

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790213

研究課題名(和文)

「イオンチャンネル」型グルタミン酸受容体のチャンネル活動非依存性機能の解明

研究課題名(英文)

Non-ionic functions of “ionotropic” glutamate receptor channels.

研究代表者

掛川 渉 (KAKEGAWA WATARU)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70383718

研究成果の概要(和文):

本研究では、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体 (iGluR) のチャンネル非依存的な機能について、iGluRメンバーであるデルタ2受容体を対象に追究した。その結果、デルタ2受容体は、チャンネルとして働かず、細胞外N末端領域を介してシナプス形成を促進し、細胞内C末端領域を介して、記憶・学習の分子基盤とされるシナプス可塑性を制御することが分かった。本研究の成果は、iGluR機能の全貌解明に有用な知見を与えうるものと期待される。

研究成果の概要(英文):

To understand the non-ionic functions of ionotropic glutamate receptors (iGluRs), we analyzed the functions of the $\delta 2$ receptor which is a member of iGluRs. Interestingly, the external N-terminus and the internal C-terminus of the $\delta 2$ receptor regulated synapse formation and synaptic plasticity, respectively, in a channel property-independent manner. These results indicate that the $\delta 2$ receptors can be a good model to elucidate the whole pictures of iGluRs.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：神経生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：イオンチャンネル、シナプス可塑性、記憶・学習、小脳

1. 研究開始当初の背景

イオンチャンネル型グルタミン酸受容体

(ionotropic Glutamate Receptor; iGluR) は、中枢神経系において、速い興奮性伝達を担うばかりでなく、記憶・学習の分子基盤と

されるシナプス可塑性や、神経細胞死などに関与する重要な分子である。これまで iGluR は、共役するチャネルを開口させることで機能していると考えられてきたが、近年、チャネル活動を必要としない新しい iGluR の機能様式が次々と見出されてきた。しかし、この iGluR のチャネル非依存的機能の分子機構および生理的役割についてはほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、小脳プルキンエ細胞に選択的に発現し、iGluR ファミリーに属するデルタ 2 型グルタミン酸受容体（デルタ 2 受容体）に着目し、デルタ 2 受容体機能における細胞外 N-末端領域の役割を追究することにより、iGluR に普遍的な新規活性化様式の理解を大幅に進めることを目的とした。

3. 研究の方法

各種遺伝子改変動物と外来性遺伝子導入法を駆使し、電気生理学、形態学および行動学的解析を行い、デルタ 2 受容体の最 N-末端領域の生理的役割について追究した。

4. 研究成果

はじめに、我々は、野生型デルタ 2 受容体（デルタ 2^{WT} 受容体）、あるいは、デルタ 2 受容体の最 N-末端領域を欠く変異型デルタ 2 受容体（デルタ 2^{ΔNT} 受容体）を、デルタ 2 受容体欠損マウスに導入し、デルタ 2 受容体欠損マウスに見られる異常表現型（シナプス低形成・LTD 障害・運動学習障害）の回復度合いを観察した。シンドビスウイルスベクターを用いて、デルタ 2^{WT} 受容体を導入すると（図 1）、驚くべきことに、導入後わずか 1 日で、デルタ 2 受容体欠損マウスに見られ

るシナプス低形成、LTD 障害および運動学習障害の回復が観察された。一方、デルタ 2^{ΔNT} 受容体を外来的に導入すると、LTD 障害は回復されたものの、シナプス低形成および運動学習障害については回復が認められなかった。これらの結果より、デルタ 2 受容体の最 N-末端領域は、小脳シナプスの形成過程に重要な役割を示すと共に、協調運動にも深く関与していることが示された（図 2；Kakegawa et al., *J Neurosci*, '09）。

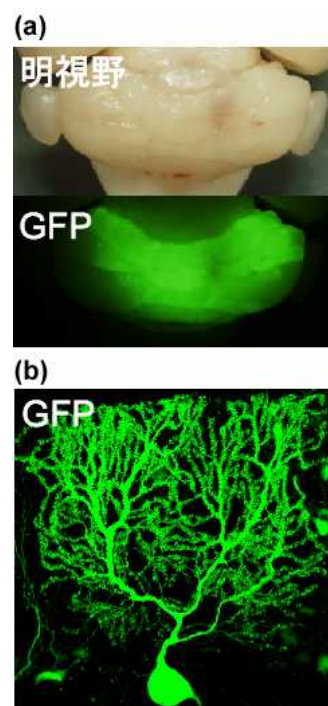


図 1. ウィルスベクターによる GFP 遺伝子導入 (a) 小脳 (b) プルキンエ細胞

次に、デルタ 2 受容体最 N 末端のシナプス形成誘導作用の分子機構を追究したところ、デルタ 2 受容体 N 末端には、シナプス前から放出される分泌性タンパク質の Cbln1 が結合し、それに伴って、シナプス形成を促進させることを新たに明らかにした。また、Cbln1 の発現を欠く遺伝子欠損マウスに Cbln1 を投与すると、デルタ 2 受容体依存的

に小脳シナプスが回復し、欠損マウスで見られていた重篤な歩行障害も著しく改善されることがわかった (図2 ; Matsuda et al., *Science*, '10)。

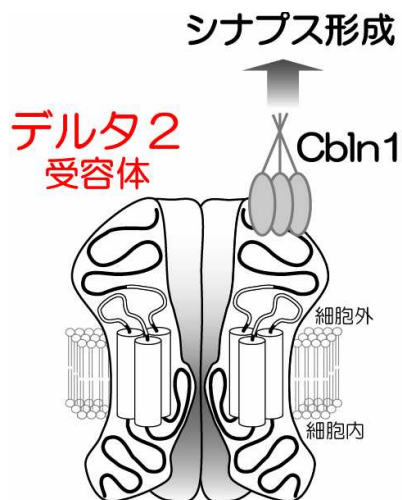


図2 .デルタ2受容体細胞外最N-末端領域を介したシナプス形成誘導機構。小脳顆粒細胞から放出されるCbln1がデルタ2受容体に結合し、シナプス形成を誘導。

さらに、構造学的にデルタ2受容体への結合が知られていたD-セリンを野生型マウス小脳急性切片に投与すると、デルタ2受容体に結合して、シナプス伝達および可塑性が調節される知見を得た。また、興味深いことに、シナプス機能を制御するD-セリン-デルタ2受容体シグナリングは、デルタ2受容体のチャネル活性非依存的に駆動されることも示された (図3 ; Kakegawa et al., *Nat Neurosci*, '11)。

上記結果は、デルタ2受容体がチャネル活動非依存的に生理機能を制御していることを示唆しており、今後、デルタ2受容体機能に関する新たな知見が、iGluRに普遍的な新規活性化様式の理解に繋がるものと期待される。

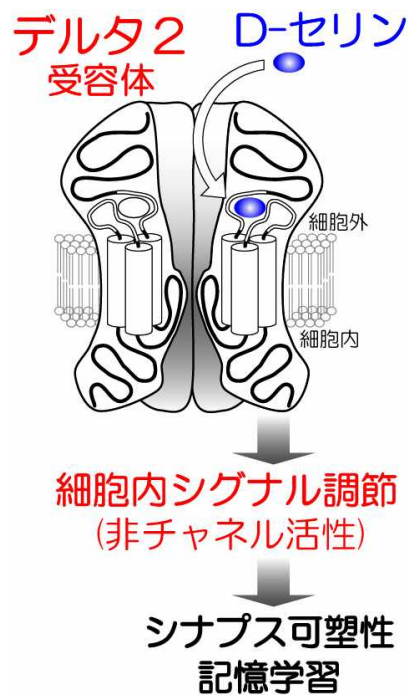


図3 .シナプス可塑性および運動学習を制御するD-セリン-デルタ2受容体シグナリング。

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5件)

Kyoichi Emi, Kazuhisa Kohda, Wataru Kakegawa, Sakae Narumi, Michisuke Yuzaki; A new rapid protocol for eyeblink conditioning to assess cerebellar motor learning., *Neurochemical Research*, 査読有, 印刷中

Wataru Kakegawa, Yurika Miyoshi, Kenji Hamase, Shinji Matsuda, Keiko Matsuda, Kazuhisa Kohda, Kyoichi Emi, Junko Motohashi, Ryuichi Konno, Kiyoshi Zaitzu, Michisuke Yuzaki; D-Serine regulates cerebellar LTD and motor coordination through the $\delta 2$ glutamate receptor., *Nature Neuroscience*, 査読有, 14, 603-611, 2011.

Keiko Matsuda, Eriko Miura, Taisuke Miyazaki, Wataru Kakegawa, Kyoichi Emi, Sakae Narumi, Yugo Fukazawa, Aya Ito-Ishida, Tetsuro Kondo, Ryuichi Shigemoto, Masahiko Watanabe, Michisuke Yuzaki; Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor 2, a bidirectional synapse organizer., Science, 査読有, 328, 363-368, 2010.

Jun Nishiyama, Keiko Matsuda, Wataru Kakegawa, Nobuaki Yamada, Junko Motohashi, Noboru Mizushima, Michisuke Yuzaki; Reevaluation of neurodegeneration in lurcher mice: constitutive ion fluxes cause cell death with, not by, autophagy., Journal of Neuroscience, 査読有, 30, 2177-2187, 2010.

Wataru Kakegawa, Taisuke Miyazaki, Kazuhisa Kohda, Keiko Matsuda, Kyoichi Emi, Junko Motohashi, Masahiko Watanabe, Michisuke Yuzaki; The N-terminal domain of GluR2 (GluR 2) recruits presynaptic terminals and regulates synaptogenesis in the cerebellum in vivo., Journal of Neuroscience, 査読有, 29, 5738-5748, 2009.

〔学会発表〕(計2件)

Wataru Kakegawa, Yurika Miyoshi, Kenji Hamase, Kiyoshi Zaito, Michisuke Yuzaki; Endogenous D-serine controls cerebellar LTD and motor performance through GluR2., 第87回日本生理学会, 2010年5月20日, 盛岡

Wataru Kakegawa, Taisuke Miyazaki, Kyoichi Emi, Keiko Matsuda, Kazuhisa Kohda,

Junko Motohashi, Masayoshi Mishina, Masahiko Watanabe, Michisuke Yuzaki; Differential regulation of synapse formation and plasticity by GluR 2 in the cerebellum., 36th International Congress of Physiological Sciences, 2009年7月28日, 京都

〔図書〕(計1件)

幸田和久, 掛川渉, 柚崎通介
医学書院、生体の科学：シナプスをめぐるシグナリング (Delta2 受容体)
2010、382-383

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.yuzaki-lab.org/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

掛川 渉 (KAKEGAWA WATARU)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：70383718

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし