

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390053

研究課題名（和文）スフィンゴシンキナーゼ・S1P シグナル伝達系による脳機能の調節機構

研究課題名（英文）Mechanism underlying the regulation of brain function through sphingosine kinase/S1P signaling

研究代表者

中村 俊一（NAKAMURA SHUNICHI）

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40155833

研究成果の概要（和文）：

S1P シグナルは神経細胞のみならず、海馬の苔状繊維に於いても興奮生神経伝達物質グルタミン酸放出を引き起こすことが示され、記憶学習に重要な調節を行っていることが示唆された。また、海馬のみならず小脳や黒質にも SK1 が豊富に存在することから、今後 GABA やドーパミン等の神経伝達物質の放出に於いても S1P シグナルの機能を明らかにしてゆきたい。

研究成果の概要（英文）：

Electrophysiological studies demonstrated that S1P signaling causes glutamate release from mossy fiber terminals in the hippocampus as well as it does from hippocampal neurons, suggesting that this signaling system may regulate memory formation and learning in the brain.

Immunohistochemical analysis revealed that sphingosine kinase 1 is rich in cerebellum and substantia nigra as well as mossy fibers in the hippocampus suggesting the signaling system may work in GABAergic and dopaminergic neurons as well. Further studies are necessary to elucidate the function of S1P in the brain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2011年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医科学一般

キーワード：分子病態学

1. 研究開始当初の背景

S1P は酵母からヒトに至る真核生物に広く存在し、血管内皮細胞等の増殖促進作用やアポトーシス抑制能など多彩な機能を有する脂質情報伝達物質である。中枢神経系では S1P やその産生酵素スフィンゴシン・キナー

ゼ（SK）が豊富に存在するが、S1P の神経に特異的な機能に関しては不明であった。しかし最近 SK 欠損マウスでは、胎児の神経管の閉鎖不全から胎生致死となることが米国の研究グループより報告され（Mizugishi *et al.* (2005) *Mol. Cell. Biol.* 25, 11113-11121）、SK/S1P 系の中枢神経系での重

要性が認識され始めてきた。申請者らはこれまでにSKの結合タンパク質 RPK118を発見し (Hayashi *et al.* J. Biol. Chem. (2002))、SK/S1P 系が細胞内顆粒輸送を調節している可能性を提唱した。更に最近申請者らは海馬の初代神経培養細胞を用いてS1Pの機能解析を行った結果、生理的濃度のS1Pが海馬神経細胞に存在するS1P受容体に直接作用し、グルタミン酸の放出を引き起こすことを明らかにした (Kajimoto, T. *et al.* (2007) Mol. Cell. Biol. 27, 3429-3440)。これらの事実から、海馬に於いてS1Pがグルタミン酸の放出を事により、記憶や学習等様々な神経機能に重要な役割をはたしている可能性が示唆された。以上の背景から、海馬神経細胞におけるSK1/S1Pシステムの分子メカニズムの詳細に明らかにすることは、神経生理を理解するためのみならず、記憶・学習の分子メカニズム確立する上で有用であると考えられる。

2. 研究の目的

最近SK欠損マウスやS1P₁受容体欠損マウスに於いて、胎児の脳の発育不全、神経管の閉鎖不全および出血から胎生致死となることが米国の研究者から報告され、SK/S1P情報伝達系が中枢神経系に於いて重要な役割を果たしていることが認識され始めてきた。上述の如く、最近の我々は、海馬神経細胞に微量(ナノモル濃度)のS1Pを作用させると、S1P受容体を介して同神経軸索末端からグルタミン酸を放出させることを見出した。そしてこの神経培養細胞によって得られたこれまでの知見が、脳に於いても同様に機能しているかを調べることは脳の生理機能を理解する上で極めて重要である。そこで今回マウスの脳のスライスにS1Pを作用させ、実際にグルタミン酸放出を引き起こすかを、電気生理学的手法を用いて、AMPA型グルタミン酸受容体活性による電位の変化を通して解析する。更に海馬スライスに於けるグルタミン酸放出の長期増強・長期抑制効果に於けるS1Pの効果を確かめたい。これらの一連の研究から得られた知見をもとにS1Pの海馬に於ける生理的な役割を明らかにしたい。

3. 研究の方法

S1Pの産生酵素スフィンゴシン・キナーゼ1(SK1)の脳内分布を調べる目的で、アダルト・マウスの脳を還流固定し、SK1抗体を用いて免疫組織染色を行った。次にアダルト・マウスの海馬スライスを調整し、電気生理学的手法を用いてS1Pの効果を解析した。

更に、SK1欠損マウスを用いてモリスの水迷路実験を行い記憶・学習について野生型のマウスと比較検討した。

4. 研究成果

S1Pの神経固有の機能を調べる目的で、我々はこれまでに海馬神経培養細胞を用いてS1Pによるグルタミン酸放出の調節を明らかにしてきた。次にS1Pの生理機能を調べる目的で、S1Pの産生酵素であるスフィンゴシン・キナーゼ(SK1)の海馬に於ける分布を免疫組織染色法を用いて調べたところ、苔状繊維に特異的にSK1が存在することを明らかにした(①)。更に興味深いことに、SK1は黒質、嗅球、小脳などにも限局して高発現していることが明らかになった(図1、未発表データ)。

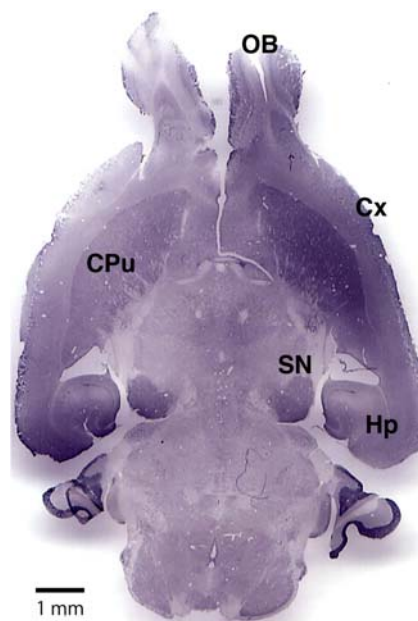


図1. SK1の脳内分布

これらの結果はS1Pシグナルによる神経伝達物質の放出調節は、海馬等のグルタミン酸作動性神経線維のみならず、黒質等のドーパミン作動性神経線維や小脳のGABA作動性神経線維にも同様に作用する可能性がある。

また、ラットの海馬スライスにS1Pを加えると、CA3領域でのみAMPA型グルタミン酸受容体の微小興奮性シナプス後電流の頻度が亢進したが、CA1領域ではこれらの変化は認められなかった。このことから、S1Pは海馬スライスに於いてSK1が豊富に存在する苔状繊維(CA3領域)からのグルタミン酸の放出を引き起こすことが示された。

海馬は記憶の一次中枢部位であり、

他の感覚野から得られた情報を統合して受け入れ、三シナプス回路を形成することにより、他の脳領域に長期記憶として情報を配信する役割を担う。海馬に於ける以上の結果は、三シナプスの内2番目のシナプス伝導(苔状繊維とCA3領域の錐体細胞)に於いてS1Pシグナルが重要な働きをしていることを示している。実際にSphK1の欠損マウスではこの2番目のシナプス領域(CA3)で、記憶の実験モデルとして用いられる長期増強効果(LTP)が形成されなかった(①)。

更にモリスの水迷路実験においてプラットホームに到達する時間は野生型マウスに比べ優位にSK1欠損マウスで延長が見られた(①)。以上より、S1Pシグナルは神経細胞のみならず、海馬の苔状繊維に於いても興奮性神経伝達物質グルタミン酸放出を引き起こすことが示され、記憶学習に重要な調節を行っていることが示唆された。また、海馬のみならず小脳や黒質にもSK1が豊富に存在することから、今後GABAやドーパミン等の神経伝達物質の放出に於いてもS1Pシグナルの機能を明らかにしてゆきたい。

5. 主な発表論文等

(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2件)

① 岡田太郎、中村俊一 細胞内外で機能するスフィンゴシン1リン酸(S1P)の役割、生化学、84、92-101(2012) 査読なし

② Kanno, T., Nishizaki, T., Proia, R. L., Kajimoto, T., Jahangeer, S., Okada, T., & Nakamura, S. Regulation of synaptic strength by sphingosine 1-phosphate in the hippocampus. *Neurosci.* 171, 973-980 (2010)、査読あり

[学会発表] (計3件)

① Nakamura, S. Regulation of hippocampal function by sphingolipid signaling, International Symposium on Cell Signaling and Gene Regulation, Taiwan (2011) 2月20日

② Nakamura, S., Fukai, E., Miya, S., Jesko, H., & Okada, T. Sphingolipid signaling and neuronal function, 52nd International Conference on the Bioscience

of Lipids

Warsaw, Poland (2011) 9月2日

③ Nakamura, S., Fukai, E., Jesko, H., & Okada, T. Sphingolipid signaling in the nucleus.

第83回日本生化学会大会、神戸(2010) 12月8日

[図書] (計1件)

① 中村俊一、スフィンゴシン1リン酸の機能、セラミド-基礎と応用-、164-170 (セラミド研究会編)(2011)

[その他]

ホームページ:

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/gs/field/basic/biochem.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 俊一 (NAKAMURA SHUNICHI)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 40155833

(2) 研究分担者

岡田 太郎 (OKADA TARO)
神戸大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 80304088
梶本 武利 (KAJIMOTO TAKETOSHI)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 00509953

(3) 連携研究者

該当無し