

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700285
 研究課題名（和文） 余剰登上線維除去に先行して起こる mGluR1 依存的な登上線維シナプス強化過程
 研究課題名（英文） Surplus CF synapse elimination requires mGluR1-dependent CF synapse strengthening
 研究代表者
 山崎 美和子（YAMASAKI MIWAKO）
 北海道大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：10431305

研究成果の概要：

mGluR1 ノックアウトマウスおよび PKC γ ノックアウトマウスを用いて電気生理学的、形態学的な解析を行った。電気生理学的解析により、これらのノックアウトマウスの多くのプルキンエ細胞においては登上線維による単一支配が確立していないことが分かった。しかし、入力する複数の登上線維間には応答の振幅や伝達物質の放出確率といった機能には優劣が付いていることを明らかにした。また、神経トレーサー法と免疫組織化学を組み合わせた形態解析により、登上線維支配様式に関する以下の表現型を明らかにした。

- ① 登上線維の支配領域が近位に退縮していた
- ② 多重支配を引き起こす余剰な登上線維による支配は主に細胞体と樹状突起基部に存在していた。
- ③ 余剰な登上線維は、近隣のプルキンエ細胞を支配する登上線維の比較的短い側枝として、分子層やプルキンエ細胞層内を横走してやってきた。
- ④ こうした近隣細胞間を横走する登上線維の投射様式は、生後 14 日令までは野生型と欠損マウスのどちらにも頻繁に観察された。
- ⑤ その後の発達過程において、多重支配を招く横走する登上線維は野生型マウスで急速に消失したのに対して、欠損マウスでは残存した。

以上の結果は、mGluR1 シグナル伝達系が平行線維シナプス活動を細胞内へと伝達することによって、優勢な登上線維による支配を強化し、劣勢な登上線維による支配を細胞体や樹状突起基部から除去することにより、単一支配へ移行させる分子機構であるとの結論に達した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

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、シナプス、遺伝子改変動物

1. 研究開始当初の背景

発達期の神経回路形成において、まず初めに過剰なシナプス結合が形成され、必要なシナプスが強化・固定化されて残存し不要なシナプスが除去される。一般的にこのような発達期の神経回路網の精緻化は、神経活動依存的であると考えられているが、具体的なメカニズムについては未だ不明な点が多い。

その中であって、小脳登上線維—プルキンエ細胞投射系は入出力関係が比較的単純で、研究に適したモデル系であり解明が最も進んでいる。マウスでは生後しばらくの間は複数の線維による多重支配が存在しているが、生後約20日までに余剰な線維が除去されて、成熟型の単一支配が完成する。過去10年間に行われた遺伝子改変マウスの解析により、この余剰登上線維の除去には、小脳顆粒細胞の軸索である平行線維の活動をプルキンエ細胞に伝達する1型代謝型グルタミン酸受容体(mGluR1)シグナル伝達系と、苔状線維-小脳顆粒細胞シナプスのNMDA受容体の活性化が必須であることがわかっている(Cell 83: 1223-31, 1995; Neuron 18: 71-9, 1997; Science 288: 1832-5, 2000; J. Neurosci., 20, 4954-61, 2000)。

さらに近年の電気生理学的解析により、野生型マウスでは余剰線維の除去に先行して、複数の入力線維の間に伝達物質放出特性などの機能的な差異が形成されることが明らかになった(Neuron, 38, 785-96, 2003)。

すなわち、より振幅の大きい応答を示す「強い」登上線維と、より振幅の小さい「弱い」登上線維という優劣が付いていることが分かった。しかしながら、余剰線維の除去に先行する登上線維シナプスの強化過程及びその分子機構については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

余剰登上線維除去の前段階として必要不可欠な過程である、登上線維シナプスの強化過程におけるmGluR1シグナル伝達系依存的な部分を、明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

mGluR1シグナル伝達系分子のノックアウトマウスを用いて、スライスパッチクランプによる電気生理学的解析と、神経標識法と免疫組織化学法を用いた形態学の解析を併せて行い、mGluR1シグナル伝達系依存的な登上線維シナプス強化過程を明らかにすることを目的とする。

4. 研究成果

mGluR1ノックアウトマウスおよびPKC γ ノックアウトマウスを用いて、電気生理学的、形態学的な解析を行った。電気生理学的解析により、これらのノックアウトマウスの多くのプルキンエ細胞においては、登上線維による単一支配が確立していないことが分かった。しかし、入力する複数の登上線維間には、応答の振幅や伝達物質の放出確率といった機能には優劣が付いていることを明らかにした。

また、神経トレーサー法と免疫組織化学を組み合わせた形態解析により、登上線維支配様式に関する以下の表現型を明らかにした。

- ① 登上線維の支配領域が近位に退縮していた
- ② 多重支配を引き起こす余剰な登上線維による支配は主に細胞体と樹状突起基部に存在していた。
- ③ 余剰な登上線維は、近隣のプルキンエ細胞を支配する登上線維の比較的短い側枝として、分子層やプルキンエ細胞層内を横走してやってきた。
- ④ こうした近隣細胞間を横走する登上線維の投射様式は、生後14日令までは野生型と欠損マウスのどちらにも頻繁に観察された。
- ⑤ その後の発達過程において、多重支配を招く横走する登上線維は野生型マウスで急速に消失したのに対して、欠損マウスでは残存した。

以上の結果は、mGluR1シグナル伝達系が平行線維シナプス活動を細胞内へと伝達することによって、優勢な登上線維による支配を強化し、劣勢な登上線維による支配を細胞体や樹状突起基部から除去することにより、単一支配へ移行させる分子機構であるとの結論に達し、現在論文作成中である。

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4件)

1. Use-dependent amplification of presynaptic Ca²⁺ signaling by axonal ryanodine receptors at the hippocampal mossy fiber synapse. Shimizu H, Fukaya M, Yamasaki M, Watanabe M, Manabe T, Kamiya H Proc Natl Acad Sci U S A 105:11998-12003. 2008 査読あり
2. Glutamate transporters regulate lesion-induced plasticity in the developing somatosensory cortex. Takasaki C, Okada R, Mitani A, Fukaya M, Yamasaki M, Fujihara Y, Shirakawa T, Tanaka K, Watanabe M J Neurosci 28:4995-5006. 2008 査読あり
3. Role of the internal Shank-binding segment of glutamate receptor delta2 in synaptic localization and cerebellar functions. Yasumura M, Uemura T, Yamasaki M, Sakimura K, Watanabe M, Mishina M (2008) Neurosci Lett 433:146-151.2008 査読あり
4. Regulation of long-term depression and climbing fiber territory by glutamate receptor delta2 at parallel fiber synapses through its C-terminal domain in cerebellar Purkinje cells. Uemura T, Kakizawa S, Yamasaki M, Sakimura K, Watanabe M, Iino M,

Mishina M

J Neurosci 27:12096-12108. 2007 査読あり

[学会発表] (計5件)

1. 山崎 美和子・渡辺 雅彦 M1受容体を介するコリン作動性神経の伝達様式とシナプス伝達調節機構 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. 山崎 美和子・渡辺 雅彦 M1 アセチルコリン受容体はマウスの大脳皮質・海馬の投射ニューロンに豊富に発現している第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. Miwako Yamasaki, Masahiko Watanabe Preferential localization of muscarinic M1 receptor in spines and thin dendrites of cortical principal neurons and its anatomical evidence for volume transmission 6th FENS Forum of European Neuroscience 2008 7/12~16 Palexpo Conference Center (Geneva, Switzerland)

4. 山崎 美和子、飯塚 堯、渡辺 雅彦 M1 subtype of muscarinic acetylcholine receptor is preferentially expressed in principal neurons of the mouse telencephalon 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. 山崎 美和子、飯塚 堯、渡辺 雅彦 M1 ムスカリン性アセチルコリン受容体は終脳の投射ニューロンに豊富に発現している 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. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 美和子 (YAMASAKI MIWAKO)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：10431305

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし