

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460250

研究課題名(和文) 成体期プルキンエ細胞における異種シナプス間競合維持機構の解明

研究課題名(英文) Analysis for heterosynaptic competition between parallel and climbing fiber in mature Purkinje cells

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：小脳のプルキンエ細胞は平行線維と登上線維による興奮性入力を受けている。発達期ではこの2種類の興奮性入力それぞれGluR 2と電位依存性カルシウムチャンネルCav2.1を強化分子として競合することが知られている。しかし、成体期におけるシナプス競合の存在については不明な点が多い。本研究課題では誘導型Cav2.1欠損マウスの形態学的・電気生理学的解析を行いCav2.1が成体小脳においても登上線維入力の強化分子機構として機能していることを明らかにした。この結果は「異種シナプス間競合関係が成体期においても存在し、この均衡維持が小脳の機能発現に重要である」という仮説を実験的に証明するものとなった。

研究成果の概要(英文)：Purkinje cells receive two excitatory inputs, parallel fiber (PF) and climbing fiber (CF). This PC circuitry is established by heterosynaptic competition between PF and CF, fueled by glutamate receptor GluR 2 and voltage-gated calcium ion channel Cav2.1, respectively. However, it has been unclear whether this heterosynaptic competition maintains PC circuitry in the adult cerebellum. To uncover this question, I investigated novel mouse line, in which Cav2.1 gene can be deleted in adult PCs by the drug-induced ablation system. In anatomical and electrophysiological investigation, inducible Cav2.1 ablation in the adult cerebellum caused motor discoordination and imbalance of heterosynaptic competition with proximal expansion of PF territory. Therefore, Cav2.1 fuels CF inputs and balance heterosynaptic competition in the adult cerebellum. This result strongly suggests that the balance of heterosynaptic competition is essential for the cerebellar function.

研究分野：神経解剖学

キーワード：プルキンエ細胞 登上線維 平行線維 電位依存性カルシウムチャンネル シナプス競合

1. 研究開始当初の背景

小脳の主要なニューロンであるプルキンエ細胞は平行線維と登上線維による2種類の興奮性入力を受けている。この2つの入力はそれぞれグルタミン酸受容体 GluR $\delta$ 2 と P/Q 型電位依存性カルシウムチャネル Cav2.1 をそれぞれ強化分子として発達期小脳において競合していることが明らかになっている。しかし成体期におけるシナプス競合の存在については不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究では平行線維と登上線維によるシナプス競合が成体においても存在し、この均衡維持が小脳機能の発現に重要であるという仮説を立て、その実験的証明を行った。

3. 研究の方法

本研究課題では成体小脳における異種シナプス競合機構の解明を目的として、成体期からの Cav2.1 欠損モデルマウスを作製し、その興奮性回路の経時変化の形態学的・生理学的解析を行った。

4. 研究成果

一連の研究成果から成熟プルキンエ細胞において平行線維-登上線維間の異種シナプス間競合関係が存在し、この均衡維持において Cav2.1 が登上線維入力の強化分子として機能していることを強く示唆された。さらに Cav2.1 は成体小脳においてプルキンエ細胞の生存、小脳帯状構造依存的な分子発現の維持に関わっていることが今回明らかとなった。これまでの成果は以下の論文、学術集会で報告された。

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12件)

1. Kobayashi S, Hida Y, Ishizaki H, Inoue E, Tanaka-Okamoto M, Yamasaki M, Miyazaki T, Fukaya M, Kitajima I, Takai Y, Watanabe M, Ohtsuka T, Manabe T. The active zone protein CAST regulates synaptic vesicle recycling and quantal size in the mouse hippocampus. *Eur J Neurosci*. 2016 Sep;44(5):2272-84. doi: 10.1111/ejn.13331. Epub 2016 Aug

18. PMID: 27422015 Similar articles
2. Matsumoto-Makidono Y, Nakayama H, Yamasaki M, Miyazaki T, Kobayashi K, Watanabe M, Kano M, Sakimura K, Hashimoto K. Ionic Basis for Membrane Potential Resonance in Neurons of the Inferior Olive. *Cell Rep*. 2016 Jul 26;16(4):994-1004. doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.053. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27425615 Free Article
3. Gangadharan G, Shin J, Kim SW, Kim A, Paydar A, Kim DS, Miyazaki T, Watanabe M, Yanagawa Y, Kim J, Kim YS, Kim D, Shin HS. Medial septal GABAergic projection neurons promote object exploration behavior and type 2 theta rhythm. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jun 7;113(23):6550-5. doi: 10.1073/pnas.1605019113. Epub 2016 May 20. PMID: 27208094
4. Ichikawa R, Hashimoto K, Miyazaki T, Uchigashima M, Yamasaki M, Aiba A, Kano M, Watanabe M. Territories of heterologous inputs onto Purkinje cell dendrites are segregated by mGluR1-dependent parallel fiber synapse elimination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Feb 23;113(8):2282-7. doi: 10.1073/pnas.1511513113. Epub 2016 Feb 8. PMID: 26858447
5. Omiya Y, Uchigashima M, Konno K, Yamasaki M, Miyazaki T, Yoshida T, Kusumi I, Watanabe M: VGlut3-Expressing CCK-Positive Basket Cells Construct Invaginating Synapses Enriched with

- Endocannabinoid Signaling Proteins in Particular Cortical and Cortex-Like Amygdaloid Regions of Mouse Brains. *J Neurosci*. 2015 Mar 11;35(10):4215-28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681-14.2015. PMID: 25762668
6. Tsutsumi S, Yamazaki M, Miyazaki T, Watanabe M, Sakimura K, Kano M, Kitamura K: Structure-function relationships between aldolase C/zebrin II expression and complex spike synchrony in the cerebellum. *J Neurosci*. 2015 Jan 14;35(2):843-52. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2170-14.2015. PMID: 25589776
  7. Yokoi N, Fukata Y, Kase D, Miyazaki T, Jaegle M, Ohkawa T, Takahashi N, Iwanari H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Imoto K, Meijer D, Watanabe M, Fukata M: Chemical corrector treatment ameliorates increased seizure susceptibility in a mouse model of familial epilepsy. *Nat Med*. 2015 Jan;21(1):19-26. doi: 10.1038/nm.3759. Epub 2014 Dec 8. PMID: 25485908
  8. Piochon C, Kloth AD, Grasselli G, Titley HK, Nakayama H, Hashimoto K, Wan V, Simmons DH, Eissa T, Nakatani J, Cherskov A, Miyazaki T, Watanabe M, Takumi T, Kano M, Wang SS, Hansel C: Cerebellar plasticity and motor learning deficits in a copy-number variation mouse model of autism. *Nat Commun*. 2014 Nov 24;5:5586. doi: 10.1038/ncomms6586. PMID: 25418414
  9. Miyoshi Y, Yoshioka Y, Suzuki K, Miyazaki T, Koura M, Saigoh K, Kajimura N, Monobe Y, Kusunoki S, Matsuda J, Watanabe M, Hayasaka N: A new mouse allele of glutamate receptor delta 2 with cerebellar atrophy and progressive ataxia. *PLoS One*. 2014 Sep 24;9(9):e107867. doi: 10.1371/journal.pone.0107867. eCollection 2014. PMID: 25250835 Free PMC Article
  10. Kawata S, Miyazaki T, Yamazaki M, Mikuni T, Yamasaki M, Hashimoto K, Watanabe M, Sakimura K, Kano M: Global scaling down of excitatory postsynaptic responses in cerebellar Purkinje cells impairs developmental synapse elimination. *Cell Rep*. 2014 Aug 21;8(4):1119-29. doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.014. Epub 2014 Aug 7. PMID: 25127140 Free Article
  11. Song X, Yamasaki M, Miyazaki T, Konno K, Uchigashima M, Watanabe M: Neuron type- and input pathway-dependent expression of Slc4a10 in adult mouse brains. *Eur J Neurosci*. 2014 Sep;40(5):2797-810. doi: 10.1111/ejn.12636. Epub 2014 Jun 6. PMID: 24905082
  12. 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*. 2014

May 28;34(22):7412-24. doi:  
10.1523/JNEUROSCI.0628-14.2014.  
PMID: 24872547 Free Article

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Taisuke Miyazaki, Kenji F. Tanaka, Masahiko Watanabe: Neuroanatomical properties of cerebellar interneuron Lugaro cells using with GFP-expressing transgenic mice line 第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会 ビッグパレットふくしま(福島県 郡山市) 2016 3/28-29
2. Taisuke Miyazaki, Kenji F. Tanaka, Masahiko Watanabe: Morphological characteristics of cerebellar interneuron Lugaro cells using with GFP-expressing transgenic mice line Neuroscience 2015 2015 10/17-21 McCormick Place (Chicago, IL, US)
3. 宮崎 太輔 崎村 建司 渡辺 雅彦: プルキンエ細胞に発現するカルシニューリン CNB1 サブユニットは小脳の興奮性および抑制性シナプス回路形成に重要である 第 61 回東北・北海道連合支部学術集会 2015 8/29-30 盛岡市観光文化交流センター(岩手県盛岡市)
4. Taisuke Miyazaki, Kenji Sakimura, Masahiko Watanabe: プルキンエ細胞に発現する CNB1 は小脳の興奮性および抑制性シナプス回路形成に重要である 第 38 回日本神経科学大会 2015 7/28-31 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
5. Taisuke Miyazaki, Kenji Sakimura, Masahiko Watanabe: Calcineurin B1 subunit expressed in Purkinje cell is essential for the formation of excitatory and inhibitory cerebellar neuronal network. 第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会 神戸国際会議場(兵庫県神戸市) 2015 3/21-23
6. Taisuke Miyazaki: 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に関する形態学解析 日本顕微鏡学会 第 70 回記念学術講演会 幕張メッセ(千葉県幕張市) 2014 5/11-13

〔図書〕(計 1 件)

1. Taisuke Miyazaki and Masahiko Watanabe: Immunocytochemistry and Related Techniques. Chapter 16. Combined immunocytochemistry and tracing of neural connections. Pp299-312 Humana Press. 2015

〔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〕

なし

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  
なし

(3)連携研究者  
なし

(4)研究協力者  
山崎 美和子(YAMASAKI MIWAKO)  
北海道大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 10431305