総説

アストロサイトによるシナプス伝達調節

加藤 総夫¹⁾, 繁富 英治²⁾

要約：星の光のような放射状の突起を持つ細胞群を1893年に von Lenhossek が「アストロサイト」(星状膠細胞)と名づけてから、その生理機能の本格的解明が始まるまでに、およそ100年が必要であった。光学顕微鏡観察からは、極めて小さい細胞体(径6~11 μm)、長く伸びた20~60本もの突起、および、血管やニューロンと接触する突起先端部(終足)などの特徴が見いだされ、電子顕微鏡観察からは、シナプスを密接に取り囲む姿が認められた。それらに基づき、血液脳関門、神経細胞への栄養供給、そして血管からニューロンにいたる構造物を支える補強構造としての役割が推定された。近年、細胞内カルシウム濃度イメージング法やパッチクランプ法などの新技術が、シナプスとアストロサイトの空間的關係が維持された脳スライス標本や *in vivo* 脳などの標本に応用され、シナプスにおけるその能動的機能の研究が進められた。本稿では、シナプス伝達制御における能動的要素としてのアストロサイトの機能に関する現時点における知見を紹介し、シナプス伝達過程がニューロンに作用する薬物の重要な標的であるのと同じように、シナプスを取り囲むアストロサイトの諸機能もまた、それ以上に重要な薬物の標的であるという筆者らの見解を紹介する。

はじめに

アストロサイトはおよそ1.15 μm 径の数十本の「突起」をほぼ全方向性に出している(1)。この突起は中間径フィラメントであるグリア線維性酸性タンパク質(GFAP)によって構造的に支えられており、GFAPは、アストロサイトのマーカーとして広く用いられている(図1A)。しかし、蛍光色素を注入してアストロサイト原形質全体を可視化すると、その幹突起からさらに

図1 シナプス周囲におけるアストロサイト微細突起

A: GFAP 抗体を用いた免疫組織化学によるアストロサイト突起の可視化。B: パッチクランプによるアストロサイト内 Alexa Fluor 注入によって可視化した突起。C: 電子顕微鏡によるシナプス周囲アストロサイト微細突起の可視化。いずれも延髄孤束核(著者ら原図)。

キーワード：シナプス伝達、三者間シナプス、グリオトランスミッター、グリア・ニューロン連関、グリア創薬

¹⁾ 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 神経生理学研究室 (〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8)

²⁾ Department of Physiology (Laboratory of Dr Baljit S Khakh), David Geffen School of Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, USA

E-mail: fusao@jikei.ac.jp 原稿受領日：2011年7月20日、依頼原稿

Title: Synaptic regulation by astrocytes. Author: Fusao Kato, Eiji Shigetomi

薄板状 (lamellae), さらにそこから, 足糸状 (filopodia) の微細突起が無数に分岐し, 肺胞のように雲状に微細突起が空間を埋めていることがわかる (図 1B). 微細突起の径は $0.02 \sim 0.2 \mu\text{m}$ と著しく細く, シナプスに密接して周囲を取り囲んでいる (図 1C 矢頭) (1). 以下, 本稿では GFAP を発現する「幹突起」とそこからさらに分岐した「微細突起」(「末梢突起」と呼ばれることもある) を呼び分ける. これらの驚異的な構造上の特徴, 特に, シナプス周囲を埋め尽くしている微細突起の様態は, アストロサイトの機能の本質が, 細胞体や GFAP を発現する幹突起ではなく, むしろ, シナプス周囲のニューロン突起と直接, あるいは, 近傍で接触する微細突起にこそあるのではないかと予測させる. このような構造的・機能的関係に基づき, シナプスは, ①シナプス前終末, ②シナプス後要素, および, ③それらを取り囲むグリア細胞 (その本態はアストロサイト微細突起) の3者からなるとする「三者間シナプス」tripartite synapse という概念が提唱されている (2). このような空間的關係は, 培養系ではそのまま再現されないとする見解もあり, 本稿では急性脳スライス, あるいは *in vivo* 動物を用いて得られた結果に基づく知見を中心に, この三者間シナプスを舞台として展開されるアストロサイトの機能を紹介する (図 2).

1. アストロサイトの機能 1 —シナプスにおける細胞外環境維持

アストロサイト微細突起には, グルタミン酸や

GABA などの特異的輸送体 (トランスポーター) や, それらの物質の不活化や再利用のための変換に関与する酵素群が発現しており, 単なる細胞外伝達物質の回収に留まらないシナプス伝達機能維持における能動的役割を担っている (3).

代表的な興奮性伝達物質であるグルタミン酸の取り込みに与る分子として細胞外 Na^+ 依存的興奮性アミノ酸トランスポーターが5種同定されている (ヒトでの命名: EAAT1~5). アストロサイトに特異的に発現しているのは EAAT1 (GLAST) と EAAT2 (GLT1) でありこれらが興奮性シナプスにおける細胞外グルタミン酸回収機能の主役である (4) (図 2). この輸送は起電性であり, アストロサイトからのパッチクランプ記録によってグルタミン酸の取り込みを内向き電流の発生として検出することができる (5). シナプス伝達におけるこのグルタミン酸取り込みの主な意義は, ①シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度上昇の上限を定め, その持続時間を制限する (6, 7), ②隣接したシナプス, あるいはシナプス外受容体へのグルタミン酸の拡散を空間的に制限する (8), ③グルタミンの前駆体としてのグルタミン酸をアストロサイトに供給する (9), そして, ④輸送に伴う局所的 Na^+ 濃度上昇によってアストロサイトが興奮性シナプス伝達の発生状況を感じ知し, 解糖系酵素を活性化させる, の4つである.

グルタミン酸以外のトランスポーターとして, グリシン (GlyT1 と GlyT2 が同定されており, それぞれ, シナプス間隙グリシンの除去, および, グリシン取り込みに関与している; GlyT1 はアストロサイトに強発

図2 三者間シナプスとそこでのアストロサイトの3つの機能に関する模式図
詳細は本文参照。(著者ら原図)

現),あるいは,GABA (GAT1~4が同定され,そのうちGAT1およびGAT3がアストロサイトに発現)などのトランスポーターがあり,伝達物質濃度制御を介してシナプス伝達を調整している(10).

2. アストロサイトの機能2 —シナプスにおける栄養供給

ニューロンでのATP産生は好氣的リン酸化にほぼ完全に依存しているため,虚血や低酸素に対し脆弱である.ニューロンのグリコーゲン・シンターゼは,常にタンパク質分解を受けているため,グリコーゲンを産生できず,むしろ,その実験的な発現増加はニューロン細胞死や異常なけいれんをもたらす.一方,アストロサイトにはグリコーゲンとその代謝関連酵素群が豊富に発現している(11).グリコーゲンおよびその代謝酵素から合成されるピルビン酸,そして乳酸をエネルギー基質としてニューロンに受け渡すことがシナプスにおけるアストロサイトの第2の機能である(図2).その機能分子として,モノカルボン酸トランスポーター(MCT)が同定されている.MCTは乳酸などのモノカルボン酸を H^+ の濃度勾配を利用して輸送する膜タンパク質である.神経系に発現するMCTには主に4種が同定されている(12).アストロサイト微細突起で合成された乳酸は,MCTによって細胞内から細胞外へ,次いでニューロンの細胞内へ輸送され,クエン酸回路の基質となる.MCT1はアストロサイト特異的に発現し,MCT2は海馬,小脳などでシナプス後肥厚タンパクの構成分子でもある(12).脳スライスにおけるMCTの薬理的遮断あるいは発現抑制は,シナプス伝達の抑制や長期可塑性の抑制を引き起こす(13,14).

3. アストロサイトの機能3 —情報伝達要素としての三者間シナプス

1) アストロサイトの「 Ca^{2+} 興奮」

1980年代以降に飛躍的に進んだ蛍光 Ca^{2+} 指示薬の開発により,アストロサイトが電氣的にではなく細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化によってダイナミックに「興奮」する事実が見出された.その後この「 Ca^{2+} 興奮」は,ヒト由来アストロサイトや(15),麻酔下のin vivoラットでも記録された(16).アストロサイトの細胞内 Ca^{2+} 濃度増加の多くは,Gq型Gタンパク質と共役した受容体の活性化の下流として細胞内小胞体からの Ca^{2+} 放出によって生じるが,受容体活性化を介さない自発的な Ca^{2+} 濃度変化も報告されている(17).また,ATPやグルタミン酸などの「グリオトランスミッター」(下

記参照)が細胞外に放出され,離れたアストロサイトを「興奮」させることによって生じるカルシウム波も報告されている.

近年までの蛍光 Ca^{2+} 濃度指示薬を用いた研究は,主に細胞体~幹突起の Ca^{2+} 動態を記述していたが,上述のように,シナプスにおけるアストロサイト機能のダイナミクスを記述するには,さらに微細な領域の Ca^{2+} 濃度動態を観察する必要がある.新しく開発された様々な局所的 Ca^{2+} 濃度観察法(18,19)により,細胞体と幹突起,あるいは異なる突起が異なる Ca^{2+} 動態を示す事実が見出され,細胞内 Ca^{2+} 濃度変動が「コンパートメント化」されていることが示された(17,18).特に,膜局在蛍光タンパク質 Ca^{2+} センサーLck-GCaMP2およびLck-GCaMP3(18,20)の開発によって,膜近傍に局限したマクロドメイン様 Ca^{2+} シグナルが初めて可視化され,細胞膜直下の Ca^{2+} 濃度が細胞質とは異なる挙動を示す事実も明らかにされた(18,21).このようなアストロサイトの Ca^{2+} 動態の詳細のさらなる解明によって,シナプス周囲微細突起における局所的なアストロサイトの「興奮」の生理学的意義がより明確になるものと期待されている(22).

2) アストロサイトの神経伝達物質受容体

90年代以降,培養アストロサイトに発現しているさまざまな受容体が同定された.最も豊富に発現しており,特に上述の細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に関与しているのはGタンパク質と共役した代謝型受容体(GPCR)で,アミノ酸,カテコラミン,コリン,プリン,ペプチド,ホルモンなど多種の受容体の発現が報告されている(23).その多くは,Gqと共役し,アストロサイトを「 Ca^{2+} 興奮」させる.その内因性リガンドは,①アストロサイトから放出される「グリオトランスミッター」,②ニューロンから放出されるニューロトランスミッター,あるいは,③血管内皮細胞や他種のグリア細胞から放出される生理活性物質である.これらの多くは,アストロサイトを「 Ca^{2+} 興奮」させるが,さらに,リン酸化酵素の活性化などを通じて分化や突起伸張に影響を及ぼすものもある.なかでも,代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)と代謝型ATP受容体(P2Y受容体)は,それらの内因性リガンドであるグルタミン酸とATPがいずれもアストロサイトから放出されるグリオトランスミッターであるために,重要な生理的意義を持っている(2,22).

イオンチャネル内蔵型受容体も発現している.小脳プルキンエ細胞の興奮性シナプスを包囲しているベルクマン・グリアは, Ca^{2+} 透過性AMPA受容体を発現しており,シナプスから漏れ出したグルタミン酸によ

て生じる Ca^{2+} 流入がベルクマン・グリア形態維持に重要な役割を演じている(24). また, 登上線維終末には, ニューロンとのシナプス以外にベルクマン・グリアの AMPA 受容体の特異的に活性化される放出部位があることが示されており, 興奮性伝達の監視などの特異的機能に関与している可能性がある(25).

3) グリोटランスミッター

アストロサイトを含むグリア細胞がさまざまな生理活性物質を放出するという発見は, 「受動的」細胞としてのアストロサイト観を大きく書き換えることになった. それらの物質は「グリोटランスミッター」と呼ばれ, さまざまな刺激に応じたさまざまなグリोटランスミッターの放出が示されたが, それらは主に, 培養アストロサイトや培養脳スライスを用いた系で, 生体の脳のアストロサイト微細突起から直接グリोटランスミッター放出を記録した例は現時点ではわずかである(26). 最も研究が進んでいる代表的なグリोटランスミッターは, グルタミン酸, ATP, そして D-セリンである.

(1) グルタミン酸

グリोटランスミッターとして最初に同定された, mGluR を活性化して細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし, 連続的グルタミン酸誘発 Ca^{2+} 波を引き起こす. 急性スライス標本ではしばしばニューロンから緩徐内向き電流 (slow inward current: SIC) が記録されるが, これはシナプス近傍のアストロサイトの自発的 Ca^{2+} 振動に伴って放出されたグルタミン酸がシナプス外の NMDA 受容体を活性化することによって生じる(27).

(2) ATP

さまざまな末梢臓器の細胞が機械刺激や低浸透圧などに応じて ATP を放出することは以前から知られていた. 同様の現象が培養アストロサイトでも確認され, おそらくは細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に応答して放出されると考えられている. 上述のようにアストロサイトは P2Y 受容体を発現しており, ATP の放出と受容によって, ギャップ・ジャンクションで結合されていない細胞の間でも ATP を介した Ca^{2+} 興奮の伝播が生じる (ATP 誘発 ATP 放出による Ca^{2+} 波). 細胞外 ATP はシナプスの P2X 受容体活性化を介してシナプス伝達を制御する(28-30). シナプス近傍においてはエクトヌクレオチダーゼ活性が高く, 細胞外に放出された ATP は速やかに (数 100 ms 以内に) 局所的にアデノシンに変換される(30). ニューロン・グリア共培養系ではアストロサイトから放出された ATP はシナプス前 P2Y 受容体を活性化して興奮性シナプス伝達を抑制するが, 急性脳スライスでは, エクトヌクレオチダーゼによ

て産生されたアデノシンがシナプス前アデノシン受容体を活性化してシナプス伝達を抑制する(29, 31). 従って, ATP 放出は, アストロサイトからのアデノシン放出のメカニズムの 1 つでもある(32, 33). GFAP プロモーター制御下にドミナント・ネガティブ変異の SNARE タンパク質を発現させたトランスジェニック・マウス(32) は, 長期増強の異常, あるいは, 断眠後の睡眠回復異常を示す(34). 延髄腹側部中枢性化学感受領野のアストロサイトは, 細胞外 pH 低下に応答した細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇依存的 ATP 放出を示し, 呼吸運動の中枢性化学調節に関与する(35).

(3) D-セリン

D-セリンは L-セリンからセリン・ラセマーゼ (光学異性体化酵素) によって産生される. セリン・ラセマーゼが比較的高密度にアストロサイトに局在しているという報告から D-セリンがグリोटランスミッターである可能性が示唆された (ニューロンにも存在するという報告もある). シナプスでは, グルタミン酸 NMDA 受容体 NR1 サブユニットのグリシン結合部位に結合して NMDA 受容体の活性を制御する. 授乳ラットの視索上核では, 処女ラットと異なり, アストロサイト微細突起がシナプスから縮退し, シナプスでの D-セリン濃度が下がるため, NMDA 受容体機能が抑制されシナプス可塑性が抑制される(36). 海馬 CA1 においてもアストロサイト由来の D-セリンがシナプス可塑性を調節する可能性が示されている(37).

4) グリोटランスミッターの放出機構

さまざまな機構が提案されている. ①開口放出 (小胞性(26, 32, 38) あるいはリソゾーム性(39)). ②パネキシンを候補分子とするヘミ・チャネルの開口(40). ③トランスポーターの逆輸送モード(41). ④低酸素時における巨大コンダクタンス陰イオンチャネルおよび容量調節陰イオンチャネルの開口 (分子実体未同定(42)). ⑤ GABA 透過性特異的アニオンチャネル (bestrophin-1)(43). ⑥ P2X7 受容体チャネルの大コンダクタンス・ポア. ⑦中性アミノ酸トランスポーター (D-セリンの放出機構として). 上述したような受容体活性化による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が, グリोटランスミッター放出を引き起こすという報告が多いが(2, 22, 35, 37, 44), 一方, 生理的条件下では生じないとする報告もある(38). おそらくはグリोटランスミッターの種類, 放出を促進させる刺激や細胞の種類・環境によってさまざまな機構が個別に駆動すると予想され, 統一的な見解は得られていない(26).

おわりに

ニューロンの機能異常を主因とする脳機能障害や神経変性疾患の発症に、本稿で紹介したシナプス周囲アストロサイトの機能異常が関与している証拠が示されつつある(45-48)。これらの機能を担う分子群を標的としたグリア創薬は、今後、神経系作用薬開発の中心的戦略として、さらに重要な領域となるものと期待される。

文 献

- 1) Chao T, et al. The tripartite synapse - glia in synaptic transmission. Oxford University Press; 2002. p. 3-23.
- 2) Halassa MM, et al. Astrocytes in (patho) physiology of the nervous system. Springer; 2009. p. 407-415.
- 3) Swanson R. Neuroglia. Oxford University Press; 2004. p. 346-354.
- 4) Grever C, et al. J Membr Biol. 2005;203:1-20.
- 5) Diamond JS, et al. Neuron. 1998;21:425-433.
- 6) Pfrieger FW, et al. Curr Opin Neurobiol. 1996;6:615-621.
- 7) Takayasu Y, et al. Eur J Neurosci. 2004;19:1285-1295.
- 8) Takayasu Y, et al. J Neurosci. 2006;26:6563-6572.
- 9) Magistretti PJ. J Exp Biol. 2006;209:2304-2311.
- 10) Eulenburg V, et al. Brain Res Rev. 2010;63:103-112.
- 11) Benarroch EE. Neurology. 2010;74:919-923.
- 12) Pierre K, et al. J Neurochem. 2005;94:1-14.
- 13) Suzuki A, et al. Cell. 2011;144:810-823.
- 14) Bergersen L, et al. Exp Brain Res. 2001;136:523-534.
- 15) Oberheim NA, et al. J Neurosci. 2009;29:3276-3287.
- 16) Hirase H, et al. PLoS Biol. 2004;2:E96.
- 17) Nett WJ, et al. J Neurophysiol. 2002;87:528-537.
- 18) Shigetomi E, et al. Nat Neurosci. 2010;13:759-766.
- 19) Reeves AM, et al. J Neurosci. 2010;31:9353-9358.
- 20) Shigetomi E, et al. Neuron Glia Biol. 2010;16:1-9.
- 21) Shigetomi E, et al. J Vis Exp. 2009;26:1142.
- 22) Perea G, et al. Astrocytes in (patho) physiology of the nervous system. Springer; 2009. p. 287-300.
- 23) Kettenmann H, et al. Neuroglia. Oxford University Press; 2004.
- 24) Iino M, et al. Science. 2001;292:926-929.
- 25) Matsui K, et al. Neuron. 2003;40:1173-1183.
- 26) Hamilton NB, et al. Nat Rev Neurosci. 2010;11:227-238.
- 27) Parri HR, et al. Nat Neurosci. 2001;4:803-812.
- 28) Shigetomi E, et al. J Neurosci. 2004;24:3125-3135.
- 29) Inoue K, et al. Open Neurosci J. 2010;4:84-92.
- 30) Kato F, et al. J Physiol. 2001;530:469-486.
- 31) Fu WM, et al. Neuron. 1991;6:837-843.
- 32) Pascual O, et al. Science. 2005;310:113-116.
- 33) Yamazaki Y, et al. Neuroscience. 2005;134:791-802.
- 34) Halassa MM, et al. Neuron. 2009;61:213-219.
- 35) Gourine AV, et al. Science. 2010;329:571-575.
- 36) Panatier A, et al. Cell. 2006;125:775-784.
- 37) Henneberger C, et al. Nature. 2010;463:232-236.
- 38) Agulhon C, et al. Science. 2010;327:1250-1254.
- 39) Sawada K, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105:5683-5686.
- 40) Bennett MV, et al. Trends Neurosci. 2003;26:610-617.
- 41) Baldwin SA, et al. Pflugers Arch. 2004;447:735-743.
- 42) Sabirov RZ, et al. Purinergic Signal. 2005;1:311-328.
- 43) Lee S, et al. Science. 2010;330:790-796.
- 44) Shigetomi E, et al. J Neurosci. 2008;28:6659-6663.
- 45) Yamanaka K, et al. Nat Neurosci. 2008;11:251-253.
- 46) Lepore AC, et al. Nat Neurosci. 2008;11:1294-1301.
- 47) De Keyser J, et al. Neurochem Int. 2010;57:446-450.
- 48) Sethuraman R, et al. Mini Rev Med Chem. 2009;9:813-819.

著者プロフィール

加藤 総夫 (かとう ふさお)

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 神経生理学研究室、教授、薬学博士・医学博士。

◇1982年東京大学薬学部卒業。'84年東京大学大学院薬学系研究科修了。東京慈恵会医科大学第2薬理学助手。'93~'95年フランス CNRS 神経生物学研究所外国人研究員。'95~'96年フランス・ストラスブール大学外国人教授。'96年東京慈恵会医科大学薬理学第2講師。'98年ストラスブール大学招聘教授。'01年イギリス・シェフィールド大学分子生理学研究所招聘研究員。'01年東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター・神経生理学研究室・准教授・室長。'05年より現職。◇研究テーマ：シナプス伝達のアストロサイトによる制御機構・痛みによる情動神経回路シナプス伝達の可塑性機構・運動ニューロン疾患のシナプス機構など。◇写真は、アストロサイト・ニューロン・エネルギー連関の第1人者 P. Magistretti 教授(右)と欧州神経科学会議(FENS)にて。

繁富 英治 (しげとみ えいじ)

Assistant Researcher, Dr Baljit S Khakh lab, Department of Physiology, UCLA.

◇2000年東京理科大学薬学部薬学科卒業。'02年同大学院薬学研究科修士課程修了。'05年東京慈恵会医科大学大学院医学研究科博士課程修了(医学博士)。'05~'06年度、日本学術振興会特別研究員(PD)(受入先：東京慈恵会医科大学・神経生理学研究室、加藤総夫教授)。'07年、上原記念生命科学財団海外ポストドクトラルフェロー(受入先：Dr Baljit S Khakh lab, Department of Physiology, UCLA)。UCLA 博士研究員を経て、'10年より現職。◇研究テーマ：アストロサイトの興奮性制御機構とその可視化・シナプス ATP 受容体。◇趣味：映画鑑賞、ハイク。