

神経細胞の生存に対するHPC-1/シタキシン1Aとシタキシン1Bの異なる役割

小 藤 剛 史

杏林大学医学部共同研究施設RI部門

シタキシン1 (STX1) はその多くが神経細胞の形質膜上に存在し、シナプスにおける神経伝達物質の開口放出の中心的役割を担う分子の一つである。実際、STX1が欠損したショウジョウバエや線虫は自発性と誘発性の両方の神経伝達物質の放出が障害されており、胎生致死である。しかし、哺乳類の*in vivo*におけるSTX1の機能ははっきりしていなかった。そこで、筆者らはHPC-1/シタキシン1A遺伝子欠損マウス (STX1A-KO) を作成し、その解析を行った¹⁾。STX1A-KOは正常に生育し、外観上脳構造に異常は見られなかった。しかも、驚くことに、海馬や大脳皮質の神経細胞においてグルタミン酸やGABAが担う速い神経伝達は正常であった。一方で、高次脳機能につながると考えられている長期増強が減弱しており、ドーパミンやセロトニンといったモノアミン系が担う遅い神経伝達にも異常が認められた^{2,3,4)}。このように、STX1A-KOにおける表現型はショウジョウバエや線虫よりも弱い障害であった。これは、STX1Aのアイソフォームであるシタキシン1B (STX1B) によって、機能低下が抑えられたからではないかと考えられる。STX1BはSTX1Aとは異なる遺伝子から産生される類似因子である。両者は同一の神経細胞に共発現し、アミノ酸配列の相同性も高いことからほぼ同じ機能を担うと考えられてきた。そこで、筆者らはSTX1B-KOを作成し、STX1A-KOとの比較検討を行った。

STX1B-KOは、STX1A-KOとは違い、立ち直り反射行動等の運動障害を示し、生後14日以内に死に至った。また、海馬や小脳の発達障害や神経細胞の脱落、大脳皮質の層構造の乱れが認められた。STX1B-KO神経細胞の脆弱性は培養下でも再現された。しかし、野生型 (WT) やSTX1A-KOグリア細胞上での培養によりSTX1B-KO神経細胞の生存が支持されること、この生存効果はSTX1B-KOグリア細胞では低いこと、WTおよびSTX1A-KOグリア細胞の培養上清にも生存効果があることが明らかになった。また、神経栄養因子であるBDNFやNT-3添加によっても

STX1B-KO神経細胞の生存が支持された。そこで、各遺伝子型グリア細胞におけるBDNFの発現を調べたところ、BDNF mRNAの発現に差はないが、BDNFタンパク質がSTX1B-KOグリア細胞内に蓄積していること、その発現局在が細胞表面と比べて核周辺に多くなっていることが明らかになった。これはグリア細胞からのBDNF分泌異常が起こっている可能性を示唆している。実際、グリア細胞からのBDNF分泌量を測定したところ、STX1B-KOにおいてBDNF分泌の低下が起こっており、STX1B-KOグリア細胞へのSTX1B強制発現により分泌が回復した。さらに、グリア細胞におけるSTX1は主にSTX1Bであることも明らかになった。

以上の結果は、同等の機能を担うと考えられてきたSTX1AとSTX1Bが神経細胞の生存に対して機能分化していることを示唆している。これは、これまでの常識を覆す新たな知見を提示したものである。また、STX1Bがグリア細胞でも重要な機能を担っていることが初めて明らかになった。

さらなる解析で、STX1A-KOと違い、STX1B-KO神経細胞ではグルタミン酸やGABAが担う速い神経伝達が障害されていること⁵⁾、STX1A-KOとSTX1B-KO (ただし、hetero mutant) は異なる行動異常を示すことなどが明らかになってきている。これには神経細胞でのSTX1AまたはSTX1Bの欠損による差だけではなく、グリア細胞でのSTX1欠損も関わっている可能性がある。近年、グリア細胞が、神経細胞の活性やシナプス形成の制御など、脳の活動に積極的に関与することが報告されており、グリア細胞におけるSTX1の機能解析は非常に重要である。今後、神経細胞とともにグリア細胞でもSTX1AとSTX1Bの機能差の詳細が明らかになり、高次脳機能に対するSTX1の重要性が明らかになることが期待される。

文献

- 1) Fujiwara T, Mishima T, Kofuji T, Chiba T, Tanaka K, Yamamoto A, Akagawa K. Analysis of knock-out mice to determine the role of HPC-1/syntaxin 1A in expressing synaptic plasticity. *J Neurosci.* 2006; 26: 5767-76.
- 2) Fujiwara T, Sanada M, Kofuji T, Yoshikawa T, Akagawa K. HPC-1/syntaxin 1A gene knockout mice show abnormal behavior possibly related to a disruption in 5-HTergic systems. *Eur J Neurosci.* 2010; 32: 99-107.
- 3) Fujiwara T, Kofuji T, Akagawa K. Dysfunction of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis in STX1A KO mice. *J Neuroendocrinol.* 2011; 23: 1222-30.
- 4) Mishima T, Fujiwara T, Kofuji T, Akagawa K. Impairment of catecholamine systems during induction of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapses in HPC-1/syntaxin 1A knock-out mice. *J Neurosci.* 2012; 32: 381-9.
- 5) Mishima T, Fujiwara T, Sanada M, Kofuji T, Kanai-Azuma M, Akagawa K. Syntaxin 1B, but not syntaxin 1A, is necessary for the regulation of synaptic vesicle exocytosis and of the readily releasable pool at central synapses. *PLoS One.* 2014; 9: e90004.