

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月24日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2010～2012

課題番号：22240036

研究課題名（和文） 脳の左右非対称性の形成メカニズムとその生理的意義

研究課題名（英文） Mechanisms of left-right asymmetry formation and its physiological significance

## 研究代表者

重本 隆一（SHIGEMOTO RYUICHI）

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・教授（兼任）

研究者番号：20221294

## 研究成果の概要（和文）：

脳の左右差の形成メカニズムを探るために、海馬シナプスの左右差に異常のある遺伝子変異マウスを検索し、CA1-specific NR2B knockout mouse, CA1-specific GluR1 knockout mouse, beta2 microglobulin knockout mouse でそれぞれ左右差が消失していることを見出した。また、左右非対称性の生理的意義を探るために、マウスにおける空間記憶能の左右非対称性を検索したところ、右半球優位であることを発見した。今後は、本研究で得られた新たな指標を用いて、これらの遺伝子変異マウスによって非対称性形成のメカニズムをさらに検討する。

## 研究成果の概要（英文）：

To elucidate the mechanism of left-right asymmetry formation, we identified three lines of mutant mice (CA1-specific NR2B knockout mouse, CA1-specific GluR1 knockout mouse, beta2 microglobulin knockout mouse) that lack the laterality of hippocampal pyramidal cell synapses. To elucidate the physiological significance of the asymmetry, we examined spatial learning ability in mice and discovered right-side dominance. Expression of c-fos in the dentate gyrus was also dominant in the right side of the brain. Using these parameter, we are now examining the phenotype of mutant mice lacking asymmetry of the pyramidal cell synapses.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
2011年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
2012年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
年度			
年度			
総計	38,800,000	11,640,000	50,440,000

研究分野：総合生物

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：左右非対称性、海馬、シナプス、グルタミン酸、空間学習

### 1. 研究開始当初の背景

我々は、2003年に入力側依存的な NMDA 型グルタミン酸受容体サブユニット NR2B 配置の左右差を発見した。これは、脳の左右差を表す分子的な指標として初めての明確なものであった。その後、この左右差が海馬の錐体細胞に特異的なものであること、AMPA 型グルタミン酸受容体サブユニット GluA1 には逆の左右差があること、シナプスの形や大きさにも入力側依存的な非対称性が存在することを見出した。さらに内臓の左右非対称性がランダムとなる iv mutant mouse では、内臓の正位、逆位に関わらず海馬錐体細胞シナプスは右の特性を持つことが明らかになった。これは、内臓と脳の左右非対称性の形成メカニズムが異なることを示唆している。このような結果に基づいて、今回の研究課題では、入力側依存的な海馬錐体細胞シナプスの左右非対称性の成り立ちとそれが脳の機能にどのように影響するのかを調べることにした。

### 2. 研究の目的

本研究は成体脳の左右非対称性がどのようにして形成されるのか、そのメカニズムと生理的意義を明らかにすることが目的である。脳で左右非対称性に発現する分子と左右非対称性を生じさせている分子メカニズムを明らかにし、これらの左右非対称性が空間記憶能に与える影響を遺伝子変異マウスを使って調べ、特にグルタミン酸受容体やシナプス形態の左右差の生理的意義を明らかにする。このため脳の左右非対称性の形成に関わる分子を *in vitro* での培養海馬スライスを用いたアッセイ系を使って明らかにし、それぞれの分子がどのようなカスケードを形成

して、脳の左右差を生じさせるのか、またこれらの左右差が空間記憶以外にどのような生理的意義を持っているのかを、様々な行動指標をこれらの変異マウスで網羅的に調べ、脳の左右非対称性の生理的意義を明らかにする。

### 3. 研究の方法

iv mutant mouse の結果に基づいて、iv 変異をもつ LR dynein の下流がどのように脳の左右差形成に繋がっていくのかを明らかにするために、キーとなる分子をまず同定する。方法としては、NR2B や GluA1 をポスト側のみに欠失する領域特異的ノックアウトマウスを作成し、シナプスサイズの左右差を計測することによって、シナプス形態の左右差がこれらの分子の下流にあるかどうかを検討する。また wild-type と iv mutant mouse で発現が異なっている分子を網羅的に検索し、候補分子を欠失する遺伝子変異マウスでグルタミン酸受容体サブユニットやシナプスサイズを調べ左右差の異常を調べる。キーとなる分子が明らかになれば、さらにその上流や下流に位置すると考えられる分子の変異マウスを調べ、左右差形成に至るパスウェイを明らかにする。一方、生理的意義を調べるためには、まずマウスでどのような脳機能の左右差があるのかを調べる。ヒトでは高次機能の多くに左右非対称性が存在することがよく知られているが、マウスではそのような研究はほとんどない。そこでマウスでも検討可能な海馬が関係する機能として、空間記憶能を調べる。また、空間記憶を形成している時に活性化している神経細胞の分布を immediate early gene の発現を使って調べ左

右差があるかどうかを調べる。その他にもマウスで検討可能な左右差に関する行動実験のパラダイムを検討し、これらの行動について、上記で得られた遺伝子変異マウスがどのような異常を示すかを検討する。

#### 4. 研究成果

NR2B や GluA1 をポスト側のみで欠失する領域特異的ノックアウトマウスを作成したところ、いずれにおいても CA1 pyramidal cell synapse における入力依存的な左右差が消失していた。従来の結果から NR2B の欠失はシナプス可塑性の異常を招き、GluA1 のシナプスへの移動とそれに伴うシナプスサイズの増大に繋がることが考えられる。また、wild-type と iv mutant mouse で発現が有意に異なっていた分子のうちでもっとも頻繁に認められた MHC class I 分子に着目し、これらを細胞膜に運ぶのに必須と考えられている beta2 microglobulin のノックアウトマウスの脳を調べたところ、入力依存的な左右差が全くなっていた。MHC class I は、従来免疫系で抗原認識に重要な役割を持っていることがよく知られているが、脳における発現は低くその機能はよく知られていなかった。最近では、視覚系の投射路の発達に必要であることが報告されている。我々の結果は海馬錐体細胞のシナプスにおいても、MHC class I が入力側の軸索とポストシナプス側の錐体細胞との間の認識に関わっており、入力側に応じたグルタミン酸受容体の配置をコントロールすることによって CA3-CA1 回路シナプスサイズ、すなわちシナプス強度の調整を行っていることを示唆している。これらの結果は、LR Dynein の点変異である iv 変異マウスの結果と合わせ、脳の左右非対称性が LR Dynein の下流にあり内臓とは異なる経路を介しながら、MHC class I という共通の経路

を通じて NR2B や GluR1 の密度を入力側依存的に調節し、シナプス強度を変えていることを示唆している。また、両半球の交連線維が遮断された変異マウスや培養スライスでは左右差が生じないことから、入力側依存性の非対称性の発現には両側を繋ぐ経路が必要であることが明らかになった。

これらの海馬シナプスの入力側依存的な左右差の持つ生理的な意義を確かめるためにまず、左右分離脳モデルマウスを作成し、左脳と右脳を主に使う空間学習を行う2群のマウスで空間記憶能を調べたところ、右脳を使うマウスでは正常コントロールと有意差がないのに対し、左脳を主に使うマウスでは空間学習の正確さが有意に減弱していることが明らかになった。また、神経細胞の活動性の指標としてよく用いられる c-fos の染色を調べたところ、空間記憶学習を行った90分後において、右の海馬歯状回で有意に活性化されている神経細胞が多いことが明らかになった。これらの結果は、マウスにおいても人間と同様に空間学習は右脳が優位であることを示唆している。次にこの指標を用いて入力側依存性に海馬シナプスの左右差が欠失している iv 変異マウスと beta2 microglobulin のノックアウトマウスを調べた。予想に反して、iv 変異マウスにおいては、c-fos 発現の右脳優位性は野生型と全く同様に認められた。このことは、iv 以外にも脳機能の左右非対称性を規定している遺伝因子が存在していることを示唆している。さらに beta2 microglobulin のノックアウトマウスでは、c-fos 発現の右脳優位性が失われていたことから、MHC class I はこの未知の因子の下流にも位置していることが想定される。今後は、iv 変異以外に脳の非対称性を規定する因子が何かを探索するとともに、iv の下流遺伝子が、いかに内臓とは異なるメカニズムで

MHC class I に繋がっているのか、を探索していく。また、本課題で明らかになった非対称性の指標以外にも例えば左半球に優位な行動の指標は何かなどをマウスを用いて探索していく。

#### 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)

Kawahara A, Kurauchi S, Fukata Y, Martínez-Hernández J, Yagihashi T, Itadani Y, Sho R, Kajiyama T, Shinzato N, Narusuye K, Fukata M, Luján R, Shigemoto R, Ito I, Neuronal major histocompatibility complex class I molecules are implicated in the generation of asymmetries in hippocampal circuitry, *Journal of Physiology*, 査読有、in press, 2013.

Shinohara Y, Hosoya A, Yamasaki N, Ahmed H, Hattori S, Eguchi M, Yamaguchi S, Miyakawa T, Hirase H, Shigemoto R, Right-hemispheric dominance of spatial memory in split-brain mice, *Hippocampus*, 査読有、22 巻、117 - 121、2012

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

重本隆一 (SHIGEMOTO RYUICHI)

生理学研究所・大脳皮質機能研究系・教授  
(兼任)

研究者番号：20221294

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：