

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460251

研究課題名(和文) パレル神経回路の機能発達におけるニコチン性アセチルコリン受容体の役割

研究課題名(英文) Analysis on nAChRs in the somatosensory system

研究代表者

山崎 美和子 (Miwako, Yamasaki)

北海道大学・医学研究科・准教授

研究者番号：10431305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではパレル神経回路において興奮・抑制バランスを修飾する可能性のある受容体としてニコチン性アセチルコリン受容体に注目した。研究の結果、代表的なサブユニット $\alpha 2$ 、 $\alpha 7$ そのものの局在解析は困難であることが分かったため、 $\alpha 7$ の細胞膜局在に必須であるTMEM35の発現解析により $\alpha 7$ の細胞発現を推定した。その結果、発現パターンの強弱に神経化学特性との関連性があり、三叉神経核領域では興奮性細胞に、逆に視床や大脳皮質では抑制性介在細胞に発現していた。これらの結果から、 $\alpha 7$ 受容体が、三叉神経核レベルと視床・大脳皮質レベルでは逆の発現パターンを持ち、興奮・抑制の調節に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, I investigated the cellular expression of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) subunits in the mouse somatosensory system. I made specific riboprobes for  $\alpha 2$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 7$  and  $\beta 2$  nAChR, and found that their expression levels in the somatosensory system were below the detection threshold. Then I took another approach to localize  $\alpha 7$  nAChR by assessing its interacting protein TMEM35 (NACHO). I raised a specific antibody and riboprobe for NACHO and found that NACHO was more highly expressed in glutamatergic neurons than GABAergic neurons in the trigeminal nuclei. On the contrary, it was much higher in GABAergic neurons than glutamatergic neurons in the VPM and somatosensory cortex. These results suggest that the expression pattern of  $\alpha 7$  nAChR is nearly opposite in the trigeminal nuclei and its upstream regions, thereby playing distinct functions in the somatosensory system.

研究分野：神経解剖学

キーワード：アセチルコリン

### 1. 研究開始当初の背景

これまでに同定されたバレル神経回路発達に変化を及ぼす分子の多くは、当該神経回路内部の興奮性・抑制性のほぼ全ての細胞に発現しているものがほとんどであり、抑制性および興奮性細胞特異的に発現する分子や、それらが果たす役割については不明な点が多かった。

### 2. 研究の目的

これに関連し、申請者は近年興奮性および抑制性ニューロンにのみ選択的に発現する NMDA 受容体サブユニットを同定し、それぞれが相反する作用を発揮することにより正常な回路が形成されることを明らかにした。本研究ではこれをさらに発展させ、バレル神経回路において興奮・抑制バランスを修飾する可能性のある受容体としてニコチン性アセチルコリン受容体に注目し、その回路内発現を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

主に神経解剖学的手法により、バレル神経回路を構成する興奮性ニューロンおよび抑制性介在ニューロンに発現するニコチン性アセチルコリン受容体サブユニット構成を明らかにする。

### 4. 研究成果

研究の結果、代表的なサブユニット  $\beta 2$ ,  $\alpha 7$  そのものの局在解析は困難であることが分かったため、 $\alpha 7$  の細胞膜局在に必須である TMEM35 の発現解析により  $\alpha 7$  の細胞発現を推定した。その結果、発現パターンの強弱に神経化学特性との関連性があり、三叉神経核領域では興奮性細胞に、逆に視床や大脳皮質では抑制性介在細胞に発現していた。これらの結果から、 $\alpha 7$  受容体が、三叉神経核レベルと視床・大脳皮質レベルでは逆の発現パターンを持ち、興奮・抑制の調節に寄与する可能性が示唆された。

### 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 17 件)

1. Okamoto K, Yamasaki M, Takao K, Sasaki K, Magoori K, Sakakibara I, Miyakawa T, Mieda M, Watanabe M, Sakai J, Yanagisawa M, Sakurai T: QRFP-deficient mice are hypophagic, lean, hypoactive and exhibit increased anxiety-like behavior. PLoS One., e0164716 (査読有)  
doi: 10.1371/journal.pone.0164716.
2. Takeuchi T, Duzskiewicz AJ, Sonneborn A,

Spooner PA, Yamasaki M, Watanabe M, Smith CC, Fernandez G, Deisseroth K, Greene RW, Morris RG: Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. Nature. 537:357-362, 2016. (査読有)

doi: 10.1038/nature19325.

3. Kobayashi S, Hida Y, Ishizaki H, Inoue E, Tanaka-Okamoto M, Yamasaki M, Miyazaki T, Masahiro F, Kitajima I, Takai Y, Watanabe M, Ohtsuka T, Manabe T: The active zone protein CAST regulates synaptic vesicle recycling and quantal size in the mouse hippocampus. Eur J Neurosci. 44:2272-84, 2016. (査読有)

doi: 10.1111/ejn.13331.

4. Matsumoto-Makidono Y, Nakayama H, Yamasaki M, Miyazaki T, Kobayashi K, Watanabe M, Kano M, Sakimura K, Hashimoto K: Ionic basis for membrane potential resonance in neurons of the inferior olive. (査読有)

Cell Rep. 16: 994-1004, 2016.

doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.053.

5. Itami C, Huang JY, Yamasaki M, Watanabe M, Lu HC, Kimura F: Developmental switch in spike timing-dependent plasticity and cannabinoid-dependent Reorganization of the thalamocortical projection in the barrel cortex. J Neurosci. 36:7039-7054. 2016. (査読有)

doi: 10.1523/JNEUROSCI.4280-15.2016.

6. Straub C, Noam Y, Nomura T, Yamasaki M, Yan D, Fernandes H, Watanabe M, Contractor A, Tomita S: Distinct subunit domains govern synaptic stability and specificity of the kainate receptor, Cell Rep. 16:531-544, 2016. (査読有) doi: 10.1016/j.celrep.2016.05.093.

7. Matsuda K, Budisantoso T, Mitakidis N, Sugaya Y, Miura E, Kakegawa W, Yamasaki M, Konno K, Uchigashima M, Abe M, Watanabe I, Kano M, Watanabe M, Sakimura K, Aricescu AR, Yuzaki M: Trans-Synaptic Modulation of Kainate Receptor Functions by C1q-like Proteins. Neuron.

- 90:752-67, 2016. (査読有)  
doi: 10.1016/j.neuron.2016.04.001.
8. Yamasaki M, Fukaya M, Yamazaki M, Azechi H, Natsume R, Abe M, Sakimura K, Watanabe M: TARP  $\gamma$ -2 and  $\gamma$ -8 differentially control biased AMPAR density across Schaffer collateral/commissural synapses in the hippocampal CA1 area. *J Neurosci.* 36:4296-312, 2016. (査読有)  
doi: 10.1523/JNEUROSCI.4178-15.2016.
9. Ichikawa R, Hashimoto K, Miyazaki T, Uchigashima M, Yamasaki M, Aiba A, Kano M, Watanabe M: Territories of heterologous inputs onto Purkinje cell dendrites are segregated by mGluR1-dependent parallel fiber synapse elimination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 113: 2282-7, 2016. (査読有)  
doi: 10.1073/pnas.1511513113.
10. Yamasaki M  
Molecular and anatomical evidence for the input pathway- and target cell type-dependent regulation of glutamatergic synapses (査読有)  
*Anat Sci Int.* 91:8-21, 2016.  
doi: 10.1007/s12565-015-0303-0.
11. Omiya Y, Uchigashima U, Konno K, Yamasaki M, Miyazaki T, Yoshida T, Kusumi I, Watanabe M: VGluT3-Expressing CCK-Positive Basket Cells Construct Invaginating Synapses Enriched with Endocannabinoid Signaling Proteins in Particular Cortical and Cortex-Like Amygdaloid Regions of Mouse Brains. *J Neurosci.* 35: 4215-4228, 2015. (査読有)  
doi: 10.1523/JNEUROSCI.4681-14.2015.
12. Hozumi Y, Kakefuda K, Yamasaki M, Watanabe M, Hara H, Goto K: Involvement of diacylglycerol kinase  $\beta$  in the spine formation at distal dendrites of striatal medium spiny neurons. *Brain Res.* 1594:36-45, 2014. (査読有)  
doi: 10.1016/j.brainres.2014.11.012.
13. Hamada S, Ogawa I, Yamasaki M, Kiyama Y, Kassai H, Watabe AM, Nakao K, Aiba A, Watanabe M, Manabe T: The glutamate receptor GluN2 subunit regulates synaptic trafficking of AMPA receptors in the neonatal mouse brain. *Eur J Neurosci.* 40: 3136-46, 2014. (査読有)  
doi: 10.1111/ejn.12682.
14. Kawata S, Miyazaki T, Yamazaki M, Mikuni T, Yamasaki M, Hashimoto K, Watanabe M, Sakimura K, Kano M: Global scaling-down of excitatory postsynaptic responses in cerebellar Purkinje cells impairs developmental synapse elimination. *Cell Rep.* 8:1119-29, 2014. (査読有) doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.014.
15. Yamasaki M, Okada R, Takasaki C, Toki S, Fukaya M, Natsume R, Sakimura K, Mishina M, Shirakawa T, Watanabe M: Opposing role of NMDA receptor GluN2B and GluN2D in somatosensory development and maturation. *J Neurosci.* 34: 11534-11548, 2014. (査読有)  
doi: 10.1523/JNEUROSCI.1811-14.2014.
16. Song X, Yamasaki M, Miyazaki T, Konno K, Uchigashima M, Watanabe M: Neuron type- and input pathway-dependent expression of Slc4a10 in adult mouse brains. *Eur J Neurosci.* 40:2797-2810, 2014. (査読有)  
doi: 10.1111/ejn.12636.
17. Konno K, Matsuda K, Nakamoto C, Uchigashima M, Miyazaki T, Yamasaki M, Sakimura K, Yuzaki M, Watanabe M: Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum. *J Neurosci.* 34:7412-7424, 2014. (査読有)  
doi: 10.1523/JNEUROSCI.0628-14.2014.
- [学会発表](計4件)
1. 山崎美和子、宋曉紅、渡辺雅彦  
マウス線条体シナプスの AMPA 受容体密度は細胞種や出入力経路によらず一様である  
第122回日本解剖学会総会・全国学術集会(長

崎大学坂本キャンパス・長崎県長崎市) 2017  
年 3 月 28 日、

2. 山崎美和子、深谷昌弘、宋曉紅、内ヶ島  
基政、宮崎太輔、今野幸太郎、渡辺雅彦

小脳登上線維と抑制性細胞間における非シ  
ナプス性結合と選択的分子発現

第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会、  
(ビッグパレットふくしま・福島県郡山市)

2016 年 3 月 30 日

3. Yamasaki M, Fukaya M, Yamazaki M,  
Azechi H, Natsume R, Abe M, Sakimura K,  
Watanabe M: Molecular determinants underlying  
heterogeneity in AMPAR content across CA1  
Schaffer collateral synapses. Neuroscience 2015  
(45th Society for neuroscience annual meeting),  
McCormick Place, Chicago, IL, USA,  
2015/10/18

4. Yamasaki M, Okada R, Takasaki C, Toki S,  
Fukaya M, Natsume R, Sakimura K, Mishina M,  
Shirakawa T, Watanabe M

Opposing role of NMDA receptor GluN2B and  
GluN2D in somatosensory development and  
maturation

第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会、  
(神戸国際会議場・展示場、兵庫県神戸市)

2015 年 3 月 15 日

〔図書〕(計 1 件)

1. Yamasaki M, Watanabe M

Fluorescent In Situ Hybridization for Sensitive  
and Specific Labeling

Receptor and Ion Channel Detection in the Brain,  
Methods and protocols, Neuromethods, 11:  
127-142, 2016.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
なし

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・准教授  
研究者番号：10431305

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし