

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 20 日現在

機関番号：38005
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23700411
 研究課題名（和文） 大脳基底核におけるトポグラフィック神経回路の発達を担う分子基盤の解明
 研究課題名（英文） Molecular basis for development of topographic cortico-basal ganglia circuit
 研究代表者
 星名 直祐（HOSHINA NAOSUKE）
 沖縄科学技術大学院大学・細胞シグナルユニット・研究員
 研究者番号：60598514

研究成果の概要（和文）：

大脳皮質 - 大脳基底核神経回路には、並列回路的に情報処理を行うトポグラフィックな神経回路が存在する。本研究では、 $\delta 2$ プロトカドヘリンファミリーに属する *protocadherin 17* (*PCDH17*) が、皮質 - 基底核回路に沿ってトポグラフィックな発現パターンを示し、回路内のシナプス部位においてシナプス発達を制御していることを見出した。さらに、*PCDH17* 欠損マウスが抑鬱様行動になりにくいという表現型を見出した。

研究成果の概要（英文）：

Highly topographic organization of neural circuits exists for the regulation of various brain functions in cortico-basal ganglia circuits. We show that protocadherin 17 (*PCDH17*), one of the non-clustered $\delta 2$ -protocadherin family members, is enriched along cortico-basal ganglia synapses in a topographic manner, and regulates synaptic development in these synapses. Furthermore, *PCDH17* knockout mice exhibit antidepressant-like phenotypes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学 神経解剖学・神経病理学

キーワード：分子神経生物学 大脳基底核 神経回路 シナプス

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系における神経回路は、多様な神経細胞が正しくシナプス結合することにより構築される。大脳基底核を介した神経回路は運動制御、感覚機能、認知機能、情動、動機づけや報酬学習など様々な脳高次機能を司る回路として位置づけられており、大脳皮質→大脳基底核（線条体→淡蒼球/黒質）→視床を通るループ回路を形成している。このような異なる脳機能を実行するためには、基底核内に並列処理回路が存在することが示唆されており、神経解剖学的に回路内の位置情報を保持したトポグラフィックな神経回路によって具現化されると考えられている。また、皮質 - 基底核回路の破綻は、パーキンソ

ン病、強迫神経症、統合失調症、鬱病などの様々な病的症状を引き起こすことが知られている。従って、皮質 - 基底核での正確な神経回路トポグラフィックと、各々の神経回路でのシナプス制御を解明することは、固有の脳機能の制御機構を理解するだけでなく、神経・精神疾患への臨床応用にも繋がると考えられた。

トポグラフィックな皮質 - 基底核回路の機能的構築には、神経回路特異的なシナプス発達とその調節が必要である。近年の研究から、個々の神経回路のシナプス発達には様々なシナプス相互作用分子が重要であることが示唆されていた。中でも、プロトカドヘリンを含むカドヘリンスーパーファミリーは、

個々の分子が異なるタイプの神経細胞に発現しており、シナプス特異的な相互作用に関与する重要な分子であると考えられていた。さらに、高い結合選択性を持つカドヘリンとその細胞内結合タンパク質であるカテニンとの複合体は、プレ及びポストシナプスの発達に必要であることが明らかとなっていた。プレシナプスにおける役割としては、N-カドヘリンやβカテニンの欠損神経細胞において、シナプス小胞がプレシナプス末端へ集積することに異常が見られ、カドヘリン-カテニン複合体がこのプロセスに重要であることが示唆されていた。しかしながら、プロトカドヘリンファミリーを含むいくつかのカドヘリンファミリーメンバーが大脳基底核において発現していることは報告されているものの、神経回路特異的なシナプス発達の役割やその生理的な意義については不明であった。

2. 研究の目的

本研究の発端として、特異的な神経回路の新たなシナプス発達機構を明らかにすることを目的として、未解析のプロトカドヘリンメンバーであるプロトカドヘリン 17 (PCDH17) を起点とした解析を行っていた。PCDH17 はマウス大脳基底核における神経回路内でゾーン特異的な発現パターンを示し、さらに、同ファミリー分子のプロトカドヘリン 10 (PCDH10) と完全に相補的な発現パターンを示すことを見出していた。また、PCDH17 と PCDH10 は、各々がホモフィリックな結合をするが、相互にはヘテロフィリックな結合をしないことを明らかにしていた。これらの結果を踏まえて、PCDH17 と PCDH10 の相補的な発現パターン及び選択結合性が、前述の大脳基底核におけるトポグラフィックな神経回路の概念に合致するものであると考え、両分子がこのトポグラフィックな神経回路のシナプス発達に重要な役割を果たすという作業仮説を立てた。従って、本研究では、「PCDH17 と PCDH10 を基盤とした大脳基底核におけるトポグラフィックな神経回路のシナプス発達機構」という課題に対して、分子細胞生物学的手法に加え、神経形態学、電気生理学、行動学的手法を用いた多面的アプローチによって解明することを目指した。

3. 研究の方法

大脳基底核のトポグラフィックな神経回路の発達過程において、PCDH17 と PCDH10 がシナプス接着分子として、どのような局面に重要であるかを検討する。具体的には遺伝子改変マウスを用いた *in vivo* 解析を中心的

に行い、以下の4点を中心に解析を行う計画であった。

- (1) PCDH17 及び PCDH10 に規定される大脳基底核内のトポグラフィックな神経回路の可視化
- (2) PCDH17 及び PCDH10 タンパク質の大脳基底核におけるシナプス部位への局在の検討
- (3) PCDH17 欠損マウス、PCDH10 条件型欠損マウスの大脳基底核におけるシナプス形態解析
- (4) PCDH17 欠損マウス、PCDH10 条件型欠損マウスの大脳基底核における電気生理学的解析
- (5) PCDH17 欠損マウス、PCDH10 条件型欠損マウスの行動学的解析

4. 研究成果

PCDH17 に関して 1~5 までの解析を行った。

- (1) PCDH17 に規定される大脳基底核内のトポグラフィックな神経回路の可視化

PCDH17 はマウス脳内において線条体では前方、淡蒼球外節及び内節においては内側、さらに黒質網様部においては後方で発現しており、大脳基底核内で領域特異的な発現パターンを示すことを見出していた。また、PCDH17 発現神経細胞を検討したところ、PCDH17 は大脳皮質の神経細胞においても強く発現していた。その発現パターンは内側前頭前皮質が最も高く、帯状皮質や運動野では高い発現、体性感覚野やより後方の大脳皮質では中程度から弱い発現であった。また、これらの脳領域の解剖学的な連結について、神経トレーサーを用いた検討を行った。その結果、内側前頭前皮質は前方線条体と連結しており、前方線条体は淡蒼球外節/内節の内側と黒質網様部の後方と連結していた。従って、PCDH17 は内側前頭前皮質→前方線条体→内側淡蒼球/後方黒質網様部の回路に沿って高く発現しており、言い換えると、皮質-基底核回路に沿ってトポグラフィックな発現様式を示し、その回路の可視化に成功した。さらに、霊長類の脳における PCDH17 の発現パターンも検討し、皮質-基底核回路においてマウス同様のパターンを示すことを見出した。

- (2) PCDH17 タンパク質の大脳基底核におけるシナプス部位への局在の検討

大脳基底核における PCDH17 の局在を検討するために、超解像顕微鏡法 (Structured illumination microscopy (SIM) 及び Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)) と免疫電子顕微鏡法による観察を行った。その結果、大脳皮質か

らの入力を受ける前方線条体の興奮性シナプス及び線条体の出力神経核の一つである淡蒼球内節の抑制性シナプスの両者において、*PCDH17* はペリシナプス部位に多く局在することを明らかにした。

(3) *PCDH17* 欠損マウスの大脳基底核におけるシナプス形態解析

組織学的解析から、*PCDH17* 欠損マウスの脳構造に大まかな異常は見られず、大脳基底核内の軸索投射の異常も観察されなかった。また、皮質 - 基底核回路におけるトポグラフィック回路を解析するために、神経トレーサーを用いて検討したところ、*PCDH17* 欠損マウスにおいてはトポグラフィック回路自体の形成に異常は見られなかった。そこで、*PCDH17* 欠損マウスの大脳基底核内のシナプス形態を解析するために、電子顕微鏡を用いたシナプス観察を行った。*PCDH17* 欠損マウスの前方線条体の興奮性シナプスにおいて、シナプス密度、スパイン形態、シナプス間隙距離、シナプス後肥厚の大きさは野生型と同程度であったが、プレシナプス内のシナプス小胞の数が有意に増加していることを見出した。一方で、*PCDH17* の発現の低い後方線条体においてはプレシナプス内のシナプス小胞の増加は見られなかった。さらに、線条体出力神経核として淡蒼球内節の抑制性シナプスの形態観察も行った。淡蒼球内節においても *PCDH17* の発現の高い内側領域ではシナプス小胞の増加が観察されたが、発現の低い外側領域では野生型と同程度であった。以上の結果より、*PCDH17* は大脳基底核内のシナプスにおいて、領域特異的にシナプス小胞の集積を制御していることが示唆された。

(4) *PCDH17* 欠損マウスの大脳基底核における電気生理学的解析

PCDH17 の大脳基底核内におけるシナプス機能を解析するために、皮質 - 線条体シナプスの電気生理学的解析を行った。*PCDH17* 欠損マウスでは、前方線条体神経細胞の微小興奮性シナプス後電流やポストシナプスの受容体の特性に異常は見られなかった。そこで、シナプス小胞の動的プロセスを反映させるために、皮質 - 線条体シナプスの反復刺激に伴うシナプス応答の検討を行った。その結果、野生型では反復刺激に伴い応答が減少するが、*PCDH17* 欠損マウスではその減少が有意に起きにくくなっていることを見出した。このことより、*PCDH17* 欠損マウスではプレシナプス小胞の集積が増加することにより、シナプス伝達効率の亢進が起きていることが示唆された。

5. *PCDH17* 欠損マウスの行動学的解析

PCDH17 欠損マウスの行動異常を検討す

るために、種々の脳機能を評価する行動バッテリー試験を行った。その結果、抑鬱様行動のモデル試験として用いられる尾懸垂試験と強制水泳試験において、*PCDH17* 欠損マウスでは野生型マウスに比べて無動時間が有意に減少していることを見出した。このことは、*PCDH17* 欠損マウスがストレス状況化において鬱状態になりにくいことを示唆していた。一方で、*PCDH17* 欠損マウスでは自発的行動量、不安行動、恐怖条件付け、驚愕反応などの異常は観察されず、抑鬱様行動に特異的に関与している可能性が示唆された。

まとめ

PCDH17 は皮質 - 基底核回路においてトポグラフィックな神経回路に発現しており、基底核内の領域特異的なシナプスにおいて、シナプス小胞集積とシナプス伝達効率を制御していると結論付けた。さらに、*PCDH17* 欠損マウスが抑鬱様行動に関与していることを見出し、*PCDH17* が発現しているトポグラフィックな皮質 - 基底核神経回路の機能的役割の一つを示した。

一方で、当初の計画は *PCDH17* と *PCDH10* の両分子の大脳基底核におけるトポグラフィック神経回路の役割を解析する予定であったが、*PCDH10* に関しては行うことができなかった。そのため、*PCDH10* の役割に関しては今後の課題として残された。

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)

Naosuke Hoshina, Asami Tanimura, Miwako Yamasaki, Takeshi Inoue, Ryoji Fukabori, Teiko Kuroda, Kazumasa Yokoyama, Tohru Tezuka, Hiroshi Sagara, Shinji Hirano, Hiroshi Kiyonari, Masahiko Takada, Kazuto Kobayashi, Masahiko Watanabe, Masanobu Kano, Takanobu Nakazawa, Tadashi Yamamoto
Protocadherin 17 regulates presynaptic assembly in topographic corticobasal ganglia circuits.
Neuron, 78, 839-854 (2013) 査読有

[学会発表] (計1件)

星名 直祐, A role of protocadherin 17 in presynaptic assembly of cortico-basal ganglia circuit neurons, 第34回日本分子生物学会年会 (BMB 2011)、2011年12月13日、横浜

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他] (計1件)

星名 直祐、山本 雅、プロトカドヘリン17
は大脳皮質-大脳基底核神経回路において前
シナプスの構築を制御する、ライフサイエ
ンス 新着論文レビュー、2013年6月12日
[http://first.lifesciencedb.jp/archives/
7248](http://first.lifesciencedb.jp/archives/7248)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

星名 直祐 (HOSHINA NAOSUKE)
沖縄科学技術大学院大学・細胞シグナルユ
ニット・研究員
研究者番号：60598514

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

山本 雅 (YAMAMOTO TADASHI)
沖縄科学技術大学院大学・細胞シグナルユ
ニット・教授
研究者番号：40134621

中澤 敬信 (NAKAZAWA TAKANOBU)
東京大学・医学系研究科・特任講師
研究者番号：00447335

狩野 方伸 (KANO MASANOBU)
東京大学・医学系研究科・教授
研究者番号：40185963

渡辺 雅彦 (WATANABE MASAHIKO)
北海道大学・医学系研究科・教授
研究者番号：70210945

小林 和人 (KOBAYASHI KAZUTO)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：90211903

高田 昌彦 (TAKADA MASAHIKO)
京都大学・霊長類研究所・教授
研究者番号：00236233

(4) 研究協力者

平野 伸二 (HIRANO SHINJI)
高知大学・医歯学系・准教授
研究者番号：80222248