

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08186

研究課題名(和文)小脳が担う認知・情動機能の解明

研究課題名(英文)How does the cerebellum work during cognitive and emotional tasks?

研究代表者

幸田 和久 (Kohda, Kazuhisa)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：40334388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、小脳が認知や情動に寄与することが注目されている。その神経回路とメカニズムを解明するため、Cbln1欠損マウスを用いて検討を行った。Cbln1は小脳顆粒細胞に強く発現するが、in situ hybridizationや免疫組織化学的解析により、前脳にも微弱だが有意な発現を認めた。そこで、前脳及び小脳特異的Cbln1欠損マウスを作成して解析を進めたところ、前者では文脈及び手掛り依存的恐怖条件付けに障害があったが、後者では手掛り依存的恐怖条件付けのみが障害されていた。Cbln1は平行線維-プルキンエ細胞シナプスの形成と可塑性を担うことから、この回路が恐怖条件付けに関与することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that the cerebellum is involved in higher brain function, such as cognition and emotion, as well as motor coordination and motor learning. We investigated whether the cerebellum worked during fear conditioning using Cbln1-null mice. It is already known that Cbln1 is predominantly expressed in cerebellar granule cells. Our detailed studies showed its weak, but significant expression in some forebrain regions. To differentiate the roles of cerebellar Cbln1 from those in the forebrain, we generated forebrain-specific (FB) and cerebellum-specific (CB) Cbln1-null mice. While the FB mice indicated reduced freezing in cued and contextual fear conditioning, only cued fear conditioning was blunted in the CB mice. The results suggest that cerebellar circuits that include parallel fiber-Purkinje cell synapses should be involved in cued fear conditioning.

研究分野：神経科学

キーワード：小脳 恐怖条件付け Cbln1

1. 研究開始当初の背景

従来、小脳は運動学習や協調運動の中核とされてきたが、小脳損傷や変性疾患の患者の観察、さらに近年のイメージング研究などから、小脳は運動性の機能に加え、認知、言語、情動などの非運動性機能を有することが示唆されている。またげっ歯類においても、プルキンエ細胞を含む小脳神経回路が運動機能のみならず、社会性、空間認知、情動などの脳高次機能に関与していることが示されているが、シナプスや回路レベルの研究に乏しく、そのメカニズムについては不明な点が多い。

2. 研究の目的

我々は、小脳顆粒細胞軸索（平行線維）ープルキンエ細胞シナプスに強く発現するグルタマ2グルタミン酸受容体（GluD2）とそれに結合する *Cbln1* の機能について研究を進め、これらが同シナプスの形成・維持と可塑性に必須の役割を果たしていることを明らかにしてきた。

そこで本研究では、これらのノックアウトマウスを小脳神経回路異常のモデルとして利用することで、小脳の関与する非運動性機能のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

Cbln1 ノックアウトマウス及びそれらの前脳特異的、小脳特異的ノックアウトマウスを用いて、恐怖条件付け、放射状水迷路、オープンフィールドテスト、ローターロードテストを行った。

前脳特異的 *Cbln1* ノックアウトマウスは *Cbln1 flox/flox* マウスと *Camk2a-Cre* マウスを交配して作成。小脳特異的 *Cbln1* ノッ

クアウトマウスは *Cbln1 flox/flox* マウスと *Grin2C-Cre* マウスの交配により作成した。*Cbln1* の脳内発現を詳細に検討するために、*in situ hybridization* 及び免疫組織化学的染色を行った。

4. 研究成果

Cbln1 欠損マウスを用いて、恐怖条件付けの解析を行った。*Cbln1* の欠損マウスは、恐怖条件付けの獲得に障害が見られ、文脈依存的及び手掛り依存的恐怖条件付けの双方が障害されていた。

Cbln1 は小脳顆粒細胞に圧倒的に強く発現する分泌タンパク質であるが、*in situ hybridization* 及び免疫組織化学的に詳細に再検討すると、小脳以外にも前脳に微弱ながら有意な発現が見られた。即ち、海馬網状分子層、歯状回顆粒層、脳梁膨大部後部皮質、帯状回などである。

そこで、前脳特異的及び小脳特異的 *Cbln1* 欠損マウスを作成して、これらのマウスの恐怖条件付け検討した。前脳特異的 *Cbln1* 欠損マウスでは、文脈、手掛り依存的恐怖条件付け双方に障害が見られたが、小脳特異的欠損マウスでは、手掛り依存的恐怖条件付けのみが障害されていた。また、前脳特異的 *Cbln1* ノックアウトマウスでは、放射状水迷路学習に障害が見られた。同ノックアウトマウスにおいて、オープンフィールドテスト及びローターロードテストの障害は見られなかったが、小脳特異的 *Cbln1* ノックアウトマウスでは *Cbln1* ノックアウトマウスと同様に、その運動障害を反映して、明らかな異常が見られた。

これらの所見は、げっ歯類においても小脳が運動以外の学習に関与していること、そして、*Cbln1* は平行線維ープルキンエ細胞シナプスの形成およびその可塑性に関与していることから、この回路が恐怖条件付け

に
関与することを示している。また、前脳
に
発現する Cbln1 は空間学習に関与するこ
とも示唆された。

以上の成果は The Journal of Neuroscience に
発表し、同誌の featured article でも紹介さ
れた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者
には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Otsuka S, Konno K, Abe M, Motohashi J,
Kohda K, Sakimura K, Watanabe M, Yuzaki
M.

Roles of Cbln1 in Non-Motor Functions of
Mice *Journal of Neuroscience* 36:
11801-11816, 2016 (Featured Article) 査
読有

[学会発表] (計 件)

[図書] (計 1 件)

① Kohda K, Kakegawa W, Yuzaki M.
Delta Glutamate Receptor.
Encyclopedia of Signaling Molecules 2nd ed.
(Choi S. eds.), Springer, New York, 1345-
1352, 2017

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

幸田 和久 (KOHDA, Kazuhisa)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 4 0 3 3 4 3 8 8

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

鈴木 邦道 (SUZUKI, Kunimichi)

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号 : 1 0 7 1 3 7 0 3

田中 謙二 (TANAKA, Kenji)

慶應義塾大学・医学部・特任准教授

研究者番号：30329700

(4)研究協力者

()