

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18700335
 研究課題名（和文） 小脳成熟に伴う登上線維支配様式の可塑性減少およびその臨界期の特定
 研究課題名（英文） Morphological analysis for the maintenance of climbing fiber-Purkinje cell mono-innervation in the cerebellum
 研究代表者
 宮崎 太輔（MIYAZAKI TAISUKE）
 北海道大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：90374230

研究成果の概要：

小脳プルキンエ細胞（PC）は、数十万本の平行線維（PF）と1本の登上線維（CF）による興奮性入力を受けている。幼若期のPCは複数のCFによる多重支配を受けているが、発達過程において余剰なCFは排除され、生後3週目までには一つのPCがただ1本のCFによって支配される単一支配が確立する。この単一支配化には、PFシナプス後部特異的に発現するグルタミン酸受容体GluRd2が重要であることが知られている。本研究では、誘導型GluRd2欠損マウスを用いて、CF-PC単一支配化の維持にGluRd2が関与しているかどうかを明らかにすべく行われた。誘導型GluRd2欠損マウスのCF-PC支配様式を、神経標識法および免疫組織化学法を用いて解析したところ、①分子欠損誘導後8週からCF多重支配が認められ、GluRd2欠損領域でCF支配領域の拡大が認められた、②分子欠損誘導後8週からtransverse branchと呼ばれるCF側枝が側方のPCに対して異所性支配を行い、CF-PC多重支配を引き起こしている様子が観察されたという2つの所見が得られた。以上の結果はGluRd2がCF側枝による側方支配を抑制することで成体期におけるCF-PC単一支配の維持に関わっていることを強く示唆するものであった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	360,000	3,860,000

研究分野：神経解剖学・神経生理学

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：小脳、プルキンエ細胞、登上線維、平行線維、グルタミン酸受容体、神経標識法

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

小脳の登上線維-プルキンエ細胞支配様式は発達に伴い多重支配型から単一支配型へと移行する。発達に伴う余剰な登上線維の排除機構には平行線維の活動や、プルキンエ細胞に発現するグルタミン酸受容体が関わっていることが明らかにされてきた。しかし、成体における登上線維単一支配の維持機構については明らかにされていない。グルタミン酸受容体 GluRd2 は平行線維シナプス後部特異的に発現し、平行線維シナプス形成および登上線維単一支配化に必須であることが知られていた。近年、誘導型 GluRd2 欠損マウスが作製され、その解析から GluRd2 が平行線維シナプスの維持に必要であることが明らかになった。以上の背景から、本研究者は GluRd2 が登上線維単一支配の維持に関わっているという仮説を立てるに至った。

2. 研究の目的

本研究では GluRd2 が登上線維単一支配化の維持に必須であるという仮説を立て、その検証を目的として行った。

3. 研究の方法

誘導型 GluRd2 欠損マウスを用いて免疫染色法、電子顕微鏡法、神経標識法を行い、登上線維-プルキンエ細胞支配様式を解析した。

4. 研究成果

誘導型 GluRd2 欠損マウスでは誘導後8週から CF 多重支配が認められ、さらにその支配様式は transverse branch と呼ばれる CF 側枝が異所性支配を行うものであることが明らかになった。以上の結果は GluRd2 が CF 側枝による側方支配を抑制することで成体期における CF-PC 単一支配の維持に関わっていることを強く示唆するものであった。

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 11 件)

1. Watase K, Barrett CF, Miyazaki T, Ishiguro T, Ishikawa K, Hu Y, Unno T, Sun Y, Kasai S, Watanabe M, Gomez CM, Mizusawa H, Tsien RW, Zoghbi HY.

2. Spinocerebellar ataxia type 6 knockin mice develop a progressive neuronal dysfunction with age-dependent accumulation of mutant CaV2.1 channels. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Aug 19;105(33):11987-92. 査読有

3. Tomioka Y, Miyazaki T, Taharaguchi S, Yoshino S, Morimatsu M, Uede T, Ono E, Watanabe M. Cerebellar pathology in transgenic mice expressing the pseudorabies virus immediate-early protein IE 180. Eur J Neurosci. 2008, Apr; 27(8):2115-2132. 査読有

4. Watanabe F, Miyazaki T, Takeuchi T, Fukaya M, Nomura T, Noguchi S, Mori H, Sakimura K, Watanabe M, Mishina M. Effects of FAK ablation on cerebellar foliation, Bergmann glia positioning and climbing fiber territory on Purkinje cells. Eur J Neurosci. 2008 Feb;27(4):836-54. 査読有

5. Kakegawa W, Miyazaki T, Emi K, Matsuda K, Kohda K, Motohashi J, Mishina M, Kawahara S, Watanabe M, Yuzaki M. Differential regulation of synaptic plasticity and cerebellar motor learning by the C-terminal PDZ-binding motif of GluRdelta2. J Neurosci. 2008 Feb 6;28(6):1460-8. 査読有

6.Sakagami H, Sanda M, Fukaya M, Miyazaki T, Sukegawa J, Yanagisawa T, Suzuki T, Fukunaga K, Watanabe M, Kondo H. IQ-ArfGEF/BRAG1 is a guanine nucleotide exchange factor for Arf6 that interacts with PSD-95 at postsynaptic density of excitatory synapses. *Neurosci Res.* 2008 Feb;60(2):199-212.. 査読有

7.Ikeda A, Miyazaki T, Kakizawa S, Okuno Y, Tsuchiya S, Myomoto A, Saito SY, Yamamoto T, Yamazaki T, Iino M, Tsujimoto G, Watanabe M, Takeshima H.

Abnormal features in mutant cerebellar Purkinje cells lacking junctophilins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 Nov 23;363(3):835-9. 査読有

8.Kakizawa S, Kishimoto Y, Hashimoto K, Miyazaki T, Furutani K, Shimizu H, Fukaya M, Nishi M, Sakagami H, Ikeda A, Kondo H, Kano M, Watanabe M, Iino M, Takeshima H. Junctophilin-mediated channel crosstalk essential for cerebellar synaptic plasticity. *EMBO J.* 2007 26(7):1924-33. 査読有

9.Kakegawa W, Miyazaki T, Hirai H, Motohashi J, Mishina M, Watanabe M, Yuzaki M. Ca²⁺ permeability of the channel pore is not essential for the delta2 glutamate receptor to regulate synaptic plasticity and motor coordination. *J Physiol (London).* 2007 579:729-35. 査読有

10.Miyazaki T, Hashimoto K, Uda A, Sakagami H, Nakamura Y, Saito SY, Nishi M, Kume H, Tohgo A, Kaneko I, Kondo H, Fukunaga K, Kano M, Watanabe M, Takeshima H. Disturbance of cerebellar synaptic maturation in mutant mice lacking BSRPs, a novel brain-specific receptor-like protein family. *FEBS Lett.* 2006 580(17):4057-64. 査読有

11.Moriguchi S, Nishi M, Komazaki S, Sakagami H, Miyazaki T, Masumiya H, Saito SY, Watanabe M, Kondo H, Yawo H, Fukunaga K, Takeshima H. Functional uncoupling between Ca²⁺ release and afterhyperpolarization in mutant hippocampal neurons lacking junctophilins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 103(28):10811-6. 査読有

12.Tohgo A, Eiraku M, Miyazaki T, Miura E, Kawaguchi SY, Nishi M, Watanabe M, Hirano T, Kengaku M, Takeshima H. Impaired cerebellar functions in mutant mice lacking DNER. *Mol Cell Neurosci.* 2006 31(2):326-33. 査読有

〔学会発表〕（計7件）

1.宮崎 太輔・渡辺 雅彦 マウス小脳および海馬におけるセクレトグラニンII(SgII)の局在様式 第114回解剖学会総会・全国学術集会 2009 3/28~30 岡山理科大学(岡山)

2.宮崎 太輔・渡辺 雅彦 GLASTはバークマングリアの形態分化および登上線維単一支配の維持に必要である 第54回東北・北海道連合支部学術集会,2008 9/6~7市民プラザ・ビッグアイ(福島・郡山)

3.Taisuke Miyazaki, Miwako Yamasaki, Kouichi Tanaka, Masahiko Watanabe GLAST is essential for the maintenance of climbing fiber monoinnervation through preventing local ectopic innervations to neighbouring and remote Purkinje cells and promoting cytological differentiation of Bergmann glia 6th FENS Forum of European Neuroscience 2008 7/12~16 Palexpo Conference Center (Geneva, Switzerland)

4.宮崎 太輔・渡辺 雅彦 グルタミン酸受容体 GluR2は成体マウスにおける登上線維単一支配の維持に必須である 第113回解剖学会総会・全国学術集会,2008 3/27~29,大分医科大学(大分)

5.宮崎 太輔・田中 光一 渡辺 雅彦 GLAST分子欠損マウスにおけるバークマングリアの形態分化異常および形態学的登上線維多重支配 Neuro 2007 第30回日本神経科学大会 2007 9/10~12 パシフィコ横浜(横浜)

6.宮崎 太輔・渡辺 雅彦 GLAST 分子欠損マウスにおけるバーグマングリアの形態分化異常および局所的な異所性プルキンエ細胞支配による登上線維多重支配 2007 年 第 112 回解剖学会総会・全国学術集会 2007 3/27~29 大阪国際会議場 (大阪)

7.宮崎 太輔・田中 光一 GLAST is essential for cytological differentiation of Bergmann glia and climbing fiber monoinnervation by suppressing local ectopic innervation 第 29 回日本神経科学大会 2006 7/19~21 国立京都国際会議場 (京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 太輔 (MIYAZAKI TAISUKE)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：90374230

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし