

ランビエ絞輪周囲の ECM による diffusion barrier 形成と跳躍伝導における役割

別宮 洋子^{a,b*}, 二宮 善文^a, 大橋 俊孝^a

^a岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 分子医化学, ^bニューヨーク大学医学部

キーワード : proteoglycan, node of Ranvier, action potential, extracellular space, diffusion barrier

Perinodal ECM — its role in diffusion barrier formation and conduction velocity in the CNS

Yoko Bekku^{a,b*}, Yoshifumi Ninomiya^a, Toshitaka Oohashi^a

^aDepartment of Molecular Biology and Biochemistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ^bNew York University School of Medicine

はじめに

有髄神経にみられるランビエ絞輪は、神経軸索を覆うミエリン鞘とミエリン鞘の間に存在し、細胞外環境にさらされている。そこにはナトリウムチャネルが密集しており、活動電位が発生する場となっている。ランビエ絞輪およびその周辺は、イオンチャネルのみならず特異的な接着分子などが存在し、神経伝導に関与している¹⁾。ランビエ絞輪周囲において、ナトリウムイオンは、局所的な蓄積および枯渇が起こっているとコンピューターモデルにより示されている²⁾。われわれはこれまでに細胞外マトリックス (ECM) がランビエ絞輪周囲に局在することを明らかにしていたが³⁾、その機能に関しては明らかになっていなかった。

ランビエ絞輪に局在する ECM

リンクプロテイン (LP) は、ヒアルロン酸 (HA) 結合型の ECM タンパク質である。Cartilage LP (Crtl1) は、軟骨においてコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) の一つであるアグリカンと HA の複合体形成に必須であることが知られている。中枢神経系 (CNS) には, Bral1, Bral2 および Crtl1 が存在する⁴⁾が、ランビエ絞輪には Bral1 のみが存在する。HA 結合型 CSPG であるレクティカンファミリーのうち、パーシカン V2 アイソフォーム、プレビカン、ニューロカンが存在するが^{3,5,6)}、Bral1 及びパーシカン V2 が全てのランビエ絞輪に局在するのに対して、プレビカンは軸索直径の太いランビエ絞輪周囲にのみ局在する⁵⁾。ニューロカンも全てのランビエ絞輪に存在するわけではなく、パーシカン V2 とプレビカンの中間型のような局在を示す⁶⁾。レクティカンは N 末端側で LP と HA に結合する一方、C 末端側はテネイシンと結合する。テネイシン R (TN-R) はプレビカンに高

平成24年1月受理
*522 First Avenue, New York, NY10016, USA
電話 : +1-212-263-9466 FAX : +1-212-263-9170
E-mail : Yoko.Bekku@nyumc.org

プロフィール



昭和49年8月26日生

平成9年3月 愛媛大学理学部生物学科卒業

平成11年3月 名古屋大学大学院生命理学研究科博士前期課程修了

平成11年10月 岡山大学医学部分子医化学 技術職員 (文部科学技官)

平成20年4月 岡山大学医学部分子医化学 技術専門職員

平成20年4月 日本学術振興会特定国派遣研究者兼任

Institute of Experimental Medicine, Academy of Sciences of the Czech Republic

平成21年6月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 博士 (医学) 取得

平成22年8月 New York University Langone Medical Center, Neuroscience Program, Post Doc Fellow

い結合能をもち⁷⁾、実際にランビエ絞輪でも軸索直径の太いランビエ絞輪周囲にプレビカンとともに局在する⁵⁾。TN-Rはフォスファカンとも結合する。免疫染色、免疫沈降、プレビカン欠損マウスの結果から、全てのランビエ絞輪において、Bral1-HA-パーシカンV2複合体が、直径の太い軸索のランビエ絞輪においてBral1-HA-プレビカン-TN-R-フォスファカン複合体が存在すると考えられる⁵⁾。神経軸索の太さによって複合体が複雑になる意義は何であろうか？HA及びコンドロイチン硫酸鎖は、強く陰性荷電する性質が古くから知られており、我々は、このランビエ絞輪周囲のECM複合体を、活動電位発生に必要なナトリウムイオンなどを集積する、細胞外イオンプールである可能性を提唱していた^{3,5)}。

Bral1欠損マウス

ランビエ絞輪周囲のECM複合体のみを破壊することが、この可能性を検証する近道であるが、HA、CSPGとも体全体に胎児期から発現している。HAとCSPG複合体形成に必要であると考えられるBral1は、CNSのランビエ絞輪周囲にのみ発現しており、この欠損マウスを作製することで、ランビエ絞輪周囲のECM複合体が破壊されるのではないかと考えられた。実際にBral1欠損マウスを作製したところ、Bral1欠損マウスでは、ランビエ絞輪周囲に存在するECMの局在が見事に見られなくなっていた^{6,8)} (図1)。しかしながら、Bral1欠損マウスでは、組織学的には特に異常が見られず、またナトリウムチャンネル他イオンチャンネルの局在にも変化は見られなかった⁸⁾。ランビエ絞輪形成に深くかかわっている分子の、neurofascin(NF)186にも変化は見られず、ランビエ絞輪に投射するグリア細胞にも異常は見られなかった⁸⁾。

神経伝導速度に關与するECM

活動電位の発生に關与している構造や分子に異常が見られないにもかかわらず、Bral1欠損マウスの視神経における伝導速度は、野生型では 38.50 ± 0.27 ms (mean \pm SD; n=6)であったのに対し、 53.00 ± 0.39 ms (n=5)と有意に遅くなっていた ($p < 0.001$)⁸⁾。ECM複合体がナトリウムイオンなどのイオンをランビエ絞輪外周囲にプールするバリアーとして機能しているのではないかという仮説を検証するために、細胞外スペース(ECS)のイオンのdiffusion propertyを解析した。Tetratitrium ion (TMA)の拡散速度を白質である脳梁及び灰白質である大脳皮質で測定したところ、ランビエ絞輪が多く存在する脳梁において、Bral1欠損マウスでは有意に拡散しやすくなっていた⁸⁾ (図2)。この結果は、diffusion propertyを測定するもう一つの方法であるdiffusion-weighted MRIでも確認された⁸⁾。すなわち、Bral1を中心としたECM複合体が、ランビエ絞輪外という微小環境で、イオンを拡散させないバリアーとして機能していることを強く示唆している⁸⁾ (図3)。

ランビエ絞輪周囲のその他ECMの欠損マウス

これまでに、ランビエ絞輪に局在するECMのうち、TN-R、フォスファカン、パーシカンV2の欠損マウスが作製され報告されている⁹⁻¹¹⁾。このうち、TN-R欠損マウスにおいて、Bral1欠損マウス同様、伝導速度の低下が認められている⁹⁾。TN-R欠損マウスでは、少なくともフォスファカンがランビエ絞輪に局在できなくなっている⁹⁾。また、TN-Rは灰白質にも存在するが、灰白質においてdiffusion propertyが変化し、イオンが拡散しやすくなっている¹²⁾。この結果は、Bral1を

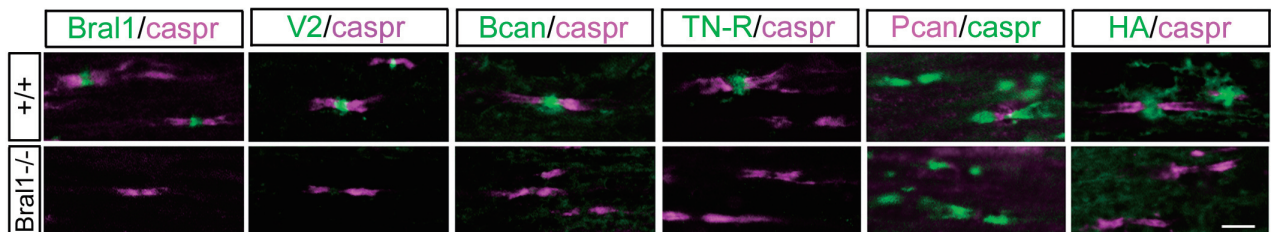


図1 Bral1欠損マウスのCNSにおけるランビエ絞輪周囲のECMの局在
野生型(上段)、Bral1欠損マウス(下段)の顔面神経線維における、Bral1(緑)、パーシカンV2(緑)、プレビカン(Bcan/緑)、TN-R(緑)、フォスファカン(Pcan/マゼンタ)とパラノードのマーカーであるcaspr(マゼンタあるいは緑)の免疫染色及びHAをラベルするB-HABP(HA/緑)。Bral1欠損マウスでは、ECMの局在が消失している。スケールバー、10 μ m。(転載許諾を得て文献8より引用)

文 献

- 1) Poliak S, Peles E : The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci* (2003) 4, 968-980.
- 2) Loppreore CL, Bartol TM, Coggan JS, Keller DX, Sosinsky GE, Ellisman MH, Sejnowski TJ : Computational modeling of 3D electrodiffusion in biological systems : Application to the node of Ranvier. *Biophys J* (2008) 95, 2624-2635.
- 3) Oohashi T, Hirakawa S, Bekku Y, Rauch U, Zimmermann DR, Su WD, Ohtsuka A, Murakami T, Ninomiya Y : Bral1, a brain-specific link protein, colocalizing with the versican V2 isoform at the nodes of Ranvier in developing and adult mouse central nervous systems. *Mol Cell Neurosci* (2002) 19, 43-57.
- 4) Oohashi T, Bekku Y : Brain Link Proteins : Neuromodulators for scaffolding the specialized hyaluronan-binding extracellular milieu in the brain ; in *Neural Proteoglycans*, Maeda N (ed), Research Signpost, India (2007) pp67-83.
- 5) Bekku Y, Rauch U, Ninomiya Y, Oohashi T : Brevican distinctively assembles extracellular components at the large diameter nodes of Ranvier in the CNS. *J Neurochem* (2009) 108, 1266-1276.
- 6) Bekku Y, Oohashi T : Neurocan contributes to the molecular heterogeneity of the perinodal ECM. *Arch Histol Cytol* (2010) 73, 95-102.
- 7) Aspberg A, Miura R, Bourdoulous S, Shimonaka M, Heinegard D, Schachner M, Ruoslahti E, Yamaguchi Y : The C-type lectin domains of lecticans, a family of aggregating chondroitin sulfate proteoglycans, bind tenascin-R by protein-protein interactions independent of carbohydrate moiety. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1997) 94, 10116-10121.
- 8) Bekku Y, Vargová L, Goto Y, Vorisek I, Dmytrenko L, Narasaki M, Ohtsuka A, Fässler R, Ninomiya Y, Syková E, Oohashi T : Bral1 : its role in diffusion barrier formation and conduction velocity in the CNS. *J Neurosci* (2010) 30, 3113-3123.
- 9) Weber P, Bartsch U, Rasband MN, Czaniera R, Lang Y, Bluethmann H, Margolis RU, Levinson SR, Shrager P, Montag D, Schachner M : Mice deficient for tenascin-R display alterations of the extracellular matrix and decreased axonal conduction velocities in the CNS. *J Neurosci* (1999) 19, 4245-4262.
- 10) Harroch S, Palmeri M, Rosenbluth J, Custer A, Okigaki M, Shrager P, Blum M, Buxbaum JD, Schlessinger J : No obvious abnormality in mice deficient in receptor protein tyrosine phosphatase beta. *Mol Cell Biol* (2000) 20, 7706-7715.
- 11) Dours-Zimmermann MT, Maurer K, Rauch U, Stoffel W, Fässler R, Zimmermann DR : Versican V2 assembles the extracellular matrix surrounding the nodes of ranvier in the CNS. *J Neurosci* (2009) 29, 7731-7742.
- 12) Sykova E, Vorisek I, Mazel T, Antonova T, Schachner M : Reduced extracellular space in the brain of tenascin-R- and HNK-1-sulphotransferase deficient mice. *Eur J Neurosci* (2005) 22, 1873-1880.
- 13) Hedstrom KL, Xu X, Ogawa Y, Frischknecht R, Seidenbecher CI, Shrager P, Rasband MN : Neurofascin assembles a specialized extracellular matrix at the axon initial segment. *J Cell Biol* (2007) 178, 875-886.