

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24年5月14日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650070

研究課題名（和文） 介在神経細胞におけるシナプス形成機構

研究課題名（英文） Mechanisms of synapse formation in interneurons

研究代表者

岡部 繁男 (OKABE SHIGEO)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60204012

研究成果の概要（和文）：発達過程の介在ニューロンの樹状突起からさらに細長い突起が伸び出し、これが誘導経路となって、元の樹状突起のほうへとシナプスの逆行性移動が起こる。この移動は微小管を必要とし、またダイニンの重要な調節因子である LIS1 の活性に依存している。またこの逆行性移動を抑制すると、介在ニューロンの樹状突起上のシナプスの配置パターンが乱れる。これらの知見から、微小管に依存した能動的なシナプス移動機構が存在し、樹状突起上でシナプスを適正に配置するのを助けていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We show that immature dendrites of interneurons form long protrusions and that these protrusions serve as conduits for retrograde translocation of synaptic contacts to the parental dendrites. This translocation process is dependent on microtubules and the activity of LIS1, an essential regulator of dynein-mediated motility. Suppression of this retrograde translocation results in disorganized synaptic patterns on interneuron dendrites. Taken together, these findings suggest the existence of an active microtubule-dependent mechanism for synaptic translocation that helps in the establishment of proper synaptic distribution on dendrites.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	420,000	3,320,000

研究分野：細胞生物学、神経生物学

科研費の分科・細目：神経解剖学・神経病理学

キーワード：分子神経生物学、シナプス形成

1. 研究開始当初の背景

樹状突起上に形成される興奮性（グルタミン酸作動性）シナプスの発達については、大脳皮質や海馬の錐体細胞に関してはまずフィロポディアと呼ばれる長さ5ミクロン以下の細い突起が形成され、この突起が軸索と接触することでシナプス結合が形成され、フィロポディアは次第にスパインへと形態変化して機能も成熟することが明らかになっている。フィロポディアはその寿命が短いが多量形成され、単位時間内に樹状突起周囲の空間を効率良く探索するため、周囲の軸索を見つけ出し、シナプス密度を上昇させるために貢献していると考えられる。一方で大脳皮質や海馬の抑制性介在神経細胞は、成熟後の樹状突起上のシナプス密度は錐体細胞とほぼ同じであるにも関わらず、シナプスはスパイン上ではなく樹状突起のシャフト上に形成されるため、フィロポディアからスパインへの形態の転換は起こらない。従って異なったメカニズムによってシナプス密度の増加が引き起こされている可能性が高い。このような背景から、介在神経細胞に特有の興奮性シナプスの形成機構を明らかにすることを目指して研究を行った。

2. 研究の目的

スパインを持たない大脳皮質の介在神経細胞においては、生後発達初期に長く安定な突起が樹状突起上に形成され、その突起上にシナプス後部分子の集積が起こることを見出した。このような突起形成は発達初期にのみ観察されることから、シナプス形成過程で重要な役割を果たしていると考えられる。本研究ではこの突起形成の形態学的特徴、およびシナプスの配置を制御する上での突起の持つ役割、の二点について明らかにし、新しいシナプス形成機構を提案することを目指した。

3. 研究の方法

本研究では分散培養およびスライス培養の系を用いて以下の3点について実験を行った。

(1) 介在神経細胞の形成する突起の動態について、分散培養系、スライス培養系を利用した実験を行って、海馬、大脳皮質という二つの異なる脳領域に共通の特徴が存在することを確認した。

(2) 介在神経細胞の形成する突起とシナプスの関連、さらにシナプスの機能がどのように成熟するのかについて、イメージング等の手法を利用して明らかにした。

(3) このような突起の持つシナプスの機能

制御における役割を、RNAi、dominant negative 分子の発現、薬理的機能阻害、ノックアウト動物などを用いて解析した。

4. 研究成果

(1) 介在神経細胞の形成する突起の動態について、分散培養系、スライス培養系を利用して解析し、興奮性神経細胞が形成する一般的なフィロポディアやスパインとは異なった形態や寿命を持つことがわかった。

(2) シナプス後部の構造を PSD-95-YFP (あるいは tagRFP) , シナプス前部の構造を synaptophysin-CFP (あるいは FM 色素) によってラベルすることで、樹状突起から伸び出す長く安定な突起の上をシナプス後部構造が移動し、かつその移動の際にはシナプス前部の構造も同期して移動することを見出した。

(3) 介在神経細胞の突起を介したシナプス形成を分子生物学的に阻害する方法論を確立し、特に微小管の機能制御分子 (Lis1, Ndel, dynein) に着目して、RNAi, dominant negative 分子の発現、薬理的機能阻害、ノックアウト動物由来の培養細胞の解析などを行い、介在神経細胞におけるシナプス形成、発達においてこれらの微小管の機能制御分子が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

スパインを持たない介在神経細胞において、分化の初期にはスパインより長い突起が樹状突起表面から伸び出し、このような突起上に形成されたシナプス後部構造はシャフトに向かって逆行性に移動し、最終的にはシャフトに到達してそこで安定化するというモデルを一連の実験から提出した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計6件)

① Hirai S, Miwa A, Ohtaka-Maruyama C, Kasai M, Okabe S, Hata Y, Okado H. RP58 controls neuron and astrocyte differentiation by downregulating the expression of Id1-4 genes in the developing cortex. *EMBO Journal*、査読有、Vol. 31、2012、pp. 1190-1202、DOI: [10.1038/emboj.2011.486](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.486)

② Kawabata I, Kashiwagi Y, Obashi K, Ohkura M, Nakai J, Wynshaw-Boris A, Yanagawa Y, Okabe S. LIS1-dependent retrograde translocation of excitatory synapses in developing interneuron dendrites. *Nature Communications*、査読有、

Vol. 3, 2012, p. 722-722,
DOI: [10.1038/ncomms1736](https://doi.org/10.1038/ncomms1736)

③ Okabe S. Molecular dynamics of the excitatory synapse. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 査読有、Vol. 970, Part 2, 2012, pp. 131-152, DOI: [10.1007/978-3-7091-0932-8_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_6)

④ Kondo S, Kohsaka S, Okabe S. Long-term changes of spine dynamics and microglia after transient peripheral immune response triggered by LPS in vivo. *Molecular Brain*, 査読有、Vol. 4, 2011, p. 27-27, DOI: [10.1186/1756-6606-4-27](https://doi.org/10.1186/1756-6606-4-27)

⑤ Kondo S, Okabe S. Turnover of synapse and dynamic nature of synaptic molecules in vitro and in vivo. *Acta Histochem Cytochem*, 査読無、Vol. 44, 2011, pp. 9-15, DOI: [10.1267/ahc.10035](https://doi.org/10.1267/ahc.10035)

⑥ Kusano K, Enomoto M, Hirai T, Wakabayashi Y, Itoh S, Ichinose S, Okabe S., Shinomiya K, Okawa A. Enhancement of sciatic nerve regeneration by adenovirus-mediated expression of dominant negative RhoA and Rac1. *Neuroscience Letters*, 査読有、Vol. 492, 2011, pp. 64-69, DOI: [10.1016/j.neulet.2011.01.058](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.01.058)

[学会発表] (計 37 件)

1. 岡部繁男, DCLK蛋白質による樹状突起の成長とシナプス形成の制御、第 89 回日本生理学会大会 (招待講演)、2012 年 3 月 29 日、長野県松本文化会館 (長野県松本市)

2. 守田啓悟, 水口泰介, 小橋一喜, 岩崎広英, 岡部繁男, シナプス形成期の樹状突起スパインにおける neuroligin1 のイメージング、第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 28 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

3. 小橋一喜, 岡部繁男, Imaging dynamics of axonal mitochondria. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 28 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

4. 柏木有太郎, 岡部繁男, Roles of ACF7, a large linker protein interacting with both microtubules and F-actin, in the postsynaptic functions. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 28 日、山梨大学甲府

キャンパス (山梨県甲府市)

5. 東誉人, 岡部繁男, Roles of BMP signaling in synapse development. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 28 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

6. Ayako Hayashi, Daisuke Asanuma, Mako Kamiya, Yasuteru Urano, Shigeo Okabe. Direct monitoring of AMPA receptor recycling and trafficking. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 27 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

7. 一色 真明, 岡部繁男, In vivo analysis of post-synaptic molecular dynamics in the developing mouse cortex. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 27 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

8. Shinji Tanaka, Toru Takumi, Shigeo Okabe. Altered dynamics of the cortical neuronal circuit in a mouse model of autism. 第 117 回日本解剖学会総会、2012 年 3 月 26 日、山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市)

9. 岡部繁男, 中枢神経シナプス動態の可視化、第 34 回日本分子生物学会年会フォーラム (招待講演)、2011 年 12 月 13 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

10. 岡部繁男, 生体内におけるシナプス分子の挙動、第 27 回 Wako ワークショップ (招待講演)、2011 年 11 月 22 日、コクヨホール (東京都港区)

11. Maki Yamada, Shigeo Okabe. Transgenic mice for visualizing memory encoding spines using a candidate LTP-marker protein, EGFP-CapZ. 第 34 回日本神経科学大会、2011 年 9 月 17 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

12. Mai Morimoto, Kazuto Kobayashi, Shigeo Okabe. In vivo imaging of catecholaminergic axons in the mouse neocortex. 第 34 回日本神経科学大会、2011 年 9 月 17 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

13. 岡部繁男, Imaging neural development and function in vivo. Plenary Lecture 6th Asia Pacific International Congress of Anatomy (6th APICA) & 13th National Congress of Indonesian Anatomist Association (13th PIN-PAAI) (招待講演)、2011 年 7 月 22 日、Sheraton Surabaya (イン

ドネシア)

14. 林亜矢子, 岡部繁男, マウス大脳皮質におけるカテコールアミン作動性ニューロン軸索の生体イメージング、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 30 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
15. 森本舞, 岡部繁男, マウス大脳皮質におけるカテコールアミン作動性ニューロン軸索の生体イメージング、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 30 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
16. 田宗秀隆, 丸尾知彦, 岡部繁男, LKB1 によるアストロサイトの形態制御、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 30 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
17. 石田綾, 三浦会里子, 宮崎太輔, 松田恵子, 渡辺雅彦, 柚崎通介, 岡部繁男, Cbln1 が制御する新しい小脳シナプス形成のメカニズム、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 30 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
18. 岡部繁男, シナプス動態の in vivo 解析、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 29 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
19. 小橋一喜, 岡部繁男, 神経細胞ミトコンドリアの経時観察、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
20. 一色真明, 岡部繁男, 発達期シナプス及びスパインの PSD 分子集積による安定化の in vivo 解析、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
21. 田中慎二, 岡部繁男, 安定なスパインにおける PSD リモデリングの in vivo イメージング、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
22. 佐藤映美, 岡部繁男, RNA 結合タンパク質 Translin の神経細胞における動態と機能、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
23. 柏木有太郎, 岡部繁男, 神経系における細胞骨格結合蛋白 ACF7 の機能解析、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
24. 水口泰介, 栗生俊彦, 岡部繁男, 抑制性シナプス後部足場蛋白質 gephyrin の in vivo イメージング、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
25. 東誉人, 岡部繁男, Imaging BMP-Smad signaling in neurons. 第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
26. 鈴木知之, 小橋一喜, 田宗秀隆, 岡部繁男, 海馬初代神経細胞における一分子蛍光分子イメージング、第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会、2011 年 3 月 28 日、Journal of Physiological Sciences 誌上開催
27. Shigeo Okabe. Imaging analysis of synapse formation, remodeling and glial interactions. 第 29 回内藤コンファレンス、2010 年 10 月 6 日、湘南国際村センター (神奈川県三浦郡)
28. Shigeo Okabe. Turnover of synapses in vitro and in vivo. 第 51 回日本組織細胞化学学会総会、2010 年 9 月 5 日、秋葉原コンベンションホール (東京都千代田区)
29. 一色真明, 岡部繁男, 発達期大脳皮質における興奮性シナプスの形成と消失の個体レベルでの解析、Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会合同大会、2010 年 9 月 4 日、神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市)
30. Aya Ito-Ishida, Eriko Miura, Keiko Matsuda, Michisuke Yuzaki, Shigeo Okabe. Cbln1 induces structural changes of parallel fibers at defined sites by

interactions with glutamate receptor delta 2. Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月4日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

31. Solveigh C. Karcher, Satoru Kondo, Satoe Ebihara, Yoko Yamagata, Shigeo Okabe. Role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IIalpha (CaMKIIalpha) activity in spine formation and dendritic arborization during development. Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月3日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

32. 申義庚, 栗生俊彦, 岡部繁男, Doublecortin-like kinaseによる神経細胞の樹状突起形態・シナプス機能の統合的調節、Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月2日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

33. 林亜矢子, 岡部繁男、神経系に発現する膜タンパク質の特異的標識と機能阻害手法の開発、Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月2日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

34. 山田麻紀, 岡部繁男、スパイン関連タンパク質 CapZ の局在の特異性□他分子との局在比較による解析、Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月2日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

35. 柏木有太郎, 岡部繁男、神経系における細胞骨格結合蛋白 ACF7 の機能解析、Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月2日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

36. 佐藤映美, 岡部繁男、RNA 結合タンパク質 translin の神経細胞における動態と機能、Neuro2010 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会、2010年9月2日、神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市）

37. 岡部繁男、Imaging synapse remodeling

and interactions with glia, ISDN 2010: 18th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, 2010年6月7日、Estoril Congress Centre (ポルトガル)

〔その他〕
ホームページ
<http://synapse.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡部 繁男 (OKABE SHIGEO)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：60204012

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし