である。小脳が必須の運動学習課題である瞬目反射条件付けにおいて GluRδ2 KO マウスは学習獲得が阻害されていた⁸⁹⁾。しかしながら、その障害は、連合に用いた CS と US が時間的に重なって与えられる課題においてであった。一方、CS と US が重ならない課題では GluRδ2 KO マウスは対照マウスと同様に学習することができた⁹⁰⁾。従って、これらの結果から GluRδ2 は特定の課題の運動学習獲得に重要であること、および学習課題依存的に学習獲得に関わる脳内システムが変化することが示された (図 3)。さらに GluRδ2 KO マウスでは、シナプス形成に異常が見いだされている。

電子顕微鏡レベルの詳細な形態学的解析から、平行線維-プルキンエ細胞シナプスの減少とプレシナプス構造が存在しないフリー・スパインの出現が観察されている⁹¹⁾。さらに、プルキンエ細胞に入力しているもう一つの興奮性線維である登上線維の多重支配が残存しており、登上線維シナプスの遠位化も起きている⁹²⁾。従って GluRδ2 サブユニットは発達過程における小脳プルキンエ細胞のシナプス形成と安定性を制御する中心分子であることが明らかとなった。

2) 誘導型 GluRδ2 KO マウス

遺伝子 KO の発生過程での影響を回避し、成体脳での遺伝子 KO を実現するために、我々は Cre と変異型プロゲステロン受容体との融合遺伝子 (*CrePR*) を用いた誘導型の遺伝子ノックアウト系を確立した⁹³⁾。この *CrePR* を C57BL/6 系統由来の ES 細胞での標的遺伝子組換えを用いて GluRδ2 遺伝子座に挿入することにより小脳プルキンエ細胞特異的かつ誘導型の遺伝子欠損マウスを作成した⁹⁴⁾。このマウスと GluRδ2 遺伝子座に Cre の認識配列を挿入したマウスを掛け合わせ、両遺伝子を持ったマウスに *CrePR* の活性化薬である RU486 を投与し成体での

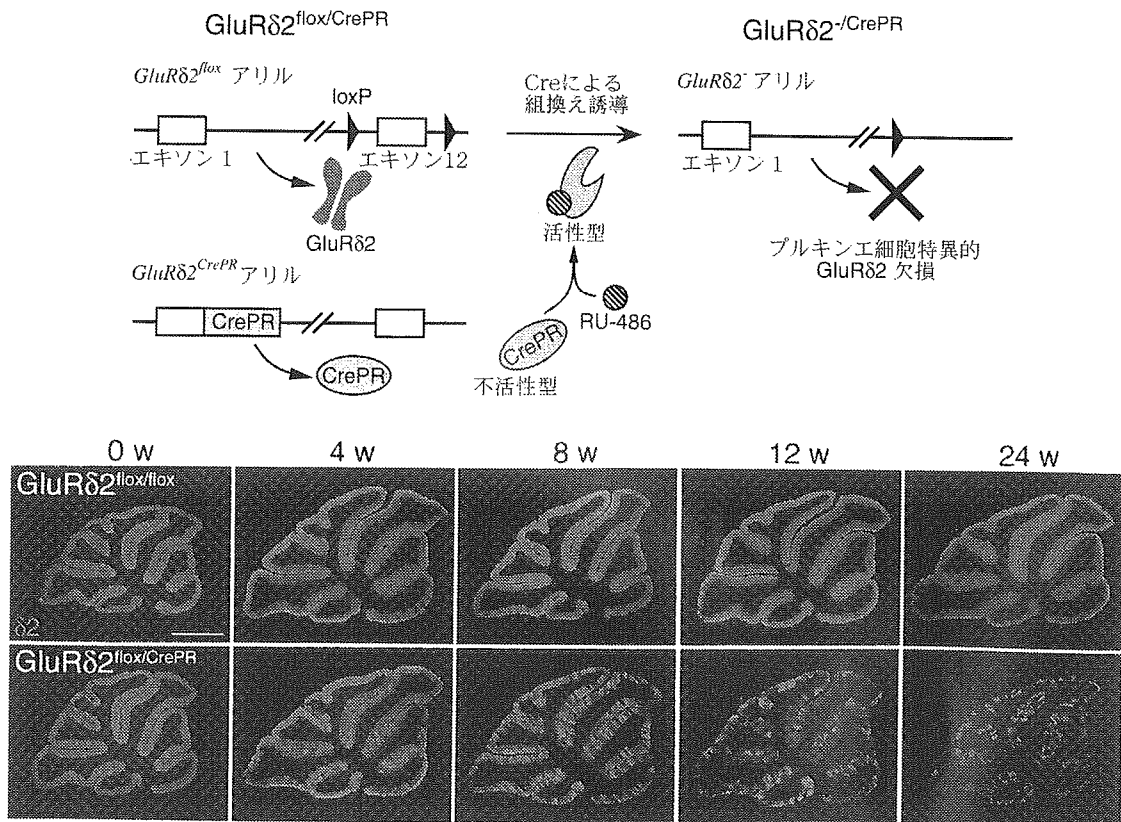


図 4 CrePR を用いた GluRδ2 の成体脳での誘導型遺伝子ノックアウト
 (上) 成体脳での GluRδ2 遺伝子欠損の模式図。CrePR が RU-486 の投与により活性化されて GluRδ2 の遺伝子欠損を引き起こす。(下) 小脳における GluRδ2 の免疫組織化学。RU-486 投与後 GluRδ2 のシグナル (赤) が消失していく。スケールバーは、1 mm。

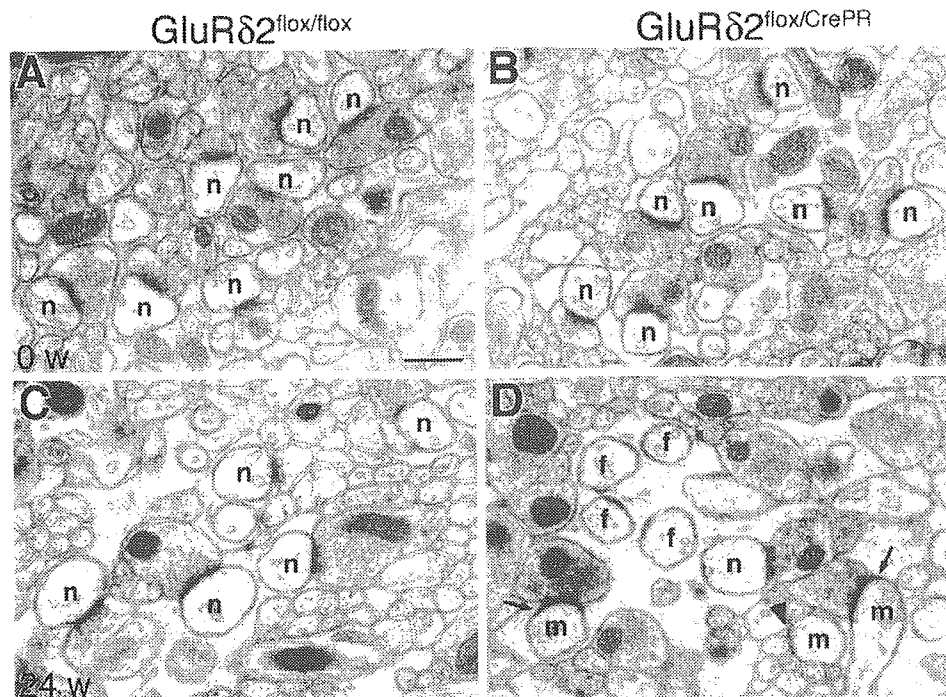


図5 成体での $\text{GluR}\delta 2$ 欠損マウスで観察されたシナプス異常
 RU-486 投与前 (A, B) と投与後 24 週 (C, D) でのコントロールマウス (A, C) と $\text{GluR}\delta 2$ 欠損誘導マウス (B, D) の平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの構造。電子顕微鏡観察で比べると, D でシナプスのプレ側とポスト側のミスマッチ (矢印), と異常スパイン (矢頭) ならびにフリー・スパイン (f) が観察された。正常シナプス (n), ミスマッチシナプス (m), スケールバーは 500 nm.

$\text{GluR}\delta 2$ の欠損に成功した (図4)。このマウスでは, $\text{GluR}\delta 2$ の欠損に伴い, 平行線維-プルキンエ細胞間シナプスのプレシナプス側の拡大とポストシナプス側の縮小によりシナプスのミスマッチが生じた。さらに $\text{GluR}\delta 2$ の欠損の進行によりプレシナプス構造が消失したフリー・スパインが観察された (図5)⁹⁵。これらのことから, $\text{GluR}\delta 2$ は成体におけるシナプス構造の維持に非常に重要な分子であると共に, ポストシナプスに存在する $\text{GluR}\delta 2$ がプレシナプス構造に影響を与えることから, $\text{GluR}\delta 2$ を介する新たなシナプス維持機構の存在が示唆された。

おわりに

GluR チャンネルの分子構造が明らかにされ始めてから 15 年が経過し, GluR サブユニットの分子機能の解析が精力的に進められた。また, 多くの遺伝子操作マウスの解析から, 多様な GluR チャンネルの生理機能が明らかにされてきた。特に遺伝子 KO マウスの解析から, 脳の機能補償能力の高さが明らかにされており, また記憶・学習の基礎と考えられるシナプス可塑性とシナプス形成が同様の機構により担われていることが強く示唆された。現在の解析の焦点は GluR サブユニットと相互作用する分子による GluR チャンネル機能制御機構の解析に移りつつある。ま

た今後は, 依然として明確になっていない $\text{GluR}\delta$ サブファミリーの機能を担っている分子機構の解明が焦点となる。さらに GluR チャンネル分子の発現をより精密に時間空間的にコントロールした遺伝子操作マウスを用いて生理機能解析が進むと期待される。その際にはマウスの脳機能を行動的に評価する際に常に問題となっている遺伝的背景を, 学習行動解析に適し十分なデータの積み重ねのある C57BL/6 などの近交系に統一したマウスでの解析が重要になる。 GluR チャンネルは, 興奮性神経伝達の中心分子であり, その異常は多くの疾病に関わる。従って GluR チャンネルの機能制御機構を明らかにすることは学術的重要性のみならず, 虚血や神経変性疾患で引き起こされる神経細胞死, てんかんや痴呆や精神病あるいは痛覚異常など中枢神経系の多くの病態機構を明らかにし, 新たな治療方策を提案するものである。

ここで紹介した研究のうち, 私が関わった研究は, 東京大学大学院医学系研究科分子神経生物学教室の三品昌美教授のもとで, 新潟大学脳研究所神経細胞生物学部門の崎村建司教授をはじめとする多くの共同研究者の方々と共に展開されたものであります。共に重要で有意義な研究を進めさせて頂きましたことに感謝いたします。

文 献

- 1) Monaghan, D.T., Bridges, R.J., & Cotman, C.W. (1989) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **29**, 365-402
- 2) Hollmann, M., O'Shea-Greenfield, A., Rogers, S.W. & Heinemann, S. (1989) *Nature* **342**, 643-648
- 3) Hollmann, M. & Heinemann, S. (1994) *Annu. Rev. Neurosci.* **17**, 31-108
- 4) Chatterton, J.E., Awobuluyi, M., Premkumar, L.S., Takahashi, H., Talantova, M., Shin, Y., Cui, J., Tu, S., Sevarino, K.A., Nakanishi, N., Tong, G., Lipton, S.A., & Zhang, D. (2002) *Nature* **415**, 793-798
- 5) Mishina, M., Sakimura, K., Mori, H., Araki, K., Kushiya, E., Meguro, H., Morita, T., Kutsuwada, T., & Kashiwabuchi, N. (1992) in Neurotransmitter Receptors and Intracellular Signaling. International Congress Series 1027, pp. 3-16, Excerpta Medica, Ltd. Tokyo.
- 6) Mori, H., Yamakura, T., Masaki, H., & Mishina, M. (1993) *Neuroreport* **4**, 519-522
- 7) Tingley, W.G., Roche, K.W., Thompson, A.K., & Huganir, R.L. (1993) *Nature* **364**, 70-73
- 8) Hollmann, M., Maron, C., & Heinemann, S. (1994) *Neuron* **13**, 1331-1343
- 9) Behe, P., Stern, P., Wyllie, D. J., Nassar, M., Schoepfer, R., & Colquhoun, D. (1995) *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* **262**, 205-213
- 10) Rosenmund, C., Stern-Bach, Y., & Stevens, C.F. (1998) *Science* **280**, 1596-1599
- 11) Nakagawa, T., Cheng, Y., Ramm, E., Sheng, M., & Walz, T. (2005) *Nature* **433**, 545-549
- 12) Sommer, B., Keinänen, K., Verdoorn, T.A., Wisden, W., Burnashev, N., Herb, A., Kohler, M., Takagi, T., Sakmann, B., & Seeburg, P.H. (1990) *Science* **249**, 1580-1585
- 13) Kohler, M., Kornau, H.C., & Seeburg, P.H. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 17367-17370
- 14) Sommer, B., Burnashev, N., Verdoorn, T.A., Keinänen, K., Sakmann, B., & Seeburg, P.H. (1992) *EMBO J.* **11**, 1651-1656
- 15) Hollmann, M., Boulter, J., Maron, C., Beasley, L., Sullivan, J., Pecht, G., & Heinemann, S. (1993) *Neuron* **10**, 943-954
- 16) Mu, Y., Otsuka, T., Horton, A.C., Scott, D.B., & Ehlers, M.D. (2003) *Neuron* **40**, 581-594
- 17) Sommer, B., Kohler, M., Sprengel, R., & Seeburg, P.H. (1991) *Cell* **67**, 11-19
- 18) Burnashev, N., Villarroel, A., & Sakmann, B. (1996) *J. Physiol.* **496**, 165-173
- 19) Keinänen, K., Wisden, W., Sommer, B., Werner, P., Herb, A., Verdoorn, T.A., Sakmann, B., & Seeburg, P.H. (1990) *Science* **249**, 556-560
- 20) Boulter, J., Hollmann, M., O'Shea-Greenfield, A., Hartley, M., Deneris, E., Maron, C., & Heinemann, S. (1990) *Science* **249**, 1033-1037
- 21) Sakimura, K., Bujo, H., Kushiya, E., Araki, K., Yamazaki, M., Yamazaki, M., Meguro, H., Warashina, A., Numa, S., & Mishina, M. (1990) *FEBS Lett.* **272**, 73-80
- 22) Sakimura, K., Morita, T., Kushiya, E., & Mishina, M. (1992) *Neuron* **8**, 267-274
- 23) Herb, A., Burnashev, N., Werner, P., Sakmann, B., Wisden, W., & Seeburg, P.H. (1992) *Neuron* **8**, 775-785
- 24) Meguro, H., Mori, H., Araki, K., Kushiya, E., Kutsuwada, T., Yamazaki, M., Kumanishi, T., Arakawa, M., Sakimura, K., & Mishina, M. (1992) *Nature* **357**, 70-74
- 25) Kuryatov, A., Laube, B., Betz, H., & Kuhse, J. (1994) *Neuron* **12**, 1291-1300
- 26) Matsuda, K., Kamiya, Y., Matsuda, S., & Yuzaki, M. (2002) *Mol. Brain Res.* **100**, 43-52
- 27) Yamazaki, M., Araki, K., Shibata, A., & Mishina, M. (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **183**, 886-892
- 28) Araki, K., Meguro, H., Kushiya, E., Takayama, C., Inoue, Y., & Mishina, M. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **197**, 1267-1276
- 29) Watanabe, M., Inoue, Y., Sakimura, K. & Mishina, M. (1992) *NeuroReport* **3**, 1138-1140
- 30) Bliss, T.V. & Collingridge, G.L. (1993) *Nature* **361**, 31-39
- 31) Kuusinen, A., Arvola, M., & Keinänen, K. (1995) *EMBO J.* **14**, 6327-6332
- 32) Armstrong, N., Sun, Y., Chèn, G.Q., & Gouaux, E. (1998) *Nature* **395**, 913-917
- 33) Hume, R.L., Dingledine, R., & Heinemann, S.F. (1991) *Science* **253**, 1028-1031
- 34) Verdoorn, T.A., Burnashev, N., Monyer, H., Seeburg, P.H., & Sakmann, B. (1991) *Science* **252**, 1715-1718
- 35) Mishina, M., Sakimura, K., Mori, H., Kushiya, E., Hara-bayashi, M., Uchino, S., & Nagahari, K. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **180**, 813-821
- 36) Burnashev, N., Villarroel, A., & Sakmann, B. (1996) *J. Physiol.* **496**, 165-173
- 37) Burnashev, N., Schoepfer, R., Monyer, H., Ruppersberg, J.P., Gunther, W., Seeburg, P.H., & Sakmann, B. (1992) *Science* **257**, 1415-1419
- 38) Mori, H., Masaki, H., Yamakura, T., & Mishina, M. (1992) *Nature* **358**, 673-675
- 39) Yamakura, T., Mori, H., Masaki, H., Shimoji, K., & Mishina, M. (1993) *Neuroreport* **4**, 687-690
- 40) Derkach, V., Barria, A., & Soderling, T.R. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 3269-3274
- 41) Lee, H.K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M.F., & Huganir, R.L. (2000) *Nature* **405**, 955-959
- 42) Chung, H.J., Steinberg, J.P., Huganir, R.L., & Linden, D.J. (2003) *Science* **300**, 1751-1755
- 43) Dong, H., O'Brien, R.J., Fung, E.T., Lanahan, A.A., Worley, P.F., & Huganir, R.L. (1997) *Nature* **386**, 279-284
- 44) Hayashi, Y., Shi, S.H., Esteban, J.A., Piccini, A., Poncer, J.C., & Malinow, R. (2000) *Science* **287**, 2262-2267
- 45) Husi, H., Ward, M.A., Choudhary, J.S., Blackstock, W.P., & Grant, S.G. (2000) *Nature Neurosci.* **3**, 661-669
- 46) Roche, K.W., Ly, C.D., Petralia, R.S., Wang, Y.X., McGee, A.W., Brecht, D.S., & Wenthold, R.J. (1999) *J. Neurosci.* **19**, 3926-3934
- 47) Hironaka, K., Umemori, H., Tezuka, T., Mishina, M., & Yamamoto, T. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 16167-16173
- 48) Miyagi, Y., Yamashita, T., Fukaya, M., Sonoda, T., Okuno, T., Yamada, K., Watanabe, M., Nagashima, Y., Aoki, I., Okuda, K., Mishina, M., & Kawamoto, S. (2002) *J. Neurosci.* **22**, 803-814
- 49) Yue, Z., Horton, A., Bravin, M., DeJager, P.L., Selimi, F., & Heintz, N. (2002) *Neuron* **35**, 921-933
- 50) Uemura, T., Mori, H., & Mishina, M. (2004) *Mol. Cell. Neurosci.* **26**, 330-341
- 51) Chen, L., Chetkovich, D.M., Petralia, R.S., Sweeney, N.T., Kawasaki, Y., Wenthold, R.J., Brecht, D.S., & Nicoll R.A. (2000) *Nature* **408**, 936-443
- 52) Yamazaki, M., Ohno-Shosaku, T., Fukaya, M., Kano, M., Watanabe, M., & Sakimura, K. (2004) *Neurosci. Res.* **50**, 369-374
- 53) Pasternack, A., Coleman, S.K., Joupila, A., Motter-

- shead, D.G., Lindfors, M., Pasternack, M., & Keinanen, K. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 49662-49667
- 54) Passafaro, M., Nakagawa, T., Sala, C., & Sheng, M. (2003) *Nature* **424**, 677-681
- 55) Zamanillo, D., Sprengel, R., Hvalby, O., Jensen, V., Burnashev, N., Rozov, A., Kaiser, K.M., Koster, H.J., Borchardt, T., Worley, P., Lubke, J., Frotscher, M., Kelly, P.H., Sommer, B., Andersen, P., Seeburg, P.H., & Sakmann, B. (1999) *Science* **284**, 1805-1811
- 56) Reisel, D., Bannerman, D.M., Schmitt, W.B., Deacon, R.M., Flint, J., Borchardt, T., Seeburg, P.H., & Rawlins, J.N. (2002) *Nature Neurosci.* **5**, 868-873
- 57) Lee, H.K., Takamiya, K., Han, J.S., Man, H., Kim, C.H., Rumbaugh, G., Yu, S., Ding, L., He, C., Petralia, R.S., Wenthold, R.J., Gallagher, M., & Huganir R.L. (2003) *Cell* **112**, 631-643
- 58) Jia, Z., Agopyan, N., Miu, P., Xiong, Z., Henderson, J., Gerlai, R., Taverna, F.A., Velumian, A., MacDonald, J., Carlen, P., Abramow-Newerly, W., & Roder, J. (1996) *Neuron* **17**, 945-956
- 59) Brusa, R., Zimmermann, F., Koh, D.S., Feldmeyer, D., Gass, P., Seeburg, P.H., & Sprengel, R. (1995) *Science* **270**, 1677-1680
- 60) Meng, Y., Zhang, Y., & Jia, Z. (2003) *Neuron* **39**, 163-176
- 61) Mülle, C., Sailer, A., Swanson, G.T., Brana, C., O'Gorman, S., Bettler, B., & Heinemann, S.F. (2000) *Neuron* **28**, 475-484
- 62) Mülle, C., Sailer, A., Perez-Otano, I., Dickinson-Anson, H., Castillo, P.E., Bureau, I., Maron, C., Gage, F.H., Mann, J.R., Bettler, B., & Heinemann, S.F. (1998) *Nature* **392**, 601-605
- 63) Contractor, A., Sailer, A.W., Darstein, M., Maron, C., Xu, J., Swanson, G.T., & Heinemann, S.F. (2003) *J. Neurosci.* **23**, 422-429
- 64) Sakimura, K., Kutsuwada, T., Ito, I., Manabe, T., Takayama, C., Kushiya, E., Yagi, T., Aizawa, S., Inoue, Y., Sugiyama, H., & Mishina, M. (1995) *Nature* **373**, 151-155
- 65) Kiyama, Y., Manabe, T., Sakimura, K., Kawakami, F., Mori, H., & Mishina, M. (1998) *J. Neurosci.* **18**, 6704-6712
- 66) Kishimoto, Y., Kawahara, S., Mori, H., Mishina, M., & Kirino, Y. (2001) *Eur. J. Neurosci.* **13**, 1221-1227
- 67) Morikawa, E., Mori, H., Kiyama, Y., Mishina, M., Asano, T., & Kirino, T. (1998) *J. Neurosci.* **18**, 9727-9732
- 68) Miyamoto, Y., Yamada, K., Noda, Y., Mori, H., Mishina, M., & Nabeshima, T. (2001) *J. Neurosci.* **21**, 750-757
- 69) Kutsuwada, T., Sakimura, K., Manabe, T., Takayama, C., Katakura, N., Kushiya, E., Natsume, R., Watanabe, M., Inoue, Y., Yagi, T., Aizawa, S., Arakawa, M., Takahashi, T., Nakamura, Y., Mori, H., & Mishina, M. (1996) *Neuron* **16**, 333-344
- 70) Mori, H., Manabe, T., Watanabe, M., Satoh, Y., Suzuki, N., Toki, S., Nakamura, K., Yagi, T., Kushiya, E., Takahashi, T., Inoue, Y., Sakimura, K., & Mishina, M. (1998) *Neuron* **21**, 571-580
- 71) Sprengel, R., Suchanek, B., Amico, C., Brusa, R., Burnashev, N., Rozov, A., Hvalby, O., Jensen, V., Paulsen, O., Andersen, P., Kim, J.J., Thompson, R.F., Sun, W., Webster, L.C., Grant, S.G., Eilers, J., Konnerth, A., Li, J., McNamara, J.O., & Seeburg, P.H. (1998) *Cell* **92**, 279-289
- 72) Takeuchi, T., Kiyama, Y., Nakamura, K., Tsujita, M., Matsuda, I., Mori, H., Munemoto, Y., Kuriyama, H., Natsume, R., Sakimura, K., & Mishina, M. (2001) *Eur. J. Neurosci.* **14**, 153-160
- 73) Tang, Y.P., Shimizu, E., Dube, G.R., Rampon, C., Kerchner, G.A., Zhuo, M., Liu, G., & Tsien, J.Z. (1999) *Nature* **401**, 63-69
- 74) Ebralidze, A.K., Rossi, D.J., Tonegawa, S., & Slater, N.T. (1996) *J. Neurosci.* **16**, 5014-5025
- 75) Kadotani, H., Hirano, T., Masugi, M., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., & Nakanishi, S. (1996) *J. Neurosci.* **16**, 7859-7867
- 76) Ikeda, K., Araki, K., Takayama, C., Inoue, Y., Yagi, T., Aizawa, S., & Mishina, M. (1995) *Mol. Brain Res.* **33**, 61-71
- 77) Miyamoto, Y., Yamada, K., Noda, Y., Mori, H., Mishina, M., & Nabeshima, T. (2002) *J. Neurosci.* **22**, 2335-2342
- 78) Li, Y., Erzurumlu, R.S., Chen, C., Jhaveri, S., & Tonegawa, S. (1994) *Cell* **76**, 427-437
- 79) Forrest, D., Yuzaki, M., Soares, H.D., Ng, L., Luk, D.C., Sheng, M., Stewart, C.L., Morgan, J.I., Connor, J.A., & Curran, T. (1994) *Neuron* **13**, 325-338
- 80) Iwasato, T., Datwani, A., Wolf, A.M., Nishiyama, H., Taguchi, Y., Tonegawa, S., Knopfel, T., Erzurumlu, R.S., & Itohara, S. (2000) *Nature* **406**, 726-731
- 81) Tsien, J.Z., Huerta, P.T., & Tonegawa, S. (1996) *Cell* **87**, 1327-1338
- 82) McHugh, T.J., Blum, K.I., Tsien, J.Z., Tonegawa, S., & Wilson, M.A. (1996) *Cell* **87**, 1339-1349
- 83) Huerta, P.T., Sun, L.D., Wilson, M.A., & Tonegawa, S. (2000) *Neuron* **25**, 473-480
- 84) Nakazawa, K., Quirk, M.C., Chitwood, R.A., Watanabe, M., Yeckel, M.F., Sun, L.D., Kato, A., Carr, C.A., Johnston, D., Wilson, M.A., & Tonegawa, S. (2002) *Science* **297**, 211-218
- 85) Shimizu, E., Tang, Y.P., Rampon, C., & Tsien, J.Z. (2000) *Science* **290**, 1170-1174
- 86) Das, S., Sasaki, Y.F., Rothe, T., Premkumar, L.S., Takasu, M., Crandall, J.E., Dikkes, P., Conner, D.A., Rayudu, P.V., Cheung, W., Chen, H.S., Lipton, S.A., & Nakanishi, N. (1998) *Nature* **393**, 377-381
- 87) Kashiwabuchi, N., Ikeda, K., Araki, K., Hirano, T., Shibuki, K., Takayama, C., Inoue, Y., Kutsuwada, T., Yagi, T., Kang, Y., Aizawa, S., & Mishina, M. (1995) *Cell* **81**, 245-252
- 88) Funabiki, K., Mishina, M., & Hirano, T. (1995) *Neuroreport* **7**, 189-192
- 89) Kishimoto, Y., Kawahara, S., Suzuki, M., Mori, H., Mishina, M., & Kirino, Y. (2001) *Eur. J. Neurosci.* **13**, 1249-1253
- 90) Kishimoto, Y., Kawahara, S., Fujimichi, R., Mori, H., Mishina, M., & Kirino, Y. (2001) *Eur. J. Neurosci.* **14**, 1515-1521
- 91) Kurihara, H., Hashimoto, K., Kano, M., Takayama, C., Sakimura, K., Mishina, M., Inoue, Y., & Watanabe, M. (1997) *J. Neurosci.* **17**, 9613-9623
- 92) Ichikawa, R., Miyazaki, T., Kano, M., Hashikawa, T., Tatsumi, H., Sakimura, K., Mishina, M., Inoue, Y., & Watanabe, M. (2002) *J. Neurosci.* **22**, 8487-8503
- 93) Tsujita, M., Mori, H., Watanabe, M., Suzuki, M., Miyazaki, J., & Mishina, M. (1999) *J. Neurosci.* **19**, 10318-10323
- 94) Kitayama, K., Abe, M., Kakizaki, T., Honma, D., Natsume, R., Fukaya, M., Watanabe, M., Miyazaki, J., Mishina, M., & Sakimura, K. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281**, 1134-1140
- 95) Takeuchi, T., Miyazaki, T., Watanabe, M., Mori, H., Sakimura, K., & Mishina, M. (2005) *J. Neurosci.* **25**, 2146-2156

インフルエンザ脳症

Influenza-associated encephalopathy

森島恒雄

Key words : インフルエンザ, 急性脳症, 炎症性サイトカイン, アポトーシス, ゲノムプロジェクト

はじめに

インフルエンザ脳炎・脳症は毎年約100人から数百人が発症し、約30%の子どもが死亡し、生存者の多くも重い後遺症が残る^{1,2)}。病態の解明が進み、治療法も提案され、この数シーズンの致命率は約15%と改善しつつあるが、なお重篤である。本稿では、厚生労働省インフルエンザ脳症研究班で得られた本症の最近の動向と病態解析を中心とした新しい知見などについてまとめてみたい。

1. インフルエンザ脳症とは

インフルエンザの感染に伴って急激に進行する脳障害を示し、インフルエンザにおける熱性けいれんなどを除く。ウイルスの脳への感染は認められず、またリンパ球などの炎症細胞の浸潤もないため、脳炎ではなく、脳症と呼ぶべき病態である¹⁾。この定義は、現在米国CDCを含め広く世界的に用いられている。

2. インフルエンザ脳症の疫学/
ウイルス学

2003/2004シーズンにおける全国調査報告数の合計は103例であった³⁾。表1に過去6年間の年度別の報告数を示した。この行政ベースの1次調査で把握される患者数は、実際の約半数

表1 各シーズンにおけるインフルエンザ脳症報告数(1999-2004)

1. 1998/1999: 217 cases
2. 1999/2000: 109 cases
3. 2000/2001: 63 cases
4. 2001/2002: 117 cases (227 cases)
5. 2002/2003: 160 cases
6. 2003/2004: 103 cases

症例は、各都道府県からの報告数(直接全国医療機関からの報告を加えた症例数)。

と予測され、インフルエンザの小児での流行の規模によるが、毎年約100例から数百例に達すると思われる。インフルエンザウイルスの型別・亜型別発症頻度では、A・H3香港型がA・H1ソ連型やB型に比べて有意に高かった⁴⁾。実際に、1993, 1995, 1998, 2003年のA香港型が小児で流行した年、本症が多発した。ただし、いったん発症すると各型で予後に差は認められないのも重要な点である。

3. 臨床像

本症は5歳以下の乳幼児が多くを占める。発熱から1日以内の神経症状の発現が約80%を占めるなど急激に発症する。症状は、急速に進行する意識障害のほか、けいれんが70-80%に認められる¹⁾。しばしば、発熱から神経症状の発現まで数時間以内で、その直後に死亡するな

Tsuneo Morishima: Department of Pediatrics, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry 岡山大学大学院 小児科学

表 2 日常診療における重要な検査

1. 早期診断: AST, Cr, CK, 血尿, 蛋白尿など
2. 画像診断: 脳 CT については, 細かく経過を追う必要がある. 特に脳ヘルニアの進行に注意. MRI, SPECT も重要.
3. 異常な熱せん妄: 脳波に異常が認められることがある.
4. その他, 重症化に関連する検査(血小板減少, 凝固系異常, NH_3 , フェリチン, チトクローム C, サイトカイン, 代謝異常スクリーニングなど)

約 5% の症例に脂肪酸 β 酸化異常が認められている(島根大 山口).

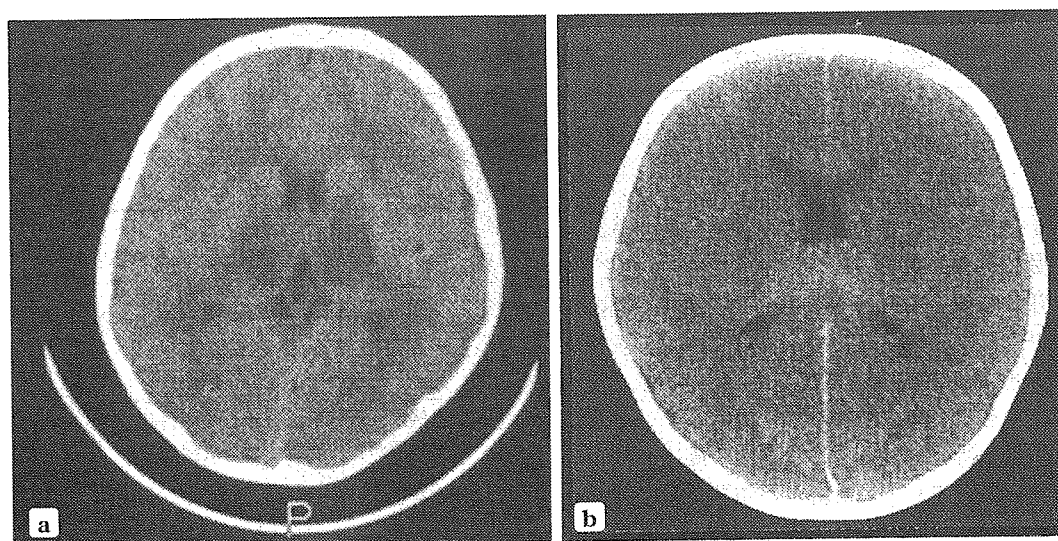


図 1 インフルエンザ脳症
a: 急性壊死性脳症, b: 全般性脳浮腫

ど進行は極めて早い. そのほかには, oral tendency, 幻視・幻覚・幻聴など大脳辺縁系の異常を示す異常な言動(熱せん妄様)が 20% に認められる. 予後は重篤で, 死亡が約 30%, 後遺症が約 25% に認められる. また, 多臓器不全の進行により, 肝不全・腎不全・DIC などの症状が出現する. 発症要因として, 山口らは有機酸(脂肪酸など)の先天代謝異常などで, ときに本症に近似した病態がみられる³⁾と報告している. また, 熱性けいれんの既往をもつ児の率が高い傾向にある. その他, アレルギーの既往などを含め, 発症要因については今後更に検討する必要がある.

4. 検査所見

血小板の減少, AST の上昇, CK, Cr の上昇,

Hb の低下, Pt の延長, NH_3 の増加, 血尿・蛋白尿の存在は予後の悪化とつながっている(表 2). 低血糖を示す症例は非常に少なく(4%)むしろ高血糖となる症例が多い. 一方, NH_3 の上昇を示す例は少ない(10%)など, Reye 症候群とは異なる点が多い. 脳症患者の髄液や脳組織からはインフルエンザウイルスは検出されず, 急激な経過から考えてもウイルスの直接侵襲により脳障害が起こるとは考えにくい. 髄液細胞増多もまれである. 脳 CT については, 全般性脳浮腫を示す型, 急性壊死性脳症⁴⁾を示す型, 出血を伴う型, けいれん重積の所見を示す型などに大別される(図 1). 脳浮腫, 特に著明な脳浮腫を示した症例や急性壊死性脳症を示す例の予後は悪い. 入院時, 脳 CT が正常であっても, 数時間後に急激に進行する脳浮腫のため, 脳へ

表3 病理学的検討の概要

- (1) 高度な脳浮腫がある(しばしば小脳扁桃ヘルニアなどを伴う)。
- (2) 脳内に炎症細胞の浸潤は認めない。
- (3) 血管壁の硝子化および血漿成分の脳実質への漏出が著明(しばしば全身の血管に認められる)。
- (4) 脳および全身のフィブリン血栓。
- (5) 血球貪食像(白血球, 赤血球)がしばしば認められる(influenza-associated hemophagocytosis)。
- (6) 気管支, 肺の炎症性変化は軽度。
- (7) 脾臓や消化管などのリンパ節腫脹, リンパ濾胞の壊死などを認める。
- (8) 脳内にインフルエンザや他のウイルス抗原などを認めない。
- (9) 神経細胞や肝細胞のapoptosisが急激に進行, また, astrogliaの活性化が認められる。

(インフルエンザ脳症研究班 病理検討会)

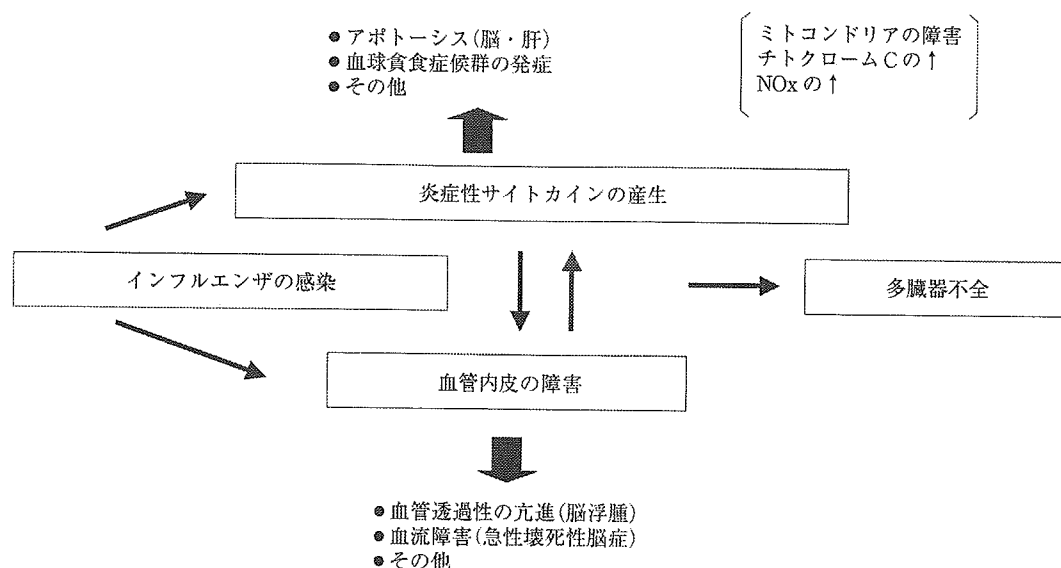


図2 現在までの研究結果から推測される発症機序

ルニアが生じ, しばしば死に至ることもある。したがって, 脳CTについては, 細かく時間経過を追う必要がある。また, MRIの拡散強調で早期に異常を認めたり, 経過中SPECTで血流障害を示す例が多い(表2)のも特徴である。

5. 発症病理

本症の剖検例の病理所見を表3にまとめた。インフルエンザ脳症の発症にはウイルス感染に伴う免疫の活性化, ことにinterleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α)などの炎症性

サイトカインの関与が大きいことも明らかにされてきている^{5,6}。本症の患者末梢血ではこれら炎症性サイトカイン遺伝子の高発現が認められ⁷, systemicに免疫が亢進しており, 脳症の発症には, ウイルスの増殖よりもむしろウイルスに対する生体の過剰な免疫反応が関与している可能性が示唆されている。また血管内皮細胞の障害も脳のみならず全身の血管で認められている。このように, インフルエンザ脳症の発症病理についてはかなり解明されてきた(図2)。著者らは, 定量的RT-PCR法を用い, インフル

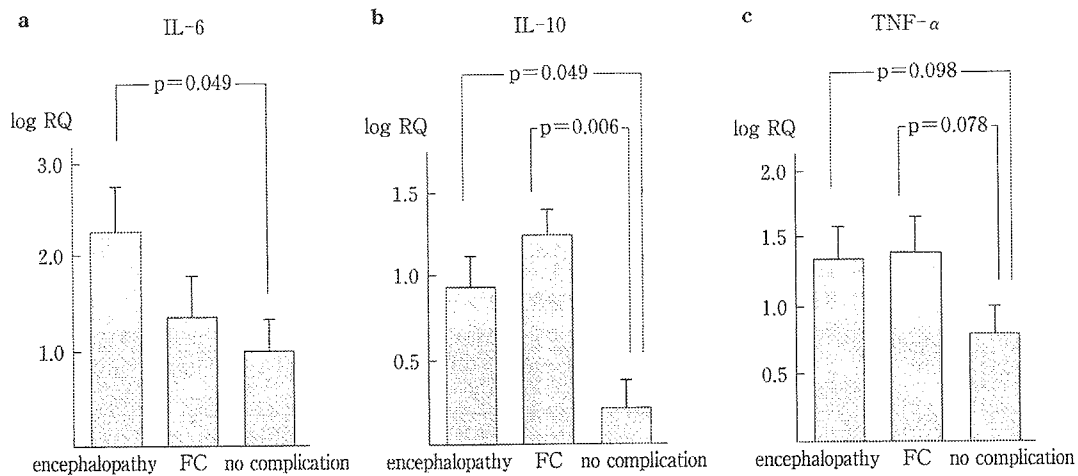


図3 インフルエンザ脳症における炎症性サイトカインの役割(Kawadaら)

エンザ脳症患者の末梢血中において、炎症性サイトカインであるIL-6およびTNF- α 遺伝子(mRNA)の高発現がみられることを示した⁷⁾。すなわち、発現が認められたmRNAについて、脳症、熱性けいれん、神経合併症のないインフルエンザの各群間で比較したところ、末梢血中のIL-6 mRNAはインフルエンザ脳症の群において、有意に多くの発現量を認め、また、TNF- α のmRNAも脳症、熱性けいれんの群において発現が多い傾向を認めた(図3)。Ichiyamaらも脳症患者における炎症性サイトカインの産生についてはほぼ同様の報告をしている⁸⁾。

これらの所見は、脳症ではsystemicに活性化T細胞やマクロファージなどの免疫担当細胞が活性化していることを示している。また、熱性けいれん群でも末梢血中のTNF- α の発現が亢進していることから、インフルエンザ脳症と熱性けいれんの間には連続した発症機序が存在すると考えられる。

また、Ichiyamaらは、インフルエンザ脳症患者、インフルエンザ熱性けいれん、インフルエンザ単独例の急性期における末梢血単核球中の炎症性サイトカインの転写因子であるNF- κ Bの活性化率は脳症>熱性けいれん>インフルエンザの順に高値だったという興味深い結果を報告している⁸⁾。また*in vitro*でこのNF- κ Bの活性化は免疫グロブリン製剤により抑制されるこ

とから、同剤の治療への応用の有用性が示唆されている。

インフルエンザ脳症においてフリーラジカルである一酸化窒素(NO)が病態に関与しているか否かも重要な課題である。Kawashimaらは、インフルエンザ脳症において血清中ならびに髄液中NO_xの高値例が多いこと、特に死亡症例に髄液中のNO_xの高値例が多いことを示している^{9,10)}。

その他、非常に重要な知見として、近年、本症の本態が急速に進行するアポトーシスであるとのevidenceが集積していることがあげられる。急性期脳症患者の肝に認められる核のクロマチンの凝集、周辺への沈着、TUNELの陽性シグナルはDNAの断片化を表し、肝では特に炎症細胞の浸潤を伴わずに同期的に広範なアポトーシスが生じていることが証明された。また、障害されたミトコンドリアよりチトクロームCが流出していることも示唆された¹¹⁾。一方、神経細胞でのアポトーシスについては、Nakaiらが詳細な報告を行っている¹²⁾。また髄液や末梢血中のチトクロームCの上昇も確認され、脳でも急速にアポトーシスが進行していることが明らかになった。

他のウイルスの関与については、著者らはインフルエンザ脳症および熱性けいれん合併例あわせて20例より髄液中からのウイルスDNA検