

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860982

研究課題名(和文) グルタミン酸受容体GluD1のシナプス形成機構および情動機能への関与

研究課題名(英文) Role of glutamate receptor GluD1 in synapse formation and emotion.

研究代表者

今野 幸太郎 (konno, kohtarou)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20599641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：2つのデルタ型グルタミン酸受容体のうち、GluD2は小脳プルキンエ細胞に限局して発現しシナプスの形成と維持に重要な役割を担っている。一方、脳内におけるGluD1の分布やシナプス局在、機能については不明である。特異抗体を用いて局在を検討したところ、GluD1タンパクは脳内に広く分布し、小脳分子層では平行線維-介在ニューロンの細胞体シナプス後膜に局在が認められた。GluD1-KOマウスでは平行線維-介在ニューロンシナプスおよび介在ニューロン数が減少していた。以上の結果より、GluD1はGluD2と同様に、細胞種選択的・入力選択的に発現し、シナプス形成を促進する働きを持つことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Of the two members of the subfamily of ionotropic glutamate receptors, GluD2 is exclusively expressed in Purkinje cell and regulates their structural connectivity. However, little is known to date regarding cellular and synaptic expression of GluD1 and its role in synaptic circuit formation. GluD1 was widely expressed in the adult mouse brain. In the cerebellar cortex, GluD1 was concentrated at parallel fiber (PF) synapses on interneuron somata. In GluD1-knock-out mice, the density of PF synapses on interneuron somata was significantly reduced and the size and number of interneurons were significantly diminished. Therefore, GluD1 regulates the connectivity of PF-interneuron synapses and promotes the differentiation and/or survival of molecular layer interneurons. These results suggest that GluD1 works in concert with GluD2 for the construction of cerebellar synaptic wiring through distinct neuronal and synaptic expressions and also their shared synapse-connecting function.

研究分野：神経解剖学

キーワード：グルタミン酸受容体

1. 研究開始当初の背景

神経伝達物質の一つであるグルタミン酸は、シナプス可塑性の誘発作用を介して記憶や学習などの高次脳機能や、シナプス回路発達の中心的役割を担っている。デルタ型グルタミン酸受容体は $\delta 1$ 型 (GluD1) および $\delta 2$ 型サブユニット (GluD2) により構成されている。これまで小脳プルキンエ細胞に豊富な GluD2 についての研究から、この分子がシナプスの構造的および機能的結合性を制御する重要な分子であり、その遺伝子異常により小脳性の運動障害が起こることが遺伝子変異を有するヒト家系やマウスの研究から明らかにされてきた。一方、GluD1 の遺伝子である *GRID1* は、ヒトの遺伝子研究から双極性障害や大うつ、統合失調症や自閉症といった精神疾患との関連性が強く示唆されているが、シナプス発現から分子機能に至るまで、これまで全く不明な分子である。

2. 研究の目的

本研究は、GluD1 の脳における局在解析およびシナプス形成機構への関与を解明するために以下の (1) (2) の研究項目に焦点を当てて行った。

(1) GluD1 の脳における局在を明らかにする。

(2) シナプス形成機構に対する GluD1 の関与を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) GluD1 の脳における局在を明らかにする。

GluD1 mRNA の詳細な空間発現パターンとその発現細胞の化学的特性を double fluorescent *in situ* hybridization 法を用いて検証した。

脳内における GluD1 蛋白の局在解析を蛍光抗体法、包埋後免疫電顕法を用いて検証した。

(2) シナプス形成機構に対する GluD1 の関与を明らかにする

GluD1 遺伝子欠損マウスにおいてシナプス形成異常の有無を蛍光抗体法、通常電顕法を用いて検証した。

4. 研究成果

GluD1 は大脳皮質 (認知に関与)、海馬 (記憶)、線条体 (認知と運動制御)、扁桃体と分界条床核 (情動)、小脳皮質 (運動学習と協調運動) などに豊富に発現していた (図 1 上: mRNA、下: タンパク)。また、海馬と小脳で細胞発現を調べた結果、海馬では興奮性ニューロンに優位な、小脳では抑制性介在ニューロンに選択的な発現が認められ細胞種選択的な発現特性も明らかになった。

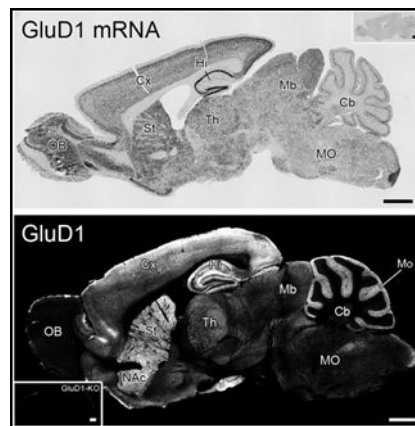


図1

次に、シナプス回路レベルでの GluD1 の局在を明らかにする目的で、GluD2 が豊富な小脳皮質を解析対象とし、両者の回路発現を比較した。その結果、GluD1 は平行線維・介在ニューロンシナプスに選択的に発現していたことから、GluD1 と GluD2 は異なるニューロンに発現しているものの、どちらも平行線維シナプスに選択的であるという共通点も明らかになった。さらに、GluD1 欠損に伴うシナプスの変化に着目して検討したところ、平行線維・介在ニューロンシナプスが著明に減少し、介在ニューロンの細胞数も有意に減少していた。

以上の結果から、GluD2 と同様に、GluD1 にも細胞種選択的および入力選択的な発現特性が備わり、シナプス結合を強化する分子機能を有していることが判明した。これを平行線維側からみれば、その情報処理の主回路である平行線維→プルキンエ細胞（図2のPC）シナプスに GluD2 が、その間に介在する抑制回路である平行線維→介在ニューロン（図2のIn）シナプスに GluD1 が発現し、それぞれの回路の結合性強化を通して GluD ファミリーが小脳皮質の基本的回路構築に協同して関与していることが示唆された。

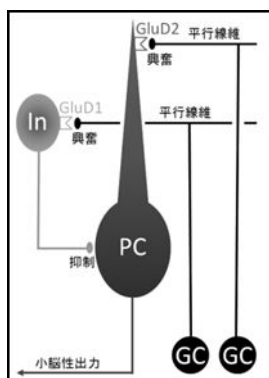


図2

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)

Konno K, Matsuda K, Nakamoto C, Uchigashima M, Miyazaki T, Yamasaki M, Sakimura K, Yuzaki M, Watanabe M, Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum. *J Neurosci.*, 査読有, 34, 2014, 7412-7424

DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0628-14.2014.

〔学会発表〕(計 3 件)

Kohtarou Konno, Koji Nishikawa, Masahiko Watanabe. Input-selective expression of glutamate receptor GluD1 at ascending somatosensory pathway synapses in the ventral posteromedial thalamic nucleus. 第 92 回日本生理学会・第 120 回日本解剖学会・全国学術集

会、2015 年 3 月 21-23 日、神戸国際会議場(神奈川県・神戸市)

Kohtarou Konno, Keiko Matsuda, Chihiro Nakamoto, Kenji Sakimura, Michisuke Yuzaki, Masahiko Watanabe. Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum. Neuroscience 2014 Annual Meeting, 2014 年 11 月 15-19 日, Washington DC (USA)

Kohtarou Konno, Koji Nishikawa, Masahiko Watanabe. Selective expression of glutamate receptor GluD1 at ascending pathway synapses in thalamic neurons of the ventral posteromedial nucleus. 第 37 回日本神経科学大会、2014 年 9 月 11-13 日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

〔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:

出願年月日:

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

今野 幸太郎 (Konno Kohtarou)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：20599641

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：