

ISBN978-4-13-064305-4

C3340 ¥3200E

東京大学出版会

定価(本体 3200円+税)



9784130643054



1923340032007

脳科学 ⑤

甘利俊一 ◆ 監修 | 古市貞一 ◆ 編

# 分子・細胞・シナプスからみる脳

こういうシリーズが欲しいと心から思ってきた。

..... 養老孟司

脳科学統合のための重要な里程標となるに違いない。

..... 福岡伸一

## 執筆者紹介

### 編者

古市貞一 理化学研究所脳科学総合研究センター 第1章, 第3章,  
4.2節

### 執筆者 (五十音順)

有賀 純 理化学研究所脳科学総合研究センター 5.2節  
岡部繁男 東京大学大学院医学系研究科 第6章  
狩野方伸 東京大学大学院医学系研究科 7.3節  
定方哲史 理化学研究所脳科学総合研究センター 4.2節  
田端俊英 富山大学大学院理工学研究部 7.3節  
津本忠治 理化学研究所脳科学総合研究センター 7.1節  
端川 勉 理化学研究所脳科学総合研究センター 2.1節  
尾藤晴彦 東京大学大学院医学系研究科 5.1節  
平瀬 肇 理化学研究所脳科学総合研究センター 2.2節  
真鍋俊也 東京大学医科学研究所 7.2節  
御子柴克彦 理化学研究所脳科学総合研究センター 第8章  
山口和彦 理化学研究所脳科学総合研究センター 4.1節  
吉原良浩 理化学研究所脳科学総合研究センター 4.3節

---

## 第5章

# 神経細胞内ではたらくシグナル伝達

---

### 5.1 セカンドメッセンジャーによるシグナル伝達制御

神経細胞が、神経伝達物質・ホルモン・神経栄養因子・サイトカインなど多様な細胞外シグナルを受容すると、神経細胞内において生化学的な細胞内情報伝達機構が活性化される。その結果、神経機能は、一時的・可逆的な、あるいは場合によっては、長期的・不可逆的な変化を生じることも可能となると考えられている。したがって、細胞外シグナルによって神経細胞内で引き起こされる一連の生化学的応答のカスケードの理解は、脳が外部刺激や環境変化に対してどのように反応を示すのかという根源的問題を解明するために、きわめて重要な糸口を与えてくれるものである。

#### 5.1.1 脳におけるシグナル伝達系

神経細胞が神経伝達物質を含む細胞外シグナルを受容すると、大きく分けて2つの種類の応答が並行して惹起される (図 5.1)。

1. 神経細胞膜に局在する伝達物質受容体において、伝達物質の結合そのものが、受容体自身が含まれる巨大分子複合体の構造変化を引き起こす (たとえば Unwin, 2002)。その結果、種々のイオン透過性を有するイオンチャネル分子の開閉が起こり、神経細胞の膜電位に変化を発生する。イオンチャネル活性の種類により、興奮性 (脱分極)・抑制性 (過分極) のどちらのタイプの膜電位変化も存在する。
2. 神経細胞膜に局在する伝達物質受容体において、伝達物質の結合により、

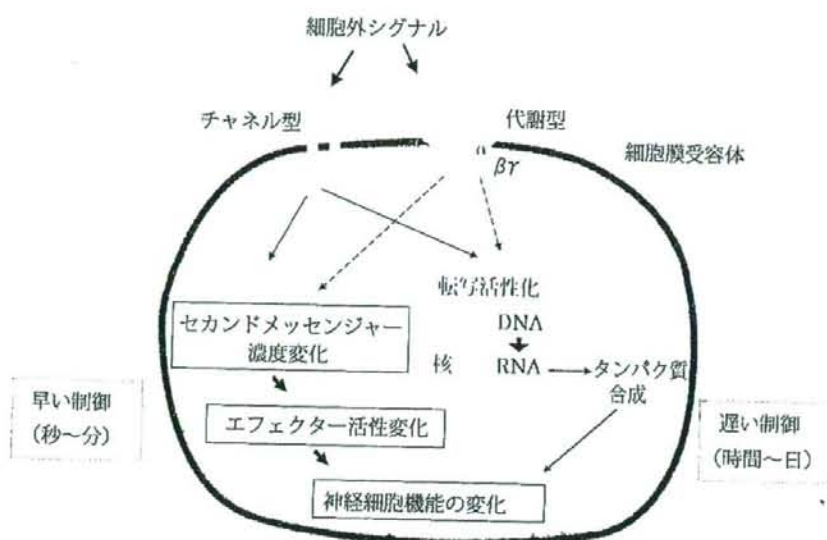


図 5.1 神経細胞におけるシグナル伝達とセカンドメッセンジャー経路

シグナルトランスデューサー（たとえば3量体Gタンパク質）等の活性化状態が引き起こされる。その結果、多様なセカンドメッセンジャーの細胞内濃度に大きな変化を生じる。セカンドメッセンジャー濃度の変化は、それぞれ多種の細胞内生化学的応答（リン酸化・脱リン酸化・タンパク質分解などのタンパク翻訳後修飾・転写活性調節による遺伝子発現制御・低分子量Gタンパク質活性調節による細胞骨格修飾・他のセカンドメッセンジャーの制御等）に影響を及ぼす。

後者のような応答を引き起こす伝達物質受容体には、3量体Gタンパク質共役型の代謝型神経伝達物質受容体（mGluR, GABA<sub>B</sub>R, mAChRやドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリン、神経ペプチド、カンナビノイド等生理活性脂質、SDF-1<sub>α</sub>等ケモカインなどの受容体）が主として含まれ、脳内の神経伝達物質のほとんどが実はセカンドメッセンジャーの制御を介して神経細胞機能を調節していることを示唆している (Greengard, 2001)。

電位依存性カルシウムチャンネルの一部やGIRK型カリウムチャンネルは、その開閉が、3量体Gタンパク質の $\alpha$ あるいは $\beta\gamma$ サブユニットの結合によって制御されることが知られているが、これは広義のセカンドメッセンジャー（＝低分子量細胞内メッセンジャー）経路に含まれる。



3量体Gタンパク質を介しないセカンドメッセンジャー経路としては、神経栄養因子のシグナル伝達経路がよく知られている。神経栄養因子(NGF, BDNF, NT-3など)は、その受容体(trkA, trkB, trkC)に結合すると、受容体2量体化による受容体型チロキナーゼ活性化が起こり、その結果一連の低分子量Gタンパク質活性化因子の活性化・局在変化を引き起こし、種々のセカンドメッセンジャー系とクロストークすると考えられている(Huang & Reichardt, 2003)。

また神経伝達物質受容体チャネルの一部は、それ自体がカルシウム流入(NMDA受容体の場合)(Collingridge & Bliss, 1995; Nicoll & Malenka, 1995)やチロキナーゼ活性化(AMPA受容体の場合)(Hayashi et al., 1999)と共役していることが知られており、イオンチャネルから派生しているが、膜電位変化と独立したシグナルという意味で、広義のセカンドメッセンジャー経路に含まれる。

### 5.1.2 セカンドメッセンジャーの意義

神経伝達物質による直接的イオン電流制御による膜電位制御は、一般的に受容体局所にて、きわめて短時間(1ミリ秒から長くても0.1秒以内)で発生・終了する。そのため、膜電位変化の受動的伝播による活動電位発生のためには、多数の受容体チャネルの開口が時間的に同期していることが必要条件となる。

これに対して、セカンドメッセンジャーを産生するシグナル経路には、次のような特徴がある。

1. 代謝的セカンドメッセンジャー産生には、秒～分のオーダーを要することから、神経興奮から神経細胞応答までにならずに遅延が生じる(時間的延長効果; 図5.1)。
2. セカンドメッセンジャー系の多くは、小分子を介在しているため、受動的拡散により神経細胞における刺激部位から離れた細胞内部位にまでシグナルが到達することが可能になる。その結果、細胞の局所変化を全体変化につなげるポテンシャルが生まれる(空間的拡散)。
3. トランスデューサーの介在により、セカンドメッセンジャー経路を経たシグナルは、膜受容体の活性化に要したシグナル分子の数よりはるかに数的に増幅されている(シグナル増幅; 図5.2)。

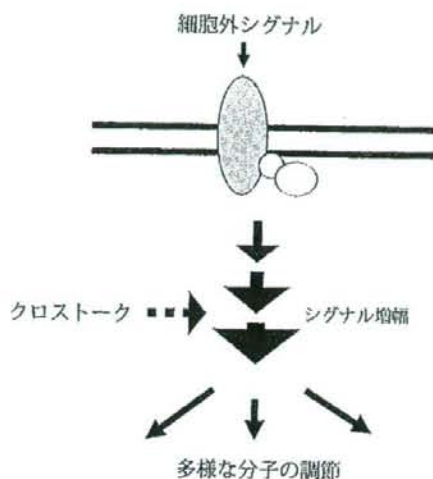


図 5.2 セカンドメッセンジャー経路におけるクロストークとシグナル増幅

4. 1. と 2. の性質により、複数のセカンドメッセンジャー経路の間に正または負の干渉が発生する場合がある（相乗効果，ゲート効果，クロストーク；図 5.2）。

このようなセカンドメッセンジャーの性質は、さまざまな一過性の神経入力の時空間的パターンの統合を可能にし、長期的な神経細胞の機能変化に結び付ける際に、不可欠であると考えられている。また、同一の神経刺激に対して、神経核ごとに長期的な応答性が異なるが、これは関与する神経伝達物質・同受容体分子種の相違などに加えて、細胞内応答に関与するセカンドメッセンジャー経路の差異によっても、部分的には説明されるものである。

### 5.1.3 3量体 G タンパク質

神経系・非神経系を問わず、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  のヘテロ 3 量体から成る G タンパク質はゲノムに 1000 個程度存在する 7 回膜貫通型受容体の細胞内膜側に結合するシグナル変換分子としてはたらく、細胞内シグナル伝達において中心的な役割を担っている (Gilman, 1995; Meng & Bourne, 2001)。

G タンパク質の  $\alpha$  サブユニットは計 21 種類、 $\beta$  サブユニットは 5 種類、 $\gamma$  サブユニットは 7 種類の異なる遺伝子ファミリーから成り、その組み合わせには細胞種や細胞内部位別の特異性があることが示唆されているが、詳細はまだまだ明らかにされていない。なかでも、 $\alpha$  サブユニットはアデニル酸シクラーゼ活

性化に共役する  $\alpha_{s1-4}$  ファミリー ( $\alpha_{s1-4}$ ,  $\alpha_{olf}$ ), 主にアデニル酸シクラーゼ抑制に共役する  $\alpha_{i/o}$  ファミリー ( $\alpha_{i1-3}$ ,  $\alpha_{o1-2}$ ,  $\alpha_z$ ,  $\alpha_{t1-2}$ ,  $\alpha_{gust}$ ), 主としてホスホリパーゼ C に共役する  $\alpha_q$  ファミリー ( $\alpha_q$ ,  $\alpha_{11}$ ,  $\alpha_{14-16}$ ), Rho 類似低分子量 G タンパク質に共役する  $\alpha_{12}$  ファミリー ( $\alpha_{12}$ ,  $\alpha_{13}$ ) に分かれ, それぞれ異なった種類のエフェクタータンパク質との共役を担っている。

$\alpha_{i/o}$  ファミリーは,  $\alpha_s$  によるアデニル酸シクラーゼの活性化作用に対し強力に拮抗するのみならず, ホスホリパーゼ C, ホスホリパーゼ A<sub>2</sub>, Ras/MAP キナーゼ活性化に共役することが示されている。  $\alpha_{i/o}$  ファミリーの  $\alpha_{t1-2}$  は transducin とも呼ばれ, 網膜桿細胞・錐体細胞のホスホジエステラーゼを活性化し cGMP 濃度を下げることが知られている。一方,  $\alpha_{gust}$  は味覚上皮ホスホジエステラーゼ活性化と共役している。また, G タンパク質共役型 GIRK 型 K<sup>+</sup> イオンチャネルや N-, P/Q-型電位依存性カルシウムチャネルの抑制への共役を,  $\alpha$  サブユニットでなく,  $\beta\gamma$  サブユニットが司っていることが明らかにされている。

7 回膜貫通型受容体は, その構造・分子種により,  $\alpha_s$  共役型,  $\alpha_{i/o}$  共役型,  $\alpha_q$  共役型,  $\alpha_{12}$  共役型に大別されるが, なかには, 複数の  $\alpha$  サブユニットファミリーと共役する受容体も報告されている。

G タンパク質  $\alpha$  サブユニットは, 活性化状態であるグアノシン三リン酸 (guanosine triphosphate: GTP) 結合型と, 不活性化状態であるグアノシン二リン酸 (guanosine diphosphate: GDP) 結合型の 2 つの状態の間を遷移する (図 5.3)。基底状態においては, GDP 結合型の  $\alpha$  サブユニットは,  $\beta\gamma$  サブユニット複合体とも結合して  $\alpha\beta\gamma$  ヘテロ 3 量体を形成しており, プレニル化脂質修飾された  $\gamma$  サブユニットを介して, 形質膜の内膜側に直接接することができる。受容体リガンドが 7 回膜貫通型受容体に結合すると, 受容体膜貫通領域の構造変化が起こり, 受容体と GDP 結合型の  $\alpha$  サブユニットが直接相互作用可能となる。受容体に結合した  $\alpha$  サブユニットは, GDP 結合活性が下がり, GTP 結合親和性が上昇する。その結果,  $\alpha$  サブユニットから GDP が解離し, GTP が結合するようになる。GTP の結合により,  $\alpha$  サブユニットと  $\beta\gamma$  サブユニット複合体の解離が起こり, さらに  $\alpha$  サブユニットは受容体からも離れる。GTP 結合型の遊離  $\alpha$  サブユニット, ならびに遊離した  $\beta\gamma$  サブユニット複合体はそれぞれ機能的に活性型であり, 多くのエフェクター分子と直接相互



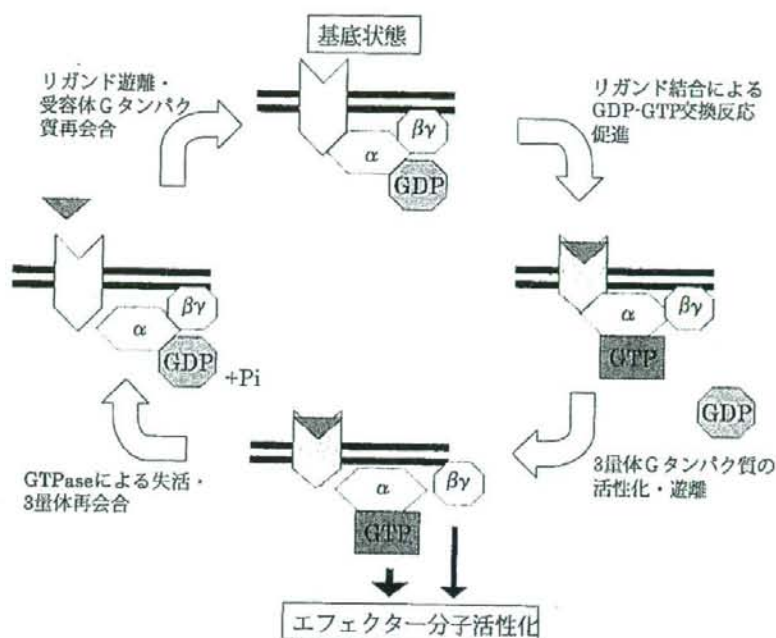


図 5.3 3量体Gタンパク質のGTPサイクル

作用することにより、そのエフェクター分子の活性を調節する。αサブユニットには、内因性のGTPase活性が内包されているため、GTPは時間とともに、GDPに分解される。このため、GDP結合型αサブユニットは失活し、βγサブユニット複合体と再会合するようになる。

神経伝達物質が受容体に結合し受容体構造が活性化型に変換されると、GTP結合型のGタンパク質活性化状態は、受容体近傍の形質膜においてそのイベントの痕跡として留まり、内因性GTPaseによってGTPがGDPに水解するまでの時間、ずっとセカンドメッセンジャー経路をオンにし続ける。内因性GTPase活性は、regular of GTPase signaling(RGS)タンパクにより、種々の割合で活性化される(Berman & Gilman, 1998)。このような機構により、受容体活性化イベントは、細胞外受容体リガンド濃度と細胞内状態を正確に反映して、効率よく細胞内セカンドメッセンジャー濃度の時空間的変化分布に変換され、局所膜電位変化や活動電位発生では直接制御できないような細胞機能の修飾をも引き起こすことが可能となる。



### 5.1.4 セカンドメッセンジャー産生機構

脳神経系で重要な作用を有するセカンドメッセンジャーとしては、環状アデノシンリン酸 (cAMP), 環状グアノシンリン酸 (cGMP), ジアシルグリセロール (DAG), イノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>), Ca<sup>2+</sup>, アラキドン酸, 一酸化窒素などがよく知られている。これらセカンドメッセンジャーの産生はいずれも、興奮性細胞である神経細胞のみならずグリア細胞を含むすべての細胞のイオンチャネル活性やさまざまな細胞応答・恒常性制御に重要な役割を果たしている。

#### (a) cAMP の産生とその制御

cAMP は、膜タンパク質であるアデニル酸シクラーゼの活性化により ATP から合成される環状ヌクレオチドである (Pieroni et al., 1993; Sunahara et al., 1996)。cAMP 合成酵素であるアデニル酸シクラーゼの酵素活性は上述のとおり、 $\alpha_s$  により促進され、 $\alpha_{i/o}$  により抑制される。アデニル酸シクラーゼは type I から type IX まで発見されており、すべてが  $\alpha_s$  により促進されるが、type ごとに、 $\alpha_{i/o}$  や  $\beta\gamma$  サブユニット、さらには Ca<sup>2+</sup>, リン酸化による制御が異なっている。Type I, III, VIII は、 $\alpha_s$  と Ca<sup>2+</sup>/CaM により相乗的に活性化され、 $\alpha_{i/o}$  により抑制されることが知られており、 $\beta\gamma$  サブユニットによる抑制効果の存在も報告されている。これに対して、type II と type IV は、 $\alpha_s$  と  $\beta\gamma$  サブユニットによって相乗的に活性化される。一方、type V と type VI は、 $\alpha_{i/o}$  に加え Ca<sup>2+</sup> によっても活性が抑制される特徴がある。神経細胞の種類により、発現するアデニル酸シクラーゼが異なっているため、同じ受容体が活性化された場合でも、同等の cAMP 濃度上昇が発生するとは限らない。

$\alpha_s$  に共役する神経伝達物質受容体としては、ドーパミン D1/D5 受容体、カテコールアミン  $\beta_1/\beta_2$  受容体、VIP/secretin/PACAP 受容体や CRF 受容体などが知られている。一方、 $\alpha_{i/o}$  に共役する神経伝達物質受容体としては、ドーパミン D2/D4 受容体、カテコールアミン  $\alpha_2$  受容体、各種オピオイド受容体、class II, III 代謝型グルタミン酸受容体、m2/m4 ムスカリン型アセチルコリン受容体、GABA<sub>B</sub> 受容体などがある。

いったん産生された cAMP は、速やかにホスホジエステラーゼの作用により分解される。細胞の種類により、発現するホスホジエステラーゼの種類が異なっており、cAMP と cGMP に対する基質特異性や Ca<sup>2+</sup>/CaM による調節

機構に顕著な差異がみられる。とくに網膜細胞では、 $\alpha_t$ (transducin)により活性化され cGMP に特異的なホスホジエステラーゼ type VI が非常に高濃度に存在する。またホスホジエステラーゼ type IV は脳に広範に発現しており、その阻害薬である rolipram には、神経細胞における cAMP 作用を促進する効果が報告されている (Barad et al., 1998; Halene & Siegel, 2007)。

cAMP の作用点は長らくプロテインキナーゼ A(PKA) のみと考えられていた。cAMP 濃度が非常に低い基底状態では、PKA は PKA 制御サブユニット 2 量体と PKA 触媒サブユニット 2 量体とが結合した、抑制型 4 量体として存在している (Taylor et al., 2004)。しかし細胞質 cAMP 濃度が上昇し、cAMP が両制御サブユニットに結合すると、触媒サブユニットが遊離し、キナーゼ活性が顕在化する (Kim et al., 2007)。最近、低分子量 G タンパク質 Rap1 の活性化因子の 1 つである Epac も cAMP を結合し活性化されることが明らかになっている (Bos, 2006)。さらに、嗅覚受容体細胞では、cAMP 依存性チャネルが存在し、 $\alpha_{olf}$  活性によって制御された cAMP 濃度を細胞興奮性に直接変換すると考えられている。

#### (b) 細胞内カルシウム濃度の調節 I——イオンチャネル

定常状態において、細胞内外の遊離カルシウム濃度には  $10^4$ – $10^5$  倍程度の差がある。すなわち細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は mM オーダーであるが、細胞内では、10–100 nM の濃度が一般的である (Berridge et al., 2003; Endo, 2007)。このような急峻な濃度勾配を維持している背景には、細胞内遊離カルシウムが、セカンドメッセンジャーとして、きわめて強い生理作用を有していることが挙げられる。

細胞内カルシウム濃度の上昇の機構には、大きく分けて、①細胞膜カルシウムチャネルの開口、②細胞内カルシウムストアからのカルシウム放出、の 2 つがあり、神経細胞においても両者が重要な貢献をしている (Tsien & Tsien, 1990)。

細胞膜カルシウムチャネルは、①それ自身にカルシウム透過性があるイオンチャネル型神経伝達物質受容体 (ニコチン酸型アセチルコリン受容体, NMDA 型グルタミン受容体, AMPA 型グルタミン酸受容体の一部, 5-HT<sub>3</sub> セロトニン受容体など)、②膜電位の変化を感知して開口する電位依存性カルシウム選択的チャネル (L 型, N 型, P/Q 型, R 型, T 型)、③受容体刺激や細胞内ストア枯渇刺激により開くカルシウム透過型非選択的カチオンチャネル (TRP 様チャ



ネル,  $I_{CRAC}$ ) に大別される。これらのいずれが開いても、急峻な細胞内外の濃度勾配に沿って、大量のカルシウムが細胞内に流入する (Tsien et al., 1995; Clapham, 2007)。

これらのイオンチャネルは、Gタンパク質、チロシンリン酸化やセリン・スレオニンリン酸化などの制御を受け、開口確率やチャネルのキネティクスが調節される場合が知られている。

(c) 細胞内カルシウム濃度の調節 II——細胞内カルシウムストアからの放出  
細胞外からカルシウムが流入しない場合でも、細胞内カルシウムストアからのカルシウム動員により、細胞内カルシウム濃度は大きく上昇することができる。

細胞内カルシウムストアとしては、 $IP_3$  感受性ストアとリアノジン感受性ストアの2つが広く知られている (Mikoshiha, 2007; Iino, 2007)。いずれも小胞体内に存在すると考えられており、細胞内外濃度勾配を維持するカルシウムポンプによって小胞体へ汲み上げられた  $Ca^{2+}$  を、生理的刺激時に、細胞質内に一気に放出するための分子メカニズムの相違として区別されている (Carafoli & Brini, 2000)。神経伝達物質などが受容体を刺激した後の細胞内カルシウム動員には、両者とも貢献すると考えられている (図 5.4)。

class I 代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR1/5)、ムスカリン型アセチルコリン受容体 (m1/m3/m5)、タキキニン受容体、セロトニン受容体 5-HT<sub>1c</sub> などは  $\alpha_q$  を活性化し、これに共役してホスホリパーゼ C $\beta$  が活性化される。また、特定の  $\alpha_{ij}$  と複合体をつくる  $\beta\gamma$  サブユニットが、ある種のホスホリパーゼ C $\beta$  を活性化するという報告もある。

さらに神経栄養因子受容体を含む成長因子受容体型チロシンキナーゼの活性化により、ホスホリパーゼ C $\gamma$  活性が促進される。

ホスホリパーゼ C は、膜構成脂質の1つであるホスファチジルイノシトール 1,5-ビスホスフェート ( $PIP_2$ ) を水解し、イノシトール三リン酸 ( $IP_3$ ) とジアシルグリセロール (DAG) の2つのセカンドメッセンジャーを産生する (Berridge et al., 2003)。 $IP_3$  感受性ストアは、 $IP_3$  を結合して小胞体内  $Ca^{2+}$  を細胞質へ放出する  $IP_3$  受容体チャネルによって主として制御される (Mikoshiha, 2007)。 $IP_3$  は、 $IP_3$  の5位のリン酸基が水解するホスファターゼの作用により分解され、あるいは  $IP_3$  の3位へさらなるリン酸化反応を受ける。その結果、 $IP_3$  濃度が減少することにより受容体刺激が終了する。



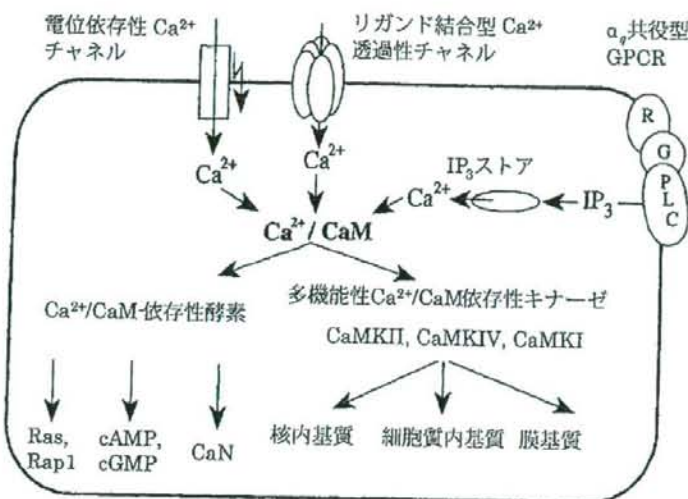


図 5.4 カルシウム制御に関わるセカンドメッセンジャー経路

$\text{IP}_3$  が可溶性で、細胞質内を広範囲で拡散するのに対し、同時に産生される DAG は疎水性脂質として脂質二重層に残り、プロテインキナーゼ C(PKC) を活性化する (Nishizuka, 1992; Ohno & Nishizuka, 2002). また DAG は内因性カンナビノイド前駆体でもある。すなわち、ジアシルグリセロールリパーゼの基質となり、内因性カンナビノイドの主要成分である 2-アラキドニルグリセロールを産生する (Sugiura et al., 2006).

一方、リアノジン感受性ストアは、細胞内カルシウムの大幅な上昇を感知して小胞体内  $\text{Ca}^{2+}$  をさらに細胞質へ放出する  $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release(CICR) の分子の実体であり、リアノジン受容体チャネルによって主として制御されている (Endo, 2007).

細胞膜カルシウムチャネル活性、小胞体からの細胞質内へのカルシウム放出を担う  $\text{IP}_3$  受容体チャネルとリアノジン受容体チャネルの活性、細胞質から細胞外と小胞体内へカルシウムを汲み出すカルシウムポンプ活性の 3 者の時空間的分布により、細胞内カルシウム濃度の波や振動が発生する (Berridge, 2006; Iino, 2007).

(d) 脂質メディエーター産生——アラキドン酸代謝経路など

細胞質型ホスホリパーゼ  $\text{A}_2(\text{cPLA}_2)$  によって、膜リン脂質の C-2 位に配位する不飽和脂肪酸であるアラキドン酸が遊離する。アラキドン酸を基質に、リポキシゲナーゼ経路によりロイコトリエンや種々のエンドペルオキシドが、ま

たシクロオキシゲナーゼ経路によりプロスタグランジン・トロンボキサンが産生される (Shimizu et al., 2000; Narumiya et al., 1999).

主として  $\alpha_{i/o}$  と結合する  $\beta\gamma$  の作用により, cPLA<sub>2</sub> 活性が促進されるが, その分子機構の詳細は明らかになっていない. また, カルシウム上昇も, cPLA<sub>2</sub> 活性を促進する.

アラキドン酸代謝産物の多くは, 細胞内側から M 電流などの K<sup>+</sup> イオンチャネルやカルシウム電流等を直接制御することが報告されている. その一方で, 脂溶性の高いロイコトリエンやプロスタグランジン類は, 細胞膜を通過し, 細胞外へ拡散し, 近隣細胞へのパラクライン作用を有する可能性も示唆されている.

類縁の脂質メディエーター産生経路として, 前述のとおり, 膜リン脂質由来の DAG を基質として内因性カンナビノイドの主要成分である 2-アラキドンルグリセロール (2-AG) が産生される代謝経路がある. 本経路は, カルシウム上昇に強く依存している (Sugiura et al., 2006).

2-AG は, 種々の神経細胞にてシナプス活動により速やかに産生され, シナプス間隙へ放出され, プレシナプスに多く発現している内因性カンナビノイド受容体である CB1 受容体に逆行性に作用するため, depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) や depolarization-induced suppression of excitation (DSE) を引き起こす正真正銘の逆行性メッセンジャーであることが証明された (Hashimotodani et al., 2007; 図 5.5).

#### (e) その他のセカンドメッセンジャー

cAMP と類縁の環状ヌクレオチドである cGMP は, グアニル酸シクラーゼにより産生されるセカンドメッセンジャーであり, 網膜細胞および味蕾細胞においてその興奮性を決定する cGMP-依存性チャネルの開口を制御する. また, 多くの神経細胞で, cGMP 依存性タンパク質リン酸化酵素 (PKG) の活性化を誘導する.

グアニル酸シクラーゼには, 5 種類の膜貫通型酵素と 2 種類の可溶性酵素のアイソフォームが存在する. 前者には, Atrial, B-type, C-type Natriuretic Peptide (ANP/BNP/CNP) などの細胞外リガンドで活性化される分子種や低カルシウム状態で活性化される分子種が知られている. 後者は, 一酸化窒素のエフェクターとして働くため, 神経細胞では, カルシウム依存的一酸化窒素合成酵素の下流で cGMP 産生が促進される所以となる.

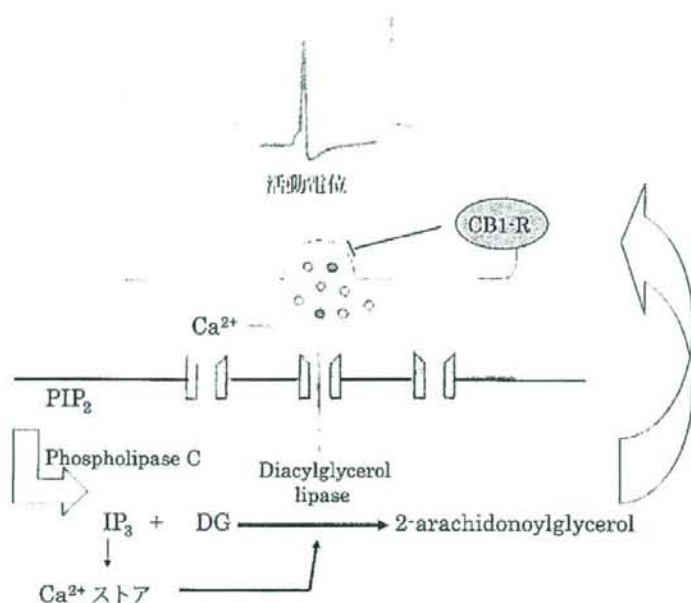


図 5.5 2-AG の逆行性メッセンジャー作用

また、細胞内一酸化窒素上昇に伴い、タンパク質のシステインとの間でチオール結合が形成され、タンパク質ニトロソ化という新たな翻訳後修飾を引き起こすことが示されている。ニトロソ化は細胞ストレス応答や特定分子機能修飾の新たな機構として注目されている (Hess et al., 2005)。

### 5.1.5 活性化される多様な長期的細胞応答

細胞膜での受容体刺激が終了してからも、しばらくの間 (数秒～数十分)、細胞内セカンドメッセンジャー濃度は維持され、生物学的作用を生じることが出来る。この点は、電気的活動による膜電位変化の作用と大きく性質を異にする。このため、神経細胞内において生化学的な細胞内情報伝達機構が活性化される場合、その下流で制御される神経機能は一時的・可逆的な変化だけでなく、場合によっては、長期的・不可逆的な調節を受ける可能性が生まれる。セカンドメッセンジャーの直接下流で、生化学的細胞機能変化の時間的延長・固定に貢献する例として、本項ではリン酸化・脱リン酸化・タンパク質分解・細胞骨格制御について述べてみたい。



## (a) リン酸化

リン酸化とは、タンパク質リン酸化酵素（キナーゼ）のはたらきにより、タンパク質の Ser, Thr, Tyr 残基に ATP からリン酸基が1つ転移する酵素反応である (Cohen, 2000). 不特定多数の基質をリン酸化できるリン酸化酵素は、多機能性キナーゼと呼ばれ、PKA, PKC, Erk, カルシウム・カルモジュリン依存性タンパク質リン酸化酵素 (CaMK) などが知られている (図 5.6). その他多くのキナーゼは、通常、ごく少数の基質のみをリン酸化する特異的キナーゼとしてはたらく (表 5.1 参照).

多くのセカンドメッセンジャー経路は、最終的に、細胞内のさまざまな翻訳後修飾過程を促進制御するが、おそらく Ser/Thr タンパク質リン酸化反応の制御がもっとも研究されている。タンパク質リン酸化は、多くのイオンチャネル活性 (たとえば PKA や PKC による種々の型のカルシウムチャネル), 神経伝達物質受容体活性 (たとえば CaMKII による AMPA 型グルタミン酸受容体チャネルコンダクタンス (Derkach et al., 1999)), 転写因子活性化状態 (たとえば PKA や CaMKIV による転写因子 cAMP/Ca<sup>2+</sup>-response element-binding protein (CREB) リン酸化 (Bito et al., 1996)) を刻一刻と制御していることが示されている。また、軸索や樹状突起における物質輸送, 神経伝達物質合成, 新規タンパク質合成などの基底状態の神経の生存維持・ホメオスタシスにもリン酸化が必須である (Hirokawa & Takemura, 2005; Hirokawa, 2006). さらに最近では、神経細胞の分化・極性形成・軸索伸展・樹状突起伸展・スパイン形成などにもタンパク質リン酸化の制御が重要であることが証明されている。

チロシンリン酸化は、多くの神経成長因子 (NGF, BDNF, NT-3, FGF, インスリンなど) により活性化される受容体チロシンキナーゼを介した反応と、Src/Fyn/Lyn などの SH2 ドメインを介してタンパク質相互作用する細胞質チロシンキナーゼ反応に大別される。いずれも、神経細胞の分化・増殖・移動や形態形成・神経可塑性に寄与していることが明らかになっている (Cataudella et al., 2004; MacDonald et al., 2006). さらに Jak/STAT 系シグナル経路も神経細胞の増殖・分化を支える重要な経路である (Cattaneo et al., 1999).

また、多くのタンパク質リン酸化酵素 (キナーゼ) の遺伝子欠損マウスや特異的抑制ペプチド過剰発現マウスなどで、さまざまな記憶・学習過程の障害が観察されている (Silva et al., 1992a, b; Abeliovitch et al., 1993a, b; Abel et

al., 1997; Kang et al., 1999; Ho et al., 2000; Kelleher et al., 2004; Hayashi et al., 2004). このことは、個別の神経活動で細胞種特異的にある特定のキナーゼが活性化されるのではなく、記憶・学習など脳高次機能が発現する神経回路において、いくつかのタンパク質リン酸化酵素が媒介する制御過程が直列、または並列して機能していることを示唆している。

とくに海馬長期増強 (long-term potentiation: LTP) の誘導・形成過程におけるリン酸化制御については、数多くの研究がなされている (Nicoll & Malenka, 1995; Collingridge & Bliss, 1995) (図 7.9 参照). CaMKII と PKA は、それぞれグルタミン酸受容体 GluR1 サブユニットの Ser831 と Ser845 のリン酸化を担っており、これら Ser 残基のリン酸化状態によって、シナプス表面におけるグルタミン酸受容体数の制御がなされていることが示唆されている (Soderling & Derkach, 2000; Lee et al., 2003).

一方、小脳プルキンエ細胞長期抑圧 (long-term depression) の過程でも、PKC 活性化が不可欠であることが明らかにされている (Kano et al., 1995; Ito, 2002; 図 7.16 参照).

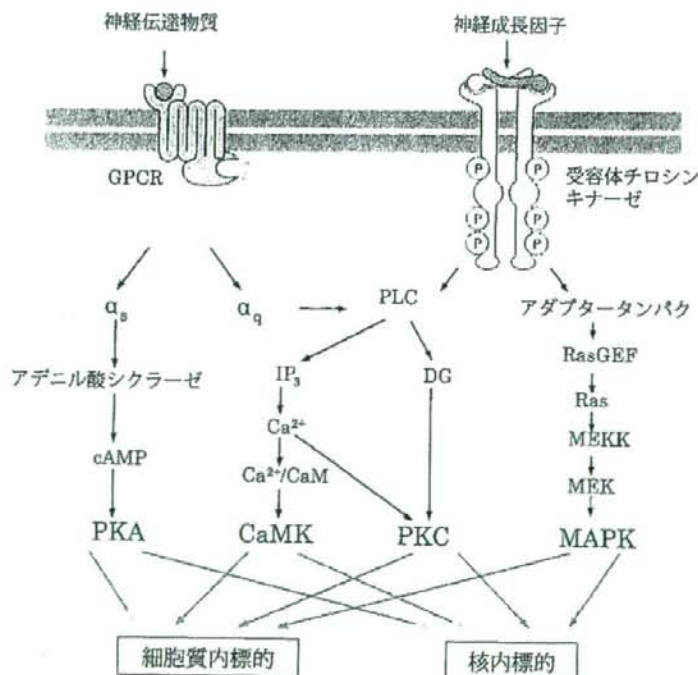


図 5.6 リン酸化カスケード



## (b) 脱リン酸化

脱リン酸化はリン酸化の逆反応で、脱リン酸化酵素（ホスファターゼ）により、リン酸化アミノ酸残基からリン酸基を奪う酵素反応である（表 5.2 参照）。神経系において顕著な貢献をしている多機能性脱リン酸化酵素には protein phosphatase 1 (PP1), protein phosphatase 2A (PP2A), および protein phosphatase 2B (PP2B, 別名カルシニューリン (CaN)) がある (Mansuy & Shenolikar, 2006; Klee et al., 1998)。

PP1 および PP2A の酵素活性は、細胞内局在や基質との結合を調節する制御サブユニットにより強く修飾されている。とくに PP1 については、一連の内因性阻害タンパク質 (Inhibitor-1, Inhibitor-2, DARPP-32, NIPP1) が存在することが特徴的である (Svenningsson et al., 2004)。一方、PP2B/CaN は、カルモジュリンを結合する制御サブユニットを有し、細胞内カルシウム上昇に伴い、強く活性化される。

基質が比較的限定される特異的ホスファターゼの例としては、コフィリンを脱リン酸化するスリングショット (SSH), myosin light chain phosphatase や、Erk などの活性化を遮断する MAP キナーゼホスファターゼなどが挙げられる。

海馬 LTD においては、PP1 および PP2B/CaN の双方が関与していることが示唆され、LTD 刺激による PP2B/CaN 活性化が、Inhibitor-1 脱リン酸化を引き起こし、PP1 活性化を誘導することが実証されている (Malenka & Bear, 2004; Mansuy & Shenolikar, 2006)。

## (c) タンパク質分解

神経細胞では、脳虚血などによる過剰カルシウム流入により、カルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインの活性化が引き起こされ、種々のタンパク質の断片化が起こる。一方、強いシナプス刺激によっても、カルパインは、N-Cadherin, グルタミン酸サブユニット,  $\beta$ -catenin などの特定部位の切断を引き起こすことが知られている。疾患脳においては、しばしばカルパイン活性の異常が報告されている (Bi et al., 1998; Higuchi et al., 2005)。

一方、神経細胞死の多くは、他の分裂細胞と共通のカスパーゼ経路によって制御されていると考えられている。

最近、膜シグナル伝達物質の多くが膜プロテアーゼにより切断され、C 末端の細胞内ドメインが核へ移行し転写制御活性を有するという報告が相次いでいる。



とくに、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) の膜内切断により A $\beta$ 1-40 および A $\beta$ 1-42 ペプチドを産生する  $\gamma$ -セクレターゼには, Notch, ErbB4, CD44, E-Cadherin, N-Cadherin などの膜内切断酵素としての活性も報告されている (Iwatsubo, 2004; Wolfe & Kopan, 2004; Marambaud & Robakis, 2005).

#### (d) 細胞骨格制御

神経細胞の細胞骨格には, アクチン細胞骨格, 微小管, 中間径フィラメント, セプチンなどがあることが明らかにされている. 神経細胞の動的な形態制御にとって, とくにアクチン細胞骨格と微小管の役割は大きい.

アクチン細胞骨格は, Rho ファミリーの低分子量 G タンパク質 (とくに Rho, Rac, Cdc42) によって精密に制御されていることが知られている (Jaffe & Hall, 2005; Narumiya & Yasuda, 2006). GDP 結合型 Rho (不活性型) は,  $\alpha_{12}/\alpha_{13}$  などの下流の Rho GDP/GTP 交換因子 (GDP/GTP-exchange factor: GEF) の作用を受け, GTP 結合型 Rho (活性型) に変換される. すると, GTP-Rho はさまざまな Rho エフェクター分子に結合し, エフェクター分子の機能を促進することができる (Kozasa et al., 1998).

神経細胞の突起形成・伸展には, Rho の下流で Rho-associated coiled coil-containing protein kinase (ROCK)/LIM-domain containing protein kinase LIMK 経路や, mammalian homolog of Diaphanous (mDial1), Rac/Cdc42 の下流で p21-associated protein kinase (PAK)/LIMK や myotonic dystrophy kinase-related Cdc42-binding kinase (MRCK) が重要な役割を果たしている (Bitto et al., 2000; Arakawa et al., 2003; Ng & Luo, 2004; Meng et al., 2003).

またこれらと協調して, カルシウムの下流のシグナル系 PKC, myosin light chain kinase (MLCK), CaMKI なども関与していることが示されている.

一方, 細胞運動・細胞遊走に関わる微小管系の制御には microtubule-associated protein (MAP) 類のリン酸化酵素である MAP/microtubule-affinity regulating kinase (MARK) ファミリー, さらには, tau をリン酸化する glycogen synthase kinase (GSK)-3, cyclin-dependent protein kinase (cdk)-5, casein kinase などの貢献が大きいと考えられている (Mochida & Walsh, 2004; Timm et al., 2006; Kerjan & Gleeson, 2007; Arimura & Kaibuchi, 2007). Cdc42 や Rho は極性形成に関わる微小管系の制御にも寄与しているが, その分子機構

の詳細はまだ明らかにされていない。

### 5.1.6 セカンドメッセンジャーの細胞内動態

上述したとおり、セカンドメッセンジャーは細胞膜の受容体・イオンチャネルの活性化によって、受容体近傍で最初に生成される。小分子のメッセンジャーである場合、その拡散速度は比較的速く、ほとんどのケースにおいて神経細胞局所で産生されたセカンドメッセンジャーは速やかに細胞全体に拡散し、産生終了とともに濃度が急速に薄まる。また、この全体濃度の減退は、小分子メッセンジャーの分解や細胞内外への汲み出しによって加速される。

これまでセカンドメッセンジャーのイメージングを細胞レベルで行う試みが多くなされている。しかし、イメージングプローブの細胞内発現自体がセカンドメッセンジャー濃度上昇や空間的拡散を抑制する傾向があり、細胞内カルシウム以外では、セカンドメッセンジャーのニューロン内動態の定量的な測定はまだ少ない。

細胞内カルシウム上昇の場合、細胞内カルシウムストアに特有のカルシウム依存的カルシウム放出という性質と、非常に強力なカルシウムポンプの拮抗するメカニズムが共存するために、カルシウム動態に自律的に振動する波としての性質が認められるようになる (Wong et al., 1995; Berridge, 2006)。また、グリア細胞同士のギャップ結合を介して、隣接細胞間にカルシウム波が伝播する (Verkhatsky et al., 1998)。

このように、何重にも存在するカルシウム濃度上昇を時空間的に維持・増幅する機能の存在のお陰で、シナプス活動により発生した化学的シグナリングは、樹状突起から細胞体へ伝わり、容易に核内カルシウムシグナリング活性化を引き起こすことが可能となる (図 5.7)。

このようなローカルなシナプス活動によって惹起され、神経細胞のグローバルな核内シグナルが直接活性化される例としては、記憶形成・保持の機構の中核の一部である  $\text{Ca}^{2+}$ /CaMKK/CaMKIV/CREB 経路や、神経発生や神経機能調節に大きな意義のある  $\text{Ca}^{2+}$ /CaN/NFAT 経路などが有名である (Bito et al., 1997; Graef et al., 1999)。また、カルシウム濃度上昇に引き続き、Ras や Rap の GDP/GTP 交換因子活性を高める経路の存在が生化学的に明らかにされている。これにより神経細胞の Ras/MEK/MAPK 経路が活性化され、やは



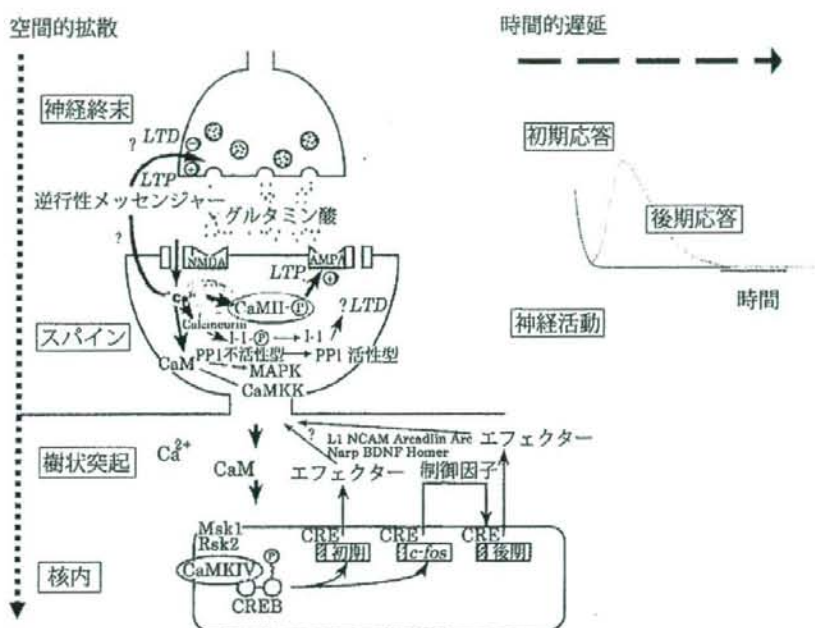


図 5.7 セカンドメッセンジャーによる情報の時空間的変換

り活動依存的転写促進の一端を担うと考えられている (Stork & Schmitt, 2002; Sindreu et al., 2007; Hisata et al., 2007).

### 5.1.7 今後の課題

細胞内シグナル伝達の機構は、培養細胞における生化学的解析をきっかけに同定解明されたものがほとんどであるが、各々の経路の生物学的意義については、遺伝子改変マウスなどの作成により徐々に解明されつつある。しかし、多くのセカンドメッセンジャー産生は、産生と分解のバランスのとれた調節を前提としており、さらに種々の正負のフィードバックによる制御を受けている。また、産生分解を担う経路は多くの場合複数の遺伝子ファミリーが担っており、単一遺伝子破壊による機能解析には、まだまだ限界が多い。とくに神経系においては、神経核ごとに制御ルールが異なる可能性があり、データの解釈・考察に困難な部分が多い。

今後、生きた個体動物における *in vivo* でのシグナリング可視化が実現されれば、知覚シグナル入力と1次ニューロン内でのシグナルの時空間的動態の相関解析が可能となり、神経回路網における情報処理・情報統合の原理解明に大き