

## ミクログリアに発現する AMPA 型グルタミン酸受容体 GluR2 の機能解明

別府 薫

九州大学薬学府病態生理学分野

この度、第 20 回病態生理学会において奨励賞をいただくことができ、大変光栄に存じております。この素晴らしい賞をいただけたとともに、本学会を通して多くのことを勉強することができ、今後の研究における大きな糧になったと感じております。学会を運営された先生方、審査に携わった先生方、そして私の研究に対して多くのご指導を賜りました皆様方に、この場をお借りして厚くお礼申し上げます。

今回私は「ミクログリアに発現する AMPA 型グルタミン酸受容体 GluR2 の機能解明」について発表しました。中枢神経系にはニューロンのほかに、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアの 3 種類のグリア細胞が存在します。このうちミクログリアは脳内におけるマクローファージ様の働きを担っており、神経活動に異常が生じたり神経障害や神経疾患に陥ったりした場合に、いち早くそれらの情報を受容し、脳内の貪食細胞として機能します。また、中枢神経において興奮性情報伝達の主役を担うグルタミン酸受容体は、記憶・学習、神経系の分化・発生、神経細胞死の成立に重要な役割を果たしています。このグルタミン酸受容体のうちイオンチャネル型である AMPA 受容体は速い時間経過の興奮性情報伝達を担い、その重要性から LTP や LTD といった記憶メカニズムの解明や (Malenka et al., 1999; Chung et al., 2003; Brecht et al., 2003)、この受容体に関わる疾患 (Carter et al., 2004; Kawahara et al., 2004; Vollmar et al., 2004) について多くの研究が行われてきました。AMPA 受容体は GluR1、GluR2、GluR3、GluR4 の 4 種類のサブユニットからなる 4 量体を形成しており、このうち GluR2 は RNA 編集の段階で特定位置の 1 個のアミノ酸が、グルタミン (Q) からアルギニン (R) に変換されており (Sommer et al., 1991; Higuchi et al., 1993)、GluR2(R) を含む受容体は、アルギニンによる陽電荷が静電反発を生じて  $\text{Ca}^{2+}$  の透過性を失います。したがって、AMPA 受容体のうち GluR2 サブユニットは  $\text{Ca}^{2+}$  透過性を決定する重要なサブユニットとして考えられています。

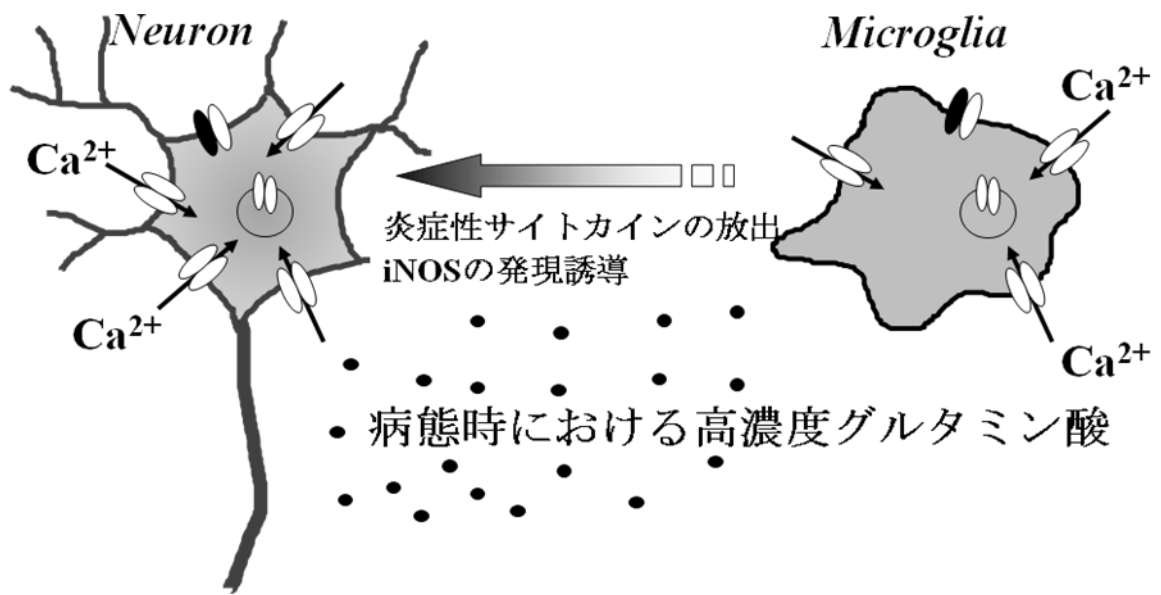
近年ミクログリアにおける多くの受容体やチャネルの存在が明らかとなり、神経による情報伝達にミクログリアが積極的に関与している可能性が示されています。そこで正常時、病態時におけるニューロン・ミクログリアのコミュニケーションにどのような因子が関与しているかは非常に興味深いと考えられます。ミクログリアにおける機能的な AMPA 型グルタミン酸受容体の発現については、当研究室の指導教員 (野田百美) が以前発見しています (Noda et al., 2000; Hagino et al., 2004)。そこで、ミクログリアにおける AMPA 受容体の機能を解析する目的で、活性化ミクログリアにおける GluR2 の膜局在化とグルタミン酸誘発電流の抑制について研究を行った結果、 $\text{Ca}^{2+}$  透過性を決定する GluR2 サブユニットが大事であることが次第にわかってきました。よって今回私がこの研究を引き継ぎ、GluR2 欠損型

(GluR2KO) および野生型 (WT) マウスを用いて、ミクログリアにおける GluR2 の生理学的・病態生理学的機能についての検討を行いました。

まず生理学的機能について検討する目的として、WT のミクログリアに LPS (細菌毒) を 30 分処置したところ、グルタミン酸誘発電流は時間依存的に減少しましたが、GluR2KO のミクログリアにおいては電流の減少は見られませんでした。また、GluR2 の発現量を immunoblot で定量したところ、control 群に対して LPS 処置群において、GluR2 の発現増加が見られました。さらに、細胞膜上に発現する GluR2 を調べるために、細胞膜非透過性条件下で細胞外領域を認識する抗体を用いて免疫染色を行ったところ、control 群に対して LPS 処置群において、細胞膜上に局在する GluR2 の増加が見られました。以上のことから、ミクログリアは高濃度グルタミン酸環境に対して、GluR2 を膜に増加させることで AMPA 受容体の機能を変え、グルタミン酸に対する応答を抑制し、自身をグルタミン酸毒性から保護するという、生理的な役割を持つことが示唆されました。

しかし、アルツハイマー病など様々な神経変性疾患時には GluR2 が減少あるいは機能不全となり、Ca<sup>2+</sup>透過性 AMPA 受容体による高い Ca<sup>2+</sup>の流入により、ニューロンはグルタミン酸毒性となって細胞死を起こすことが報告されています(Carter TL et al., 2004; Ferrer I et al., 2003)。よって、このような病態時にミクログリアにおける GluR2 も欠損あるいは機能不全となった場合の影響を調べるために、GluR2KO と WT のミクログリアを用いて比較検討を行いました。電気生理学的な解析により、GluR2KO のミクログリアは WT に比べて、AMPA 受容体を介した Ca<sup>2+</sup>透過性が高いことが示され、生化学的・免疫細胞学的な解析によって炎症性マーカーである TNF- $\alpha$  や iNOS の発現が高いことが示されました。以上のことから、ニューロンだけでなくミクログリアにおける GluR2 も欠損あるいは機能不全となった場合、グルタミン酸に対する高い Ca<sup>2+</sup>透過性とそれに伴う炎症性サイトカイン放出、iNOS 発現の誘導が起こることが考えられ、Ca<sup>2+</sup>透過性 AMPA 受容体を介したミクログリアの炎症反応は、ニューロンにおけるグルタミン酸毒性を増強させている可能性が示唆されます。したがって、ニューロンだけでなくミクログリアにおける GluR2 も、高濃度グルタミン酸環境となる病態時において重要な役割を持つことが示唆されました。

このような研究を通して、病態時にニューロンやアストロサイトから放出されるグルタミン酸に対するミクログリアの関与を検討し、病態時のニューロン・グリア連関における GluR2 機能の分子基盤を解明することで、新たな治療戦略を構築することが期待できます。



図； GluR2の発現や機能が正常でない場合、 $Ca^{2+}$ 透過性AMPA受容体を介したマイクログリアの炎症反応が、ニューロンにおける高濃度グルタミン酸毒性を増強させる