

特集：細胞外プロテオリシス研究の最前線

神経ネットワーク再編の鍵を握る細胞外マトリックス分解機構

榎本 和生

高等動物の脳神経ネットワークは、胎生後期までに大まかな配線ができあがる。しかし、この段階の神経回路は機能的に未熟であり、幼児期に外界からさまざまな情報を取り込み、それに応じてネットワークを微調節（再編）することにより、機能的な脳へと成熟していく。近年、神経ネットワーク再編の制御機構について研究が進展し、分子・細胞・回路それぞれの階層において多様な調節メカニズムの存在が明らかになってきた。その中で、脳内の細胞外マトリックス構造がダイナミックに変動し、それが神経回路の可塑性や、さらには記憶の形成・維持に重要な働きをしている可能性が示唆されつつある。本稿では、神経ネットワーク再編における細胞外マトリックスの役割と、その時空間制御を担う細胞外プロテオリシスについて概説し、生理機能および病態との関係について考察する。

はじめに

生物の特性として、外界からの情報を巧みに取り込むことにより、外環境に適応する能力をあげることができる。脳もまた、そのような適応能力をもち、可塑性 (plasticity) と称される。音や光などの外部入力に対して脳が高い可塑性を示す期間は、幼少期の一定期間に限定される。たとえば、幼少期を外国で過ごした子供は、ほぼネイティブスピーカーと同様に外国語の発音や聞き取りができるようになるが、大人になってから外国に数年滞在しても、ネイティブスピーカーに近づくことは難しい。このように外部情報に対して脳がもっとも高い可塑性をしめす時期を臨界期 (critical period) と呼ぶ。

それでは、臨界期を規定するメカニズム、すなわち、幼児の「やわらかい脳」と大人の「かたい脳」の違いを生み出す物質的基盤は何か？ この疑問に答えるべく、分子 (チャネル、シグナル因子の発現や局在変化など)、細胞 (シナプスや神経突起の可塑的構造変化など)、回路 (グリ

ア細胞や介在ニューロンとの相互作用など) それぞれの階層について、活発な研究が行われている。近年、その一つの可能性として、脳内における細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) 構造が示唆されている。従来、幼弱期の脳に含まれる ECM 成分は、神経突起の伸長・分岐や軸索ガイダンスなど神経発生過程において重要な働きをすることが示されてきた。その一方で、成熟した脳に含まれる ECM 成分は、神経突起の伸長や再生を阻害することから、幼弱脳から成熟脳への移行に伴い起きる ECM 構成成分のダイナミックな変動が、脳の可塑性に関与する可能性が指摘されていた。最近 10 年間の研究から、成熟脳の ECM 構造体が神経回路の安定化・維持に重要であり、それが神経回路の可塑性制御、さらには記憶の固定や消去などの脳機能と密接に関連していることを示唆する個体レベルのデータが得られつつある。さらに、ECM 分解を担う細胞外プロテアーゼ群が、シナプス可塑性や記憶形成に関与することを示すデータも蓄積してきた。本稿では、脳神経系における ECM 構造とその分解を担う細胞外プロテアーゼ群に焦点をあてて、神経ネットワーク再編における細胞外プロテオリシスの役割について概説し、その生理機能および病態との関係について考察する。

1. 脳神経系をとりまく細胞外環境

ヒト脳内には約 1,000 億個のニューロンと、その 10 倍

(財)大阪バイオサイエンス研究所・神経細胞生物学部門
(〒565-0874 大阪府吹田市古江台 6-2-4)

Impacts of ECM dynamics on neuronal remodeling
Kazuo Emoto (Department of Cell Biology, Osaka Bioscience Institute, 6-2-4 Furuedai, Suita, Osaka 565-0874, Japan)

数のグリア細胞が存在すると言われる。これら膨大な数の細胞群と神経突起が作り上げる神経ネットワークは、プロテオグリカンや基質タンパク質を主成分とするECMにより覆われている。神経発生の過程において、脳内のECM構成成分はダイナミックな変動を示す。たとえば、胎生後期から誕生直後のげっ歯類脳は、ニューロカン、パーシカンV0およびV1、テネイシンCなどを含むが、これらの発現量は時間経過とともに低下し、代わりにプレビカン、パーシカンV2、アグリカン、ホスホカン、テネイシンRなどの発現が上昇する¹⁾。マウスでは生後2-5週に「幼弱型」ECMから「成熟型」ECMへの入れ替わりが進行し、その後は維持される。成熟脳に多いパーシカンV2などのコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPGs)は、神経突起の伸長を阻害する活性を持つ^{2,3)}。また通常、脊髄など中枢神経回路の損傷は再生できないが、コンドロイチナーゼABC(ChABC)により損傷部位からCSPGsを除くと神経回路の再生が促進されることから、CSPGsは成熟脳において神経再生阻害因子として働くと考えられている^{4,5)}。

幼弱期から成熟期への移行期間には、ペリニューロナルネット(perineuronal nets:PNNs)と呼ばれるECM構造が構築される(図1)。PNNsは一世紀以上も前にCamillo Golgiがすでに記述していた網状の構造体であり⁶⁾、脳全体に見られるが、マウスやラットでは特に大脳皮質の視覚野や体性感覚野の第IV層に観察される^{7,8)}。後述するように、これらの領域は臨界期における神経可塑性が顕著な領域である。PNNsは個々のニューロンを覆うように分布するが、特にGABA作動性の抑制性ニューロンの周囲に多く観察される(図1)。PNNsを構成するプロテオグリカン類は、ニューロンとグリア細胞の双方から供給される^{9,10)}。視神経系や初代培養ニューロンにおいて神経活動を抑制すると、PNNsの形成も阻害されることから、PNNs形成は神経活動依存性であると考えられる。そのため、PNNsは神経回路が活発に活動をはじめめる成熟期にあわせて構築されると推測されている。PNNsの構成成分であるプレビカンやテネイシンRのノックアウトマウスではPNNsが減少しており、同時に、海馬における長期増強(long-term potentiation:LTP)に異常が生じることが報告されている^{11,12)}。

2. 神経回路の可塑性を規定する細胞外マトリックス構造

幼弱脳から成熟脳に至るECM成分や構造のダイナミックな変化は、神経機能への関与を期待させる。とくにPNNsは神経回路が成熟する時期にあわせて現れることから、神経回路の可塑性を規定している可能性が個体レベルの実験から示唆されつつある。

高等動物の中枢視覚系は、乳幼児期に両目から光刺激を受けとることにより、神経回路の再編が起こり機能的に成

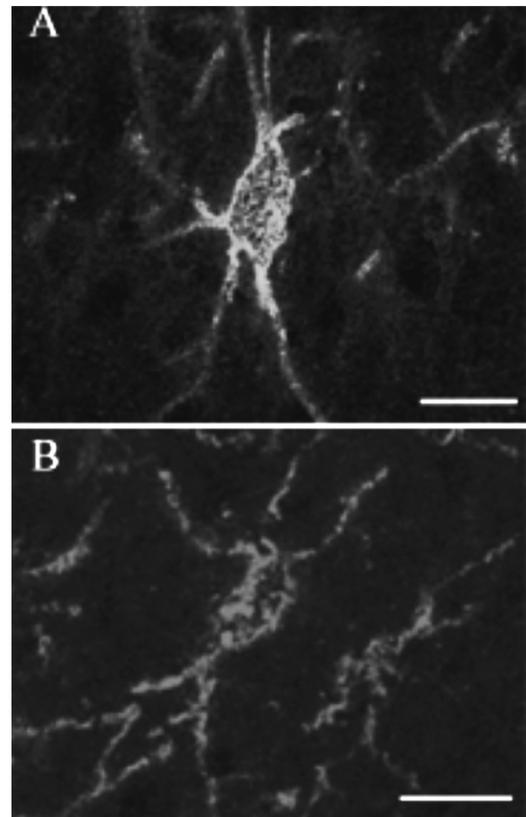


図1 マウス体性感覚野の第IV層に見られるペリニューロナルネット(perineuronal nets:PNNs)構造
(A) WFA レクチンによるPNNsの染色。ニューロン全体を覆うように存在する。
(B) PNNsと特異的に結合するCAT-315抗体による染色。
(Acta Neurobiol. Exp.: Karetko et al. 2009より改変)

熟する。たとえば、外側膝状体から大脳皮質の一次視覚野へ投射する二次ニューロンを調べると、生後間もない個体では、左右の目から投射された軸索末端が互いに広く交わり合っている(図2)。その後、左右の目から視覚刺激が入力されはじめると、交わり合った領域の突起が徐々に退縮し、それぞれの領域が明確に分離する(図2)。この眼優位性カラム(ocular dominance column)の構築は、視覚刺激に依存し、生後すぐに単眼閉鎖処理を行うと、開眼から視覚入力が入るカラムが、閉眼側へとシフトようになる。この外部刺激依存的な神経回路の再編を眼優位可塑性(ocular dominance plasticity)と呼び、神経入力依存的な神経可塑性のメカニズムを解析するための優れたモデルとなる。

Pizzorussoらは、PNNsと神経可塑性との関係を調べるために、まず視覚野におけるPNNs形成時期についてレクチン染色を用いて検討したところ、PNNsの形成時期は臨界期の終了とほぼ一致していた¹³⁾。眼優位可塑性の臨界期は、個体を暗闇で飼育すると遅れるが、このときPNNsの出現も同じように遅れることがわかった。驚くべきこと

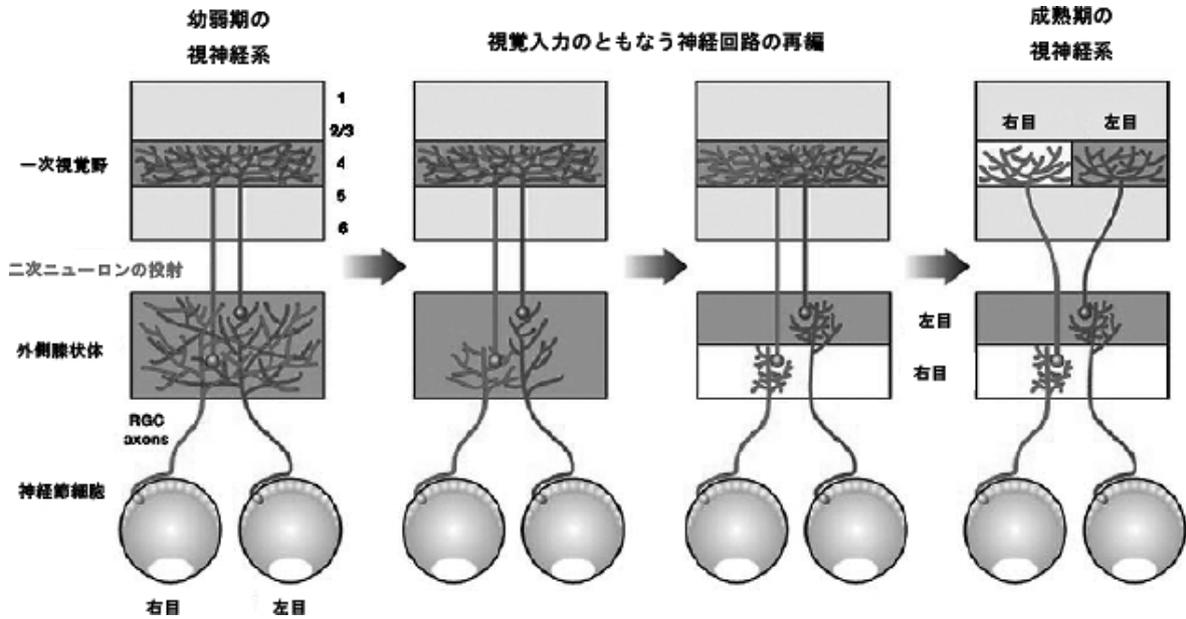


図2 視覚神経経路の可塑性

出生直後の視覚経路では、大脳皮質の視覚野に投射する二次ニューロンの軸索末端は交じり合った状態である（左図）。その後、左右の目から視覚情報が入力されると、それぞれの軸索末端構造が分離し、眼優位性カラムが確立する（右図）。生後直後に片眼閉鎖を行うと、閉鎖された目からのカラムが縮小し、開放された目からのカラムが拡大する。（Annu. Rev. Neurosci.: Luo and O'Leary 2005 より改変）

に、成熟ラットの視覚野に ChABC を注入して PNNs を除くと、眼優位可塑性が観察できるようになった^{13,14}。つまり、臨界期をはるかに過ぎた成熟期の動物が、幼児期と同じような神経可塑性を取り戻すことができたのである。この結果は、PNNs が、成熟期の神経可塑性を制限する「阻害因子」の分子実体であることを強く示唆している。

近年、特定の記憶を維持するメカニズムにおいても PNNs が関与している可能性が示唆されている。マウスやラットに対して電気ショックと音を同時に与える条件付けを行うと、音を聞かせるだけで恐怖行動（電気ショックに怯えてフリージングする）を示すようになる。次に、音だけを聞かせる条件づけ（電気ショックは与えない）を続けると、幼児期の動物は次第に音に対する恐怖行動を示さなくなるのに対して、同じ実験を成獣で行うと恐怖行動を示し続ける。つまり、幼児期の動物は恐怖記憶を消去しやすいが、成熟期になると、何らかのメカニズムにより恐怖記憶を消去できにくくなったと解釈できる。恐怖記憶のように情動的な出来事に関連づけられる記憶の形成・維持には、脳内の大脳辺縁系の一部である扁桃体（amygdala）という領域が重要な役割を果たしていることがわかっている。Gogolla らは、レクチンを用いて、マウス扁桃体における PNNs 形成を観察したところ、PNNs は生後3週あたりから形成されており、恐怖記憶の消去ができにくくなる時期と一致していた¹⁵。続いて、生後3ヶ月齢マウスに ChABC を扁桃体に注入することにより PNNs を除去する

と、幼弱マウスと同様に、恐怖記憶の消去が見られるようになった。ここで重要な点は、ChABC 投与したマウスでも、恐怖記憶の形成自体には全く異常は見られないということである。したがって、PNNs はいったん形成された恐怖記憶の維持に重要であると考えられた。

眼優位可塑性と恐怖記憶維持いずれにおいても、PNNs は神経ネットワークの安定化（可塑性の抑制）に寄与していると予想されるが、その具体的な作動原理は明確にされていない。扁桃体における恐怖記憶は、グルタミン酸受容体を介したシグナルにより制御を受けている。したがって、記憶の消去も、グルタミン酸受容体の制御に関与するのかもしれない。実際、PNNs が興奮性シナプスにおけるグルタミン酸受容体の動態制御に関与することが示唆されている¹⁶。初代培養海馬ニューロンを長期間培養すると、PNNs 様の ECM 構造体が構築される。ヒアルロン酸分解酵素（hyaluronidase）を添加することにより PNNs を除去すると、スパイン内におけるグルタミン酸受容体の側方運動速度（lateral diffusion mobility）が顕著に亢進した¹⁷。したがって、PNNs は、シナプス内におけるグルタミン酸受容体の離合集散を制限することにより、シナプス可塑性に関与している可能性が考えられる。グルタミン酸受容体の動態制御以外にも、PNNs は、ニューロン-グリア間の相互作用、シナプス近傍のイオン濃度の調節、イオンチャネルの制御など、さまざまな機能が示唆されている。PNNs が神経可塑性を抑制するメカニズムを明らかにするために

は、生体脳において上記の可能性を一つ一つ検証していく必要がある。

3. シナプス可塑性と細胞外プロテオリシス

ここまで PNNs などの脳神経系をとりまく ECM 構造と神経回路の維持機構との関連について述べた。特定の ECM 成分が神経可塑性の抑制因子として機能するのであれば、それを局所的に分解するマシーナリーもまた、神経可塑性の時空間制御に関与するであろうことは想像に難くない。実際、組織型プラスミノゲン活性化因子、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)、ADAM プロテアーゼなど、ECM 再編に関与する細胞外プロテアーゼが、神経可塑性に重要な機能を果たすことが報告されている(表 1)。とくに、シナプス可塑性における細胞外プロテアーゼの役割について比較的多くの知見が蓄積している。

組織型プラスミノゲン活性化因子(tPA)は、血液線溶系においてプラスミノゲンをプラスミンへと切断・活性化するセリンプロテアーゼであり、臨床では心筋梗塞の治療薬としても用いられる。その一方で、tPA は小脳顆粒細胞の成長円錐から分泌される因子として同定され、脳内では、細胞移動、神経突起伸長、細胞死などに関与することが報告されている^{18,19)}。近年、tPA が眼優位可塑性において重要な働きを果たしていることが明確になってきた^{20~22)}。Hensch らの研究グループは、大脳皮質一次視覚野における tPA の発現パターンを追跡したところ、臨界期(マウスでは生後 4 週)にもっとも高く、その後、急激に低下することを見出した²¹⁾。続いて、tPA ノックアウトマウスを用いて眼優位可塑性を検証したところ、単眼閉鎖処理をしても可塑的变化が起こらないことを見出した。さらに、tPA ノックアウトマウスの視覚野に外来性の tPA を投与すると、眼優位可塑性が回復した。このとき、視覚野(第 II/III 層)の興奮性ニューロンを観察すると、tPA ノックアウトマウスではシナプスの刈り込み(pruning)が顕著に低下していたことから、tPA による眼優位可塑性の制御は、興奮性シナプスの刈り込みを介して行われている可能性が示唆された(図 3)。tPA により活性化されるプラ

スミンは、ラミニンやフィブロネクチンなどの ECM タンパク質の切断に加えて、BDNF や NGF などの神経栄養因子や、後述する MMPs の切断・活性化を担う。従って、tPA は、これらの活性化を介して、シナプス局所における ECM の再編を誘導している可能性もある。

MMPs ファミリーは、分泌型、膜結合型、GPI アンカー型など様々な分子種があり、ほ乳類の遺伝子上には 20 種以上の MMPs がコードされている^{23,24)}。MMP-2、MMP-3、MMP-9 などは脳内の特定ニューロンもしくはグリア細胞に発現する。近年、一部の MMPs は、神経活動依存的にシナプス終末から分泌されることが報告されている^{23,24)}。なかでも神経活動との関係が良く研究されているのは MMP-9 である。海馬スライスに高頻度電気刺激(テタス刺激)を加えることにより LTP を誘導すると、MMP-9 の発現量・活性とも急激に上昇する^{25,26)}。このとき MMP 阻害剤を添加すると LTP が起こらなくなる。MMP-9 ノック

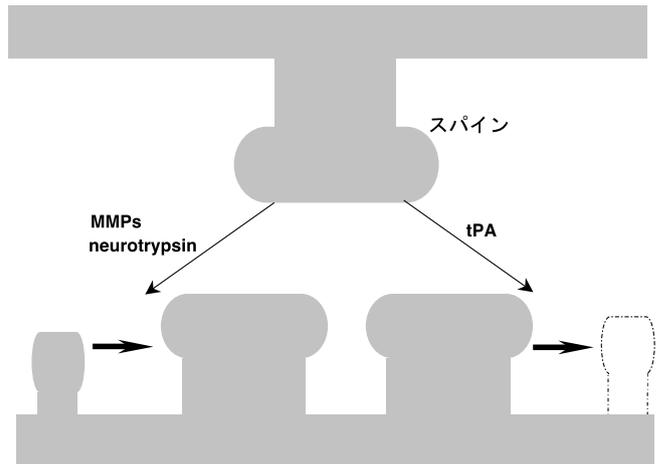


図 3 細胞外プロテオリシスによるシナプス再編
神経活動に依存して細胞外プロテアーゼがシナプス間隙に放出され、シナプスのリモデリングを促進する。すべてのプロテアーゼは、シナプスのダイナミクスを誘導するという意味では同じ効果であるが、tPA は興奮性シナプスの除去を、逆に MMP-9、neurotrypsin はシナプスの成熟化や新生を誘導するとされる。これは、切断する細胞外基質が異なるためなのか、ニューロンの種類やステージに依存するのかわからない。

表 1 神経可塑性との関連が示唆される細胞外プロテアーゼ

プロテアーゼ	予想されるシナプス内の基質	予想される機能	文献
tPA	ラミニン, フィブロネクチン, BDNF, NGF (tPA により切断活性化されるプラスミンの基質を含む)	眼優位性カラムの形成 興奮性シナプスの刈り込み	18-22
MMP-9	ラミニン, アグリカン, TNFalpha, BDNF	海馬の LTP, シナプス肥大化	23-26
MMP-2	ラミニン, アグリカン, プレビカン, テネイシン R, TNFalpha, BDNF	海馬の LTP?	23-26
MMP-3	ラミニン, プレビカン, テネイシン R, TNFalpha, BDNF, MMP-2, MMP-9	MMP-9, MMP-2 の活性化?	23-26
neurotrypsin	アグリン	海馬の LTP, シナプス新生 長期記憶の形成	27-29
TACE	neuronal pentraxin	小脳および海馬の LTD	30

クアウトマウスでも同様に、海馬における LTP が顕著に減退することが示された^{25,26)}。さらに、MMP-9 ノックアウトマウスは恐怖記憶の形成に異常を示した。MMPs は、コラーゲン IV やラミニンなど ECM 主要構成成分を分解することから、シナプスにおける MMP-9 の機能は、シナプス周辺部 ECM のリモデリングを介する可能性が考えられる。Huntley らは、MMP-9 依存的にインテグリン $\beta 1$ を介したシグナルが亢進することを示し、それがアクチン骨格系の再編を介してシナプスの構造変化を誘導している可能性を提唱している²⁶⁾。MMP-9 は不活性のプロ型として細胞外に分泌され、プロ領域が切断除去されることで活性化型となる。したがって、神経活動に加えて、上述した tPA 依存的なタンパク質分解カスケードなど他の細胞外プロテアーゼによっても時空間的な制御をうけている可能性が考えられる。

脳特異的に発現するセリンプロテアーゼ neurotrypsin は、神経活動依存的に前シナプス終末から分泌され、ECM 分子であるアグリンの局所分解を担うことが示されている²⁷⁾。海馬スライスを用いた実験から、このとき生じる 22 kDa のアグリン断片が、未同定の受容体分子との相互作用を介してシナプス新生を誘導するという作動モデルが提唱されている (図 3)。neurotrypsin の遺伝子変異は、一部の精神遅滞疾患家系に見出されており²⁸⁾、また興味深いことに、neurotrypsin ホモログを欠損したショウジョウバエ変異体では、長期記憶の形成に異常を生じることが報告されている²⁹⁾。

最近では、ADAM プロテアーゼファミリーの一員である TACE (tumor necrosis factor- α converting enzyme) プロテアーゼが、海馬もしくは小脳の長期抑制 (long-term depression: LTD) の誘導に関与することが報告されている³⁰⁾。Worley らは、TACE はシナプス近傍の接着関連因子 neuronal pentraxin (NP) を切断することにより、シナプス間相互作用を弱めると同時に、切断された NP の断片がグルタミン酸受容体の細胞外ドメインに結合することにより、受容体の細胞内取り込みを促進するというモデルを提唱している。

4. 脳疾患と細胞外プロテオリシス

先述したように、neurotrypsin は精神遅滞疾患 (mental retardation) との関連が報告されている²⁸⁾。また ADAMTS14 の遺伝子変異は多発性硬化症 (multiple sclerosis) に関連することが報告されている³¹⁾。ただし、これらの疾患が、神経可塑性の異常に起因するののかという点については議論の余地がある。一方、MMPs については、ダウン症候群患者の脳内で MMP-2 や MMP-9 の活性が上昇しているという報告はあるものの、その遺伝子変異と精神疾患との因果関係は報告がない。一つの可能性として、複数の MMPs

が脳内の同じ部位に発現しているため、機能的に相補しているのかもしれない。

一部の MMPs や ADAM プロテアーゼは、脳虚血やてんかん等により局所的な脳傷害に陥った際に、一過的な発現上昇が起きる²³⁾。たとえば MMP-9 は、24 時間以内に急速な発現上昇が起こり、その後、数日間に渡り高いレベルが維持される。MMP-9 や MMP-12 のノックアウトマウスでは、野生型と比較して脊髄損傷の治癒が促進されることから、外傷部位や梗塞部位における MMPs の誘導は、むしろ病状の増悪化を招いている可能性が考えられる。興味深いことに、脳虚血やてんかん発作を起こした患者の脳内では、傷害部位の錐体細胞 (pyramidal neuron) の形態異常が頻繁に観察される。とくに顕著な異常は、樹状突起の異常な伸長や分岐である^{32,33)}。MMPs との関係は不明であるが、虚血やてんかん発作が引き金となって、異所的に誘導された MMPs が、周辺の ECM を分解することにより、神経突起の異常なリモデリングを引き起こしている可能性が指摘されている³⁴⁾。

5. 神経再編機構の解析モデルとしてのショウジョウバエ

ここまで述べてきたように、ECM と神経可塑性に関する研究は、大部分がマウスやラットなどの高等動物をモデルとして進展してきた。その一方で、ショウジョウバエなどの分子遺伝学的手法と *in vivo* イメージングにすぐれたモデル生物を導入することにより、新たな研究の潮流が生まれつつある。その一例として、以下に私達の研究を紹介したい。

ショウジョウバエは変態動物であり、幼虫期から蛹を経て成虫へと変態する。このとき、脳神経系も大きくリモデリングすることが知られている³⁵⁾。私達は、ショウジョウバエ感覚神経系をモデルとして、樹状突起の形成・維持を制御する分子基盤の網羅的同定を行ってきた^{36,37)}。その過程において、腹部に位置する体性感覚ニューロンの樹状突起が、ハエ成虫が羽化してから 24 時間以内に、放射状からあみだくじ状へと劇的にリモデリングすることを見出した³⁸⁾。詳細なタイムラプス観察を行ったところ、樹状突起リモデリングの過程では、既存の樹状突起の切断や退縮はほとんど見られず、放射状の樹状突起がそのままあみだくじ状へと再配置されることが明らかになった (図 4)。従来、樹状突起リモデリングは、主として突起の切断・退縮に依存すると考えられており、私達が見出した「樹状突起の再配置」は、新規なリモデリング機構であると考えられた。

続いて、樹状突起リモデリングを制御する分子基盤を明らかにするために、ショウジョウバエ変異体の網羅的スクリーニングを行ったところ、GPI アンカー型の MMPs である Mmp2 の機能欠損変異体では樹状突起リモデリング

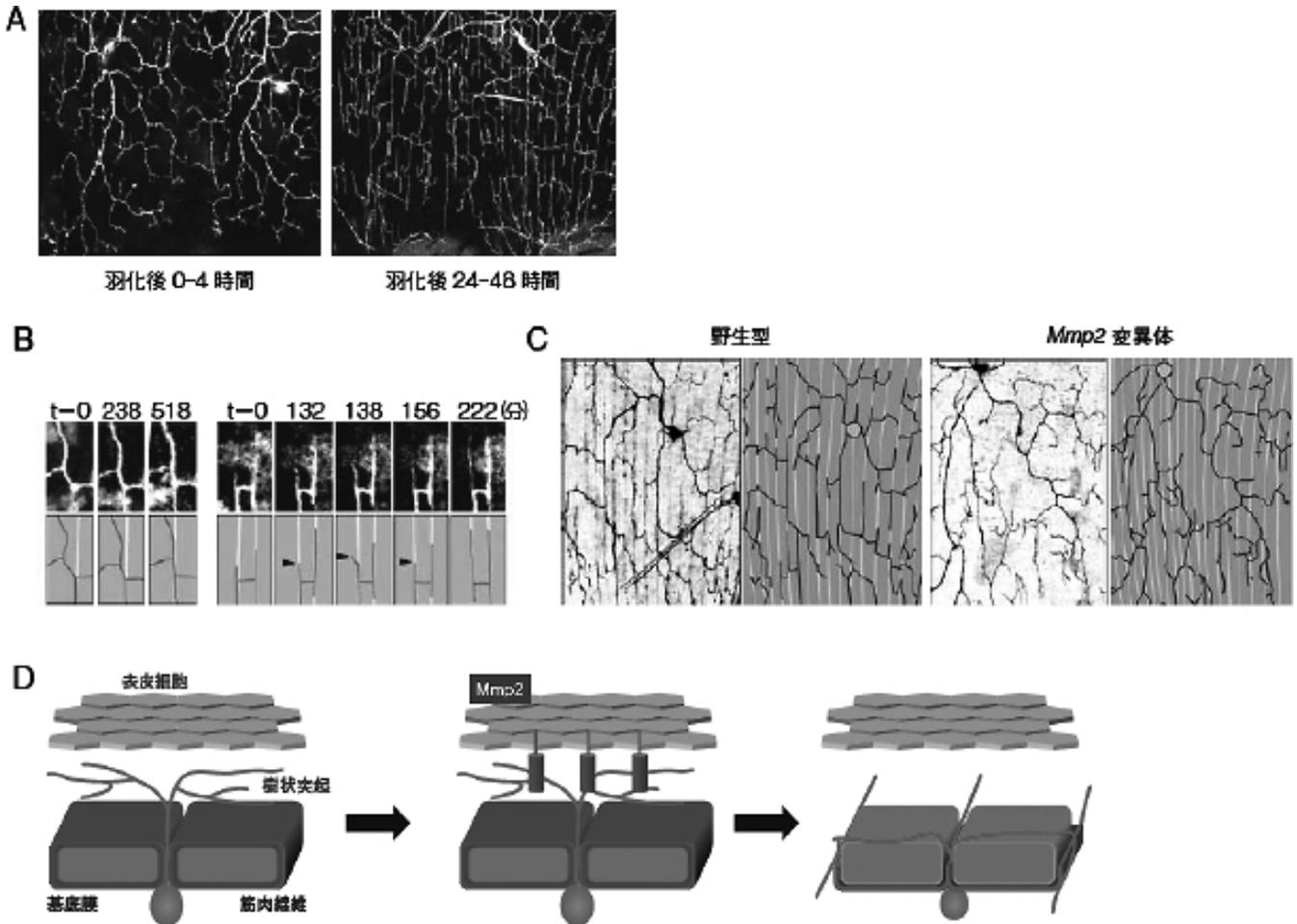


図4 MMP 依存的な感覚ニューロンの樹状突起リモデリング

(A) 腹部感覚ニューロン樹状突起のリモデリング。樹状突起は羽化後 24 時間以内に放射状からあみだくじ状へと再配置される。
 (B) リモデリング過程における樹状突起の動き。右；樹状突起の先端部が筋肉に沿って伸長していく。溝の外側に伸びた先端部は退縮する（矢頭）。左；樹状突起の中央部が筋肉間の溝へスライドしていく。模式図は上段のトレースに筋肉線維を合わせて表示したもので、白線は筋肉間の溝の位置を示す。
 (C) *Mmp2* 変異体に見られるリモデリング異常。模式図は左のトレースに筋肉線維を合わせて表示したもので、白線は筋肉間の溝の位置を示す。Yasunaga et al: Dev Cell (2010) より改変
 (D) 樹状突起リモデリングの作動モデル。表皮細胞で時期特異的に発現する *Mmp2* に依存して基底膜が局所で分解されることがきっかけとなり、樹状突起の先端部は溝に沿って突起を伸ばし、中央部は筋肉間の溝へスライドする。

が著しく抑制されることを発見した (図4)。電子顕微鏡を用いて、ECM 構造を観察したところ、樹状突起リモデリングが誘導される時期に先行して、表皮細胞層と筋線維層との間に位置する基底膜構造が特定の分解されることを見出した。これに対して *Mmp2* 変異体では、この基底膜の局所分解が全く起こらないことが明らかになった。腹部感覚ニューロンは、*Mmp2* により分解される基底膜の上に樹状突起を展開することから、*Mmp2* は感覚ニューロン樹状突起の「足場」である基底膜を局所分解することにより、樹状突起リモデリングを誘導している可能性が考えられた (図4)。

それでは *Mmp2* は、どのようにして時期および空間特異的な基底膜分解を達成しているのだろうか？ 私達の研

究から二つの巧妙なトリックがあることがわかった。一つ目のトリックは *Mmp2* の発現制御である。樹状突起リモデリング期における *Mmp2* の発現パターンを解析したところ、*Mmp2* は感覚ニューロン周辺の表皮細胞層において、一過的かつ局所的に発現誘導されることが明らかになった (図4)。二つ目のトリックは *Mmp2* タンパク質の構造にある。*Mmp2* は GPI アンカー型タンパク質であり、表皮細胞から発現した *Mmp2* 分子は、周囲に拡散することなく、そのまま表皮細胞表面に局在できる。この二つの仕組みにより、*Mmp2* は一過的かつ局所的な基底膜分解を可能としていたのである (図4)。

以上の研究から「樹状突起の再配置」という新たなリモデリング機構が明らかになった。今後、遺伝学的な解析モ

デルとして、遺伝子スクリーニング等を行うことにより、神経可塑性を制御する分子基盤や、MMPsが神経突起リモデリングを誘導するメカニズムを明らかにすることができるのではないかと期待している。

おわりに

神経可塑性を個体レベルで解析するためには、ノックアウト技術を中心とする遺伝学的アプローチが必須となるが、細胞外プロテアーゼ群の遺伝学的解析はしばしば困難に突き当たる。MMPsを例に挙げると、ほ乳類には25個以上のMMPs関連遺伝子が存在し、しかも複数のMMPs間で発現パターンや機能(基質)が重複するため、単純な遺伝子ノックアウトでは機能解析が難しい。これに対して、たとえばショウジョウバエゲノム上には、MMP遺伝子が二つ(*Mmp1*と*Mmp2*)しか存在しないことから、MMPsの遺伝学的機能解析に適したモデルであると考えられる。今後、さまざまなモデル動物の利点を生かした研究を行い、得られた情報から共通原理を抽出していく方法論が有効であると考えられる。一方で、神経回路の可塑的变化で起きる細胞外プロテオリシスは、限られた領域や少数のニューロンだけで進行することが多いため、生化学的なアプローチは困難となる。「いつ」「どこで」「なにが」切断を受けるのかを個体レベルでモニターできるイメージングシステムを構築することができれば、神経可塑性における細胞外プロテオリシスの意義がさらに明確になってくるであろう。

文 献

- Zimmermann, D.R. & Dours-Zimmermann, M.T. (2008) *Histochem. Cell Biol.*, **130**, 635-653.
- Zurn, A.D. & Bandtlow, C.E. (2006) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **557**, 54-76.
- Quaglia, X., Beggah, A.T., Seidenbecher, C., & Zurn, A.D. (2008) *Brain*, **131**, 240-249.
- Crespo, D., Asher, R.A., Lin, R., Rhodes, K.E., & Fawcett, J. W. (2007) *Exp. Neurol.*, **206**, 159-171.
- Galtrey, C.M. & Fawcett, J.W. (2007) *Brain Res. Rev.*, **54**, 1-18.
- Golgi, C. (1873) *Gazzetta Medica Italiana. Lombardia*, **33**, 244-246.
- Nakamura, M., Nakano, K., Morita, S., Nakashima, T., Oohira, A., & Miyata, S. (2009) *Brain Res.*, **1252**, 117-129.
- Nowicka, D., Soulsby, S., Skangiel-Kramaska, J., & Glazewski, S. (2009) *Eur. J. Neurosci.*, **30**, 2053-2063.
- Seidenbecher, C.I., Smalla, K.H., Fischer, N., Gundelfinger, E. D., & Kreutz, M.R. (2002) *J. Neurochem.*, **83**, 738-746.
- Hayashi, N., Miyata, S., Yamada, M., Kamei, K., & Oohira, A. (2005) *Neuroscience*, **131**, 331-348.
- Brakebusch, C., Seidenbecher, C.I., Asztely, F., Rauch, U., Matthies, H., Meyer, H., Krug, M., Bockers, T.M., Zhou, X., Kreutz, M.R., Montag, D., Gundelfinger, E.D., & Fassler, R. (2002) *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 7417-7427.
- Bruchner, G., Grosche, J., Schmidt, S., Hartig, W., Margolis, R.U., Delpech, B., Seidenbecher, C.I., Czaniara, R., & Schachner, M. (2000) *J. Comp. Neurol.*, **428**, 616-629.
- Pizzorusso, T., Medini, P., Berardi, N., Chierzi, S., Fawcett, J. W., & Maffei, L. (2002) *Science*, **298**, 1248-1251.
- Pizzorusso, T., Medini, P., Landi, S., Baldini, S., Berardi, N., & Maffei, L. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 8517-8522.
- Gogolla, N., Caroni, P., Luthi, A., & Herry, C. (2009) *Science*, **325**, 1258-1261.
- Frischknecht, R., Heine, M., Perrais, D., Seidendecker, C.I., Choquet, D., & Gundelfinger, E.D. (2009) *Nat. Neurosci.*, **12**, 897-904.
- Gundelfinger, E.D., Frischknecht, R., Choquet, D., & Heine, M. (2010) *Eur. J. Neurosci.*, **31**, 2156-2165.
- Krystosek, A. & Seeds, N.W. (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 7810-7814.
- Mataga, N. & Hensch, T.K. (2005) *Proteases in Biology and Disease Vol. 3*, pp. 271-301, SpringerVerlag, New York.
- Hensch, T.K. (2004) *Annu. Rev. Neurosci.*, **27**, 549-579.
- Mataga, N., Mizuguchi, Y., & Hensch, T.K. (2004) *Neuron*, **44**, 1031-1041.
- Oray, S., Majewska, A., & Sur, M. (2004) *Neuron*, **44**, 1021-1030.
- Yong, V.W. (2005) *Nature Rev. Neurosci.*, **6**, 931-944.
- Ethell, I.M. & Ethell, D.W. (2007) *J. Neurosci. Res.*, **85**, 2813-2823.
- Nagy, V., Bozdagi, O., Matynia, A., Balcerzyk, M., Okulski, P., Dzwonek, J., Costa, R.M., Silva, A.J., Kaczmarek, L., & Huntley, G.W. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 1923-1934.
- Wang, X., Bozdagi, O., Nikitczuk, J.S., Zhai, Z.W., Zhou, Q., & Huntley, G.W. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 19520-19525.
- Matsumoto-Miyai, K., Sokolowska, E., Zurlinden, A., Gee, C. E., Luscher, D., Hettwer, S., Wolfel, J., Ladner, A.P., Ster, J., Gerber, U., Rulicke, T., Kunz, B., & Sonderegger, P. (2009) *Cell*, **136**, 1161-1171.
- Molinari, F., Rio, M., Meskenaite, V., Encha-Razavi, F., Auge, J., Bacq, D., Briault, S., Vekemans, M., Munnich, A., Atti-Bitach, T., Sonderegger, P., & Colleaux, L. (2002) *Science*, **298**, 1779-1781.
- Didelot, G., Molinari, F., Tchenio, P., Comas, D., Milhiet, E., Munnich, A., Colleaux, L., & Preat, T. (2006) *Science*, **313**, 851-853.
- Cho, R.W., Park, J.M., Wolff, S.B.E., Xu, D., Hopf, C., Kim, J., Reddy, R.C., Petralia, R.S., Perin, M.S., Linden, D.J., & Worley, P.F. (2008) *Neuron*, **57**, 858-871.
- Goertsches, R., Comabella, M., Navarro, A., Perkal, H., & Montalban, X. (2005) *J. Neuroimmunol.*, **164**, 140-147.
- Spigelman, I., Yan, X.X., Obenaus, A., Lee, E.Y., Wasterlain, C.G., & Ribak, C.E. (1998) *Neuroscience*, **86**, 109-120.
- Raun, Y.W., Zou, B., Fan, Y., Li, Y., Li, N., Zheng, Y.S., Gao, T.M., Yao, Z., & Xu, Z.C. (2006) *Neuroscience*, **140**, 191-201.
- Szklarczyk, A., Lapinska, J., Rylski, M., McKay, R.D., & Kaczmarek, L. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 920-930.
- Truman, J.W. (1990) *J. Neurobiol.*, **21**, 1072-1084.
- Emoto, K., Parrish, J.X., Jan, L., & Jan, Y.-N. (2006) *Nature*, **443**, 210-213.
- Koike-Kumagai, M., Yasunaga, K., Kanamori, T., Morikawa, R., & Emoto, K. (2009) *EMBO J.*, **28**, 3879-3892.
- Yasunaga, K., Kanamori, T., Morikawa, R., Suzuki, E., & Emoto, K. (2010) *Dev. Cell*, **18**, 621-632.