

論文内容の要旨

申請者氏名 河田 美穂

脳の高次機能は、神経ネットワークの活動に基づくと考えられている。特に、神経細胞集団が同期発火することで生じる高頻度の周期的なネットワーク活動（ガンマ波）は、学習や記憶などの認知機能と密接に関係しているが、近年、ガンマ波の発生に抑制性細胞のパルブアルブミン陽性（PV）細胞の活動が必須であることが明らかとなってきた。最近、申請者らのグループは認知機能に関与する細胞外セリンプロテアーゼ・ニューロプシンの基質として統合失調症脆弱因子 Neuregulin-1 (NRG-1) を同定した。膜貫通蛋白質である NRG-1 は細胞膜近傍で切断され成熟型 (mNRG-1) となった後、細胞外でヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) と結合する。mNRG1 の上皮成長因子 (EGF) ドメインは PV 細胞に局在する ErbB4 受容体に結合するリガンドとして作用すること知られているが、EGF を遊離させるメカニズムや受容体の活性化機構はわかっていない。そこで本研究では、ニューロプシンによる NRG-1-ErbB4 シグナルの活性化機構を明らかにし、PV 細胞の活動制御機構とその生理的役割の解明を目指した。

NRG-1 を発現させた COS-7 細胞の培養上清にニューロプシンを添加すると、ヘパリン結合ドメインの切断除去に続いて、EGF ドメインが遊離し、ErbB4 受容体の自己リン酸化が誘導された。また、ニューロプシンによって切断された mNRG-1 (processed NRG-1; pNRG-1) ペプチドを海馬に投与し、その局在を調べた結果、pNRG-1 の陽性反応は、PV 細胞にのみ認められた。次に、ニューロプシン-NRG-1 シグナルの生理的な役割を明らかにするために、カイニン酸 (KA) による側頭葉てんかんモデルを用いた。マウスに KA を腹腔内投与したところ、投与 4-6 時間後にニューロプシンの活性が有意に上昇し、ErbB4 受容体の自己リン酸化レベルも増大した。しかしながら、ニューロプシンノックアウト (KO) マウスでは、ErbB4 受容体の自己リン酸化レベルは変化しなかった。次に、神経活動マーカーである cFos に対する抗体を用いて、神経細胞の活動状態を調べた結果、海馬 CA1 領域において、野生型マウスでは KA 投与 4 時間後に PV 細胞で顕著な cFos 陽性反応が観察されたのに対して、ニューロプシン KO マウスでは、PV 細胞で cFos の陽性反応は認められず、逆に多数の錐体細胞で強い cFos 陽性反応が観察された。PV 細胞の活動は、ガンマ波の形成に重要であるので、野生型マウスとニューロプシン KO マウスで、KA の投与によって引き起こされるガンマ波の強度を比較した。その結果、ニューロプシン KO マウスでは、野生型マウスに比べて、顕著に低周波のガンマ波の強度が減少していた。さらに、ニューロプシン KO マウスで見られた PV 細胞の活動低下やガンマ波の障害は NRG-1 の EGF ドメインペプチド (NRG-1₁₇₇₋₂₄₆) を投与することで、野生型レベルにまで回復した。

以上の結果から、神経活動依存的に活性化したニューロプシンは、mNRG-1 を切断し ErbB4 受容体の自己リン酸化を誘導することで、PV 細胞の活動を上昇させ、ガンマ波の形成に関与することが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 河田 美穂

脳高次機能の発現は、多数の神経細胞が形成する神経ネットワークの活動に基づくと言われている。特に、神経細胞集団の同期発火によって生じるガンマ波は、認知機能と密接に関係しており、その発生には抑制性細胞のパルブアルブミン陽性 (PV) 細胞の活動が必須である。神経ネットワークの活動は、神経細胞集団のシナプス伝達活動によって規定されるが、シナプス間隙に局在する細胞外プロテアーゼは、神経活動に応じて、神経栄養因子や接着分子などのシグナル因子をプロセッシングし、シナプスの量や質の改変を行うことでシナプス伝達を変化させる極めて重要な役割を果たしている。申請者らは、本研究で、細胞外セリンプロテアーゼ・ニューロプシンとその基質であるNRG-1 とPV 細胞特異的に発現するNRG-1 の受容体であるErbB4 のシグナル活性化機構に着目し、PV 細胞の活動制御機構の解明を目指した。

申請者らは、ニューロプシンの細胞外投与により、成熟型 NRG-1 (mNRG-1) が切断され、ErbB4 のリガンドである EGF ドメインが遊離し、ErbB4 の自己リン酸化が誘導されることを見出した。また、切断された mNRG-1 が PV 細胞に局在することを明らかにした。続いて、ニューロプシン-NRG-1 シグナルの生理的役割を明らかにするために、申請者らは、カイニン酸 (KA) による側頭葉てんかんモデルを用いた。その結果、野生型マウスでは KA 投与 4-6 時間後にニューロプシンの活性が上昇し、それと一致して、ErbB4 の自己リン酸化レベルの増大が見られた。一方、ニューロプシンノックアウト (KO) マウスでは、ErbB4 の自己リン酸化レベルに変化は見られなかった。次に、神経細胞の活動状態を調べた結果、野生型マウスでは KA 投与 4 時間後に PV 細胞の活動上昇が観察されたのに対して、ニューロプシン KO マウスでは PV 細胞の活動低下が観察された。次に、KA 投与によって引き起こされるガンマ波の強度を比較した結果、野生型マウスと比べて、ニューロプシン KO マウスでは顕著に低周波のガンマ波の強度が減少していた。さらに、こうしたニューロプシン KO マウスにおける PV 細胞の活動低下やガンマ波の障害は NRG-1 の EGF ドメインペプチド (NRG-1₁₇₇₋₂₄₆) を投与することで、野生型レベルにまで回復することが示された。

本研究から、神経活動依存的なニューロプシン-NRG-1 シグナルの活性化は、抑制性細胞の活動を介して興奮性錐体細胞の発火パターンを制御し、ガンマ波の成立に関与することが明らかとなった。さらに、ニューロプシン-NRG-1 シグナルの破綻が精神疾患で特に問題となる認知機能障害などを引き起こすことが考えられ、このシグナル系を回復させることが統合失調症等の新たな治療法になり得る可能性が示唆される。

以上のように、本論文は精神医学関連シグナルにおいて新しい知見を与えるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。