3P221

環境ホルモン Bisphenol-A はラット海馬神経細胞のスパイン形態を急性的に変化させる

○田辺 伸聡^{1,2}、小松崎 良将^{2,3}、釣木澤 朋和^{1,2}、三橋 賢司^{2,4}、大石 悠貴^{2,4}、村上 元^{1,2}、石井 寛高^{2,4}、木本 哲也^{1,2}、向井 秀夫^{1,2}、川戸 佳^{1,2,4} (¹ 東大院・総合文化・広域科学、²CREST・JST、³ 明治大・理工、⁴ 東大院・理学系・物理学)

近年、内分泌かく乱物質、いわゆる環境ホルモンが生体に及ぼす影響に広く注目が集まっている。現在までの研究により、哺乳類では肝臓で代謝されるため生殖に対する影響は少ないことがわかってきた。しかし、我々は近年解毒作用の弱い脳では環境ホルモンが神経シナプス伝達に急性的に影響を及ぼすことを電気生理学的研究で明らかにしてきた。本研究では、広く存在する環境ホルモンの一種であり、擬似女性ホルモン様作用をもつと言われる Bisphenol-A (BPA) について、脳の記憶学習の中核である海馬神経への影響を解明することを目的に実験を行なった。生後 12 週齢の雄ラットの海馬から調製した急性スライスに対し、無有害作用量以下の低濃度 BPA (10~100 nM) を 2 時間作用させた後、固定した海馬スライスの神経細胞に蛍光色素 Lucifer Yellow を Current Injection 法によって注入後、共焦点顕微鏡下で断層撮影することによって、短期記憶を蓄える神経細胞樹状突起のスパイン形態を詳細に解析した。その結果、低濃度 BPA を添加したスライスでは、Control 群のスライス (0.94 spines/micron) に比べ、スパイン数が増加している (1.65 spines/micron) ことが確認された。このことから、低濃度 BPA は短時間で海馬神経細胞のスパイン数を増加させ、記憶/学習効率のモジュレーションを行なっていることが推測される。また、低濃度 BPA を女性ホルモン受容体の阻害剤である ICI-182,780 と同時に投与したスライスでも、同様にスパインの数が増加していることが分かった (1.48 spines/micron)。このことから、低濃度 BPA は女性ホルモン受容体とは別の経路でスパイン数のモジュレーションを行なっていると考えられる。

Tanabe N, Komatsuzaki Y, Tsurugizawa T, Mitsunashi K, Ooishi Y, Murakami G, Ishii H, Kimoto T, Mukai H, Kawato S : The endocrine disruptor Bisphenol-A acutely induces morphological changes in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons

3P223

神経樹状突起における局所的な翻訳制御のイメージング

○宮城 拓^{1,2}、椎名 伸之^{1,2}、徳永 万喜洋^{1,2,3} (¹ 遺伝研、² 総研大、³ 理研・免疫センター)

神経細胞間のシグナル伝達効率は、シナプス可塑性により調節されている。シナプス可塑性に必要なタンパク質は、神経樹状突起で刺激依存的に合成されていると考えられている。このタンパク合成は、細胞体から独立して樹状突起だけで起こることが報告されている。私たちは、神経樹状突起に存在する翻訳開始因子の可視化により、タンパク合成の時間的・空間的な制御機構を明らかにし、局所的なシナプス形成の分子基盤を解明したいと考えている。

翻訳開始因子として、eIF4E(eukaryotic Initiation Factor 4E) と eIF4G とが知られている。eIF4E は、mRNA の 5' キャップに結合するタンパク質であり、eIF4G と結合することによりリボソームが mRNA にリクルートされて、タンパク合成が開始される。私たちは、神経初代培養細胞とラット海馬スライスにおける eIF4E と eIF4G の分布を、免疫染色法により調べた。その結果、eIF4E や eIF4G は、樹状突起上の異なる場所で、顆粒を形成していることが分かった。脳由来神経栄養因子 BDNF(Brain-Derived Neurotrophic Factor) を用いた長期増強刺激により、eIF4E と eIF4G の共局在率が上昇した。さらにラット海馬スライスでは、eIF4G と後シナプスマーカーである PSD-95 との共局在率も、刺激依存的に上昇した。これらの結果から、樹状突起上に離れて存在する eIF4E と eIF4G が刺激によって結合し、後シナプス近傍で翻訳が開始されると考えられた。生細胞でのビデオ観察から、GFP を融合した eIF4E と eIF4G は、神経樹状突起内に顆粒状に存在し、その一部が輸送されていることがわかった。生細胞の分子イメージングにより、長期増強刺激による局所的な翻訳開始の制御機構を動的に解明できると考えている。

H. Miyagi, N. Shiina, M. Tokunaga : Molecular imaging of local translation initiation in neuronal dendrites

3P222

RNA 結合タンパク質 RNG105 によるシナプス刺激依存的な局所的翻訳制御

○椎名 伸之^{1,2}、新倉 和美¹、徳永 万喜洋^{1,2,3} (¹ 遺伝研、² 総研大、³ 理研・免疫センター)

中枢神経細胞において、mRNA が樹状突起へ輸送されることが知られている。これら mRNA はシナプス可塑性に関与するタンパク質をコードしており、これらがシナプス刺激依存的に局所的に翻訳されることが、個々のシナプスの長期増強に必要であり、また記憶や学習に必須のメカニズムであることが明らかになってきた。mRNA の樹状突起への輸送と局所的タンパク合成の制御には、RNA granule と呼ばれる macromolecular な複合体が中心的な役割を担っている。

我々は、海馬および大脳新皮質神経細胞における RNA granule の新規構成タンパク質として RNG105 (RNA granule protein 105) を同定した。RNG105 は RNA 結合モチーフをもち、直接 mRNA に結合して翻訳を抑制する活性をもつことを明らかにした。RNG105 が局在する RNA granule には、シナプス可塑性に必須の役割を果たす CaM キナーゼ II α 、BDNF、TrkB などの mRNA が局在していることも明らかにした。シナプス刺激のない条件下では RNG105 は RNA granule に局在するが、シナプス刺激 (BDNF 刺激) によって RNA granule から解離した。この解離は、RNA granule 近傍での局所的タンパク合成の活性化と密接に関連していた。以上の結果から、RNG105 は定常状態では RNA granule においてタンパク合成を抑制しているが、シナプス刺激依存的に RNA granule から解離し、その結果刺激されたシナプスにおいて局所的タンパク合成が起こる、というメカニズムを考えている。

現在、RNG105 のノックアウトマウスを作成しており、この解析の経過についても紹介したい。

N.Shiina, K.Shinkura and M.Tokunaga : Synaptic stimulation-dependent local translational regulation by a novel RNA-binding protein RNG105

3P224

神経樹状突起における mRNA 輸送複合体とミトコンドリア rRNA の共局在

○新倉 和美¹、椎名 伸之^{1,2}、十川 久美子³、徳永 万喜洋^{1,2,3} (¹ 遺伝研、² 総研大、³ 理研・免疫センター)

mRNA 輸送複合体は、神経細胞と生殖細胞に特に多く存在し、神経細胞においては樹状突起へ mRNA を輸送することが知られている。そして樹状突起のシナプスでは、長期増強刺激の入った場所で mRNA が翻訳され、作られたタンパク質が、局所的にシナプスの機能を調節していると考えられている。この複合体は主にリボソームと mRNA とから構成されているが、全体像はほとんどわかっていない。私達は神経細胞における mRNA 輸送複合体の構成タンパクを探索するために、ラットおよびマウスの大脳の二次元電気泳動でみられた特異的な spot を分析した。その結果、ミトコンドリアに関係するタンパク質を多数同定した。そこでラット胎仔海馬神経培養細胞の染色によって局在を調べたところ、mRNA 輸送複合体の構成タンパクである RNG105 とミトコンドリアが共局在することを見いだした。さらに、mRNA 輸送複合体にはミトコンドリア rRNA が局在していることも見いだした。これらの結果から、神経細胞において mRNA 輸送複合体はミトコンドリアと共局在し、ミトコンドリア rRNA をリクルートしていると考えられる。生殖細胞では mRNA 輸送複合体がミトコンドリア rRNA をリクルートすることが報告されているが、他の組織では知られていない。ミトコンドリアと RNA 複合体の相互作用に関し、電子顕微鏡を用いて微細構造を明らかにすると共に、蛍光イメージングにより動的な特性を観察している。

K.Shinkura,N.shiina,K.Sakata-Sogawa,M.Tokunaga : Association of neuronal mRNA transport complex and mitochondrial rRNA