

11) TRP チャンネルアゴニスト投与による嗅神経軸索伸長の促進 Olfactory Axonal Growth by TRP-Channel

研究代表者 野口 智弘

【研究の背景と目的】

中枢における神経軸索再生が困難な理由として、末梢とは違い、神経損傷後、周囲のグリア細胞によって形成される瘢痕が神経軸索の再生路を塞いでしまうことが挙げられる。そこで、グリア細胞が瘢痕を形成する以前に神経軸索の伸長をできるだけ促進することが、急性期神経再生医療において重要である。

嗅神経は成体においても盛んに新生を繰り返している。嗅上皮中に含まれる幹細胞は嗅神経に分化した後、脳に向かって軸索を伸ばす。柏柳らはこの軸索伸長に TRPV2 チャンネルが関与しており、TRPV2 を活性化することによって神経軸索の伸長を促進できる可能性を

示した¹⁾。また、嗅神経の TRPV2 チャンネルが成長因子 insulin-like growth factor-1 (IGF-1) によって活性化されることも見出した。しかし、この活性化機構は依然不明である。

本研究では IGF-1 による TRPV2 チャンネルの活性化機構を解明するための鍵となる IGF-1 受容体の発現と分布を *in situ* hybridization 法を用いて明らかにした。

【研究方法】

3ヶ月齢 BALB/c マウスを麻酔下において4% PFA/PBS によって灌流固定した後、組織を摘出した。さらに4% PFA/PBS、4℃で一晩固定し、30%スクロース浸潤後、嗅上皮凍結切片(5µm厚)を作成した。これらの切片に二重蛍光 *in situ* hybridization 法を適用し、嗅神経における TRPV2 mRNA および IGF-1 受容体 mRNA の発現と共存を検出した。

【結果および考察】

成体において新生を繰り返す嗅神経は、嗅上皮基底側に存在する球状基底細胞から分化し、成熟しつつ表面側へ移動すると考えられている。図1は嗅上皮凍結切片上において成熟嗅神経マーカーである OMP mRNA および幼若神経マーカーである GAP43 mRNA をそれぞれ *in situ* hybridization 法を用いて検出したものである。成熟した嗅神経とみなされる OMP 陽性細胞は基底側には存在せず、また嗅上皮表面の支持細胞層にも存在しない。分化まもない未成熟神経と推定される GAP43 陽性細胞は基底側にのみ存在する。これらのことから、作成した凍結切片標本が嗅上皮構造を保持していること、また、細胞特異的に発現する mRNA も良好に保存していることが示された。同様に作成した凍結切片に二重蛍光 *in situ* hybridization 法を適用し、TRPV2 チャンネル mRNA と IGF-1 受容体 mRNA が同一細胞に共存していることを明らかにした(図2)。これは IGF-1 のチャンネル活性化作用が IGF-1 受容体を介したシグナル伝達経路によってもたらされることを示唆する。さらにチャンネルと受容体を共発現している細胞は、嗅上皮基底側だけではなく、成熟嗅神経の層(図1、OMP 陽性細胞層)にも存在していたことから、IGF-1 受容体-TRPV2 チャンネル共役経路は少なくとも一部の嗅神経においては、細胞の一生を通じて機能し続けている可能性がある。軸索の

伸長だけでなく、嗅覚の一次中枢である嗅球との接続維持あるいは可塑性に関与しているのかもしれない。

次に、IGF-1 受容体と TRPV2 チャンネルが末梢の嗅神経だけでなく、中枢の嗅球神経でも共存していることを明らかにした(図3)。嗅神経からの匂い情報入力部である糸球体層、および嗅球からの出力を行う僧帽細胞の興奮性を調節する顆粒細胞層において、TRPV2 チャンネルと IGF-1 受容体を共発現している細胞が認められた。糸球体層と顆粒細胞層に存在する介在神経もまた、嗅神経と同様に動物の一生を通じて新

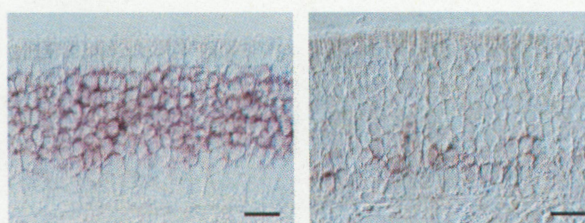


図1 OMP 陽性細胞(左)と GAP43 陽性細胞(右)。各陽性細胞は紫色(NBT/BCIP 発色)を呈している。写真下方、基底膜。スケール、20µm。

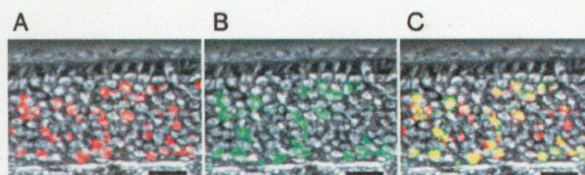


図2 嗅上皮切片上の二重蛍光 *in situ* hybridization 像。
A: IGF-1 受容体(赤)の分布。
B: TRPV2 チャンネル(緑)の分布。
C: AとBを重ね合わせたもの。受容体とチャンネルの分布が一致した所は黄色になる。スケール、20µm。

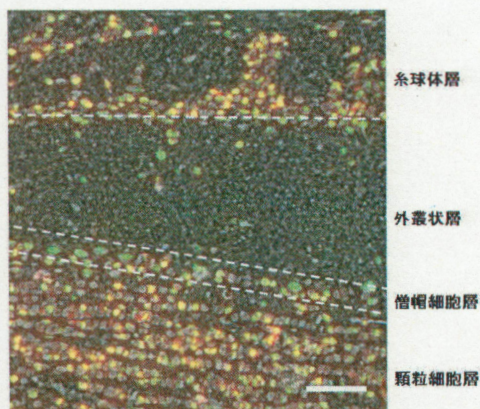


図3 嗅球における IGF-1 受容体(赤)と TRPV2(緑)の共存(黄)。スケール、50µm。

生を繰り返すことが知られていることから、IGF-1 受容体および TRPV2 チャンネルは嗅神経においてのみならず、神経新生において普遍的な役割を担っているのかもしれない。神経新生は認知機能の維持に重要であると考えられており、これらの結果は TRPV2 チャンネルが中枢機能の再建における新たな標的分子となりうる可能性を示唆している。

【文 献】

- 1) 神山直也・松井等・高草木薫・柏柳誠、「嗅細胞の軸索に発現する TRPV2 の生理的意義」、日本味と匂学会誌 2007年12月 14巻3号489-492頁