

# 脳のナトリウムレベルセンサーの解明と生活習慣病克服への応用

渡辺英治

## 1. 研究のねらい

塩分の慢性的な過剰摂取は、高血圧など成人病の一因になると考えられている。ヒトをはじめとする高等動物はこうした過剰な塩分摂取を避けるために、体液中のナトリウムレベルを検出する神経機構を持つ。これまで、脳のナトリウムレベルセンサーの実体については全く不明であった。これまで、脳におけるナトリウムレベルセンサーの実体については全く不明であったが、一連の遺伝子欠損マウスによる研究から、私たちの研究グループはナトリウムチャンネルの一種であるNaxが、ナトリウム濃度依存性ナトリウムチャンネルであり、脳のナトリウムレベルセンサーの実体であることを明らかにしてきた。本研究プロジェクトでは、Naxが細胞外ナトリウム濃度の変化を検出する分子機構について研究を進めていく。同時に脳のナトリウムレベルセンサーによって行動が制御されるメカニズムの解明についても研究を進める。本研究の成果は、蛋白質が電解質の絶対濃度を検出する機構を解明した世界で初めての例になる可能性を秘める。また、適度な塩分摂取をコントロールするための高血圧予防薬開発の第一歩にもなると考える。

## 2. 研究成果

Nax遺伝子欠損マウスの塩分摂取の異常行動をリアルタイムで記録するために飲水量自動計測装置の開発を行った。本装置は1分間隔で自動的にマウスの飲水量を記録することができる。本装置を利用して脳のナトリウムセンシング機構について解析を行った。動物は脱水状態になると体内のナトリウム濃度が上昇し、新たな塩分の摂取行動は回避する。以前の研究から、遺伝子欠損マウスは脱水時でも塩分摂取回避行動をとらないことがすでに判明している。今回は、脳室内にカニューレを挿入し高張ナトリウム溶液によってNaxが発現している脳室周囲器官を直接刺激した。その結果、野生型マウスは脳室内のナトリウム濃度の上昇に伴って塩分摂取行動が抑制されたが、遺伝子欠損マウスではその行動抑制が全く見られなかった。さらに、Naxチャンネルを発現することの出来るアデノウイルス発現ベクターを遺伝子欠損マウスの脳弓下器官に感染させたところ、野生型マウスに近い行動を示すようになった。外来性Naxが発現することによって、遺伝子欠損マウスの行動異常を改善することのできた領域は脳の中でも脳弓下器官だけであった。このことは脳弓下器官で発現しているNaxが体液中のナトリウム濃度検出に必須であることを示している。また同時に動物の体内中のナトリウム濃度検出機構が脳内にあることを直接的に証明することができた。

次にNaxチャンネルの機能を細胞レベルで解明することを目的として、Naxチャンネルが機能している細胞の同定を行った。方法としては、抗Nax特異抗体による免疫電子顕微鏡法及び細胞種マーカーとの蛍光2重染色法である。結果、Naxチャンネルは、脳室周囲器官中の神経細胞に巻き付いているグリア細胞性薄膜に特異的に発現していることが明らかとなった。また、脳室周囲器官から単離したグリア細胞を使用してナトリウムイメージング解析を行ったところ、細胞マーカーで同定された単離グリア細胞に細胞外ナトリウムに応答するナトリウム感受性があることが判明した。以上のことから、脳室周囲器官ではグリア細胞が細胞外のナトリウム濃度の上昇を感受しており、このグリア細胞の情報が神経細胞に伝えられると考えられる。すなわち、脳におけるナト

リウム濃度の検出には神経細胞とグリア細胞の新しいコミュニケーションが必須であることを示唆するものである。

最後にNaxの発現誘導をすることのできるグリア細胞株を樹立した。本細胞にNaxの発現を誘導すると、微弱な応答ではあるがNax由来の細胞内へのナトリウムイオン流入が観察することができた。さらに、Nax誘導細胞を特定のホルモンで刺激しておくこととNax由来のナトリウムイオン流入が増強された。すなわちNaxは、細胞外のナトリウム濃度だけではなく、循環性ホルモンによっても活性が制御されていることが示唆された。また、グルコースイメージング法によって解析したところ、Naxチャンネルはグリア細胞へのグルコース取り込み能を格段に上昇させることが明らかとなった。また、酵母ツーハイブリッド法によってNa-KポンプとNaxチャンネルとの結合が明らかとなった。これらの実験結果は、Naxチャンネルがグリア細胞の代謝経路を刺激して、神経細胞に何らかのシグナルを伝達している可能性を示唆するものである。

### 3. 今後の展開

今回の研究プロジェクトによって、新たにNaxチャンネルがグリア細胞で機能していることが明らかとなった。グリア細胞は、神経細胞とは異なり電気的に不活性な細胞である。神経細胞のナトリウムチャンネルは活動電位を生じさせることが知られているが、グリア細胞でのナトリウムチャンネルの役割は全く不明である。今回明らかになった事実は、グリア細胞上で細胞外ナトリウム濃度が検出されており、最終的にこの情報が神経細胞の活動性を変化させるという事実である。この結果は、神経細胞の活動性を制御するための新たなる神経-グリア細胞ネットワークの存在を強く示唆するものである。今後の研究では、このNaxチャンネルが関与している神経-グリア細胞ネットワークの分子メカニズムについて明らかにしていきたい。

### 4. 研究成果リスト

#### 論文

1. Watanabe, U., Shimura, T., Sako, N., Kitagawa, J., Shingai, T., Watanabe, E., Noda, M. and Yamamoto, T., A comparison of voluntary salt-intake behavior in Nax-gene deficient and wild-type mice with reference to peripheral taste inputs, *Brain Research* 967, 247-256 (2003)
2. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Okado, H. and Noda, M., The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Nax sodium channels for the control of salt-intake behavior, *Journal of Neuroscience* 24, 9276-9281 (2004)
3. Niisato, K., Fujikawa, A., Komai, S., Shintani, T., Watanabe, E., Sakaguchi, G., Katsuura, G., Manabe, T. and Noda, M., Age-dependent enhancement of hippocampal LTP and impairment of spatial learning through the ROCK pathway in protein tyrosine phosphatase receptor type Z-deficient mice, *Journal of Neuroscience* 25, 1081-1088 (2005)
4. Watanabe, E., Hiyama, T.Y., Shimizu, H., Kodama, R., Hayashi, N., Miyata, S., Yanagawa, Y., Obata, K., and Noda, M., Sodium-level-sensitive sodium channel Nax is expressed in glial laminae processes in the sensory circumventricular organs, *American Journal of Physiology* (2005), in press

総説

5. 渡辺英治、野田昌晴  
ナトリウムチャネルの構造と機能  
神経研究の進歩 Vol. 47: 159-168(2003)
6. 渡辺英治  
脳のナトリウムレベルセンサー  
神経化学 Vol. 42: 75-87(2003)
7. 渡辺英治  
中枢神経系による塩分摂取制御機構  
日本味と匂学会誌 Vol.10: 207-216(2003)

学会発表

1. T. Y. Hiyama, E. Watanabe and M. Noda  
Control mechanism of sodium intake behavior by CNS  
Society for Neuroscience(32nd Annual Meeting, 2002; Orland, USA)
2. E. Watanabe, T. Y. Hiyama, K. Ono, K. Inenaga, M. M. Tamkun, S. Yoshida and M. Noda  
Nax sodium channel involved in CNS sodium-level sensing  
Society for Neuroscience(32nd Annual Meeting, 2002; Orlando, USA)
3. E. Watanabe, T. Y. Hiyama, R. Kodama and M. Noda  
Cellular localization and distribution of Nax sodium channel  
日本神経化学会(第46回;新潟)
4. 檜山武史、渡辺英治、野田昌晴  
塩分摂取行動の制御は脳弓下器官の Nax ナトリウムチャネルが担う  
日本神経化学会(第46回;新潟)
5. 檜山武史、渡辺英治、野田昌晴  
脳内 Na<sup>+</sup>センサー: Nax チャネルの生理的役割。  
生理学研究所「バイオセンサー研究会」
6. 渡辺英治、檜山武史、児玉隆治、岡戸晴生、野田昌晴  
グリア細胞における Nax チャネルの局在と機能。  
日本神経科学学会大会(第27回)・日本神経化学会大会(第47回)合同大会(大阪)
7. 檜山武史、渡辺英治、岡戸晴生、野田昌晴  
塩分摂取行動の制御は脳弓下器官の Nax チャネルが担う。  
日本神経科学学会大会(第27回)・日本神経化学会大会(第47回)合同大会(大阪)
8. E. Watanabe, T. Y. Hiyama, H. Shimizu, R. Kodama, N. Hayashi, S. Miyata, Y. Yanagawa, K.

Obata and M. Noda

Sodium-level-sensitive sodium channel Nax in glial cells ensheathing GABAergic interneurons in the subfornical organ.

日本神経科学大会(第28回;横浜)

9. H. Shimizu, T. Y. Hiyama, E. Watanabe and M. Noda

Screening of binding proteins to mouse Nax channel.

日本神経科学大会(第28回;横浜)

#### 謝辞

さきがけ研究を行うにあたってご助力頂いた、基礎生物学研究所・野田昌晴教授、檜山武史先生、児玉隆治先生、清水秀忠君、小玉明子さん、竹内和美さん、安田聖愛さん、東京都神経研・岡戸晴生先生、大阪大学・山本隆教授、京都工芸繊維大学・宮田清司先生、群馬大学・柳川右千夫教授、理研・小幡邦彦教授に深謝致します。