

# 神経生化学研究室

笹岡俊邦

私たちが日常、自分の手足や身体を思ったように動かして活動することを司る仕組みには、脳内の神経細胞の間で情報を伝える神経伝達物質が大切な働きをしています。その働きが過剰になると、あるいは不足すると困ったことが起こります。神経伝達物質のひとつであるドーパミンは、手足や身体を旨く動かすことに重要な役割を持っており、神経疾患のひとつであるパーキンソン病は、ふるえと動きにくさなどの運動障害が主な症状で、大脳の中ほどの中脳にあるドーパミン神経細胞の変性によりドーパミンの減少することが原因です。

私たちの研究グループは、(1) 所長研究室のグループと共同して、ドーパミン神経の情報伝達の役割の理解を目指し、ドーパミン受容体の遺伝子操作マウスを用いて、変異マウスにみられる運動の変化に着目してその仕組みを明らかにする研究を行っています。また、(2) 従来の遺伝子操作マウスの限界を克服するため、標的遺伝子の特定の細胞又は特定の時期における機能を詳細に解析することができる新しい遺伝子変異マウス作成法を開発してきました。さらに、(3) 進行性筋ジストロフィーのモデルマウスの解析を行うことにより筋線維膜に存在するジストロフィン複合体のそれぞれの構成サブユニットの欠損により複合体全体の機能が異常となり筋線維の変性を引き起こすことを明らかにしてきました。このことから細胞膜に存在する受容体が構成する複合体とジストロフィン複合体との類似性を手がかりにして、複合体全体を機能単位としてとらえ、細胞における働きの解明を進めます。

## 1. ドーパミンの役割の研究

ドーパミン神経系は、ペプチドホルモンの分泌調節・運動の調節・シナプス伝達および神経発達などに関与し、パーキンソン病などの神経疾患、統合失調症などの精神疾患の病因と治療に深く関わります。ドーパミン受容体は遺伝子の構造とその働きにより D1 様受容体 (D1,D5) および D2 様受容体 (D2,D3,D4) に大別されます。D1 様受容体と D2 様受容体は細胞内情報伝達において正反対の性質をもつが協働的に作用します。D1 受容体 (D1R) と D2 受容体 (D2R) はそれぞれのグループの主要分子であり、D1R と D2R の両方を欠損する D1R/D2R 二重欠損マウスを作成すると、生後 8 日目頃より運動異常が出現し、餌を摂取せず、成熟前に死亡することを見いだしました。一方、D1R または D2R 単独の欠損マウスではこの表現型がみられず、D1R を経由する情報と D2R を経由する情報の両方が失われると重症の運動異常が引き起こされることがわかりました。ドキシサイクリンという薬物投与で遺伝子発現を OFF/ON に制御できる実験系を使い、ドーパミン受容体を欠損させ、再び発現回復させることにより、D1R/D2R 二重欠損の状態と回復した状態の両方を観察できるマウスを作成して、

運動異常に着目し、運動を調節するドーパミン神経系の役割を明らかにします。

## 2. 新しい遺伝子変異マウス導入法の開発

標的遺伝子の機能解析を詳細に行うため、マウスの特定組織・特定時期において遺伝子にアミノ酸置換による機能変換を導入する「コンディショナル変異導入法」を開発してきました。NMDA 型グルタミン酸受容体 (NMDAR) は、グルタミン酸による興奮性シナプス伝達を担い、神経細胞の発達・分化、運動の調節、神経伝達の可塑性、神経細胞障害に重要な役割をもちます。これまでに本変異導入法により NMDAR が異常活性化型となるアミノ酸置換を導入したマウスを作成しました。本マウスを用いて NMDAR 異常活性化により引き起こされる運動異常の解析を行ってきました。今後、異常活性化に関与する分子群の探索をおこなうことにより、NMDAR の異常活性化を阻害する新しい治療標的分子の候補を見出すことを目指しています。

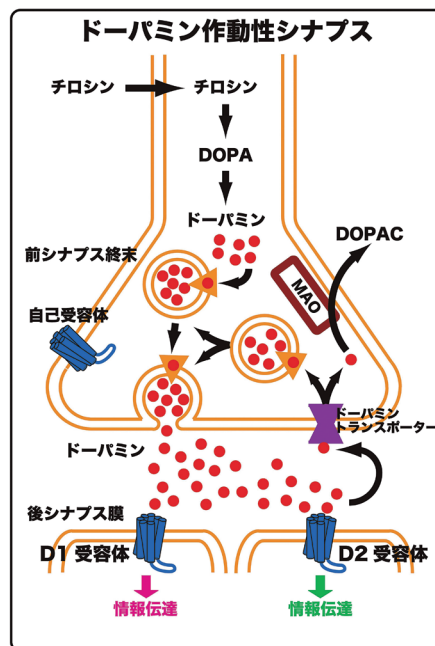


図 1. ドーパミン作動性シナプスの模式図

## 3. 膜タンパク質複合体の機能解析

進行性筋ジストロフィーは骨格筋に変性と再生という病的変化が起こって、筋肉の力が弱くなり、体・上下肢などを動かすという動作、例えば歩くことなどができなくなる病気です。肢帯型筋ジストロフィーの一群であるサルコグリカンノパチー (SGP) は筋線維膜上に存在するサルコグリカン (SG) 複合体のサブユニット ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -SG) が責任分子です。SGはデュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因分子ジストロフィンとジストロフィン複合体を形成します。私たちは SG 欠損マウスを作成したところ、SG サブユニットのいずれかが欠損しても、ジストロフィン複合体全体の機能が異常となり筋ジストロフィーとなることを観察しました。また、ジストロフィン複合体の構成サブユニットであるカベオリン-3の欠損マウスも作成し、同様に筋ジストロフィーとなることを明らかにしました。このことは、筋線維膜上のジストロフィン複合体全体が筋細胞の機能を維持することに重要な働きをしており、複合体の構成サブユニットが欠損すると複合体全体の機能が失われ、筋線維の変性につながることを示しています。この研究成果を神経伝達物質受容体が形成する複合体の解析に応用し、受容体の機能の解明を進めます。

## 参考文献

1. Hagiwara, Y., Fujita, M., Imamura, M., Noguchi, S., Sasaoka, T. Caveolin-3 deficiency decreases the gene expression level of osteopontin in mdx mouse skeletal muscle. *Acta Myologica*, (in press)
2. Watanabe, N., Sasaoka, T., Noguchi, S., Nishino, I., and Tanaka, T. (2007) Cys669-Cys713 disulfide

- bridge formation is a key to dystroglycan cleavage and subunit association. *Genes Cells* 12, 75-88.
3. Imai, F., Hirai, S., Akimoto, K., Koyama, H., Miyata, T., Ogawa, M., Noguchi, S., Sasaoka, T., Noda, T. and Ohno, S. (2006). Inactivation of aPKC lambda results in the loss of adherens junctions in neuroepithelial cells without affecting neurogenesis in mouse neocortex. *Development* 133, 1735-1744.
  4. Ishii, Y., Oya, T., Lianshun, Z., Gao, Z., Kawaguchi, M., Sabit, H., Matsushima, T., Tokunaga, A., Ishizawa, S., Hori, E., Nabeshima, Y., Sasaoka T., Fujimori, T., Mori, H., and Sasahara, M. (2006). Mouse brains deficient in neuronal PDGF receptor- $\beta$  develop normally but are vulnerable to injury. *J. Neurochem.* 98, 588-600.
  5. Mizuno, Y., Guyon, J. R., Watkins, S. C., Mizushima, K., Sasaoka, T., Imamura, M., Kunkel, L. M., Okamoto, K. (2004). Beta-Synemin localizes to regions of high stress in human skeletal myofibers. *Muscle Nerve* 30, 337-346.
  6. Sasaoka, T., Imamura, M., Araishi, K., Noguchi, S., Mizuno, Y., Takagoshi, N., Hama, H., Wakabayashi-Takai, E., Yoshimoto-Matsuda, Y., Nonaka, I., Kaneko, K., Yoshida, M., and Ozawa, E. (2003). Pathological analysis of muscle hypertrophy and degeneration in muscular dystrophy in gamma-sarcoglycan-deficient mice. *Neuromuscul. Disord.* 13, 193-206.
  7. Dressman, D., Araishi, K., Imamura, M., Sasaoka, T., Liu, L., Engvall, E., and Hoffman, E. P. (2002). Delivery of alpha- and beta-sarcoglycan by adeno-associated virus: efficient rescue of muscle, but differential toxicity. *Hum. Gene Ther.* 13, 1631-1646.
  8. Yoshida, M., Hama, H., Ishikawa-Sakurai, M., Imamura, M., Mizuno, Y., Araishi, K., Wakabayashi-Takai, E., Noguchi, S., Sasaoka, T. and Ozawa E. (2000). Biochemical evidence for association of dystrobrevin with the sarcoglycan-sarcospan complex as a basis for understanding sarcoglycanopathy. *Hum. Mol. Genet.* 9, 1033-1040.
  9. Wang, Y., Xu, R., Sasaoka, T., Tonegawa, S., Kung, M.-P., and Sankoorikal, E-B. (2000). Dopamine D2 Long receptor-deficient mice display hypolocomotion and reduced level of haloperidol-induced catalepsy. *J. Neurosci.* 20, 8305-8314.
  10. Hagiwara, Y., Sasaoka, T., Araishi, K., Imamura, M., Yorifuji, H., Nonaka, I., Ozawa, E., and Kikuchi, T. (2000). Caveolin-3 deficiency causes muscle degeneration in mice. *Human Mol. Genet.* 9, 3047-3054.
  11. Araishi, K., Sasaoka, T., Imamura, M., Noguchi, S., Hama, H., Wakabayashi, E., Yoshida, M., Hori, T., and Ozawa, E. (1999). Loss of the sarcoglycan complex and sarcospan leads to muscular dystrophy in beta-sarcoglycan-deficient mice. *Hum. Mol. Genet.* 8, 1589-1598.
  12. Rios, M., Habecker, B., Sasaoka, T., Eisenhofer, G., Tian, H., Landis, S., Chikaraishi, D., and Roffler-Tarlov, S. (1999). Catecholamine synthesis is mediated by tyrosinase in the absence of tyrosine hydroxylase. *J. Neurosci.* 19, 3519-3526.

