

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18077009

研究課題名（和文） 発達/障害による KCC2 共役担体機能制御と GABA 応答のモーダルシフト

研究課題名（英文） Regulation of KCC2 in development and repair, and modal shift of GABA responses

研究代表者 鍋倉 淳一 (NABEKURA JUNICHI)

生理学研究所・発達生理学研究室・教授

研究者番号：50237583

研究分野：生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：KCC2, GABA, モーダルシフト

#### 1. 研究計画の概要

細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度調節分子である K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> 共役担体である KCC2 の機能制御機構を解明するとともに、細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度の変化に伴う GABA 受容体機能のモーダルシフトを解明し、また KCC2 発現操作動物を用いて、関連する生体機能を解明する。

#### 2. 研究の進捗状況

抑制性伝達物質受容体である GABA<sub>A</sub> 受容体は細胞外 GABA を感知して内臓する Cl<sup>-</sup> チャネルを開く。そのため、その機構は細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度に依存して変化する。細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度調節機構として細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度汲み出し分子である KCC2 の機能調節に注目した。KCC2 は C 末端付近にチロシンリン酸化サイトを有しており、そのリン酸化により細胞膜のリピッドラフトに集積し、オリゴマーを形成して機能発現することを、チロシンリン酸化サイトのミューテーションを強制発現した系で明らかにした。さらに、酸化ストレスなどにより、KCC2 の機能低下、それにとまなう GABA の脱分極シフトが起こるが、これは、障害後早期（2 時間以内）の KCC2 の脱リン酸化により細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度の上昇が起こる、その後 KCC2 蛋白自体の発現消失が起こり、さらに細胞内 Cl<sup>-</sup> 濃度上昇が起こることに起因することが判明した。これにより、障害神経細胞においては GABA は細胞興奮性を促進し、細胞死を促進する可能性も明らかになった。

#### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。  
(理由)

当初の予定では研究期間前半は KCC2 の機能制御を明らかにすることを主たる目標としており、現在 KCC2 のリン酸化による制御および障害時における KCC2 の機能低下のメカニズムの解明がほぼ終了したため。

#### 4. 今後の研究の推進方策

今後は GABA の脱分極 過分極モーダルシフトの生理的意義を検討するため、KCC2 の発現を部位および時期特異的にコントロール可能な遺伝子改変動物を作成し、電気生理学および生体イメージング法を用いて検討する予定である。

#### 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 16 件)

Ishibashi H, Hirao K, Yamaguchi J, Nabekura J (2009) Inhibition of chloride outward transport by gadolinium in cultured rat spinal cord. *Neurotoxicology* 30, 155-159. (査読有)

Kitamura A, Ishibashi H, Watanabe M, Takatsuru Y, Brodwick M, Nabekura J (2008). Sustained depolarizing shift of the GABA reversal potential by glutamate receptor activation in hippocampal neurons. *Neuroscience Research* 62; 270-277. (査読有)

Nishimaki T, Jang IS, Ishibashi H, Yamaguchi J, Nabekura J (2007). Reduction of metabotropic glutamate receptor-mediated heterosynaptic inhibition of developing MNTB-LSO inhibitory

synapses. European Journal of Neuroscience 26:323-330. (査読有)

Wake H, Watanabe M, Moorhouse AJ, Kanematsu T, Horibe S, Matsukawa N, Asai K, Ojika K, Hirata M, Nabekura J (2007) Early changes in KCC2 phosphorylation in response to neuronal stress results in functional downregulation. Journal of Neuroscience, 27:1642-1650. (査読有)

Nakamura T, Jeromin A, Smith G, Kurushima H, Koga H, Nakapeppu Y, Wakabayashi S, Nabekura J (2006) Novel role of neuronal Ca<sup>2+</sup> sensor-1 as a survival factor up-regulated in injured neurons. Journal of Cell Biology, 172:1081-1091. (査読有)

〔学会発表〕(計 11 件)

鍋倉淳一, 渡部美穂 (2007.12.11) 神経細胞特異的 C1 濃度調節分子 K-C1 共役担体のリン酸化による機能調節と GABA 機能のモダルシフト。Functional modulation of neuron-specific K-C1 cotransporter and the shift of GABA responses; phosphorylation and membrane distribution. 第 30 回日本分子生物学学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)

渡部美穂, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2007.11.21) カリウム-クロライド共役担体 KCC2 の機能発現制御。生理学研究所研究会シナプス伝達ダイナミクス解明の新戦略 シナプス伝達の細胞分子調節機構 (岡崎)

Wake H, Watanabe M, Nabekura J (2006.10.16) Early changes in KCC2 phosphorylation in response to neuronal stress results in functional downregulation. Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta, USA)

Nabekura J (2006.7.19) Transmitter switching in developing auditory neurons. 第 29 回日本神経科学会 (京都)

Nishimaki T, Jang IS, Nabekura J (2006.3.30) 外側上オリーブ核に入力する抑制性シナプス前終末における代謝型グルタミン酸受容体の発達変化。第 83 回日本生理学会大会 (前橋)