

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目： 基盤研究 A

研究期間： 2006～2008

課題番号： 18200026

研究課題名（和文） 抑制性シナプス制御機構の解明と創薬基盤の探索

研究課題名（英文） Pursuit for regulatory mechanisms at inhibitory synapses and therapeutic basis

研究代表者

小西 史朗 (SHIRO KONISHI)

徳島文理大学・香川薬学部・教授

研究者番号： 20014277

研究成果の概要： 脳内の抑制性 GABA シナプス周辺における神経伝達の制御機構について研究を進めた。とくに小脳 GABA シナプス周辺には、3 種類に大別できる新規のシナプス制御機構が存在することを発見し、その細胞・分子機構の一部を明らかにした。このようなシナプス機構は、精神神経疾患を克服するための新たな作用原理に基づく薬物治療の標的となることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	15,600,000	4,680,000	20,280,000
2007 年度	13,600,000	4,080,000	17,680,000
2008 年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
年度			
年度			
総計	37,400,000	11,220,000	48,620,000

研究分野： 総合領域

科研費の分科・細目： 神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード： 神経科学・脳・神経・生理学・薬学・薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

興奮性シナプスに比べて、抑制性シナプスの研究は遅れていた。その理由は、抑制性シナプス応答の安定な記録が困難であったことである。脳スライス・パッチクランプ法を抑制性シナプスにも適用することによって、その制御機構の解明は著しく進展してきた。

## 2. 研究の目的

脳の様々な機能は興奮性および抑制性シナプス活動のバランスの上に達成されている。このため、抑制性シナプスにおける伝達効率の変調は、脳の生理機能に強く影響するのみならず、精神神経疾患の原因としても大きく寄与している。したがって、本研究では脳内の抑制性シナプス周辺で起こっている先達効率の調節機構を仲介する細胞・分子機構を究明することを試みた。

### 3. 研究の方法

上記の研究目的を達成させるため、主に2つの実験系を用いた。第一は、脳スライス標本であり、小脳および海馬から薄切切片を作り、微分干渉顕微鏡によってスライス内の単一ニューロンから、抑制性および興奮性シナプス応答をパッチクランプ法により記録した。

第2に係は、海馬ニューロンの分散培養系である。初代培養下の海馬ニューロンに、分子生物学的手法を組合せて、蛍光標識した抑制性GABAA受容体およびその足場タンパク質遺伝子を導入発現させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いた単一分子イメージングにより抑制性シナプスの可視化を試みている。

### 4. 研究成果

本研究課題は、これまで発見してきた抑制性GABAシナプス可塑性の新規な制御機構を仲介する分子的基盤をさらに解明することを目的として実施した。また、抑制性GABAシナプスを標的とした薬物療法のシーズを探索することも狙いとした。このため、脳スライス-パッチクランプ法による電気生理学的実験および分子イメージング法を組み合わせ、新規のシナプス機構の実体に迫ることを試み、以下のような成果を得た。

1. ATPがP2Y受容体を介して後シナプス性機序によりGABA作動性伝達を長期増強させることを明らかにした。

2. 抑制性GABAニューロンの神経終末に存在するAMPA型グルタミン酸受容体の性質および小脳GABAシナプスに存在するグルタミン酸トランスポータの役割を調べた。

3. 海馬CA1ニューロンでNMDA受容体の活性化に伴うGABAシナプス活動の増強機構を見出し、その性質を検討中である。

4. 初代培養下の海馬ニューロンを用いて、GABAシナプスの形成機構を明らかにするための実験系を構築して、シナプス前終末とGABA受容体クラスターの動態を明らかにしている。

これらの成果に基づき、現在いくつかの研究論文を作成中である。

### 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 2 件)

- ①Satake S., Song S.-Y., Cao Q., Satoh H., Rusakov D.A., Yanagawa Y., Ling E.-A., Imoto K. & Konishi S. (2006) Characterization of AMPA receptors targeted by the climbing fiber transmitter mediating presynaptic inhibition of GABAergic transmission at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Journal of Neuroscience* 26, 2278-2289.

- ②Konishi S., Ono Y., Zhu X.-M., Kuriu T., Tominaga T. & Saitow F. (2007) Neuron-Glia Communication: Involvements of Glial Cells in Synaptic Transmission. In *Trends in Glia Research – Basic and Applied*, edit. By S. Thameem and Eng-Ang Ling, pp.139-152, Research Signpost, Kerala.

[学会発表] (計 9 件)

- ①Ono, Y., Zhu, X., Tominaga, T., Saitow, F., and Konishi, S. (2006). Mechanisms of P2Y purinoceptor-mediated long-term enhancement of inhibitory transmission examined by multiple-probability fluctuation analysis at cerebellar GABAergic synapses, 29th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2006) (Kyoto). *Neuroscience Research* 55, S51.
- ②Satake S, Song SY, Konishi S and Imoto K. (2006) Neuronal glutamate transporter EAAT4 controls climbing fiber-mediated presynaptic inhibition of GABAergic transmission at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Neuroscience Research* 55, S83
- ③小西史朗 (2006). 抑制性GABA作動性伝達のシナプス間クロストークによる制御機構, 第33回日本神経内分泌学会学術集会招待教育講演 (10月, 横浜)
- ④Ono, Y., Zhu, X.-., Tominaga, T., Saitow, F., and Konishi, S. (2006). Activation of P2Y purinoceptors enhances single-channel conductance of GABA<sub>A</sub> receptors at cerebellar inhibitory synapses, *Soc. Neurosci. Abstr.* 36: 328.14.
- ⑤Ono, Y., Tominaga, T., Saitow, F., and Konishi, S. (2007) Mechanisms underlying P2Y purinoceptor-mediated long-term enhancement of GABAergic transmission on cerebellar Purkinje cells. *J Physiol Sci* 57, S230. 84th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Osaka),
- ⑥Konishi, S. (2008) Reciprocal interactions between excitatory and inhibitory synapses in the cerebellar cortex. Symposium on "Modulation of Neurotransmission by Diffusible Factors" organized by Kano M., 85th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Tokyo)
- ⑦Masuoka, T., Tokumaru, K., Kuriu, T., Konishi, S., Crosstalk between GABAB receptors and group I metabotropic glutamate receptors in mouse dorsal root ganglion neurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* 38: 823.10, 2008
- ⑧益岡 尚由、得丸 慶子、小西 史朗. (2008) マウス後根神経節細胞における機能的グループI代謝型グルタミン酸受容体の存在, 第31回日本神経科学大会、東京
- ⑨Masuoka T, Tokumaru K and Konishi S.

(2008) Presence of functional group I metabotropic glutamate receptors in mouse dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience Research* 61, S147.

〔図書〕（計 件）

(3) 連携研究者

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

○取得状況（計 件）

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小西 史朗 (SHIRO KONISHI)  
徳島文理大学・香川薬学部・教授  
研究者番号： 20014277

### (2) 研究分担者

富永 貴志 (TAKASHI TOMINAGA)  
徳島文理大学・香川薬学部・准教授  
研究者番号： 20344046

宋 時栄 (SI-YOUNG SONG)  
徳島文理大学・香川薬学部・教授  
研究者番号： 00399693

齋藤 文仁 (FUMIHITO SAITOW)  
日本医科大学・医学部・准教授  
研究者番号： 20360175