

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19200029

研究課題名（和文） アクチンによるシナプス機能制御とその高次脳機能における役割

研究課題名（英文） Regulatory mechanism of synaptic function by actin and its role in higher brain function

研究代表者

白尾 智明（SHIRAO TOMOAKI）

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20171043

研究代表者の専門分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経科学、神経化学・神経薬理

キーワード：シナプス形態形成、アクチン、ドレブリン、神経細胞培養、行動分析、シナプス機能

#### 1. 研究計画の概要

「樹状突起スパイン内アクチン結合蛋白の量的・質的動態」と「神経伝達物質受容体や足場蛋白のシナプス後部への集積」との双方向性の制御を分子レベルで解析し、アクチンによるシナプス機能制御のメカニズムを明らかにする。そして、このメカニズムの破綻がもたらすシナプス機能不全及び高次脳機能障害を、遺伝子変換マウスを用いて解析することにより、当該メカニズムの高次脳機能における役割を明らかにする。

#### 2. 研究の進捗状況

*in vitro* 実験では、(1) 成長円錐を樹状突起スパインのモデルとして用いて、アクチン結合蛋白ドレブリンがアクチン線維の retrograde flow を制御していることがわかった (JNC 2009)。(2) 樹状突起スパインのドレブリンをノックダウンすると、足場蛋白の集積やスパインの形態に加えて、電気生理学的性質が変化した (JCS 2009; JNP 投稿準備中)。さらに、(3) スパイン内ドレブリン動態を制御するメカニズムとして、AMPA 受容体活性を介したメカニズム (JCS 2009)、スパイン内カルシウム濃度を介したメカニズム (投稿準備中) が存在することがわかった。(4) ドレブリンのアイソフォームの相違は樹状突起スパイン内のアクチン細胞骨格のダイナミズムの変化に相関していることがわかった。また、ノックアウトマウス DAKO を用いた *in vivo* 実験で(5) NMDA 受容体のホメオスタチック可塑性はドレブリン A 依存性であることを示した (JCN 2009)、(6)

LTP 形成および fear conditioning に関し、発達段階特異的な影響を及ぼすこと (Neuroscience 2010; JNS 投稿準備中) がわかった。

さらに、セロトニン受容体やL型カルシウムチャネルがドレブリンのスパイン集積に影響を及ぼすことが示唆され、またドレブリンやアクチンのスパイン内集積度がシナプス後部神経細胞の種類や発達段階によって異なることがわかってきた。

#### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。  
(理由)

「樹状突起スパイン内アクチン結合蛋白の量的・質的動態」と「神経伝達物質受容体や足場蛋白のシナプス後部への集積」に関する知見が集積された。またこれらの変化の高次脳機能におよぼす変化をノックアウトマウスを用いることにより証明でき、当初の目的を達成できた。さらに、アクチン結合蛋白の制御機構メカニズムとして、興奮性神経伝達物質に加えて、セロトニンなどのいわゆる神経伝達修飾物質による制御機構の一端を示すことができたため。

#### 4. 今後の研究の推進方策

現在作成済みの他のノックアウトマウスを用いた解析を進めるとともに、新に明らかとなった神経伝達修飾物質によるアクチンの制御機構について下記の研究を推進する予定である。

まず初代神経培養系を用いて、神経修飾物

質のドレブリン動態に対する多面的な制御機構に関する基本データを収集し、神経修飾物質による構造蛋白局在・集積の制御メカニズムを解明する。またその基本データに基づいて、スライス標本を用いた実験系でシナプスレベルの現象と局所回路レベルの現象を関連づける。さらに、個体動物を使った実験では行動分析の結果から得られる学習・記憶・情動等の脳機能に関する障害と、ニューロン記録から得られた細胞レベルの現象とを関連づける。以上の実験計画により、分子、シナプス、局所回路、システムにおける現象を関連づけ、その結果を用いて、脳機能の統合的理解を目指す。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 16 件)

- ① Kojima N, Hanamura K, Yamazaki H, Ikeda T, Itohara S, Shirao T. “Genetic disruption of the alternative splicing of drebrin gene impairs context-dependent fear learning in adulthood” *Neuroscience* 165: 138-150 (2010) 査読有
- ② Takahashi, T, Yamazaki, H, Hanamura K, Sekino Y, Shirao T “AMPA receptor inhibition causes abnormal dendritic spines by destabilizing drebrin” *J Cell Sci.* 122:1211-1229 (2009) 査読有
- ③ Mizui T., Kojima N, Yamazaki H, Katayama M, Hanamura K, Shirao T. “Drebrin E is involved in the mechanism regulating axonal growth through actin-myosin interactions.” *J Neurochem* 109:611-622 (2009). 査読有
- ④ Song M, Kojima N, Hanamura K, Sekino Y, Inoue KH, Mikuni M, Shirao T. “Expression of drebrin E in migrating neuroblasts in adult rat brain: coincidence between drebrin E disappearance from cell body and cessation of migration” *Neuroscience.* 152:670-682 (2008) 査読有
- ⑤ Kobayashi, C., Aoki, C., Kojima, N., Yamazaki, H., Shirao, T., “Drebrin A content correlates with spine head size in the adult mouse cerebral cortex” *J. Comp. Neurol.* 503:618-626 (2007) 査読有

[学会発表] (計 62 件)

- ① Shirao, T., Hanamura, K., Takahashi, H., Mizui, T., Sekino, Y., 21th ISN Biennial Meeting, “Regulation of dendritic spine morphology by changing drebrin-A dynamics” 2009 August 23 (Busan, Korea)