

過性を上昇させない点でサルモネラの膜バリア機能の強化に役立っていると考えられる。

一方、前述したようにサルモネラ PagL はアミノアラビノース修飾型リピド A 存在下では活性が抑制されて潜伏化するが、非存在化では活性発現してリピド A の脱アシル化が起こる⁶⁾。これは一種の修飾のバランス調節であると考えられる。このバランスの調節の意義の解析を行った。

リピド A のアミノアラビノース修飾は細菌の抗菌ペプチド抵抗性を上昇させる。アミノアラビノース修飾欠損下では別の修飾により抗菌ペプチド抵抗性を上昇させることが菌の生存にとって望ましく、その結果として脱アシル化が起こっている可能性を検討した。アミノアラビノース修飾欠損株にさらに PagL 欠損を導入した二重欠損株とアミノアラビノース修飾欠損株、および親株である野生株のポリミキシンに対する抵抗性を比較した。ポリミキシンは細菌由来の抗菌ペプチドであるが、抗菌ペプチド抵抗性の測定によく用いられている。PhoP-PhoQ を活性化して様々なリピド A 修飾を誘導した条件下では、野生株が最もポリミキシン抵抗性が高く、次いでアミノアラビノース欠損株、そして二重欠損株は最も抵抗性が低かった¹⁰⁾。従って、リピド A のアミノアラビノース修飾が起こらないときに PagL の潜伏性が失われて活性発現するようになることは、アミノアラビノース修飾の機能（抗菌ペプチド抵抗性の上昇）を相補する役割があると考えられる。

6. お わ り に

PagL と同様に外膜に存在するリピド A パルミチル化酵素 PagP でも類似の潜伏性が指摘されている。すなわち、大腸菌の PagP は通常発現してもパルミチル化を行わない。しかし、外膜に結合するマグネシウムを EDTA でキレートし除去すると、活性発現してパルミチル化がみられるようになる¹¹⁾。同じく外膜酵素である LpxR もタンパク質の発現と活性の発現が一致せず、潜伏性があると思われる¹²⁾。PagP や LpxR の活性抑制にかかわる分子の同定やその潜伏性の生理的な役割については解析がなされていないが、このような外膜酵素の潜伏性という問題は細菌感染を考える上で重要な課題であると認識されている¹³⁾。感染などにより誘導されるリピド A 修飾のバランスがどのようにとられているのかは未解明の問題であるが、修飾酵素の発現誘導に加えて、このような潜伏性を含めた酵素の性質が関わると考えられる。細菌の病原性とこのような修飾の調節機構のかかわりを明らかにすることは今後の課題であ

ると思う。

- 1) Nikaido, H. (2003) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **67**, 593–656.
- 2) Raetz, C.R., Reynolds, C.M., Trent, M.S., & Bishop, R.E. (2007) *Annu. Rev. Biochem.*, **76**, 295–329.
- 3) Miller, S.I., Ernst, R.K., & Bader, M.W. (2005) *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 36–46.
- 4) Kawasaki, K., Ernst, R.K., & Miller, S.I. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 20044–20048.
- 5) Murata, T., Tseng, W., Guina, T., Miller, S.I., & Nikaido, H. (2007) *J. Bacteriol.*, **189**, 7213–7222.
- 6) Kawasaki, K., Ernst, R.K., & Miller, S.I. (2005) *J. Bacteriol.*, **187**, 2448–2457.
- 7) Manabe, T. & Kawasaki, K. (2008) *J. Bacteriol.*, **190**, 5597–5606.
- 8) Manabe, T., Kawano, M., & Kawasaki, K. (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **396**, 812–816.
- 9) Kawasaki, K. & Manabe, T. (2010) *J. Bacteriol.*, **192**, 5837–5840.
- 10) Kawasaki, K., China, K., & Nishijima, M. (2007) *J. Bacteriol.*, **189**, 4911–4919.
- 11) Jia, W., El Zoeiby, A., Petruzzello, T.N., Jayabalasingham, B., Seyedirashiti, S., & Bishop, R.E. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 44966–44975.
- 12) Kawano, M., Manabe, T., & Kawasaki, K. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 207–212.
- 13) Bishop, R.E. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 1881–1896.

川崎 清史

(同志社女子大学薬学部)

Modifications of fatty acids in lipopolysaccharide
Kiyoshi Kawasaki (Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Doshisha Women's College, Kodo, Kyotanabe 610-0395, Japan)

グリア細胞により指揮・実行される脳神経ネットワークのリモデリング

はじめに

個体制御に適した機能的な神経ネットワークをつくり上げ、これを維持するためには、局所的なネットワークのリモデリングが必要である。しかしながら、その制御メカニズムについてはほとんどわかっていない。幼虫と成虫で全く異なる形態、行動、生活様式を持つ完全変態昆虫では、幼虫脳神経系を構成する神経ネットワークは変態期においてダイナミックに再編成され、成虫専用の神経ネットワー

クへと作り換えられる¹⁾。よって、完全変態昆虫の変態期に注目することで、神経ネットワークのリモデリングを制御するメカニズムについて理解できることが期待できる。本レビューでは、変態期におけるショウジョウバエの脳中枢神経系に注目した研究から明らかにされた、グリア細胞と神経細胞の相互作用を介した神経ネットワークのリモデリングの制御メカニズムについて紹介する。

1. 変態に伴う神経ネットワークのリモデリング

昆虫の脳にはキノコ体と呼ばれる左右一対の脳構造が存在し、この脳領域は学習と記憶さらには睡眠といった脳高

次機能において中心的な役割を果たしている。ショウジョウバエのキノコ体は、約2,000個のキノコ体神経細胞（ケニオン細胞）を中心に構成されていて、この脳領域は幼虫脳においても成虫脳においても存在している。

遺伝的な手法を応用してキノコ体細胞をシングル細胞レベルで可視化し、その投射パターンを調べた研究により、幼虫のキノコ体を構成している神経細胞は変態期においてその神経投射パターンをダイナミックに作り変えていることが明らかにされた²⁾。さらに、その後の研究から、このリモデリングは主に二つのプロセスにより成り立っていることがわかった。まず、変態期の前期において、キノコ体

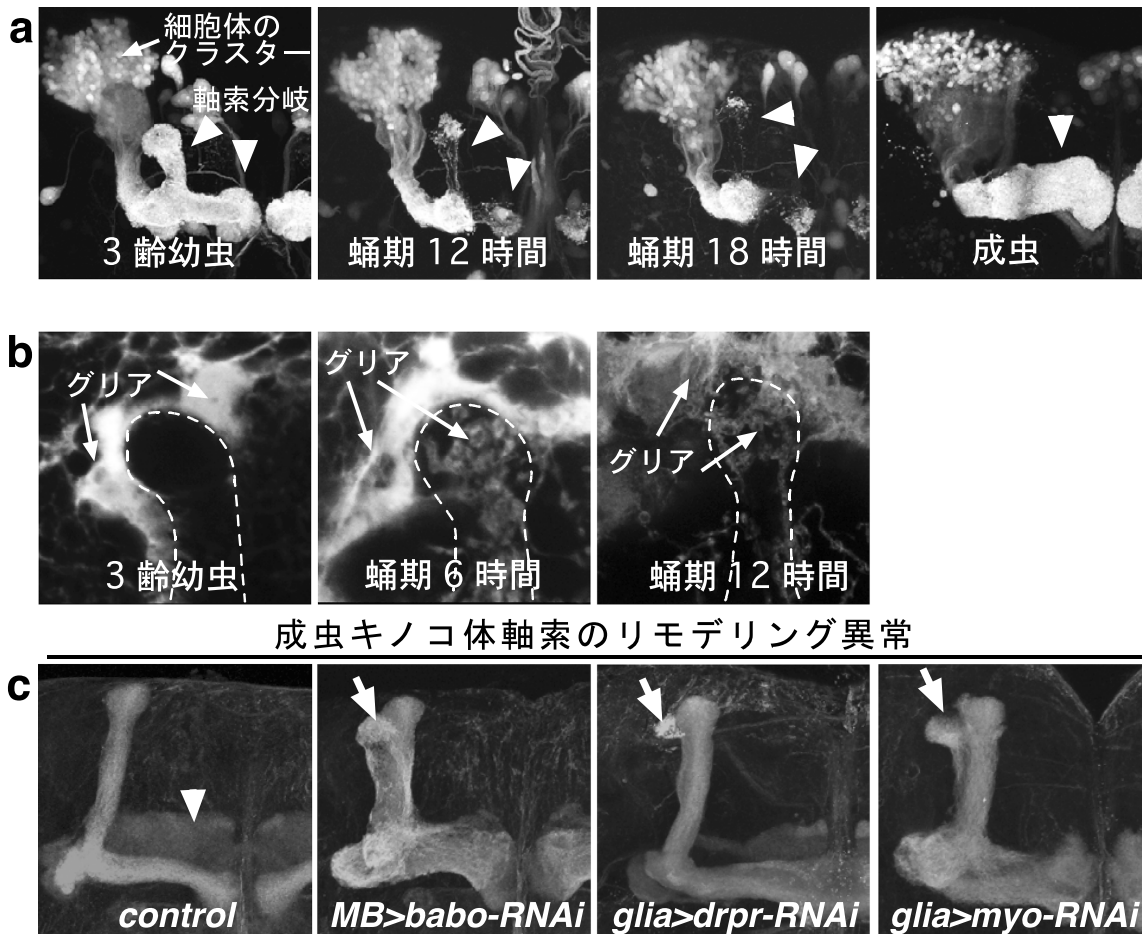


図1 変態期におけるキノコ体神経細胞のリモデリングとその異常

(a) 幼虫期に形成されたキノコ体神経細胞の特徴的な軸索分岐は、変態期のはじめにブルーニングし、その後再伸長して成虫特有の軸索分岐を形成する（矢尻）。(b) ブルーニングが行われる過程で、軸索分岐周辺に存在するグリア細胞の細胞膜が軸索分岐の束の中に浸潤して、変性がはじまった幼虫の軸索を食食する。(c) キノコ体細胞における *babo* のノックアウトならびに、グリア細胞における *drpr*, *myoglianin* のノックアウトはともに、幼虫軸索のリモデリングを抑制する。矢尻はリモデリングにより再形成された野生型の軸索分岐を、矢印はリモデリングせずに残された幼虫の神経軸索分岐を示す。文献3, 9より改変転載

神経細胞の軸索領域ならびに樹上突起領域の一部が局所的な変性をおこし、その部分が選択的に除去(プルーニング)される^{3,4)}。そしてその後、神経細胞は新たに神経突起を再伸長させ、成虫特異的な神経投射パターンを形成する(図1a)。こうした神経投射パターンのリモデリングは、キノコ体入力部に軸索投射しシナプス連絡する嗅覚系の投射神経細胞においても同様に見られる⁵⁾。またこの他に、中枢神経系を構成する介在神経でも同様の現象が見いだされている。このことから、ショウジョウバエにおける脳中枢神経ネットワークの変態期におけるリモデリングは、古い細胞を細胞死により除去し新しい細胞と置き換えるのではなく、細胞が生きたままでその投射パターンならびにシナプスをダイナミックに作り替えることにより生じていることが明らかにされた。

2. 神経回路のリモデリングを制御する遺伝子メカニズム

MARCM と呼ばれるモザイク解析法を駆使した突然変

異のスクリーニングにより、リモデリングにおいて細胞自立的に機能する遺伝子の同定と解析が行われた⁶⁾。その結果、神経細胞のリモデリングにおいて中心となるのは、昆虫ステロイド、エクジソンであることがわかった⁶⁾。脱皮ホルモンとも呼ばれるエクジソンは変態期の直前に体内での濃度が急上昇し、その直後に変態が開始される。このエクジソンは核内受容体である、エクジソン受容体, EcR, ならびにこれとヘテロダイマーを形成するレチノイド X 受容体, USP (ultraspiracle) により受容され下流の遺伝子発現の調節を行う(図2上)。EcR のアイソフォームの一つ EcR-B が特異的にリモデリングを行う神経細胞に発現しており、幼虫キノコ体細胞特異的に USP や EcR-B をノックアウトまたは阻害するとリモデリングがほぼ完全に阻害され、成虫においても幼虫様の神経投射パターンが維持された⁶⁾。このことから、キノコ体細胞のリモデリングには、エクジソンシグナリングの活性化が必要不可欠であることが示された。

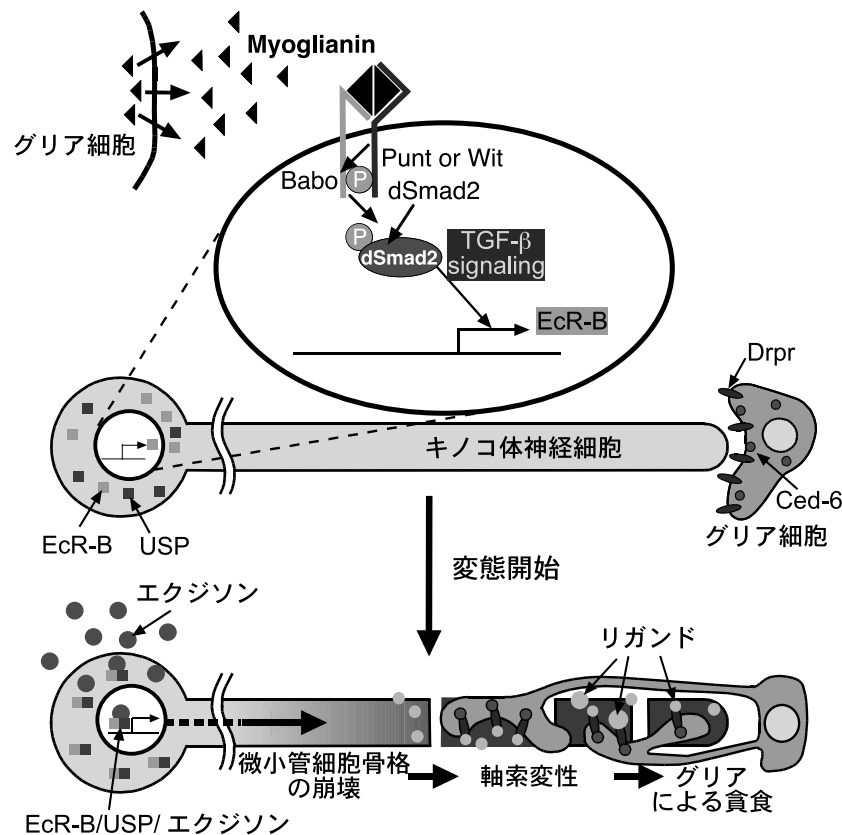


図2 神経グリア相互作用を介した軸索プルーニングの制御機構の模式図

Activin/TGF- β シグナリングによるイニシエーション (上) とエクジソンシグナリングによるプルーニングの実行 (下) を示す。文献 9, 10 より改変転載

さらに、同様の突然変異のスクリーニングから、Activin/TGF- β の type I 受容体である Baboon (Babo) ならびに、その下流のシグナル分子である dSMAD2 の突然変異が、EcR や USP のノックアウト同様に、キノコ体細胞のリモデリングを抑制することが明らかにされた (図 1c)⁷⁾。興味深いことに、これらの突然変異においては、リモデリングする神経細胞において、EcR-B が発現していない。また、これらの突然変異において、キノコ体細胞特異的に EcR-B を強制発現させると、野生型同様にリモデリングが行われるようになった。以上から、幼虫神経ネットワークを形成する神経細胞は Activin/TGF- β シグナルを介して EcR-B を発現することが明らかになった。すなわち、これらの細胞は、EcR-B を発現することで、特異的にエクジソンに応答し、これによりエクジソンシグナルを活性化させ下流にあるリモデリングに必要な遺伝子群の発現制御を行っているのである (図 2 上)。

3. グリア細胞による幼虫軸索の貪食

幼虫のキノコ体細胞の神経軸索は変態期に入ると局所的に変性し、変態開始 18 時間後にはほとんどブルーニングにより取り除かれてしまう (図 1a)。エクジソンシグナルの活性化により神経軸索における微小管細胞骨格の崩壊が誘導されており、これにより局所変性が引き起こされると考えられる⁴⁾。また、こうした微小管細胞骨格の崩壊はユビキチンプロテオソームを介したタンパク質の分解が必要であることが示されている⁴⁾。興味深いことに、キノコ体の軸索のブルーニングと呼応して、周辺部に存在するグリア細胞の細胞膜が肥厚し、キノコ体の出力領域、即ちキノコ体細胞の軸索末端が存在する領域にグリア膜の浸潤が観察される (図 1b)^{3,8)}。さらに、この浸潤したグリア膜は貪食作用によりキノコ体軸索の一部を取り込み、その分解を行っていた。これらのグリア細胞において、変態期に貪食作用を含む細胞機能を特異的に阻害すると、神経軸索のブルーニングが大きく阻害され、成虫脳においても幼虫軸索の一部が除去されずに存在し続けるようになった (図 1c)³⁾。この結果から、リモデリングする神経細胞の軸索は、周辺に存在するグリア細胞により速やかに貪食除去されていることが明らかになった。

グリア細胞はどのようにして一部の幼虫軸索だけを選択的に貪食するのだろうか？ 幼虫脳のキノコ体軸索を貪食するグリア細胞に着目して、軸索貪食を制御する分子機構についての解析が行われた。その結果、線虫においてアポトーシス細胞の貪食に機能していることが知られている

ced-1 ならびに *ced-6* 遺伝子のショウジョウバエ相同遺伝子、*draper* (*drpr*) と *ced-6* が、軸索を貪食するグリア細胞で時期特異的に強く発現していることが見いだされた⁹⁾。*drpr* 遺伝子はスカベンジャー受容体様分子を、*ced-6* 遺伝子は Draper 分子の細胞内ドメインと相互作用するアダプター分子をそれぞれコードしており、これらの分子はグリア細胞からキノコ体出力部位に浸潤するグリア膜に集積していた。これらの遺伝子を組織特異的な RNAi によりグリア細胞特異的に阻害すると、グリア細胞によるキノコ体幼虫軸索の貪食が抑制された。また、これらの個体においては、幼虫の軸索の一部が成虫脳においても不完全に維持されていた (図 1c)。以上の結果より、グリア細胞は不要となった幼虫軸索を Drpr 受容体と Ced-6 分子を介して認識し、選択的に貪食していることが示された (図 2 下)⁹⁾。Drpr 受容体のリガンドについては明らかにされていないが、貪食ターゲットの目印となる分子が変性を開始した軸索に提示され、これがリガンドとして働いていると考えられる。

4. グリア細胞による神経回路リモデリングのイニシエーション

グリア細胞による変性軸索の貪食除去は、速やかにリモデリングを行うために必要な機構である。しかしながら、リモデリングを行う神経細胞がエクジソンシグナルを活性化させ、局所的な神経変性をおこなえば、グリア細胞は幼虫神経回路を貪食・除去することはできない。一方で、最近新たにグリア細胞がリモデリングのイニシエーションにおいても機能的に働いていることが明らかにされた¹⁰⁾。上記で紹介したように、リモデリングを行う細胞が EcR-B を発現するためには、Activin/TGF- β の type I 受容体である Babo を介して、下流の TGF- β シグナリングを活性化させることが必要である⁷⁾。ショウジョウバエにおいては、dActivin, Dawdle, Myoglianin, Marveric の四つの分子が、Activin/TGF- β リガンドとして同定されている。そのうちの一つ、Myoglianin は変態がはじまる前に一部のグリア細胞において特異的に発現が誘導される。組織特異的な RNAi を用いて、グリア細胞特異的に Myoglianin のノックアウトを行うと、神経細胞のリモデリングがほぼ完全に抑制された (図 1c)。これらの個体においては、リモデリングを行う神経細胞に必須である、変態期直前における一過的な EcR-B の発現が抑制されていた。また、グリア細胞特異的に Myoglianin をノックアウトした個体において、リモデリングする神経細胞で EcR-B の発現を人為

的に再誘導すると、正常にリモデリングが行われるようになった。さらに、Myoglianin と Babo が生化学的にも、遺伝学的にも相互作用することが示された^{10,11)}。以上の結果から、リモデリングのイニシエーションとなる、神経細胞における EcR-B の発現誘導は、グリア細胞から分泌される Myoglianin によって、細胞非自立的に制御されていることが明らかにされた¹⁰⁾。即ちこのことは、グリア細胞が、神経リモデリングにおいてインストラクティブな役割を果たしていることを示している (図 2)。

お わ り に

以上のように、神経ネットワークのリモデリングにおいて、グリア細胞がイニシエーションを制御するとともに、不要となった神経軸索の貪食・除去を行うことが明らかにされた。このことは、グリア細胞は神経リモデリングの指揮と実行を担う存在であることを示唆する。不要となった神経回路を除去した後、どのようにして神経突起の再伸長とシナプスの再形成が制御されているのか、この点についてはまだ明らかにされていないが、この過程におけるグリア細胞の役割は大変興味深い問題である。

最近になり、グリア細胞が発生段階や外部環境に応答して細胞非自立的に神経幹細胞の分裂を制御していることが、ショウジョウバエを用いた解析から明らかにされた^{12,13)}。神経ネットワークのリモデリングにおけるグリア細胞の役割とあわせて考えると、個体の発生に合わせた脳中枢神経系のグローバルな発生調節はグリア細胞を介在として行われていると推論できる。こうしたユニークなグリア細胞の働きは、完全変態昆虫における特有なものであるのか、それとも脊椎動物等の他の動物でも見られる普遍的なものであるのか、これについては今後の解析が待たれる。ショウジョウバエでの発見を手がかりに、新たな方向へと研究が発展・展開されていくことを期待したい。

- 1) Truman, J.W. (1990) *J. Neurobiol.*, **21** (7), 1072-1084.
- 2) Lee, T., et al. (1999) *Development*, **126** (18), 4065-4076.
- 3) Awasaki, T. & Ito, K. (2004) *Curr. Biol.*, **14** (8), 668-677.
- 4) Watts, R.J., et al. (2003) *Neuron*, **38** (6), 871-885.
- 5) Marin, E.C., et al. (2005) *Development*, **132** (4), 725-737.
- 6) Lee, T., et al. (2000) *Neuron*, **28** (3), 807-818.
- 7) Zheng, X., et al. (2003) *Cell*, **112** (3), 303-315.
- 8) Watts, R.J., et al. (2004) *Curr. Biol.*, **14** (8), 678-684.
- 9) Awasaki, T., et al. (2006) *Neuron*, **50** (6), 855-867.
- 10) Awasaki, T., et al. (2011) *Nat. Neurosci.*, **14** (7), 821-823.
- 11) Lee-Hoeflich, S.T., et al. (2005) *FEBS Lett.*, **579** (21), 4615-4621.
- 12) Speder, P., et al. (2011) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **23** (6), 724-

729.

- 13) Cheng, L.Y., et al. (2011) *Cell*, **146** (3), 435-447.

栗崎 健

(ハワードヒューズ医学研究所

ジェネリアファーム リサーチキャンパス)

Glial orchestration and execution of neural circuit remodeling during *Drosophila* metamorphosis

Takeshi Awasaki (Janelia Farm Research Campus, Howard Hughes Medical Institute, 19700 Helix Dr, Ashburn, VA, 20147, USA)

メディエーターのサブユニット Med26 による転写伸長制御

1. は じ め に

タンパク質をコードするすべての遺伝子は RNA ポリメラーゼ II (以下 Pol II と呼ぶ) によって mRNA に転写され、さらに翻訳によって mRNA からタンパク質が合成される。Pol II による遺伝子の転写は、転写開始、転写伸長、そして転写終結の主に三つの過程からなる。転写開始までの過程では、転写因子が特定の DNA 配列に結合すると、転写因子によってさまざまな因子がプロモーターにリクルートされ、それらの因子の働きによってプロモーター領域のクロマチンが解かれる。すると、Pol II が基本転写因子群と共にプロモーターヘリクルートされることで、転写開始前複合体 (PIC: Pre-initiation complex) が形成され、Pol II による転写が開始される (図 1-①)。このように、転写開始までのプロセスにおいては、プロモーターにリクルートされる Pol II の量が決定されるため、このプロセスが遺伝子の発現量を制御する上で最も重要なプロセスと考えられてきた。ところが、近年の研究により、非常に多くの遺伝子の発現において、転写伸長のプロセスも遺伝子発現量を決定する上で重要な役割を果たしていることがわかってきた。

2. プロモーター近傍における Pol II の一時停止 (promoter-proximal pausing)

誤った塩基の取り込みや転写伸長を抑制する因子などのさまざまな要因によって、Pol II は一時停止 (Pausing: ポージング) する。Pol II のポージング解除には、ELL/