



# 難病解決への糸口を探る

## 一瀬 宏 研究室～分子生命科学専攻



一瀬 宏 教授

近年、脳科学の研究が盛んになってきている。脳機能の障害により起こる病気の原因は多岐に渡るが、そのひとつに神経伝達物質の異常が挙げられる。神経伝達物質は、神経細胞間の連絡に重要な役割を果たしている。神経伝達物質の合成や分泌に異常があると、脳が正常に働かなくなり、身体をうまく動かせなくなる場合がある。

本稿では、パーキンソン病などの難病の原因となる神経伝達物質について、その生合成の調節機構に関する、一瀬宏教授が行っている研究を紹介していく。



### その名は神経伝達物質

生命活動の中樞は脳である。神経系は脳の命令を体の隅々まで伝えて、また体中の感覚器から得た情報を脳に伝えるネットワークである。一瀬研究室では、神経での情報伝達の異常とそれが原因で起きる病気について主に研究している。先生が注目しているのは、神経での情報伝達において重要な位置をしめる、神経伝達物質とよばれる化学物質である。

神経系は多数の細胞で構成されており、その細胞はニューロンとよばれている(図1)。ニューロンは、一端から得た情報をもう一端へ伝えるために長い突起を持つ構造をしており、ニューロンがたくさん並ぶことで神経ネットワークを構成している。なお、前のニューロンから情報を受け取る部分を樹状突起と呼び、次のニューロンに情報を伝えるための突起を軸索と呼ぶ。

神経系を伝える信号は電気信号と化学信号に分類される。ニューロン内部では電的に、ニューロン間では化学的に情報が伝えられていく。ニューロン内での情報は電気信号として軸索を通じて伝達される。樹状突起で刺激を受けると、ニューロンの細胞膜内外に電位差が生じ、その電

位差の変化が波のように軸索まで伝わる。

一方、ニューロン間では、化学的に情報が伝達される。軸索の末端に到達した電気信号を、次のニューロンへ伝える必要がある。しかし、ニューロンとニューロンの間にはシナプスと呼ばれる狭い隙間が存在し、電気信号を直接伝えることがで

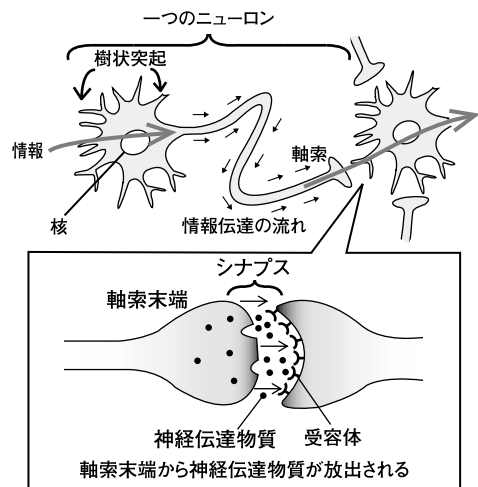


図1 シナプスの構造と神経伝達

きない。ここで活躍するのが神経伝達物質だ。軸索の末端まで電気信号が伝わると、そのニューロン特有の神経伝達物質がシナプスへ放出される。すると、次のニューロンでは、受容体を介して神経伝達物質を受け取り、細胞膜の電位変化や化学シグナルの変化を起こし、情報が伝達される。この、化学的伝達と電気的伝達の連続によって情報が伝達されるのである。

神経伝達物質の合成や放出、受容に変化が生じると体中のさまざまな異常につながる。たった一

つの神経細胞で狂いが生じても、情報がうまく伝達されず、重大な障害を引き起こすこともある。

一瀬先生は、神経伝達物質のうち、主にアミノ基を一つだけ含むモノアミン類を研究対象としており、その働きに異常が起きることで引き起こされる疾患について研究している。モノアミン類の代表的なものに、パーキンソン病やジストニアの発症に深く関わるドーパミンがある。以下では、先生が神経伝達物質について実際に行っている研究方法について紹介する。



## 生命現象研究の三本柱

生命現象を解明するための実験は大きく二つの種類に分けられる。生体内での物質の挙動や生物への影響を調べる実験 (in vivo) と、試験管やシャーレの中といった生体外で部分的な反応を再現する実験 (in vitro) だ。

まずは、生物個体を使う生体内での実験から説明する。生体の正常な機能を調べるためによく用いられる手法として、故意に異常な状態を作り出し、正常な状態と比較することで変化を調べるといったものがある。

異常な状態を作り出すには、受精卵の段階で、特定遺伝子を破壊したり、過剰に発現させたりする方法が用いられる。この技術は、受精卵が成体になるまでの過程を調べる発生学の研究で主に用いられ、生命科学の発展に大きく貢献してきた。しかし、神経系が発達した状態の成体の脳を調べたい神経科学では、この技術を用いることは難しかった。神経系に欠陥のある遺伝子をもとにして育つ個体では、脳が正常に発達しない場合がある。特定ニューロンを変異させることにより脳に部分的な異常を引き起こして研究することはできなかったのだ。

個体が成熟してから特定の細胞の特定の遺伝子のみを破壊することができれば、ニューロンでの遺伝子の機能も調べることができる。このために、特定遺伝子破壊の技術に応用した新たな技術が確立された。この手法では Cre-loxP システムという機構を利用している (図2)。Cre は遺伝子組換え酵素であり、DNA 上の特定の塩基配列を認識して作用する。Cre が認識するこの配列のことを *loxP* と呼んでいる。

連続した DNA 分子の中のある部分が、切断と再結合により他の DNA 分子の一部と入れ替わる現象を組換えという。組換えのきっかけを作るのが DNA 組換え酵素である。DNA 組換え酵素は、DNA 上にある認識配列という塩基配列に反応して、二つの認識配列に挟まれた部分を除去し、欠損 DNA を作る。

Cre は二つの *loxP* という認識配列に反応して *loxP* の間に挟まれた塩基配列を除去する。この除去を、任意のタイミングで特定の細胞でのみ行うために、Cre を規定する遺伝子にスイッチをつ

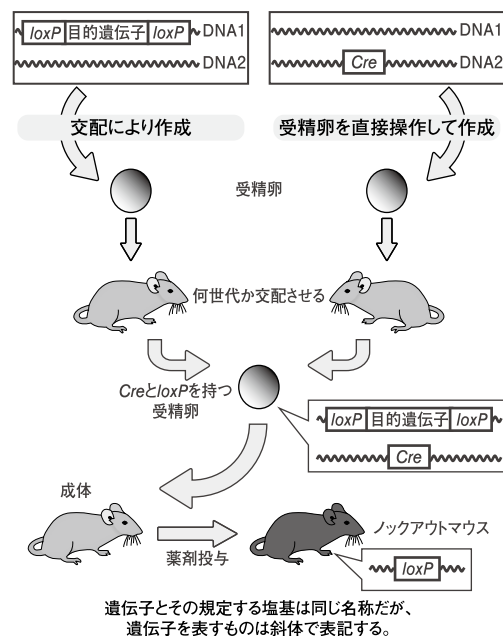


図2 Cre-loxP システム

ける方法をとっている。オフの状態のスイッチは、後から薬剤を投与することで、任意の細胞でオンにすることができる。ある DNA の除去したい塩基配列を挟むように *loxP* を導入しておき、薬剤投与によって *Cre* を任意のタイミングで作用させることにより、標的遺伝子を特定の細胞でのみ破壊することができる。このシステムを使うことにより、例えばドーパミンを合成させるのに関与する遺伝子を大人になった段階で破壊することができるようになるのである。

まず *loxP* を受精卵に導入して成熟させたマウスを用意する。同様に *Cre* を受精卵に導入した別のマウスを用意する。この際、*Cre* にスイッチとなる分子をつけておき、スイッチはオフの状態にしておく。これらのマウスは *Cre* と *loxP* の両方は持っていないため、*Cre* による遺伝子組換えは起こらない。

次に、この二種類のマウスを交配させていく。すると、二つの *loxP* によって除去したい塩基配列を挟んだ遺伝子と *Cre* を持つ遺伝子の両方を持つマウスを作製することができる。このマウスを成体まで育て、*Cre* のスイッチを入れる薬物を投与することにより、目的の細胞で *Cre* を活性化して *loxP* で挟まれた標的遺伝子を破壊することができるのだ。

先生は、ドーパミンの機能を調べるために、特定のニューロンでのみドーパミンの合成量を減らし、人為的にドーパミンの合成量を操作することにより、生体の状態変化を調べている。先生はその際に、*Cre-loxP* システムを使って、ドーパミンを分泌させるのに関与する遺伝子を成体になった段階で破壊している。*Cre-loxP* システムを用いたマウスを利用することにより、ドーパミン合成に関わる遺伝子やノルアドレナリン合成に関わる遺伝子など、生きていくために必要不可欠な遺伝子をノックアウトしてその後の状態を調べることで、遺伝子の果たす機能を調べることができるのである。

次に生体外での実験について説明しよう。生体内の実験では、基本的に、原因と結果はわかるが、その過程がブラックボックスとなってしまう。物質の詳しい反応機構を分子レベルで調べるために行われるのが生体外の実験だ。生体内で起こるすべての現象は化学反応であり、そのほとんどに触

媒タンパク質である酵素が存在する。それぞれの酵素には、その酵素が反応機構に大きく影響を及ぼしやすい pH や温度がある。ドーパミンに関する反応の研究では、ドーパミンの生合成や分解における反応の経路や、その中で働く酵素の種類についてはすでに判明している。しかし、生合成と分解のバランスをとり、脳内のドーパミンの量を調節するための機構は未だ十分に明らかにされていない。

そこで、一瀬研究室では、ドーパミンの生合成で働く酵素の一つ、チロシン水酸化酵素という物質について研究している。この酵素は、リン酸化されることによって活性化され、脱リン酸化されて活性を失う。一瀬先生が行っているのは、リン酸化や脱リン酸化の調節機構の研究である。また、脳には元々、ドーパミン合成に関わる酵素の活性を阻害する物質があると考え、その物質の探索を行っている。

一瀬先生はこれらの実験を試験管内で行うことで脳内での神経伝達物質生合成の調節機構を明らかにしようとしているのである。

最後に、生体内の実験と生体外の実験の中間といえる、培養細胞を用いる実験手法について説明する。マウスを用いる生体内の実験では、多くの要因が複雑に絡み合うために実験結果の解釈が難しい。また、試験管内で行う生体外の実験では、限られた構成要素だけで行うために、生体内で実際は起こっている各反応の相互作用を知ることができない。そこで、細胞単位での反応相互性を調べるために行うのが、培養細胞を用いた実験である。生体内で起きている調節機構や反応を知るために、動物個体のように細胞間の連絡は行われないが、細胞が生きた状態にある培養細胞を用いる。研究したい細胞をシャーレで培養し、薬剤を添加して分化させたり、細胞内反応の阻害剤を使って細胞内のシグナル経路を解析したりする。一瀬研究室では、この方法によって、神経伝達物質による神経機能の調節メカニズムを明らかにしようとしている。

一瀬研究室では、マウスの生体を用いた実験と、試験管内での反応機構研究、そして、培養細胞を用いた実験を組み合わせ、神経伝達物質による神経機能の調節のメカニズムを明らかにしようとしている。



## 神経病治療の鍵を探る

先に述べた通り、神経間の情報伝達において神経伝達物質は極めて重要な役割を持っている。よって神経伝達物質の生合成や神経伝達物質が関与する神経連絡に異常が起こると、さまざまな疾患を引き起こす。一瀬先生の主な研究対象には、パーキンソン病やジストニアといった疾患が含まれている。

ジストニアという病気は、筋肉の緊張の異常によって様々な不随意運動や姿勢の異常が生じる病である。ジストニアを患っている人は、まっすぐ立ってられなかったり、歩くことができなくなったりする。ジストニアには、遺伝性の先天的なものや、書痙など特定の動作や姿勢をとり続けたために起こる後天的なものなど多様なタイプがある。その中の一つに、遺伝子の異常が原因で脳内のドーパミンの量が乱れることにより起きる、ドーパ反応性ジストニアがある。一瀬先生が主に研究対象としているのは、このドーパ反応性ジストニアである。

ドーパ反応性ジストニアは、ドーパミンの生合成に障害が生じ、脳内のドーパミンが不足することにより発症する。この生合成における障害について、世界中で長い間研究が行われていたが、具体的に合成のどの段階に問題があるのかはわかっていなかった。原因についてさまざまな可能性が考えられていたが、一瀬先生はビオプテリンの合成反応に注目した。ビオプテリンはドーパミン合成に必要な物質の一つである。そして、研究の結果、ビオプテリンを合成する酵素が作られないことが、ドーパ反応性ジストニアの原因になっていたということを見つけた。遺伝子の突然変異によって、この酵素が作られなくなり、ビオプテリンが合成されなくなった結果、ドーパミン合成ができなくなって、ジストニアを発症していたというのである。一瀬先生が世界で初めて発見したこの事実は、ドーパ反応性ジストニアの研究に大きく貢献した。さらに詳しい発症機構については、

現在でも研究が続けられている。

パーキンソン病は高齢者に多い病気で、運動障害を伴う難病である。パーキンソン病は脳内のドーパミンニューロンの変性によるドーパミン不足が原因で発症することが知られており、遺伝性パーキンソン病原因遺伝子の一つとしてLRRK2が知られている。しかし、LRRK2タンパク質の細胞内での機能はまだ不明だ。

現在、一瀬研究室では、LRRK2を細胞内で過剰に発現したり抑制したりしたときに、細胞にどのような影響が現れるかを調べている。LRRK2の細胞内での機能を解明しようとしているのだ。

ドーパ反応性ジストニアもパーキンソン病も、脳内ドーパミンの不足により発症することは共通している。しかし、人体に現れる症状には違いがある。一瀬先生は、脳内でドーパミンが不足することで、一方ではジストニアの症状が現れ、他方ではパーキンソン病の症状が現れる理由を現在研究している。

ここまで、ヒトの疾患を探るための、マウスを使ったモデル実験とその研究成果を紹介してきたが、モデルマウスを使った実験はあくまでも人為的操作によってドーパミン合成量を変化させて行ったものである。しかし、実際の病気の場合は遺伝的要因の他に環境的要因が合併して合成量の変化が起きているため、マウスを使った実験の結果とヒトに出る症状とが合致するとは限らない。

病気の研究について、本稿ではジストニアとパーキンソン病を取り上げたが、一瀬研究室では他にもモノアミン系の神経伝達物質の異常が関与する様々な疾患について、生体内の実験と試験管内の実験の両面から、広く研究している。モノアミン神経伝達物質が直接、あるいは間接に関わる病気のメカニズムの一端をつかみ、躁鬱症、統合失調症などの精神科の病気や、小児自閉症などの小児科の病気の診断や治療に大きく貢献することを目指し、一瀬研究室は日々研究を重ねている。

今回の取材で伺った神経伝達のお話は、私たちにとって新鮮で大変興味深いものでした。度重な

取材の申し出に快く応じてくださった一瀬先生にお礼申し上げます。(板野 祐典)