

Fyn 遺伝子改変マウスにおける行動表現型とその分子機構
Behavioral phenotype of Fyn mutant mice and its molecular mechanism

児島 伸彦¹

1 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院医学系研究科高次細胞機能学

はじめに

脳研究においてもトランスジェニックマウスやノックアウトマウスなどの遺伝子改変マウスの解析は個々の分子の機能を知る上で有効な研究手法であるが、遺伝子の改変とそれによって生ずる行動様式の変容との間には相当な隔たりがあり、これらは必ずしも単純に結びつかないことが多い。チロシンキナーゼのひとつであるFynのノックアウトマウスは多彩な表現型を示し、その脳内機序の理解が難しい例のひとつといえる。

Fynノックアウトマウスの表現型

FynはSrcファミリーに属する非受容体型チロシンキナーゼで、脳内に広く分布している。海馬CA1錐体細胞シナプス伝達の長期増強(LTP)がチロシンリン酸化に依存しているとの薬理的知見を受けて数々のチロシンキナーゼのノックアウトマウスを解析した結果、FynがLTP誘導に重要であることがわかった。LTP障害とともにFynノックアウトマウス(Fyn-KO)はMorris水迷路学習の障害も示したことから、Fynはシナプス可塑性と学習機能に重要な分子として一躍注目を集めることとなった。

その後Fyn-KOでは学習行動以外にも様々な行動異常が見いだされたが、海馬CA3や歯状回の細胞層の乱れなどの形態異常が認められるので、成体での異常が発生過程における形態形成異常の二次的効果をみている可能性も否定できない。そこで筆者は、Fyn-KOにFynをトランスジーンとして形態形成後の脳に導入することで、LTP障害がレスキューされるかどうか調べた¹。Ca²⁺/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼI α プロモーター領域の制御下で生後2週以降の前脳ニューロンに外来Fynを発現させると、Fyn-KOに特徴的な海馬細胞層の乱れは依然認められるもののLTPは正常レベルにまで回復することがわかり、海馬LTPの障害はFyn欠失の直接効果である可能性が示唆された。

Fyn過剰発現マウスの表現型

Fynの過剰発現(最も多いトランスジェニック系統で野生型の7-8倍)によってその基質となるタンパク質のチロシンリン酸化が増大する。SDS-PAGE上で少なくとも4種類のタンパク質のリン酸化がFyn過剰発現マウス(Fyn-TG)で増大していることが確認された²。そのうちのひとつPY180はNMDA受容体サブユニット2B(NR2B)であることがわかった。そこで、次にはNMDA受容体に依存的なシナプス可塑性や学習機能においてFyn過剰発現のおよぼす影響について調べた。

キンドリングはけいれん閾値以下の電気刺激を連日繰り返し扁桃体などに加えることで発展してくるてんかんの二次性全般化モデルで、一度獲得されたけいれん準備性の永続から神経可塑性モデルとしても研究されている。Fyn-KOは野生型と比べ準備性獲得に多くの刺激を要したが、Fyn-TGは逆に少ない回数で速やかにけいれん準備性を獲得した²。また、海馬スライス標本を用いた研究で活性型Fynを過剰発現させるとLTPの閾値が下がることも示された³。以上の結果は、Fynがシナプス可塑性の調節因子のひとつとして重要であるとの考えをさらに支持するものである。

音と電気ショックの組み合わせ刺激の提示によって獲得される恐怖条件づけは動物の学習と記憶をはかるために広く行われている。Fyn-TGは刺激に対して正常に反応したが、音による条件反応テストでは、野生型に比べて有意に低い恐怖反応（フリージング）しか起こさなかった⁴。しかしNR2Bの特異的アンタゴニストの投与により条件づけ中にNR2Bを含むNMDA受容体活性を抑制しておくでフリージングは野生型のレベルまで回復した。この結果は、Fyn-TGではNMDA受容体機能の亢進によって音とショックの連合が阻害されている可能性を示唆している。また、Fyn-TGでみられるチロシンリン酸化の増大がNR2B阻害によって低減された。以上より、NMDA受容体活性とFynによるチロシンリン酸化は互いに密接に関連していることがわかる。

NR2Bのカルボキシル基末端にはNMDA受容体のシナプス膜局在に関わる2つの配列が存在する。ひとつはPDZドメインタンパク質（PSD-95）との結合配列で、もうひとつはクラスリンアダプタータンパク質（AP-2）との結合配列である。前者はNMDA受容体をシナプス膜へ留める方向に作用し、後者はシナプス膜からのエンドサイトーシスにはたらく。後者の配列中にはFynによるチロシンリン酸化部位が含まれておりリン酸化によってエンドサイトーシスの過程が抑制されることが実験的に示されているので、NR2Bのリン酸化が増強されているFyn-TGではNMDA受容体がシナプス膜に過剰に集積している可能性がある（図1）。

最近、アルツハイマー病の病理にFynが関与する証拠を得た。アミロイドβタンパク質（Aβ）過剰発現マウスとFyn-KOあるいはFyn-TGとを掛け合わせることで、Aβの過剰発現によるシナプス脱落がFyn活性に依存していることが示された⁵。このことはAβによるシナプス脱落に関わる細胞内シグナル伝達にFyn基質のチロシンリン酸化が含まれていることを意味する。

おわりに

Fyn-KOとFyn-TGを解析することによって、Fynの脳における役割の理解に一步近づくことができた。今後、時期や特定細胞種に限定した遺伝子操作が個体レベルで確立すれば、学習過程において脳のどの部位でどの時期にFynが活性化することが重要であるのかを知ることができるであろう。

文献

1. Kojima N, Wang J, Mansuy IM, Grant SG, Mayford M, Kandel ER. Rescuing impairment of long-term potentiation in fyn-deficient mice by introducing Fyn transgene. Proc

Natl Acad Sci USA 1997; 94: 4761-4765.

2. Kojima N, Ishibashi H, Obata K, Kandel ER. Higher seizure susceptibility and enhanced tyrosine phosphorylation of N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2B in fyn transgenic mice. *Learn Mem* 1998; 5: 429-445.

3. Lu YF, Kojima N, Tomizawa K, Moriwaki A, Matsushita M, Obata K, Matsui H. Enhanced synaptic transmission and reduced threshold for LTP induction in fyn-transgenic mice. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 75-82.

4. Kojima N, Sakamoto T, Endo S, Niki H. Impairment of conditioned freezing to tone, but not to context, in Fyn-transgenic mice: relationship to NMDA receptor subunit 2B function. *Eur J Neurosci* 2005; 21: 1359-1369.

5. Chin J, Palop JJ, Yu G-Q, Kojima N, Masliah E, Mucke L. Fyn kinase modulates synaptotoxicity, but not aberrant sprouting, in human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* 2004; 24: 4692-4697.

図1 F y nによるNMDA受容体のシナプス膜局在の調節

