

## 特集：刺激受容における相互作用の発現機構のメカニズム

中枢ニューロンのグルタミン酸受容体  
チャンネルの分子的多様性と機能

小澤 澗 司\*\*

(群馬大学医学部第二生理学教室)

## はじめに

グルタミン酸は、うま味をもたらす代表的な物質である。しかし同時にこの酸性アミノ酸は、脊椎動物の中枢神経系の大部分の興奮性シナプスで伝達物質としての役割を果たしており、近年シナプスの可塑性変化やニューロン死の発生と重要な関連をもつことが知られるようになった<sup>1-3)</sup>。グルタミン酸には3種類のイオンチャンネル型受容体と8種類のG蛋白質型受容体の存在が明らかにされているが<sup>4-6)</sup>、ここでは中枢ニューロンのイオンチャンネル型受容体すなわちグルタミン酸受容体チャンネル(以下Glu受容体チャンネルと略す)について、特にその機能的意義が明らかにされているN-メチル-D-アスパラギン酸(N-methyl-D-aspartic acid; NMDA)型受容体と $\alpha$ -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾルプロピオン酸( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid; AMPA)型受容体を中心にして、それらの分子的多様性と機能に関する最近の知見を概説したい。

## 1. グルタミン酸受容体チャンネルの分子的多様性

グルタミン酸と化学構造が類似していて、中枢ニューロンに対してグルタミン酸と同等またはそれ以上の強い興奮作用を示す構造制限型アナログに、NMDA、AMPA、カイニン酸(kainic acid)があ

り(図1)、これらの物質はGlu受容体チャンネルのうちの特定のものに特に高い親和性をもって結合してそれらを選択的に活性化するので、これらの物質によって活性化されるGlu受容体チャンネルをそれぞれ、NMDA型受容体、AMPA型受容体、カイニン酸型受容体と呼ぶ。すなわち、Glu受容体チャンネルは薬理的に3つのサブタイプに分類されることになる。1989年以来、NMDA型受容体、AMPA型受容体、カイニン酸型受容体を構成するサブユニット蛋白質のcDNAクローニングが行われ、現在までに表1に示すサブユニットのcDNAがクローン化されている<sup>4-6)</sup>。アセチルコリン受容体チャンネルの化学構造からの類推により、Glu受容体チャンネルはこれらのサブユニットの1ないし数種類が5量体を形成し

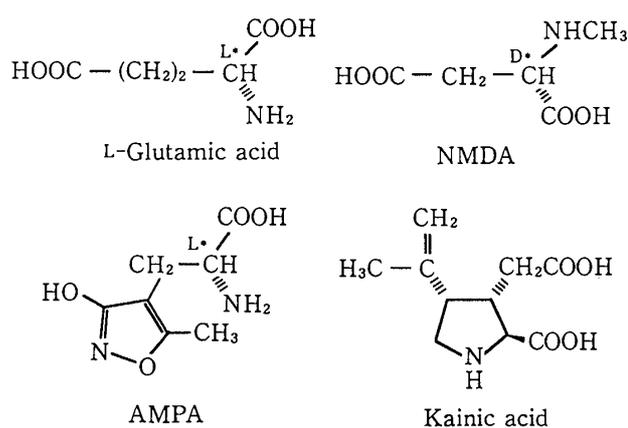


図1. グルタミン酸受容体チャンネルの分類の基準となった興奮性アミノ酸の化学構造。

\*平成8年7月10日受付

Molecular diversity and function of glutamate receptor channels in the central nervous system.

\*\*Seiji Ozawa: Department of Physiology, School of Medicine, Gunma University, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi 371 Japan

表1 グルタミン酸受容体チャネルのサブユニット

1. NMDA型
NRI ( $\xi 1$ )
NR2A, NR2B, NR2C, NR2D ( $\epsilon 1 \sim \epsilon 4$ )
2. AMPA型
GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 (GluR-A ~GluR-D, $\alpha 1 \sim \alpha 4$ )
3. カイニン酸型
GluR5, GluR6, GluR7 ( $\beta 1 \sim \beta 3$ )
KA-1, KA-2 ( $\gamma 1 \sim \gamma 2$ )

現在までにcDNAが単離されている14種類の受容体サブユニット。かつこのGluR-A~GluR-D, および $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\xi$ を用いた命名はそれぞれSeeburg, 三品による。

たものと考えられている。

NMDA型受容体、AMPA型受容体、カイニン酸型受容体のうち、前二者はシナプス下膜に存在し、興奮性シナプス伝達を担うことが確定しているが<sup>7-9</sup>、カイニン酸型受容体の機能については十分明らかにされていない。

## 2. NMDA型受容体

Glu受容体チャネルのもつ共通の性質は、グルタミン酸またはそのアナログにより活性化されると内在するイオンチャネルが開き、陽イオンを透過させてニューロン膜を脱分極させることである。しかし、AMPA型受容体、カイニン酸型受容体が活性化されると内在するイオンチャネルが主として $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ に対する透過性を増大させるに対して（但し例外については次項で述べる）、NMDA型受容体が活性化されるとイオンチャネルは $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ に加えて $\text{Ca}^{2+}$ に対しても高い透過性を示す<sup>10-13</sup>。また、NMDA型受容体の活動は細胞外液中に生理的に存在する $\text{Mg}^{2+}$ によって強い抑制を受けるが、この $\text{Mg}^{2+}$ による抑制は膜電位レベルによって著しく異なり、膜電位が過分極するほど抑制の程度は強くなる<sup>14-15</sup>。後述するように、NMDA型受容体のもつ $\text{Ca}^{2+}$ に対する高い透過性及び $\text{Mg}^{2+}$ による膜電位依存性抑制はシナプス機能の可塑性変化の発現にきわめて重要な性質である。またNMDA型受容体のもう一つの重要な性質として、グルタミン酸やNMDAによってこの受容体を活性化するためには低濃度（ $1 \mu\text{M}$ 以下）のグリシンの存在が必要であ

ることがあげられる<sup>16</sup>。すなわち、NMDA型受容体にはグリシン結合部位があり、この部位にグリシンが結合することがNMDA型受容体チャネルの活性化の前提条件になっている。従って、一定濃度のグルタミン酸によるNMDA型受容体の活性化の程度はグリシン濃度に依存することになり、グルタミン酸とグリシンはNMDA型受容体の活性化に関して見かけ上相乗効果をもつ。

NMDA型受容体の活動を選択的に阻害する薬物は多数存在するが、その中でもNMDA型受容体の競合的阻害剤として2-アミノ-5-ホスホノバレリン酸 (2-amino-5-phosphonovaleric acid; APV)、非競合的阻害剤として、麻薬の一種であるフェンシクリジン (phencyclidine; PCP)、麻酔薬のケタミンが代表的な阻害剤である<sup>17</sup>。

NMDA型受容体を形成するサブユニットタンパク質には、基本となるNMDAR1 (NR1,  $\xi 1$ ) とこの基本サブユニットとヘテロオリゴマーをつくるNMDAR2A (NR2A,  $\epsilon 1$ )、NMDAR2B (NR2B,  $\epsilon 2$ )、NMDAR2C (NR2C,  $\epsilon 3$ )、NMDAR2D (NR2D,  $\epsilon 4$ ) の4種類、合計5種類のサブユニットの存在することが、中西、Seeburg、三品らにより明らかにされた<sup>4-6, 18-21</sup>。これらのサブユニットの脳内分布は、NR1は脳全体に広く分布するのに対して、NR2Aは大脳皮質、海馬、NR2Bは嗅球、大脳皮質、海馬、線状体、NR2Cは小脳顆粒細胞層、NR2Dは間脳、脳幹に主として分布する。NR1とNR2A-2Dのいずれかが組み合わされることにより、NMDA型受容体のアゴニスト、アンタゴニストに対する感受性の異なることが調べられており、NR2の分子的多様性はなんらかの機能的意義をもつことが予測されるが、その詳細は不明である。

NR1、NR2A-2Dはそれぞれ938、1464、1482、1250、1323のアミノ酸残基からなるタンパク質である。当初、他の神経伝達物質受容体チャネルと同様に4箇所の疎水性領域 (TMI-TMIV) は膜貫通領域であり、Glu受容体チャネルも、アセチルコリン受容体チャネルと同様に4回膜貫通型のサブユニットからなる受容体と考えられた。しかしその後N-glycosylation site およびアゴニスト結合部位の解析により、2番目の膜貫通領域と仮定されていたTMIIは、膜を貫通しているのではなく、細胞質側から膜内にヘヤピン状に陥入する部分であり、NMDA型受容体も含めてGlu受容体チャネルは3回膜貫

## 中枢ニューロンのグルタミン酸受容体チャネルの分子的多様性と機能

通型の受容体チャネルを形成するとする考えが有力になった (図 2 A)<sup>22-24</sup>。TMII 領域のアミノ酸配列は NMDA 型受容体の 2 価陽イオン ( $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ ) の透過性を決定しており、特に図 2 B の長方形の枠で囲んだ部位におけるアスパラギン (N) の存在が、NMDA 型受容体に高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性及び  $\text{Mg}^{2+}$  による膜電位依存性抑制という 2 つの重要な特性を付与している。すなわち、NR1 のアスパラギン (N) をアルギニン (R) に置換することにより  $\text{Ca}^{2+}$  透過性及び  $\text{Mg}^{2+}$  による膜電位依存性抑制は完全に消失する<sup>25-26</sup>。また NR1、NR2 の当該部位のアスパラギン (N) をグルタミン (Q) に置換することにより  $\text{Ca}^{2+}$  透過性の減少、 $\text{Mg}^{2+}$  による膜電位依存性抑制の消失がおこる<sup>25,27</sup>。

## 3. AMPA 型受容体

AMPA 型受容体はほとんど全ての中枢ニューロンに存在し、興奮性シナプス伝達を担う受容体チャネルである。この受容体を構成するサブユニットタンパク質には、GluR1、GluR2、GluR3、GluR4 の 4 種類があり、これらのサブユニットの発現実験によれば、GluR1-GluR4 を単独または種々の組み合わせで発現させた場合、形成されるホモメリック、またはヘテロメリック受容体はいずれもグルタミン酸、AMPA、カイニン酸のいずれに対しても反応した。しかし、培養ヒト胎児腎細胞の発現系を用いたアゴニストの結合実験によれば、発現した受容体は AMPA に対してきわめて高い親和性を示し、カイニン酸への親和性は AMPA の 1/1000 以下であった<sup>28</sup>。

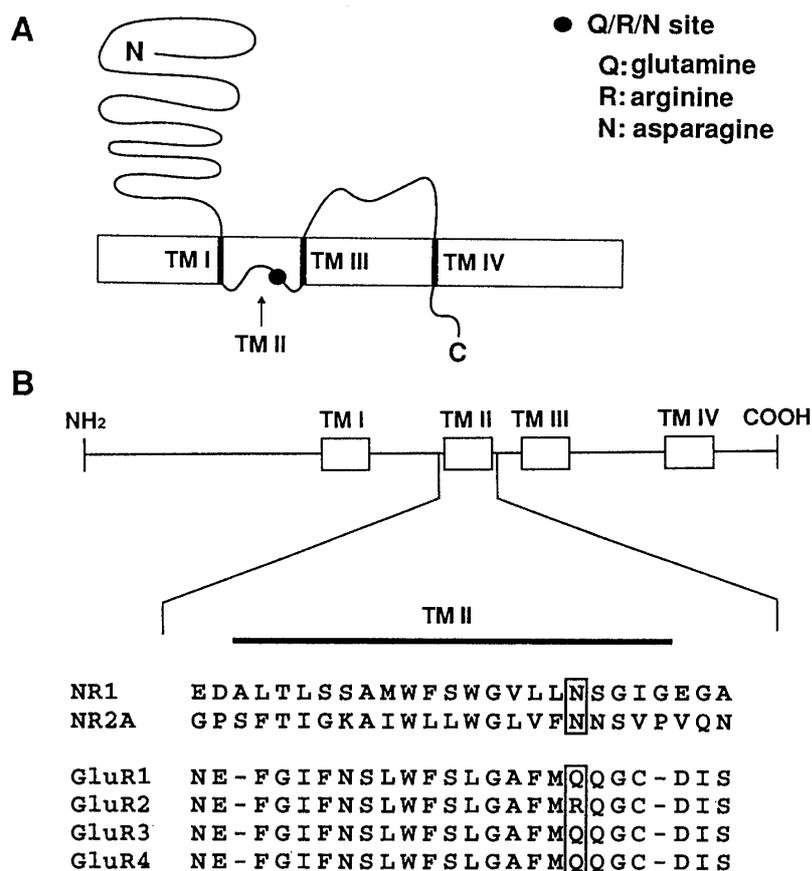


図 2. グルタミン酸受容体チャネルサブユニットの膜配置モデル (A) と TMII 領域のアミノ酸配列 (B)。

A の TMII 領域で (●) で示した部位 (B のアミノ酸配列では長方形で囲まれた部分) のアミノ酸がグルタミン (Q)、アルギニン (R)、アスパラギン (N) のいずれであるかにより、グルタミン酸受容体チャネルの 2 価陽イオンに対する透過性が決定される。この部位は Q/R/N site と呼ばれている。

GluR1-GluR4 は約 900 のアミノ酸残基からなる 10 kDa のタンパク質であり、相互に約 70% のアミノ酸配列の相同性をもつ<sup>5,6)</sup>。当初はこれらによって構成される受容体チャネルは主として  $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  に対して透過性を示し、 $\text{Ca}^{2+}$  透過性は示さないとされてきた。しかし、その後発現実験により、GluR2 以外の GluR1、GluR3、GluR4 を単独または種々の組み合わせで発現させた場合、受容体チャネルは内向き整流特性と高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性を示すが、これらのサブユニットが GluR2 を含むヘテロメリック受容体を形成する場合、内向き整流特性と  $\text{Ca}^{2+}$  透過性は失われる。AMPA 型受容体の整流特性と  $\text{Ca}^{2+}$  透過性は図 2 の TMII 領域にアルギニン (R) が存在するか否かによって決定されており、GluR2 のみがアルギニン (R) を有するのに対して、GluR1、GluR3、GluR4 の対応部位のアミノ酸はグルタミン (Q) である (図 2 B)<sup>5,6)</sup>。アルギニン (R) のもつ正電荷がチャネル孔のイオン透過に重要な影響を与えるものと考えられる。この部位は NMDA 型受容体サブユニットでは TMII 領域のアスパラギン (N) 存在部位に対応しており、ここが NMDA 型受容体、AMPA 型受容体で共通に 2 価陽イオンの透過性に決定的な役割を果たすので、特に Q/R/N site と呼ばれている (図 2 A)。

中枢神経系の大部分のニューロンには GluR2 が十分発現しており、これらのニューロンの AMPA 型受容体は外向き整流特性を示し、 $\text{Ca}^{2+}$  透過性をほとんどもたない。しかし海馬や大脳皮質の一部の介在ニューロンでは GluR2 がほとんど発現していないために、これらのニューロンの AMPA 型受容体は強い内向き整流特性と高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性を示す<sup>13,29,30)</sup>。またこれらのニューロンでは興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current; EPSC) はこの内向き整流特性と  $\text{Ca}^{2+}$  透過性をもつ AMPA 型受容体の活性化によって出現している<sup>31)</sup>。このように、ニューロン種により  $\text{Ca}^{2+}$  透過性などの点で機能的に異なる AMPA 型受容体が発現することの生理学的意義の解明は今後の研究課題である。

#### 4. 興奮性シナプス伝達と可塑性変化

中枢神経系の興奮性シナプス伝達は大部分がグルタミン酸を伝達物質とする glutamatergic synapse で行われている。これらのシナプス下膜には多くの

場合 AMPA 型受容体、NMDA 型受容体が高密度に共存し、シナプス前線維終末から放出されるグルタミン酸によって同時に活性化される。図 3 は、ラット海馬の CA 3/4 野と CA 1 野ニューロン間の興奮性シナプスを単層培養条件下で形成させ、GABA 受容体阻害剤である bicuculline 存在下で CA 3/4 野ニューロンの電気刺激によって CA1 野ニューロンに生じる EPSC を whole-cell voltage-clamp 法で記録したものである<sup>9)</sup>。図 3 A は  $\text{Mg}^{2+}$  除去液中の記録である。EPSC は半値幅が約 6 msec の速い成分と約 120 msec の遅い成分の 2 つから成り立っている。NMDA 型受容体を選択的に抑制する APV は EPSC の遅い成分のみを完全に抑制する。一方、AMPA 型受容体を抑制する 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX) は EPSC の速い成分のみを抑制する。また、図 3 B で細胞外液中に 1 mM  $\text{Mg}^{2+}$  を加えると、EPSC の遅い成分は膜電位依存性に抑制を受け、-80 mV ではほとんど消失する。EPSC の速い成分と遅い成分の電流値を膜電位に対してプロットすると、速い成分の電圧-電流関係はほぼ直線状であるのに対して、遅い成分では -20 mV と -80 mV の間で NMDA 型受容体の活性化に際して起こる特有の negative slope conductance が出現している (図 3 B)。これらのことから、EPSC の速い成分と遅い成分はそれぞれ AMPA および NMDA 型受容体の活性化による膜電流であると結論できる。

海馬の興奮性シナプスでは、長期増強 (long-term potentiation: LTP) という記憶の形成に必須と考えられている可塑的な性質のあることが知られている<sup>32)</sup>。LTP は海馬のいずれの興奮性シナプスでも報告されているが、とくに CA 3 野の錐体細胞から発する Schaffer 側枝と交連線維 (commissural fiber) の刺激によって CA 1 錐体細胞に発生する興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potential: EPSP) の LTP の発現機序に関する研究は AMPA および NMDA 型受容体がシナプス下膜に共存することの機能的意義を理解する上で興味深い。

ラットまたはモルモットの海馬切片を用いた実験で、Schaffer 側枝/交連線維の電気刺激によりまず CA 1 錐体細胞から興奮性シナプス後電位 (EPSP) を記録し、次いでこの入力線維に強い高頻度刺激 (テタヌス、tetanus) を加えるとその後持続的に長期間 EPSP の振幅が増大する。この LTP の発現は

## 中枢ニューロンのグルタミン酸受容体チャネルの分子的多様性と機能

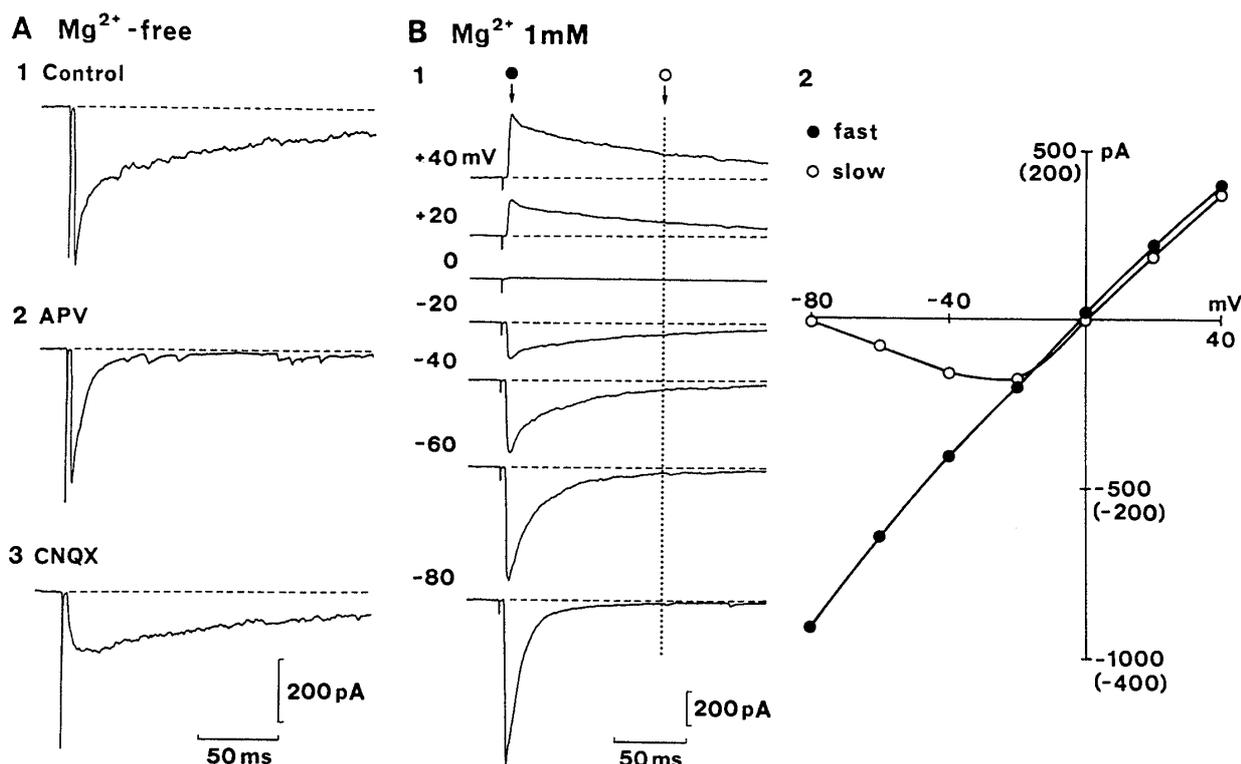


図3. 海馬ニューロンの興奮性シナプス後電流<sup>9)</sup>。

単層培養下のラット海馬のCA3/4野ニューロンの電気刺激によりCA1野ニューロンに生じたEPSCをwhole-cell voltage-clamp法で記録した。A: Mg<sup>2+</sup>除去溶液中で、膜電位を-60mVに固定して記録したもの。NMDA型受容体の阻害薬であるD型APV (100 $\mu$ M)投与によりEPSCの遅い成分が消失し(2)、AMPA型受容体阻害薬のCNQX (2 $\mu$ M)投与によりEPSCの速い成分が消失した(3)。B1: Mg<sup>2+</sup> 1mMを含む溶液中で、種々の膜電位レベルで記録したEPSC。遅い成分は膜電位依存性に抑制された。B2: B1のEPSCの速い成分のピーク値(●)と刺激後110msec(○)のEPSCの大きさを膜電位に対してプロットしたもの。縦軸のかっこ内の数字は(○)に対してのみ適用する。

NMDA型受容体の抑制物質であるAPVにより可逆的に抑制される。またLTPの発現にはテタヌ刺激によりシナプス後細胞のCa<sup>2+</sup>濃度が増加することが必要であり、細胞内にあらかじめCa<sup>2+</sup>キレート剤を注入しておくとLTPは出現しない。これらの研究結果からLTPの発現機序について次のような推論が行われた。すなわちシナプス前線維が単発刺激を受けるとグルタミン酸が放出され、AMPA型受容体が活性化されてEPSPが生じる。このときNMDA型受容体も活性化されるが、弱い単発刺激でシナプス後ニューロンが十分脱分極しないのでNMDAチャンネルを流入するイオン電流はMg<sup>2+</sup>によって抑制される。しかし、多数のシナプス前線維のテタヌ刺激により大きなEPSPが持続

的に生じた場合はこの脱分極によりMg<sup>2+</sup>による抑制が解除されてNMDAチャンネルを内向き電流が流れるようになる。NMDAチャンネルはCa<sup>2+</sup>に対して高い透過性をもつので細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇し、Ca<sup>2+</sup>依存性プロテインキナーゼの活性化などの生化学的過程を経て、以後持続的にAMPA型受容体の感受性が増大する<sup>33)</sup>。この推論によればLTPはシナプス後細胞の変化によって生じるものであり、これをシナプス後起源説と呼ぶことができる。これに対してCa<sup>2+</sup>依存性プロテインキナーゼの活性化により未知の逆行性伝達物質(retrograde messenger)が産生され、この物質がシナプス前部に作用して、その後シナプス前終末からのグルタミン酸の放出を持続的に促進するとするシナプス前起源説も提

出されている。以上のように海馬 CA1 野における LTP の発現には、NMDA 型受容体の活動が重要であるが、発現機序の詳細については今後の研究に待たなければならない<sup>34)</sup>。

## おわりに

中枢神経系ニューロンのグルタミン酸受容体チャネルの分子的多様性と機能について現在までの研究を概説した。これらの知見が、うまみ物質としてのグルタミン酸の受容機構、さらには末梢及び中枢神経系における味覚情報の処理機構の研究に少しでもヒントを与えるものとなれば幸いである。

## 参考文献

- 1) Mayer ML & Westbrook GL: *Prog. Neurobiol.* 28, 197-276 (1987)
- 2) Dingleline R et al.: *CRC Crit. Rev. Neurobiol.* 4, 1-96 (1988)
- 3) Monaghan DT et al.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29, 365-402 (1989)
- 4) Nakanishi S: *Science* 258, 597-603 (1992)
- 5) Seeburg PH: *Trends Neurosci.* 16, 359-365 (1993)
- 6) Hollmann M & Heinemann S: *Annu. Rev. Neurosci.* 17, 31-108 (1994)
- 7) Hestrin S et al.: *J. Physiol.* 422, 203-225 (1990)
- 8) Keller BU et al.: *J. Physiol.* 435, 275-293 (1991)
- 9) Ozawa S et al.: *Neurosci. Res.* 12, 72-82 (1991)
- 10) MacDermott AB et al.: *Nature* 321, 519-522 (1986)
- 11) Mayer ML & Westbrook GL: *J. Physiol.* 394, 501-527 (1987)
- 12) Ascher P & Nowak L: *J. Physiol.* 399, 247-266 (1988)
- 13) Iino M et al.: *J. Physiol.* 424, 151-165 (1990)
- 14) Nowak L et al.: *Nature* 307, 462-465 (1984)
- 15) Mayer ML et al.: *Nature* 309, 261-263 (1984)
- 16) Johnson JW & Ascher P: *Nature* 325, 529-531 (1987)
- 17) 小澤瀨司: *臨床麻酔* 18, 1697-1707 (1994)
- 18) Moriyoshi K et al.: *Nature* 354, 31-37 (1991)
- 19) Monyer H et al.: *Science* 256, 1217-1221 (1992)
- 20) Meguro H et al.: *Nature* 357, 70-74 (1992)
- 21) Kutsuwada T et al.: *Nature* 358, 36-41 (1992)
- 22) Hollmann M et al.: *Neuron* 13, 1331-1343 (1994)
- 23) Stern-Bach Y et al.: *Neuron* 13, 1245-1357 (1994)
- 24) Wo ZG et al.: *Trends Neurosci.* 18, 161-168 (1995)
- 25) Burnashev N et al.: *Science* 257, 1415-1419 (1992)
- 26) Sakurada K et al.: *J. Biol. Chem.* 268, 410-415 (1993)
- 27) Mori H et al.: *Nature* 358, 673-675 (1992)
- 28) Keinänen K et al.: *Science* 249, 556-560 (1990)
- 29) Bochet P et al.: *Neuron* 12, 383-388 (1994)
- 30) Jonas P & Burnashev N: *Neuron* 15, 987-990 (1995)
- 31) Isa T et al.: *J. Physiol.* 491, 719-733 (1996)
- 32) Bliss TVP & Lømo T: *J. Physiol.* 232, 331-356 (1973)
- 33) Collingridge GL & Bliss TVP: *Trends Neurosci.* 10, 288-293 (1987)
- 34) Bliss TVP & Collingridge GL: *Nature* 361: 31-39 (1993)

## 略歴

昭和40年3月 東京大学医学部医学科卒業  
 昭和47年9月 東京大学医学部脳研究施設生理学部門助手  
 昭和48年4月 自治医科大学第一生理学教室講師  
 昭和50年6月 自治医科大学第二生理学教室助教授  
 昭和59年9月—現在 群馬大学医学部第二生理学教室教授