

## Universality of amino acid signaling between diverse plasma cells

米田 幸雄 (Yukio YONEDA)

金沢大学医薬保健研究域薬学系 (Division of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University)

【背景】生体は約 60 兆個の細胞集団で構成されるが、各細胞は 1 個の受精卵 (万能細胞) の分裂 (増殖) と分化の反復によって生じる幹細胞(stem cell)に由来する。この形質の異なる細胞同士が協調して生体機能を統合的に制御するには、細胞間連絡を媒介するシグナル伝達システムの効率的構築が必須である。この細胞間システムとしては、伝達距離と所要時間順に①接触依存、②神経分泌、③パラ (オート) 分泌および④内分泌などが知られる。細胞間シグナル分子は、標的細胞の細胞膜に発現する受容体や輸送担体に作用して、細胞外から細胞内へと情報を伝達するだけではなく、細胞核内では核内受容体や転写制御因子を介する長期的かつ永続的な情報固定化を担う。それ故、シグナル伝達に関わる新規分子の探索や、細胞内シグナル伝達メカニズム解析、さらには細胞内外シグナル伝達に特異的に作用する低分子化学物質を発見することは、各細胞の形質決定制御メカニズムの解明に止まらず、特定細胞の機能障害に由来する各種疾患の予防や治療戦略の展開、または分子病態に対する理解を深める上で極めて重要な手がかりを与える。多様な形質を示す幹細胞と分化細胞を研究対象として捉え、細胞内外シグナル伝達機構の共通性と相違性解析を通じて、「神経系」、「間葉系」、「造血系」の細胞形質の多様化を制御する分子の探索と同定に取り組んできた。今回は、神経細胞のシグナル分子として長年信じられていた神経アミノ酸が、自己複製能と多分化能を有する未分化神経幹細胞や、あるいは骨格の形成と維持に必須の骨芽細胞や軟骨細胞において、普遍的な細胞外シグナル分子として機能する事実を紹介するとともに、新規作出したコンディショナルノックアウト動物を用いた研究にも言及したい。【骨格系】骨芽細胞：頭蓋冠から調製した骨芽細胞には、グルタミン酸(Glu)や GABA シグナルの出力系、受容系および停止系を担う各シグナル装置の機能的発現が観察された。(1) Glu；各種 NMDAR アンタゴニストは培養に伴う  $Ca^{2+}$ 蓄積を著明に抑制したが、この時には細胞分化と成熟の主要制御因子である Runx2 発現の強い阻害が観察された。AMPA 活性化に伴い、濃度依存的な内因性 Glu の  $Ca^{2+}$ 依存性放出が誘発された。(2) GABA；GABA<sub>B</sub>R アゴニストは、培養に伴う ALP 活性や  $Ca^{2+}$ 蓄積の上昇を抑制したが、これらの抑制はアンタゴニストによって回復した。GABA<sub>B</sub>R1 サブユニットの安定発現細胞株を樹立したところ、ALP 活性と  $Ca^{2+}$ 蓄積の著しい低下とともに、細胞特異的遺伝子群の発現抑制が観察された。GABA<sub>B</sub>R1 サブユニット全身欠損(gb1-/-)動物由来の細胞では、ALP 活性と  $Ca^{2+}$ 蓄積の上昇とともに、特異的遺伝子群の発現増加が確認された。破骨細胞：骨髄から調製した高純度細胞では、シスチン/Glu アンチポーター(Xc-)以外の Glu シグナル装置発現は確認されなかった。細胞外 Glu は同 Xc-分子を介する細胞内 GSH 枯渇を招来して、その結果細胞の分化成熟を抑制する事実が判明した。骨粗鬆症モデル：卵巣摘出マウスに Glu を 1 日 1 回腹腔内投与したところ、1 ヶ月経過後に観察される骨密度や骨梁の低下だけでなく、骨形態計測における破骨細胞パラメーター上昇が、いずれも回復することが明らかとなった。【神経系】神経幹細胞：形質未決定細胞には、Glu や GABA シグナルの出力系、受容系および停止系を担う各装置の機能的発現が観察された。(1) Glu；各種 GluR アゴニスト類の中で、NMDA と III 型代謝調節 Glu 受容体(mGluR)アゴニストの L-AP4 のみが MTT 還元能を阻害した。L-AP4 は濃度依存的に神経塊形成、MTT 還元能および BrdU 取り込み能を阻害したが、予め L-AP4 存在下に培養した幹細胞を分化させたところ、MAP 陽性細胞数低下と GFAP 陽性細胞数増加が確認されたが、これら L-AP4 による阻害はいずれも III 型 mGluR アンタゴニストによって拮抗された。(2) GABA；GABA<sub>A</sub>R および GABA<sub>B</sub>R の活性化はともに自己複製能の上昇を誘発したが、GABA<sub>A</sub>R 活性化は神経細胞分化を抑制したのに対して、GABA<sub>B</sub>R 活性化は神経細胞分化を促進することが判明した。(gb1-/-)動物由来の細胞では、分化誘導後は MAP2 陽性細胞数増加と GFAP 陽性細胞数低下が観察された。【結語】多様な形質を示す細胞群において、神経アミノ酸が細胞外シグナルとして普遍的に機能する可能性を提唱するとともに、同分子を標的とする新規創薬戦略の展開と発展を期待したい。