

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18077007

研究課題名（和文） 体液 Na レベルセンサー/浸透圧センサーの特性と生理機能の解明

研究課題名（英文） Studies on molecular and physiological properties of the Na-level sensor and osmosensor.

研究代表者

檜山 武史 (HIYAMA TAKESHI)

基礎生物学研究所・統合神経生物学研究部門・助教

研究者番号：90360338

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：セルセンサー、神経科学、イオンチャンネル、ナノバイオ、生体分子

1. 研究計画の概要

我々哺乳類が脱水状態に陥った時、体液のナトリウム(Na)濃度が上昇すると共に浸透圧も増加する。この2つの情報は脳内の別々のセルセンサーにより検出されるが、一部は統合されて脱水という生命危機状態に対処するための一連の行動や生理機能の制御に関わると考えられている。本研究では、すでに同定した Na レベルセンサーの生理的役割を詳細に検討すると共に、新たに脳内浸透圧センサーの同定を試みる。

2. 研究の進捗状況

当初の計画に従って、体液 Na レベルセンサー Na_x については生理的役割を検討し、浸透圧センサーについては同定を目指して解析を進めている。

Na_x については、 Na_x の細胞内領域に結合する分子を探索し、 Na^+/K^+ -ATPase が Na_x の C 末領域に結合することを明らかにした。また、Na レベルが上昇すると、 Na_x を発現するグリア細胞においてグルコースの取り込みが高まり乳酸の放出が亢進することを示した。さらに、脳弓下器官の急性スライスを用いた電気生理学的解析から、Na レベル上昇時に Na_x を発現するグリア細胞から放出される乳酸が GABA 作動性神経細胞の発火頻度を増加させることが明らかとなった。以上の知見は Neuron 誌に報告した。当初計画を超えて研究が進展したので、計画をさらに発展させ、本態性高 Na 血症の発症機構に Na_x が関与する可能性を検討した。患者から提供を受けたサンプルの解析を進め、ヒトの体液調節における Na_x の生理的役割の解明を試みた。さらに、 Na_x 遺伝子ノックアウトマウスを用いた解析か

ら、抗利尿ホルモンであるバソプレッシンの放出制御に Na_x が関与する可能性を検討した。

浸透圧センサー分子については、候補分子である TRPV1 及び TRPV4 の遺伝子を欠損したノックアウトマウスの行動解析を進めて、飲水行動の制御における TRPV1 及び TRPV4 の役割を検討した。また、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて脳内における発現部位を同定した。さらに、TRPV1 や TRPV4 を発現した細胞に浸透圧刺激を与え、カルシウムイメージング法により応答を調べ、TRPV1 や TRPV4 が浸透圧感受性を有するか検討した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

本研究開始時点において、体液 Na レベルセンサーについては「行動の制御に関わるセンサー分子が、なぜニューロンではなくグリア細胞に発現しているのか」という謎が残されていた。本研究においてその謎を解明し、Neuron 誌に報告したところ、体液 Na レベルセンサーの生理的役割を明らかにしただけでなく、グリア細胞がニューロンを制御する新しい機構を解明したものとして国内外から高い評価を得た。また、当初計画をさらに発展させ、ヒトの疾患との関わり、抗利尿ホルモンの制御との関わりについても解析を進めて成果を得た。現在投稿準備中である。

一方、浸透圧センサーについては、当初、全く手掛かりを掴めない状態から始めたため、成果を得るまでに時間を要した。しかし、ノックアウトマウスを用いた *in vivo* 解析と培養細胞を用いた *in vitro* 解析の両面から研究を進めてきた結果、最近になってようや

く成果がまとまりつつある。本研究期間内に成果をまとめ、発表できるものと考えている。以上のように、体液 Na レベルセンサーについては当初の計画以上に進展しており、浸透圧センサーについても概ね順調に研究成果があがっている。残りの期間でそれらをまとめ、発表していきたいと考えている。

4. 今後の研究の推進方策

体液 Na レベルセンサーについては、センサー機能の制御機構に着目して検討を進める他、これまでの成果のまとめに注力する。浸透圧センサーについては、*in vivo*と*in vitro*のそれぞれから明らかになった知見を比較検討し、両者を統合して最終的に浸透圧センサーの同定を目指す。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① 檜山武史, 野田昌晴, グリアによる乳酸を介したニューロン発火活動の制御, *Clinical Neuroscience*, 26(1), 6-7, 2008 査読なし
- ② Shimizu H*, Watanabe E*, Hiyama TY* et al. (9名中3番目; *共同筆頭著者), Glial Na_x channels control lactate signaling to neurons for brain [Na⁺] sensing, *Neuron*. 54(1), 59-72, 2007 査読あり
- ③ 檜山武史, 野田昌晴, 体液Naレベルの脳内感知機構: グリアが乳酸シグナルによってニューロン活動を制御する, *細胞工学*, 26 (10), 1164-1169, 2007 査読なし
- ④ 檜山武史, 野田昌晴, 脳における体液Na レベル感知機構—グリア細胞が神経活動を制御するしくみの解明, *実験医学*, 25(16), 2007 査読なし

[学会発表] (計8件)

- ① 渡辺英治、檜山武史、野田昌晴、脳のナトリウムセンサー、日本味と匂い学会第42大会、2008年9月19日、富山市民プラザ (富山市)
- ② 檜山武史、体液 Na レベルの脳内感知機構、日本内分泌学会 第26回内分泌代謝学サマーセミナー、2008年7月12日、セントレアホール (常滑市)
- ③ 檜山武史、清水秀忠、長倉彩乃、藤川顕寛、渡辺英治、野田昌晴、Brain Na-level

sensing and control of salt-intake behavior mediated by lactate signaling、第31回日本神経科学大会、2008年7月11日、東京国際フォーラム (東京都)

- ④ 長倉彩乃、檜山武史、渡辺英治、野田昌晴、Distribution analysis of FOS-positive neurons in the mouse subfornical organ、第31回日本神経科学大会、2008年7月10日、東京国際フォーラム (東京都)
- ⑤ 檜山武史、清水秀忠、渡辺英治、長倉彩乃、藤川顕寛、岡戸晴生、柳川右千夫、小幡邦彦、野田昌晴 Glial Na_x channels control lactate signaling to neurons for brain [Na⁺] sensing、北米神経科学会、2007年11月3-7日、コンベンションセンター (アメリカ、サンディエゴ市)
- ⑥ 清水秀忠、檜山武史、長倉彩乃、藤川顕寛、渡辺英治、野田昌晴、Glial Na_x channels control lactate signaling to neurons for brain [Na⁺] sensing、第30回日本神経科学大会、2007年9月10日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑦ 長倉彩乃、檜山武史、渡辺英治、野田昌晴、Characterization of neurons in the mouse subfornical organ by retrograde labeling、日本神経科学大会、第30回日本神経科学大会、2007年9月10日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑧ 清水秀忠、渡辺英治、檜山武史、野田昌晴、Sodium sensitive sodium channel Na_x regulates glial glucose metabolism、第29回日本神経科学大会、2006年7月19日、国立京都国際会館 (京都市)

[その他]

基礎生物学研究所プレスリリース

http://www.nibb.ac.jp/press/070329/070307_open.html

- 2007/4/13 朝日新聞
2007/4/13 科学新聞
2007/4/10 Science's STKE (Editors' Choice)
2007/4/5 中日新聞
2007/4/5 日経産業新聞
2007/4/5 読売新聞
2007/4/4 Neuron (電子版: featured article)