

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 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：24790187

研究課題名(和文) NMDA受容体を介する興奮・抑制バランス依存的なバレル神経回路形成制御機構

研究課題名(英文) NMDA receptor-mediated excitation and inhibition balance is required for somatosensory development and maturation

研究代表者

山崎 美和子 (Yamasaki, Miwako)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：10431305

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)：本研究ではまず幼若および成体マウスのバレル回路でNMDA受容体の発現解析を行なった。その結果、バレル皮質と中継核の興奮性ニューロンにはNR2B、抑制性介在ニューロンにはNR2Dが相補的に発現していた。また、バレルの出現はNR2B+/-マウスで一日遅れ、NR2D-/-マウスでは逆に一日早まっていることがバレル皮質と中継核で確認された。臨界期終了も同じ挙動を示した。以上の結果、NR2Bは主に興奮性ニューロンで上行性の体性感覚処理に関わるシナプス強化を促進する「アクセル」の働きを持ち、NR2Dは抑制性の介在ニューロンでの修飾作用によりバレル形成を遅らせる「ブレーキ」として働く可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we compared functional roles of GluN2B and GluN2D in barrel development. Compared to control littermates, both the appearance of whisker-related patterning and the termination of critical period plasticity (CPP) were delayed by nearly a day in the somatosensory cortex of GluN2B+/- mice, but advanced by nearly a day in GluN2D-/- mice. Similar temporal shifts were also found at subcortical relay stations of the trigeminal pathway in both mice. By contrast, the magnitude of CPP in the barrel cortex was normal in both mice. Thus, GluN2B and GluN2D play counteractive roles in temporal development and maturation of barrels without affecting the magnitude of CPP. At each relay station, GluN2B was predominant at synapses of glutamatergic neurons while GluN2D was selective in GABAergic neurons. Taken together, these results indicate that GluN2B expressed in glutamatergic neurons facilitates somatosensory development, whereas GluN2D expressed in GABAergic neurons delays it.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：解剖学一般

キーワード：グルタミン酸受容体

1. 研究開始当初の背景

マウスの顔面に生える太いヒゲ(洞毛)からの感覚情報は脳幹の三叉神経主知覚核、視床 VPM 核を經由し、大脳皮質の一次体性感覚野の第4層に伝達される。ここには1本のヒゲからの情報を伝える軸索終末が1つのバレルと呼ばれる独立したクラスターを形成しており、生後1週目に神経活動依存的に形成される。また、ヒゲを抜き感覚を遮断すると、対応するバレルの大きさが縮小する一方で、その周辺のヒゲに対応するバレルが拡大する可塑的变化が起こる時期(臨界期)があることが知られている。これまでにバレル形成や臨界期可塑性に重要な分子として NMDA 受容体の必須サブユニットである NR1、代謝型グルタミン酸受容体 mGluR5 が重要であることが明らかになっている。しかしながらこれらの分子は、バレル神経回路内部の興奮性・抑制性のほぼ全ての細胞に発現している分子であり、抑制性および興奮性細胞特異的に発現する分子の役割、さらにはバレル神経回路内の興奮・抑制のバランスが果たす役割については不明なままである。

2. 研究の目的

バレル神経回路内の興奮・抑制のバランスがどのようにバレル形成や臨界期可塑性の時間特性や振幅に影響を与えるかは未だ不明である。本研究では興奮性および抑制性ニューロンそれぞれに選択的な NMDA 受容体を探索し、その欠損による機能・形態変化の解析を通じ、興奮・抑制バランス依存的なバレル神経回路形成制御機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 発達期および成熟動物のバレル神経回路において興奮性、抑制性回路に選択的に発現する NMDA 型グルタミン酸受容体サブユニットの同定

野生型マウスを用いた蛍光多重 ISH による発現解析

NMDA 受容体およびマーカー分子に対する特異的抗体を用いた光学顕微鏡および電子顕微鏡レベルでの発現解析

(2)(1)での解析の結果、バレル神経回路内において興奮性細胞には NR2B、抑制性細胞には NR2D が選択的に発現していることが明らかになったため、この欠損と機能・形態変化の相関を明らかにする。この目的で NR2B^{+/-}マウス(-/-マウスは致死のため)と、NR2D^{-/-}マウスを用いた比較解析

バレル皮質の形成の評価

チトクローム染色や視床線維のマーカーである小胞膜型グルタミン酸トランスポーター(VGluT2)抗体などによる免疫染色によるバレル形成の評価。

バレルの臨界期に対する評価

ヒゲ焼却により、バレルの臨界期可塑性に対する影響を調べる

4. 研究成果

(1) 相補的な NMDA 受容体発現

マウスのバレル神経回路(三叉神経主知覚核、視床 VPM 核、バレル皮質)では抑制性の GABA 作動性ニューロンには NR2D が、興奮性の細胞には NR2B が選択的に発現しているという相補的な発現パターンを示し、これが幼若期から成体まで一貫していた。

(2) NR2B^{+/-}マウスと NR2D^{-/-}マウスではバレル形成と臨界期可塑性の時間的特性が逆方向にずれていた

幼若マウスのバレル構造の解析を行ったところ、出現は全ての中継核において NR2B^{+/-}マウスで一日遅れ、逆に NR2D^{-/-}マウスでは逆に一日早まっていた。また臨界期終了時期も同様であった。

このような細胞選択的な受容体発現はバレル神経回路内の興奮・抑制のバランスの制御に大いに寄与していると考えられた。

以上の結果から NR2B は主に興奮性細胞に発現し上行性の体性感覚処理に関わるシナプス強化を促進するという「アクセル」の働きを持ち、NR2D は抑制性の介在ニューロンで限定的に発現して上行性の感覚処理を修飾することでバレル形成を遅らせるような「ブレーキ」として働いている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計11件)

1. Neuron type- and input pathway-dependent expression of Slc4a10 in adult mouse brains

Song X, Yamasaki M, Miyazaki T, Konno K, Uchigashima M, Watanabe M

Eur J Neurosci, in press, 2014, 査読あり

2. Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum

Konno K, Matsuda K, Nakamoto C, Uchigashima M, Miyazaki T, Yamasaki M, Sakimura K, Yuzaki M, Watanabe M

J. Neurosci., in press, 2014, 査読あり

3. 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, 33(46):18161-18174, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3506-13.2013. 査読

あり

4. A role of protocadherin 17 in presynaptic assembly of cortico-basal ganglia circuit neurons
Hoshina N, Tanimura A, Yamasaki M, Inoue T, Yokoyama K, Tezuka T, Sagara T, Hirano S, Aizawa S, Watanabe M, Kano M, Nakazawa T, and Yamamoto T
Neuron, 78(4):687-99, 2013 doi: 10.1016/j.neuron.2013.03.031. 査読あり

5. Homeostatic control of synaptic transmission by distinct classes of glutamate receptors
Yan D, Yamasaki M, Straub C, Watanabe M, and Tomita S
Neuron, 78(5):839-54, 2013 doi: 10.1016/j.neuron.2013.02.031. 査読あり

6. 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.
Kawakita I, Uchigashima M, Konno K, Miyazaki T, Yamasaki M, Watanabe M.
Eur J Neurosci., 37:532-43, 2013 doi: 10.1111/ejn.12076. 査読あり

7. Three types of neurochemical projection from the bed nucleus of the stria terminalis to the ventral tegmental area in adult mice
Kudo T, Uchigashima M, Miyazaki T, Konno K, Yamasaki M, Yanagawa Y, Minami M, Watanabe M
J. Neurosci, 32:18035-46, 2012 doi: 10.1523/JNEUROSCI.4057-12.2012. 査読あり

8. Neurophysiological characterization and emotional stress-induced activation of GAD67-containing 5-HT neurons in the dorsal raphe nucleus of rats
Shikanai H, Yoshida T, Konno K, Yamasaki M, Izumi T, Ohmura Y, Watanabe M, and Yoshioka M,
J. Neurosci, 32:14415-26, 2012 doi: 10.1523/JNEUROSCI.5929-11.2012. 査読あり

9. Lack of Molecular-Anatomical Evidence for GABAergic Influence on Axon Initial Segment of Cerebellar Purkinje Cells by the Pinceau Formation
Iwakura A, Uchigashima M, Miyazaki T, Yamasaki M, Watanabe M
J. Neurosci, 32:9438-9448, 2012 doi:

10.1523/JNEUROSCI.1651-12.2012. 査読あり

10. Remodeling of afferent synapses in the somatosensory thalamus of mice caused by peripheral sensory nerve transection
Takeuchi T, Yamasaki M, Nagumo N, Imoto K, Watanabe M, and Miyata M
J. Neurosci., 32:6917-6930. 2012 doi: 10.1523/JNEUROSCI.5008-11.2012. 査読あり

11. Cav2.1 in cerebellar Purkinje cells regulates competitive excitatory synaptic wiring, cell survival, and biochemical cerebellar compartment
Miyazaki T, Yamasaki M, Hashimoto K, Yamazaki M, Abe M, Usui H, Kano M, Sakimura K, and Watanabe M
J. Neurosci., 32:1311-1328. 2012 doi: 10.1523/JNEUROSCI.2755-11.2012. 査読あり

〔学会発表〕(計4件)

1. 山崎美和子
海馬 CA1 領域における AMPA 型グルタミン酸受容体の分配格差とその分子機構 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、栃木、2014年3月27日

2. 山崎美和子、深谷昌弘、山崎真弥、阿部学、畦地裕統、崎村建司、渡辺雅彦：Molecular determinants underlying heterogeneity in AMPAR content across CA1 Schaffer collateral synapses、第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会、香川、2013年3月30日

3. 山崎美和子、深谷昌弘、山崎真弥、阿部学、畦地裕統、崎村建司、渡辺雅彦：海馬 CA1 における AMPA 受容体配分格差の分子機構 Molecular determinants underlying heterogeneity in AMPAR content across CA1 Schaffer collateral synapses 第 58 回日本神経科学大会、名古屋、2012年9月20日

4. 山崎美和子、深谷昌弘、山崎真弥、阿部学、畦地裕統、崎村建司、渡辺雅彦：Input pathway- and target cell type-dependent regulation of synaptic AMPAR subunits in hippocampal CA1 region 第 117 回解剖学会総会・全国学術集会、山梨、2012年3月27日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0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0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
山崎 美和子
(MIWAKO YAMASAKI)
北海道大学 医学研究科・講師

研究者番号：10431305

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし