

シナプスと血管をつなぐアストロサイト

田中 三佳, 平瀬 肇

1. 脳機能調節素子としてのアストロサイト

グリア細胞は脳の非神経細胞の総称であり、ヒト脳においてその数は神経細胞を凌駕する。なかでもアストロサイトは、灰白質で最も数の多いグリア細胞である。灰白質の典型的な原形質アストロサイトは三つの形態的特徴を持つ。第一に、アストロサイトの形態は灌木状に細かく分岐し、その末端に微小突起を形成する（図1）。この微小突起は神経細胞間の接合部位であるシナプスを被覆する。第二に、アストロサイトは近隣の血管に巨大終足を形成する。第三に、個々のアストロサイトの輪郭は楕円体に近似され、独自の支配領域を保有する。近接するアストロサイトの共有領域はわずかであり、個々のアストロサイトは灰白質にくまなく配置されている。

これらの形態的特徴は、アストロサイトが神経回路と微小循環の両者に対して広域的あるいは局所的に作用する機能を持つことを示唆している。実際、古典的なアストロサイトの機能として、神経伝達物質の回収、細胞外 K^+ 濃度の調節があげられる。アストロサイトにはグルタミン酸輸送体（トランスポーター）が密に発現しており、シナプスから放出されるグルタミン酸をすばやく回収し、受容体の過度の活性化を防ぐ。また、活動電位の発生やNMDA受容体の活性化などの神経活動は、細胞外 K^+ 濃度を上昇させ膜電位を脱分極させるが、この過剰な細胞外 K^+ は内向き整流カリウムチャネルを介してアストロサイトに流入し、近隣のアストロサイトと血液に拡散する。これらの機構は、神経細胞を過度の興奮から守り、その正常な発火活動を支援するものである。また、神経活動が亢進した領域のアストロサイトが血中のグルコースを取り込み、代謝産物である乳酸をエネルギー源として神経細胞に供給する「乳酸シャトル仮説」も、さまざまな実験により検証されつつある。

このような神経回路の恒常性を保つ支持的な機能に加えて、「シナプス可塑性の促進」と「微小循環の調節」の二つがアストロサイトの機能として提起されてきた。上述のアストロサイトの形態的特徴を鑑みれば、順当な仮説であるといえよう。幸運なことに、近年の光イメージング技術と分子生物学の発展により、これらの仮説を哺乳類の生体脳で検証することが可能となりつつある。そこで本稿では、最近10年の間に発表された研究を中心に、アストロサイトがシナプスと微小循環に及ぼす影響について考察していきたい。

2. シナプス機能調節

1) グリア伝達（グリオトランスミッション）

アストロサイトは*in vitro*, *in vivo*で神経活動依存的あるいは自発的な細胞内 Ca^{2+} 上昇を示す。神経活動依存的なアストロサイト内 Ca^{2+} 上昇の機構としては、イノシトール三リン酸（ IP_3 ）誘発性 Ca^{2+} 放出（ IP_3 -induced Ca^{2+} release: IICR）がある。これは、「神経伝達物質によるア

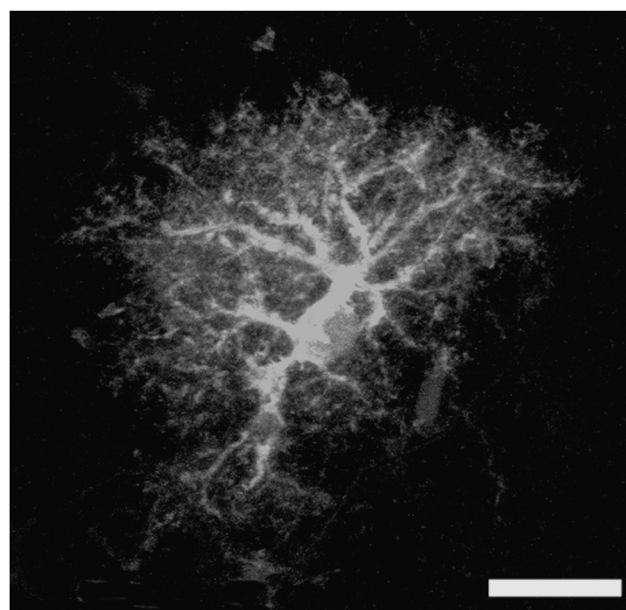


図1 ラット大脳皮質アストロサイト
細胞内記録により可視化されたラット大脳皮質灰白質アストロサイト。スケールバー：20 μ m。Mishima, T. & Hirase, H. (2010) *J. Neurosci.*, **30**, 3093–3100 より。

国立研究開発法人理化学研究所脳科学総合研究センター神経グリア回路研究チーム（〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1）

Astrocytes connect synapses with blood vessels

Mika Tanaka and Hajime Hirase (Lab for Neuron-Glia Circuitry, RIKEN Brain Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880202

© 2016 公益社団法人日本生化学会

ストロサイト細胞膜上のG_q型Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) の活性化→IP₃の産生→小胞体 (細胞内Ca²⁺ストア) のIP₃受容体2型 (IP₃R2) の開放→細胞質へのCa²⁺放出」という機序で起こる。IP₃R2は中枢神経系では主にアストロサイトに発現しており、IP₃R2ノックアウト (KO) マウスではアストロサイトでのIICRに障害がみられる。そのため、アストロサイトにおけるIICRの生理的意義を明らかにすることを目的とした実験では、近年主としてIP₃R2 KOマウスが使用されている。自発的なアストロサイト内Ca²⁺上昇の機構としては、TRPA1チャネルを介した細胞外からのCa²⁺流入が報告されている¹⁾。

アストロサイト内Ca²⁺上昇がシナプス機能調節に関与しているか否かという問題は、2010年の二つのグループからの相反する報告以来、活発に議論されてきた。Hennebergerらはラット海馬スライスを用いて、アストロサイトが細胞内Ca²⁺濃度依存的にNMDA受容体のコアゴニストであるD-セリンを放出し、シナプス伝達の長期可塑性 (LTP) を引き起こすことを示した²⁾。それに対し、AgulhonらはIP₃R2 KOマウス等の海馬スライスを用いて、アストロサイトでIICRを抑制または促進してもシナプス伝達の短期・長期可塑性が起こらないことを示した³⁾。これらに続き、IP₃R2 KOマウスの海馬スライスまたはラットの海馬スライスを用いた実験から、アストロサイトの局所的なCa²⁺シグナルが近傍のシナプスの伝達効率を制御することが報告された^{4,5)}。さらに近年、IP₃R2 KOマウスを用いた実験から、アストロサイトのIICRが*in vivo*における大脳皮質のコリン誘発性LTPに重要であることが明らかになり、D-セリンやグルタミン酸などのグリア伝達物質が*in vivo*におけるシナプス機能調節に必須であることがわかってきた^{6,7)}。

2) アストロサイト微小突起の被覆変化

アストロサイト微小突起は、前シナプスと後シナプスを被覆して三者間シナプスを構成する (図2)。この構造は小脳のBergmannグリアで最初に見いだされたが、他の脳領域のアストロサイトも同様の形態をとることが報告されている。近年の研究から、アストロサイトはその微小突起の形態変化によってもシナプス機能を調節することが明らかになってきた。BergmannグリアのCa²⁺透過性AMPA型グルタミン酸受容体を干渉すると、平行線維-プルキンエ細胞間シナプスのアストロサイト微小突起による被覆がなくなり、シナプスで放出されるグルタミン酸の取り込みが正常に行われなくなる⁸⁾。さらに、同受容体をBergmannグリアで欠損させると、小脳機能不全による行動異常が起こることがマウスで報告されている⁹⁾。また、海馬のアストロサイトにおいても、IP₃/Ca²⁺シグナルを干渉するとアストロサイト微小突起によるシナプス被覆

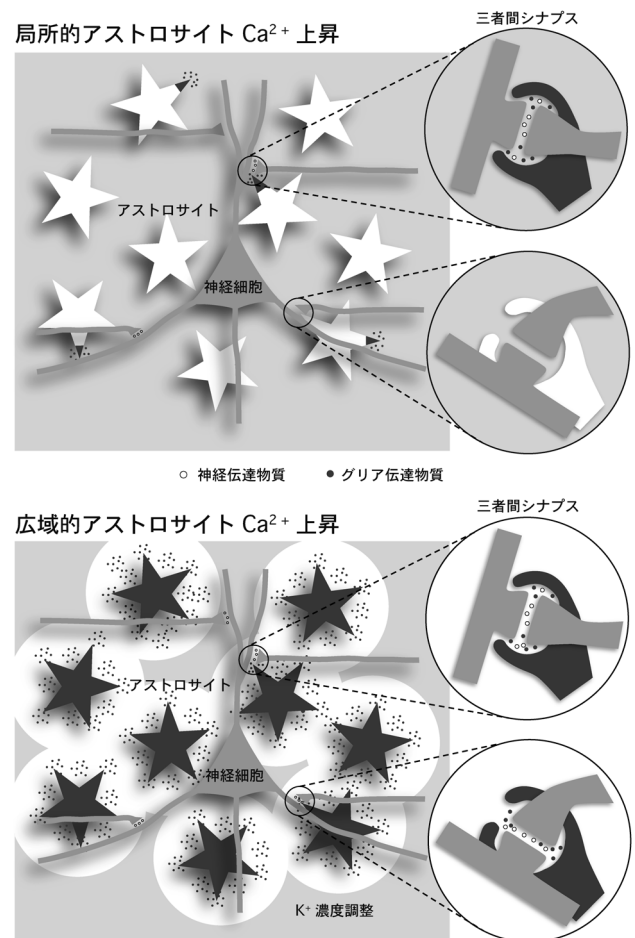


図2 アストロサイトによるシナプス調節機構

局所的なアストロサイトCa²⁺上昇 (上図) では、シナプスごとにシナプス伝達の調節が行われると考えられる。生体脳で局所的なアストロサイトCa²⁺上昇を起こす機構は完全にはわかっていないが、シナプス活動が局所Ca²⁺上昇に重要であることが示唆されている。シナプス活動と局所Ca²⁺の同期により、シナプス可塑性が亢進すると考えられる。一方、多くのアストロサイトに同期して起こる広域的なCa²⁺上昇 (下図) は、活性領域全体にグリア伝達物質の放出やカリウム濃度の調整 (背景の白抜き) が起こると考えられる。このときにシナプスの伝達が活発であれば、可塑的变化が亢進する。

が減少し、マウスの空間記憶学習障害が生じることが示された¹⁰⁾。これらの実験から、アストロサイトのCa²⁺濃度が微小突起の形態変化に重要であることがうかがえる。また、シナプス可塑性に相関するアストロサイトのGPCR活性化および形態変化も最近報告されている¹¹⁾。これらに加え、アストロサイト特異的ギャップ結合構成タンパク質の一つであるコネキシン30が海馬アストロサイト微小突起のシナプス被覆を抑制することがマウスで報告されており¹²⁾、アストロサイト微小突起の動態の分子機構の一端が明らかになりつつある。

3) 細胞外 K^+ 濃度の調整

アストロサイトがシナプス伝達を調節する他の機構として、 Na^+/K^+ 交換輸送体による細胞外 K^+ 濃度の調節が報告されている¹³⁾。IP₃R2 KOマウスを用いた実験等から、アストロサイトでのIICRが Na^+/K^+ 交換輸送体による K^+ の取り込みを促し、細胞外 K^+ 濃度を下げることによってシナプス伝達のS/N比を高めていることが示された。 K^+ は神経細胞の静止膜電位を決定する主要なイオンである。気分やストレスと深く関係のある神経修飾物質がアストロサイト細胞群の Ca^{2+} 上昇を惹起することを考慮すると、このような調節機構が広域にわたる神経細胞群の発火様式を制御している可能性が考えられる(図2)。実際、小脳プルキンエ細胞の*in vivo*における発火様式は、BergmannグリアのGPCRの活性化による K^+ 濃度調整に依存することが報告されている¹⁴⁾。

4) 広域的vs.局所的なシナプス機能の調節

これらのアストロサイトによるシナプス機能調節を考えてみると、微小突起の単位で起こる局所的な調節と、アセチルコリンやノルアドレナリン経路に代表される拡散伝達系により惹起される広域的な調節に大別される(図2)。局所的な調節機構では、個々のアストロサイト微小突起の Ca^{2+} 上昇がシナプスごとの可塑性あるいは安定性をコントロールし、記憶の固定化や消去に寄与している可能性がある。一方、広域的な調節機構では、気分や注意などの脳全体的機能モードがアストロサイトネットワークを介して記憶学習を調整していると考えられる¹⁵⁾。

3. 微小循環の調節

20世紀末、神経解剖学者のカハールは、アストロサイト終足の物理的な伸縮により血管径が調節されると考えた。100年以上経った現在、充血時におけるアストロサイト終足の伸縮は起こらないことが明らかとなったが、アストロサイトと血管の機能的結びつきは今なお活発に研究されている。従来、 K^+ が血管調整因子だとする K^+ サイフォン流路説が提唱されてきた。すなわち、神経活動によって放出される K^+ をアストロサイトが取り込み、終足から血管付近へ排出する。それに伴って細胞外 K^+ 濃度が上昇し、平滑筋を過分極させ、弛緩させるという説である。しかし現在では、 K^+ サイフォン流路は神経活動と血管調整を結ぶ上で効率よく機能するとは考えられていない¹⁶⁾。

2003年にZontaらは脳スライスを用いた実験から、シナプス活動がアストロサイトの Ca^{2+} 上昇を惹起し、そのアストロサイトの終足が接触する血管を弛緩させるという現象を報告した¹⁷⁾。一連の実験は、「アストロサイト上に

存在する代謝型グルタミン酸受容体mGluR5の活性化→アストロサイトの Ca^{2+} 上昇→シクロオキシゲナーゼの酵素活性によるプロスタグランジンなどの血管弛緩物質の産生および放出」を示唆するものであった。一方で、同時期に別グループは、アストロサイトの Ca^{2+} 上昇によって終足から放出されるアラキドン酸が血管を収縮させると報告した¹⁸⁾。また、アストロサイトの Ca^{2+} 上昇を光アンケーシング法(ケージド化合物の光分解)によって誘発した実験から、血管の弛緩と収縮はアストロサイト終足の Ca^{2+} 上昇の程度¹⁹⁾ および灌流液の酸素濃度²⁰⁾に依存することがわかり、アストロサイトを介した血管伸縮の多様性が説明された。生体脳血管イメージング実験においても、アンケーシングによるアストロサイトの Ca^{2+} 上昇が血管径を膨張させ、シクロオキシゲナーゼの酵素活性を抑制すると血管弛緩も抑制されることが確認された²¹⁾。

アラキドン酸は血管径の調節に関わるプロスタグランジンの前駆体である。そして、生体膜のリン脂質よりアラキドン酸を遊離するホスホリパーゼA₂(PLA₂)の活性は Ca^{2+} に依存することから、図3に示す「シナプス活動によるアストロサイト Ca^{2+} 上昇がアストロサイト終足と接する血管径を調節する」モデルが支持されてきた。しかし、血流存在下の生体脳でアストロサイトの血管径調節機能を直接観測した実験は少なく、薬理実験ではアストロサイトに選択的な機能干渉が困難であることから、遺伝子改変マウスを用いた実験による検証が望まれる。また、脳の成熟化に伴うアストロサイトにおけるmGluR5発現の大幅な低下²²⁾や光アンケーシング法による問題²³⁾もあり、アストロサイト Ca^{2+} 上昇と血流変化の関係性は、近年再検討されつつある。殊に、アストロサイトの Ca^{2+} 上昇が欠

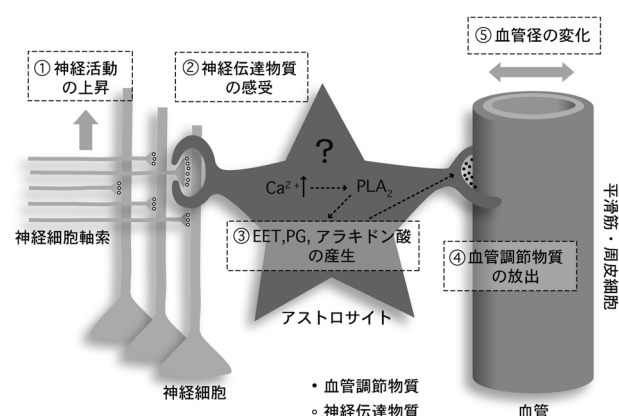


図3 アストロサイトによる血管系調節機構モデル

アストロサイトによる局所脳血流調節は、①神経活動の上昇による神経伝達物質の放出を②アストロサイトが感受し、③アラキドン酸の産生およびその誘導体が④近傍血管の平滑筋や周皮細胞に伝搬し、⑤血管径が調節されると考えられてきた。しかし、最近の研究ではアストロサイトの活動指標である Ca^{2+} 上昇と局所脳血流の因果関係が問い直されつつある。

落しているIP₃R2 KOマウスで血管径や血流量の変化が正常であるという報告^{24, 25)}は、アストロサイトの細胞質内で起こる大きなCa²⁺上昇が血管調節に必要な条件ではないことを示唆するものである。さらに、Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) 法を利用したGPCR活性化によるアストロサイトCa²⁺上昇で血管変化の誘導が起こらず、Ca²⁺センサータンパク質GCaMP3による終足でのイメージングでも血管径とアストロサイトCa²⁺の相関がないことが報告された²⁶⁾。血流反応 (<1s) がアストロサイトCa²⁺変化よりも早く起こることからも、アストロサイトのCa²⁺上昇が基幹的な要因であるとは考えにくいことも留意しておきたい。それでも、IP₃R2 KOマウスではアストロサイトの突起(終足を含む)のCa²⁺上昇は完全には消失しないという報告²⁷⁾や突起部での微小循環に相関する速やかなCa²⁺上昇の報告²⁸⁾があり、これらの議論が収束するまで時間がかかるであろう。最近、脳スライス標本において、血管内の灌流圧変化がTRPV4チャネルを介してアストロサイトのCa²⁺上昇を惹起するという現象が発表された²⁹⁾。この現象は、血流変化とほぼ同時に起こるアストロサイト終足でのGPCR非依存性のCa²⁺上昇を説明できることから、今後の進展が注目される。

4. 今後の展開と期待

活動電位やシナプス電位などの変化に富む神経細胞の膜電位とは対照的に、アストロサイトの膜電位の変動は微弱である。また、ギャップ結合、ヘミチャネル、内向き整流カリウムチャネル等からなる漏れ電流が大きいことから、通常の細胞体から計測される膜電位の変動からアストロサイトの機能を推定するのは容易ではない。一方で、アストロサイトの活動の指標としての細胞内Ca²⁺上昇は、蛍光イメージング法により生体脳で観測できることから、周辺の細胞機能と関連する研究が今世紀に入り急速に進展した。本稿では、その中でアストロサイトの形態的特徴と関連の深いシナプスと微小循環について述べた。

アストロサイトの古典的な機能に関わるグルタミン酸トランスポーターやK⁺チャネルをマウスでノックアウトした場合、てんかん発作の表現型を示す。興味深いことに、アストロサイトのCa²⁺上昇を干渉したマウスでは、生存に関わるほどの重篤な表現型は観測されていない。しかしながら、神経修飾物質の拡散放出や脳血管の灌流変化がアストロサイトのCa²⁺上昇を惹起しシナプス可塑性に影響するという近年の報告からは、アストロサイトCa²⁺上昇が高次脳機能に関わっている可能性が示唆される。実際、IP₃R2 KOマウスはうつ病の表現型を示すことが報告された³⁰⁾。今後は、アストロサイトが促進するシナプス可塑性

の詳細なメカニズムと、それらの機構が働く生体脳の状態の解明が期待される。循環器を経由する中枢神経回路へ向けた薬剤投与において、アストロサイトは一次的な標的である。脳の興奮と抑制のバランスが精神状態に必須であるがゆえに、気分障害や精神疾患などに対してアストロサイトに作用点を求める創薬は有望なアイディアといえよう。

文 献

- 1) Shigetomi, E., Tong, X., Kwan, K.Y., Corey, D.P., & Khakh, B.S. (2012) *Nat. Neurosci.*, **15**, 70–80.
- 2) Henneberger, C., Papouin, T., Oliet, S.H., & Rusakov, D.A. (2010) *Nature*, **463**, 232–236.
- 3) Agulhon, C., Fiacco, T.A., & McCarthy, K.D. (2010) *Science*, **327**, 1250–1254.
- 4) Di Castro, M.A., Chuquet, J., Liaudet, N., Bhaukaurally, K., Santello, M., Bouvier, D., Turet, P., & Volterra, A. (2011) *Nat. Neurosci.*, **14**, 1276–1284.
- 5) Panatier, A., Vallée, J., Haber, M., Murai, K.K., Lacaille, J.C., & Robitaille, R. (2011) *Cell*, **146**, 785–798.
- 6) Takata, N., Mishima, T., Hisatsune, C., Nagai, T., Ebisui, E., Mikoshiba, K., & Hirase, H. (2011) *J. Neurosci.*, **31**, 18155–18165.
- 7) Navarrete, M., Perea, G., Fernandez de Sevilla, D., Gómez-Gonzalo, M., Núñez, A., Martín, E.D., & Araque, A. (2012) *PLoS Biol.*, **10**, e1001259.
- 8) Iino, M., Goto, K., Kakegawa, W., Okado, H., Sudo, M., Ishiuchi, S., Miwa, A., Takayasu, Y., Saito, I., Tsuzuki, K., & Ozawa, S. (2001) *Science*, **292**, 926–929.
- 9) Saab, A.S., Neumeier, A., Jahn, H.M., Cupido, A., Šimek, A.A., Boele, H.J., Scheller, A., Le Meur, K., Götz, M., Monyer, H., Sprengel, R., Rubio, M.E., Deitmer, J.W., De Zeeuw, C.I., & Kirchhoff, F. (2012) *Science*, **337**, 749–753.
- 10) Tanaka, M., Shih, P.Y., Gomi, H., Yoshida, T., Nakai, J., Ando, R., Furuichi, T., Mikoshiba, K., Semyanov, A., & Itoharu, S. (2013) *Mol. Brain*, **6**, 6.
- 11) Bernardinelli, Y., Randall, J., Janett, E., Nikonenko, I., König, S., Jones, E.V., Flores, C.E., Murai, K.K., Bochet, C.G., Holtmaat, A., & Muller, D. (2014) *Curr. Biol.*, **24**, 1679–1688.
- 12) Pannasch, U., Freche, D., Dallérac, G., Ghézali, G., Escartin, C., Ezan, P., Cohen-Salmon, M., Benchenane, K., Abudara, V., Dufour, A., Lübke, J.H., Déglon, N., Knott, G., Holcman, D., & Rouach, N. (2014) *Nat. Neurosci.*, **17**, 549–558.
- 13) Wang, F., Smith, N.A., Xu, Q., Fujita, T., Baba, A., Matsuda, T., Takano, T., Bekar, L., & Nedergaard, M. (2012) *Sci. Signal.*, **5**, ra26.
- 14) Wang, F., Xu, Q., Wang, W., Takano, T., & Nedergaard, M. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 7911–7916.
- 15) Hirase, H., Iwai, Y., Takata, N., Shinohara, Y., & Mishima, T. (2014) *Phil. Trans. R. Soc. B*, **369**, 20130604.
- 16) Metea, M.R., Kofuji, P., & Newman, E.A. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 2468–2471.
- 17) Zonta, M., Angulo, M.C., Gobbo, S., Rosengarten, B., Hossmann, K.A., Pozzan, T., & Carmignoto, G. (2003) *Nat. Neurosci.*, **6**, 43–50.
- 18) Mulligan, S.J. & MacVicar, B.A. (2004) *Nature*, **431**, 195–199.
- 19) Girouard, H., Bonev, A.D., Hannah, R.M., Meredith, A., Aldrich,

- R.W., & Nelson, M.T. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 3811–3816.
- 20) Gordon, G.R., Choi, H.B., Rungta, R.L., Ellis-Davies, G.C., & MacVicar, B.A. (2008) *Nature*, **456**, 745–749.
- 21) Takano, T., Tian, G.F., Peng, W., Lou, N., Libionka, W., Han, X., & Nedergaard, M. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 260–267.
- 22) Sun, W., McConnell, E., Pare, J.F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., & Nedergaard, M. (2013) *Science*, **339**, 197–200.
- 23) Wang, F., Smith, N.A., Xu, Q., Goldman, S., Peng, W., Huang, J.H., Takano, T., & Nedergaard, M. (2013) *J. Neurosci.*, **33**, 17404–17412.
- 24) Nizar, K., Uhlirova, H., Tian, P., Saisan, P.A., Cheng, Q., Reznichenko, L., Weldy, K.L., Steed, T.C., Sridhar, V.B., MacDonald, C.L., Cui, J., Gratiy, S.L., Sakadžić, S., Boas, D.A., Beka, T.I., Einevoll, G.T., Chen, J., Masliah, E., Dale, A.M., Silva, G.A., & Devor, A. (2013) *J. Neurosci.*, **33**, 8411–8422.
- 25) Takata, N., Nagai, T., Ozawa, K., Oe, Y., Mikoshiba, K., & Hirase, H. (2013) *PLoS ONE*, **8**, e66525.
- 26) Bonder, D.E. & McCarthy, K.D. (2014) *J. Neurosci.*, **34**, 13139–13150.
- 27) Srinivasan, R., Huang, B.S., Venugopal, S., Johnston, A.D., Chai, H., Zeng, H., Golshani, P., & Khakh, B.S. (2015) *Nat. Neurosci.*, **18**, 708–717.
- 28) Winship, I.R., Plaa, N., & Murphy, T.H. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 6268–6272.
- 29) Kim, K.J., Iddings, J.A., Stern, J.E., Blanco, V.M., Croom, D., Kirov, S.A., & Filosa, J.A. (2015) *J. Neurosci.*, **35**, 8245–8257.
- 30) Cao, X., Li, L.P., Wang, Q., Wu, Q., Hu, H.H., Zhang, M., Fang, Y.Y., Zhang, J., Li, S.J., Xiong, W.C., Yan, H.C., Gao, Y.B., Liu, J.H., Li, X.W., Sun, L.R., Zeng, Y.N., Zhu, X.H., & Gao, T.M. (2013) *Nat. Med.*, **19**, 773–777.

著者寸描

●田中 三佳 (たなか みか)

理化学研究所脳科学総合研究センター研究員。博士 (理学)。

■略歴 1966年宮城県仙台市生まれ。94年東北大学大学院理学研究科博士課程修了。98年より理化学研究所脳科学総合研究センター勤務。

■研究テーマと抱負 アストロサイトの高次脳機能における役割を解明したい。

■趣味 料理 (中級者)。

●平瀬 肇 (ひらせ はじめ)

理化学研究所脳科学総合研究センターチームリーダー。Ph.D.

■略歴 1972年広島県に生る。93年University College London大学コンピューターサイエンス学科卒業。97年同大学院Ph.D. (神経科学)。96～2004年までラトガーズ大学 (Buzsáki 研) とコロンビア大学 (Yuste 研) にて博士研究員。04年より理化学研究所勤務。

■研究テーマと抱負 神経細胞と非神経細胞の相互作用による情報表現を理解したい。

■趣味 ピアノ (初心者)。