

プレスリリース

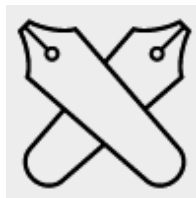
本リリースのカラー版をご希望の方は、
下記担当者までご連絡ください。

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課

広報担当 富田・吉野

Tel : 03-5363-3611

E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp



慶應義塾大学



文部科学省 “社会に貢献する脳科学”の実現を目指して

脳科学研究戦略推進プログラム

Strategic Research Program for Brain Sciences
Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology - Japan

2012年6月*日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

てんかん関連タンパク質と抑制性神経細胞との関わりを解明 — 遺伝性てんかんの予防や治療法の開発に道 —

てんかんは、人口の1%程度で発症する頻度の高い神経疾患です。脳が正常に働くためには、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞（注1）とがバランス良く機能することが大切で、そのバランスが崩れてしまうと、脳は正しく働けなくなってしまいます。例えば、てんかん患者でみられるけいれん発作は、その興奮と抑制のバランスが崩れて異常に興奮した状態と考えられます。てんかんには遺伝性のものもありますが、原因解明は進んでおらず、根本的な治療法は確立していないのが現状です。

今回、慶應義塾大学医学部の仲嶋一範教授らの研究チームは、一部の遺伝性てんかんの原因と考えられているLGI1タンパク質（注2）に注目し、この分子が抑制性神経細胞の誕生部位で発現していることを明らかにしました。また、LGI1タンパク質は細胞外に分泌されるタンパク質として知られていますが、この抑制性神経細胞の誕生部位においては、細胞の核の中に運ばれることを見だし、核において機能を有する可能性を示唆しました。今回の研究で注目したLeucine-rich glioma inactivated 1 (*Lgi1*) という遺伝子の機能を、今後さらに調べることで、てんかんなど、脳の過剰な興奮に関連した病気の理解が進むことが期待されます。

本研究成果は、ヨーロッパ神経科学雑誌「*European Journal of Neuroscience*」で誌上発表される予定ですが、それに先立ち、2012年5月22日に同誌のオンライン版に公開されました。本研究は、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラムの一環として実施されるとともに、科学研究費補助金などの助成によって行われました。

1. 研究背景

脳のなかの神経細胞には大きく分けて2つの種類があります。ひとつは、つながった相手の神経細胞の活動を高める興奮性神経細胞で、もうひとつが、逆に相手の活動を抑制する抑制性神経細胞です。抑制性神経細胞は、興奮性神経細胞の働きを調節することによって脳の機能に大切な働きをしていると考えられています。脳の神経ネットワークのなかでは、興奮性の神経細胞と抑制性の神経細胞がバランスよく働くことが重要であり、この興奮と抑制のバランス（E/I バランス：balance of excitation [E] and inhibition [I]）の乱れが、さまざまな精神神経疾患につながっているという考え方が近年注目されています。しかしながら、興奮性の神経細胞と抑制性の神経細胞の間のバランスが適切に制御されるしくみはよくわかっていません。

てんかんは、脳の神経細胞の過剰な興奮によって反復性のけいれん発作が生じる病気で、人口の1%程度に発症する頻度の高い神経疾患です。興奮性の神経細胞と抑制性の神経細胞のバランスが崩れることが一因となって、過剰な放電が生じ発症すると考えられています。主にマウスを用いた従来の研究で、大脳皮質（注3）の興奮性神経細胞は、脳の発生期（脳が作られる時期）に大脳皮質内で誕生するのに対し、抑制性神経細胞は、主に基底核原基（注4）と呼ばれる部位で誕生して、長い距離を移動した後に大脳皮質に進入することが知られています。今回の研究では、遺伝性のてんかん患者の一部で変異が見つかった、てんかんの原因と考えられているタンパク質LGI1と抑制性神経細胞との関連に注目して解析を行いました。

2. 研究内容

今回の研究で注目したLeucine-rich glioma inactivated 1 (*Lgi1*)という遺伝子（以下、*Lgi1*遺伝子）は、常染色体優性外側側頭葉てんかん（autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy, ADLTE）と呼ばれる遺伝性のてんかんで変異が報告されている遺伝子です。私たちは、脳が作られる時期のこの遺伝子の発現部位をマウスで調べてみました。その結果、*Lgi1*遺伝子は、大脳の基底核原基の中で最も後方にある尾側基底核原基と呼ばれる部位で強く発現していることを見いだしました(図A)。尾側基底核原基は、大脳皮質の抑制性神経細胞が産生される重要な部位の一つです。つまり、*Lgi1*遺伝子は、脳の発生期に次々に誕生して大脳皮質に向かって移動する抑制性神経細胞で何らかの機能を持っていると考えられます。

また、*Lgi1*遺伝子から作られるLGI1タンパク質は細胞外に分泌される分子として知られていますが、この尾側基底核原基においては、細胞の核の中にも運ばれることを見いだしました(図A)。そこで、LGI1タンパク質の配列を詳しく調べたところ、核移行シグナル（注5）と呼ばれる配列に共通の特徴を持った配列が存在していることがわかりました。そこで、この配列部分に人為的に突然変異を入れたLGI1タンパク質を作成し、細胞内局在に与える影響を調べてみたところ、核への分布が大きく減ったことから、確かにこの配列はLGI1タンパク質を細胞の核に運ぶシグナルとして必須の配列であることが確認できました(図B)。そこで次に、9個のアミノ酸から成るこの

配列部分のみでLGI1タンパク質以外のタンパク質をも核内に運ぶことができるかを調べるため、この9個のアミノ酸から成る配列に緑色蛍光タンパク質（Green fluorescent protein, GFP）などをつなげた融合タンパク質を作成し、尾側基底核原基の細胞内の分布を調べてみました。その結果、確かにこの9個のアミノ酸から成る配列をつなげた融合タンパク質は核に多く局在し、一方、この配列に突然変異を入れた融合タンパク質は核への局在が見られないことを見いだしました(図C)。以上の結果から、この9個のアミノ酸から成る配列は確かに核移行シグナルであると結論しました。

そこでさらに、尾側基底核原基の細胞以外に、内側基底核原基や大脳皮質の細胞を培養し、*Lgi1* 遺伝子を強制発現して、その細胞内局在を調べてみました。その結果、核への局在は尾側基底核原基の細胞のみで見られ、内側基底核原基や大脳皮質の細胞では見られないことがわかりました。すなわち、LGI1タンパク質を細胞の核に運ぶしくみは、尾側基底核原基の細胞に特有のシステムである可能性が示唆されました。

3. 今後の展開

通常 LGI1 タンパク質は、分泌された後、他のてんかん関連タンパク質 ADAM22、ADAM23 と抗てんかんタンパク質複合体をつくり、グルタミン酸受容体（注6）の一つである AMPA 受容体のシナプス局在を制御（注7）することによっててんかん発作を防いでいる可能性が考えられています。私たちの以前の研究で、実はこの AMPA 受容体が、脳の発生期に大脳皮質に向かって移動中の抑制性神経細胞でも発現していることがわかっており、その細胞移動の方向などを制御していることが明らかになっています。今回の研究で、LGI1 タンパク質が脳の発生期に抑制性神経細胞で発現していることが明らかになったことから、LGI1 タンパク質が変異を起こすと興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の間のバランスが崩れ、それがてんかん発症の一因になる可能性も考えられます。LGI1 タンパク質を核に運ぶシステムが尾側基底核原基に特有であることは、この部位に由来する抑制性神経細胞の核の中でなんらかの重要な機能を持っている可能性を示唆しています。今後、脳の発生期の抑制性神経細胞における LGI1 の機能を解明していくことにより、遺伝性てんかんの予防や治療法の開発において新しい視点を提供できる可能性があると考えられます。

4. 論文名

Leucine-rich glioma inactivated 1 (Lgi1), an epilepsy-related secreted protein, has a nuclear localization signal and localizes both to the cytoplasm and nucleus of the caudal ganglionic eminence neurons

(てんかん関連分泌タンパク質 Leucine-rich glioma inactivated 1 (Lgi1)は核移行シグナルを有し、尾側基底核原基神経細胞において核と細胞質の両方に局在する)

Sayaka Kusuzawa, Takao Honda, Yuko Fukata, Masaki Fukata, Shigeaki Kanatani, Daisuke H. Tanaka, and Kazunori Nakajima

European Journal of Neuroscience, in press

(Article first published online: 22 MAY 2012 | DOI: 10.1111/j.1460-9568.2012.08129.x)

参考図

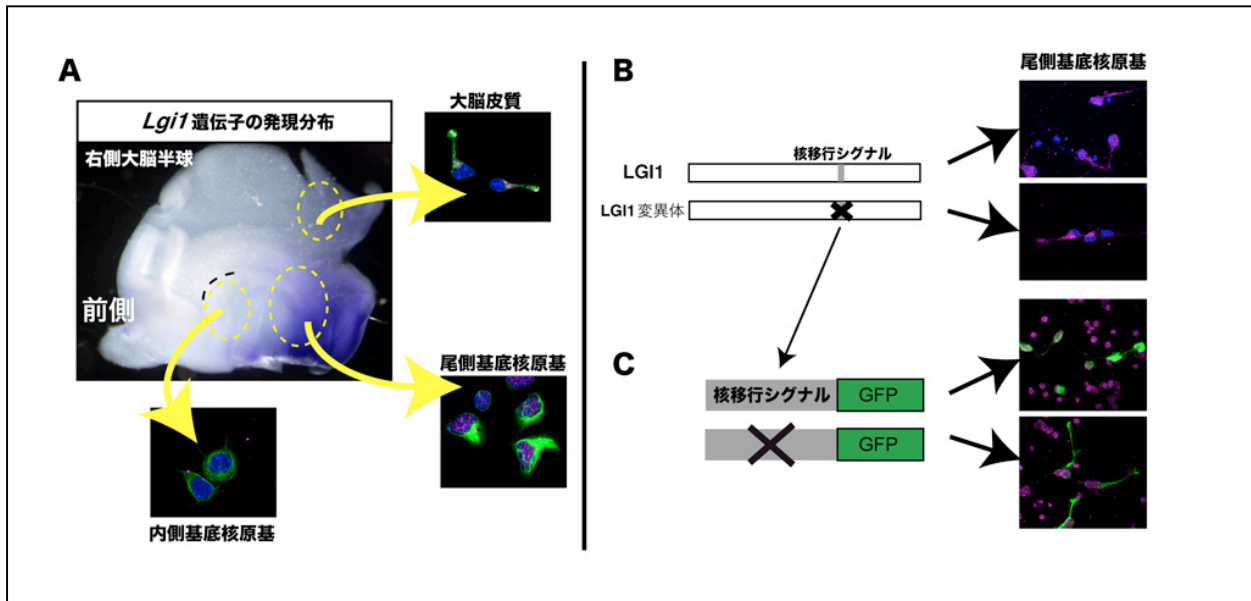


図: (A) 発生期のマウス胎児大脳での *Lgi1* 遺伝子の発現。

左上図：胎生 13.5 日目のマウスの右側の大脳半球を内側から見た写真。向かって左側が脳の前側、右側が脳の後側を示す。紫色のシグナルが、*Lgi1* 遺伝子が発現している部位を示す。*Lgi1* 遺伝子は、抑制性神経細胞の産生部位の一つである「尾側基底核原基 (CGE)」で強く発現していることがわかった。

右上図、左下図、右下図：矢印で示す各部位を切り出して培養し、LGI I タンパク質（ピンク色）、TuJ1（神経細胞のマーカー。緑色）、核（濃い青色）を染色した。LGI I タンパク質は、尾側基底核原基の細胞の核の中に局在している（ピンク色の染色と濃い青色の染色が重なっている）ことがわかった。

(B) LGI1 タンパク質の「核移行シグナル」配列に変異を入れると、核への局在が障害される。

左側の白い2つの四角形は、それぞれ正常な LGI1 タンパク質と、「核移行シグナル」に人為的に突然変異を入れた LGI1 変異体タンパク質とを模式的に表す。これら2種のタンパク質のどちらか一方のみを尾側基底核原基の細胞に強制的に発現させて細胞内での分布を調べた所、核移行シグナルに人為的に突然変異を入れた LGI1 変異体タンパク質は、核への分布が減少した（ピンク色で染色した LGI1 タンパク質と、青色で染色した核とが右上図では重なっているが、右下図では重なっていない）。

(C) 9個のアミノ酸から成る、LGI1 タンパク質の核移行シグナル配列のみを取り出し、緑色蛍光タンパク質 (GFP) とつなげた融合タンパク質を作成して、尾側基底核原基の細胞に強制的に発現させて細胞内での分布を調べた。

核移行シグナル配列が正常な場合は、融合タンパク質 (緑色で表示) は核 (ピンク色で染色) に多く局在した。一方、核移行シグナル配列に突然変異をいれた融合タンパク質は、核への局在は見られなかった。以上より、この配列には、タンパク質を細胞の核に運ぶ目印としての機能があることが確認された。

【用語解説】

(注1) 興奮性神経細胞と抑制性神経細胞

脳の多くの神経細胞は、つながっている相手の神経細胞の活動を高める細胞で、“興奮性”神経細胞と呼ばれます。一方それとは逆に、つながっている相手の神経細胞の働きを弱めて活動を抑える“抑制性”神経細胞も存在します。大脳皮質の抑制性神経細胞の多くは、 γ アミノ酪酸(γ -aminobutyric acid; GABA)を神経伝達物質として用いています。このため、抑制性神経細胞のことを GABA 作動性神経細胞と呼ぶこともあります。

(注2) LGI1 タンパク質

常染色体優性外側側頭葉てんかん (autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy, ADLTE) と呼ばれる、遺伝性のてんかんで変異が報告されている *Lgi1* 遺伝子からつくられるタンパク質。神経細胞間のつなぎ目であるシナプスにある分泌タンパク質で、正常な LGI1 タンパク質の量が少なくなると、シナプスの機能異常がおこると考えられている。

(注3) 大脳皮質

大脳半球の表面に広がる、神経細胞が層構造を作って並んだ部分。大脳皮質に配置された神経細胞が互いにネットワークをつくって情報のやり取りを行うことにより、記憶、学習、思考などの高度な脳機能を担っている。

(注4) 基底核原基

大脳の深部にある「基底核」と呼ばれる脳部位の神経細胞が誕生する場所で、大脳の腹側にある。大脳の背側にある大脳皮質の抑制性神経細胞や、グリア細胞の一種であるオリゴデンドロサイトも産生される。外側基底核原基、内側基底核原基、尾側基底核原基の3つの領域から形成される。基底核原基で産生された大脳皮質抑制性神経細胞は、その後、脳表面に平行に背側に向かって移動し、大脳皮質に進入して、ネットワークに組み込まれる。

(注5) 核移行シグナル

タンパク質を、核膜孔を通して核内へ移行させる配列。主に塩基性アミノ酸リシンとアルギニン残基が数個あつまった領域で、この配列を含むタンパク質は核内へと輸送される。

(注6) グルタミン酸受容体

中枢神経系のシナプス、すなわち、神経細胞間のつなぎ目に多く発現しており、神経伝達物質であるグルタミン酸を受け取って、神経活動を次の神経細胞に伝える役目をしている。

(注7) シナプス局在を制御

シナプスとは、神経細胞と神経細胞のつなぎ目を意味する。抗てんかんタンパク質複合体は、グルタミン酸受容体の一種である AMPA 受容体をシナプス部位の細胞膜に局在（配置）させ、神経細胞間の活動の伝達を調節している。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、文部科学省科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信させていただいております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 解剖学教室 教授
仲嶋一範（なかじま かずのり）
TEL : 03-5363-3743 FAX : 03-5379-1977
Email : kazunori@z6.keio.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課 富田
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612
E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.keio.ac.jp/>

【「文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラム」に関するお問い合わせ】

脳科学研究戦略推進プログラム 事務局（担当：大塩）
TEL : 03-5282-5145 FAX : 03-5282-5146
E-mail : srpbs@nips.ac.jp