

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790185

研究課題名(和文) プルキンエ細胞体における登上線維シナプス除去機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of climbing fiber synapse elimination at the developing Purkinje cell bodies

研究代表者

宮崎 太輔 (Miyazaki, Taisuke)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90374230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：プルキンエ細胞(PC)細胞体では登上線維(CF)シナプスの除去が進行する一方で、バスケット細胞(BC)やルガロ細胞(LC)などの抑制性介在ニューロンの成熟化が進む。しかし両者の機能的な因果関係については不明であった。本研究では抑制性ニューロン成熟過程におけるCFシナプス除去の観察を行い、中枢神経回路における「特定の細胞内ドメインで起こる興奮性入力と抑制性入力による競合」の証明を目的として行われた。レンチウイルスやGFP発現モデルマウスを用いた解析を行ったところ、PC細胞体におけるCF終末がBC軸索によって排除され、PC細胞体直下のLCへと引き継がれることを示唆する所見が得られた。

研究成果の概要(英文)：In the developing cerebellum, climbing fiber (CF)-Purkinje cell (PC) synapses are eliminated from PC cell bodies, while the maturation of inhibitory interneurons such as basket (BC) or Lugaro cells (LC) proceeds. It has been unclear whether these excitatory and inhibitory inputs are directly correlated or not. In the present study, we investigated the process of CF-PC synapses elimination from PC cell bodies when the inhibitory interneurons are functionally disrupted. By analyses using with lentivirus and GFP-expressing reporter mouse, we found that somatic CF terminals were expelled by developing BC axons. In contrast to PC somata, CF terminals beneath PC layer increased in number during the second postnatal week, and CFs from multiple neuronal origins were found to innervate the somatodendritic domain of single LCs. Thus, the elimination of somatic CFs appears to proceed with the differentiation of inhibitory neuronal elements.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般(含組織学・発生学)

キーワード：プルキンエ細胞

1. 研究開始当初の背景

登上線維-小脳プルキンエ細胞投射系では細胞体での線維間競合を経て、単一の優勢線維による樹状突起支配が確立する。細胞体では登上線維シナプスの除去が進行する一方で、バスケット細胞による抑制性独占的支配が形成されるが、両者の機能的な因果関係については未だ不明であった。さらに発達期小脳ではプルキンエ細胞直下の顆粒細胞層において除去過程の登上線維終末が観察され、抑制性介在ニューロンルガ口細胞と近接している様子が観察されている。

2. 研究の目的

本研究では発達期プルキンエ細胞での抑制性ニューロンの関係に着目し、抑制性ニューロン機能障害下における登上線維シナプス除去過程の解析を行い、中枢神経回路における「特定の細胞内ドメインで起こる興奮性入力と抑制性入力による競合」の実験的な証明を目的として行う。

3. 研究の方法

レンチウイルスや GFP 発現モデルマウスを用いた抑制性介在ニューロンの可視化、神経標識法を用いた登上線維の可視化を行い、発達期小脳の観察を行った。

4. 研究成果

解析の結果以下の所見を得た。

(1) 発達期プルキンエ細胞体において登上線維終末の排除とバスケット細胞由来の抑制性神経終末の増加が相補的に起こっていることが定量的に示された。

(2) 発達期小脳ではプルキンエ細胞体とルガ口細胞が密着している様子が観察され、この傾向は発達が進むに連れて減少していった。

(3) 発達期小脳で一過性に見られるプルキンエ細胞-ルガ口細胞密着領域では登上線維終末が高頻度に観察された。

以上の所見はプルキンエ細胞体における登上線維終末がバスケット細胞軸索によって排除され、ルガ口細胞へと引き継がれることを示唆する所見であり、この研究成果は日本神経学会 Neuro2012, Neuro2013, 第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会で発表された。

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 7 件)

Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. Ohkawa T, Fukata Y, Yamasaki M, Miyazaki T, Yokoi N, Takashima H, Watanabe M, Watanabe O, Fukata M. *J Neurosci*. 2013 Nov 13;33(46):18161-74. (査読あり)

Disruption of cerebellar microzonal organization in GluR2 (GluR 2) knockout mouse. Hashizume M, Miyazaki T, Sakimura K, Watanabe M, Kitamura K, Kano M. *Front Neural Circuits*. 2013 Aug 20;7:130. (査読あり)

Kawakita I, Uchigashima M, Konno K,

Miyazaki T, Yamasaki M, Watanabe M. Type 2 K(+) -Cl(-) cotransporter is preferentially recruited to climbing fiber synapses during development and the stellate cell-targeting dendritic zone at adulthood in cerebellar Purkinje cells. **Eur J Neurosci.** 2013 Feb;37(4):532-43. (査読あり)

Kudo T, Uchigashima M, Miyazaki T, Konno K, Yamasaki M, Yanagawa Y, Minami M, Watanabe M. Three types of neurochemical projection from the bed nucleus of the stria terminalis to the ventral tegmental area in adult mice **J Neurosci.** 2012 Dec 12;32(50):18035-46. (査読あり)

Ito-Ishida A, Miyazaki T, Miura E, Matsuda K, Watanabe M, Yuzaki M, Okabe S. Presynaptically released Cbln1 induces dynamic axonal structural changes by interacting with GluD2 during cerebellar synapse formation. **Neuron.** 2012 Nov 8;76(3):549-64. (査読あり)

Iwakura A, Uchigashima M, Miyazaki T, Yamasaki M, Watanabe M. Lack of molecular-anatomical evidence for GABAergic influence on axon initial segment of cerebellar Purkinje cells by the pinceau formation. **J Neurosci.** 2012 Jul 4;32(27):9438-48. (査読あり)

Nakayama H, Miyazaki T, Kitamura K,

Hashimoto K, Yanagawa Y, Obata K, Sakimura K, Watanabe M, Kano M.

GABAergic inhibition regulates developmental synapse elimination in the cerebellum. **Neuron.** 2012 Apr 26;74(2):384-96. (査読あり)

[学会発表](計 3件)

Morphological analysis of cerebellar interneuron Lugaro cells using with GFP expressing transgenic mice line. Miyazaki T, Tanaka KF, Kohda K, Yuzaki M, Watanabe M. Neuro2013 (国立京都国際会館【京都】), 2013 6/20-23)

蛍光タンパク発現モデルマウスを用いた小脳ルガロ細胞の形態学
宮崎 太輔、山崎 美和子、渡辺 雅彦 (サンポート高松【香川】
2013年03月28日~2013年03月30日)

Elimination of somatic climbing fiber synapses proceeds with the differentiation of cerebellar interneurons.
Miyazaki T., Kohda K., Tanaka KF, Yuzaki M, Yanagawa Y., Watanabe M. 第35回日本神経科学大会 (名古屋国際会議場【愛知】
2012年09月18日~2012年09月21日)

[図書](計 件)

[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

宮崎 太輔 (MIYAZAKI TAISUKE)

北海道大学・医学研究科・助教

研究者番号：90374230

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：