

柚崎 通介

慶應義塾大学医学部
教授

成熟脳におけるシナプス形成機構の解明と制御

§ 1. 研究実施体制

(1)「柚崎」グループ

① 研究代表者: 柚崎 通介 (慶應義塾大学医学部、教授)

② 研究項目

- ・小脳における Cbln1 分泌機構の解明
- ・Cbln1 による小脳シナプス前部形成機構の解明
- ・Cbln1-GluD2 による AMPA 受容体エンドサイトーシス制御機構の解明
- ・海馬における Cbln1/Cbln4 シグナリング機構の解明
- ・海馬における C1QL2/C1QL3 シグナリング機構の解明
- ・小脳における C1QL1 シグナル伝達機構の解明

(2)「渡辺」グループ

① 主たる共同研究者: 渡辺 雅彦 (北海道大学大学院医学研究科、教授)

② 研究項目

- ・C1QL 分子群の特異抗体開発
- ・Cbln/C1QL 分子群と免疫組織化学による分子発現解析
- ・Cbln と受容体分子 GluD1 のシナプス発現解析
- ・Cbln と GluD1 の相互作用によるシナプス制御機構の解明

(3)「崎村」グループ

① 主たる共同研究者: 崎村 建司 (新潟大学脳研究所、教授)

② 研究項目

- ・既樹立 floxed マウスの交配による解析対象動物の作出

- ・特定細胞種に選択的な Cre を発現するドライバーマウスの開発
- ・研究過程で見いだされた新規分子群ノックアウトマウスの作製
- ・グルタミン酸受容体サブユニットの定量

§ 2. 研究実施の概要

成熟後の脳におけるシナプスの維持・形成過程の分子的基盤については未だに解明されていない点が多い。本研究グループは、小脳顆粒細胞より分泌される糖タンパク質 Cbln1 が、成熟後の脳においても強力なシナプス形成作用をもつことを発見した (Hirai, et al, Nat Neurosci 2005)。面白いことに Cbln1 は古典的免疫経路の「補体」C1q と同じファミリーに属する。脳内には Cbln1 のほかにも C1q ファミリーに属する類縁分子 (Cbln1-Cbln4, C1QL1-C1QL4) が発現していることから、Cbln1 と同様のシナプス修飾作用をもつことが強く疑われた。そこで本研究では、小脳と海馬の 4 種類の神経回路に着目し、C1q ファミリー分子による新しいシナプス制御原理を解明することを目指している。さらに、C1q ファミリー分子によるシグナル伝達経路を外的に操作することによって、分子レベルの変化が、神経回路の機能や個体レベルでの学習行動の変化に及ぼす影響について統合的に理解することを目指す。

これまでに小脳平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおいて、Cbln1 はシナプス後部の受容体であるデルタ 2 グルタミン酸受容体 (GluD2) とシナプス前部の受容体である Neurexin (Nrxn) に結合して Nrxn-Cbln1-GluD2 三者複合体を形成し、平行線維—プルキンエ細胞間の興奮性シナプス形成と維持を制御することを初めて明らかにすることができた (Matsuda et al, Science 2010; Matsuda & Yuzaki, Eur J Neurosci, 2011; Ito-Ishida et al, Neuron 2012)。今年度には、平行線維から分泌される Cbln1 は平行線維—プルキンエ細胞間の興奮性シナプスのみでなく、介在神経—プルキンエ細胞間の抑制性シナプスの形成と機能をも抑制することが分かった (Ito-Ishida et al, Eur J Neurosci 2014)。一つの神経細胞に入力する興奮性シナプスと抑制性シナプスのバランス異常が、自閉症や統合失調症などの発達障害や精神疾患の病態と密接に関連することが示唆されている。しかしその分子実体は不明であった。今回、小脳プルキンエ細胞において Cbln1 が直接および間接的に興奮性・抑制性シナプスの形成と機能を制御することを初めて示すことができた。

神経活動が一定期間亢進すると、シナプスにおける信号伝達効率が長期にわたって変化する。この現象が神経回路レベルにおける記憶・学習の実体と考えられている。例えば、平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおけるシナプス伝達が長期的に低下する長期抑圧 (LTD) は、個体レベルにおける運動学習に関与する。不思議なことに Cbln1 や GluD2 を欠損するマウスにおいては、シナプス形成障害のみでなく、一見正常に見えるシナプスにおいても LTD が誘導できない。LTD は、シナプス後部において神経伝達を受け取る AMPA 受容体が選択的に細胞内に取り込まれることによって起きる。そこで LTD がどのような分子機構で起き、どの過程がどのように Cbln1 や GluD2 によって制御されているのかについて解明を進めている。今年度には、AMPA 受容体に強固に結合する膜タンパク質である Stargazin が、神経活動の亢進に伴って脱リン酸化されるとアダプタータンパク質 AP-2 および AP-3A と結合するようになることを発見した (Matsuda et al, Nat Commun 2013)。AP-2 は細胞表面の膜タンパク質を細胞内部に取り込み過程に、AP-3A は取り込んだ膜タンパク質を分解経路に運ぶために必須の分子である。このように LTD を制御する分子機構の一端が初めて明らかとなった。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

1. Matsuda S, Kakegawa W, Budisantoso T, Nomura T, Kohda K, Yuzaki M. (2013) Stargazin regulates AMPA receptor trafficking through adaptor protein complexes during long-term depression. *Nat Commun* 4: 2759. (DOI: 10.1038/ncomms3759)
2. Hoshina N, Tanimura A, Yamasaki M, Inoue T, Inoue T, Fukabori R, Kuroda T, Yokoyama K, Tezuka T, Sagara H, Hirano S, Kiyonari H, Takada M, Kobayashi K, Watanabe M, Kano M, Nakazawa T, Yamamoto T. (2013) Protocadherin 17 regulates presynaptic assembly in topographic cortico-basal ganglia circuits. *Neuron* 78: 839-854. (DOI:10.1016/j.neuron.2013.03.031)
3. Kano M, Nakayama H, Hashimoto K, Kitamura K, Sakimura K, Watanabe M. (2013) Calcium-dependent regulation of climbing fiber synapse elimination during postnatal cerebellar development. *J Physiol* 591: 3151-3158. (DOI: 10.1113/jphysiol.2012.248252)
4. Hashizume M, Miyazaki T, Sakimura K, Watanabe M, Kitamura K, Kano M. (2013) Disruption of cerebellar microzonal organization in GluD2 (GluRδ2) knockout mouse. *Front Neural Circuit* 7: 130. (DOI: 10.3389/fncir.2013.00130)
5. Hills LB, Masri A, Konno K, Kakegawa K, Lam A-TN, Lim-Melia E, Chandy N, Hill RS, Partlow JN, Al-Saffar M, Nasir R, Stoler JM, Barkovich AJ, Watanabe M, Yuzaki M, Mochida GH. (2013) Deletions in GRID2 lead to a recessive syndrome of cerebellar ataxia and tonic upgaze in humans. *Neurology* 81: 1378-1386. (DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182a841a3)
6. Ohkawa T, Fukata Y, Yamasaki M, Miyazaki T, Yokoi N, Takashima H, Watanabe M, Watanabe O, Fukata M. (2013) Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. *J Neurosci* 33: 18161-18174. (DOI.org/10.1523/JNEUROSCI.3506-13.2013)
7. Emi K, Kakegawa W, Miura E, Ito-Ishida A, Kohda K, Yuzaki M. (2013) Reevaluation of the role of parallel fiber synapses in delay eyeblink conditioning in mice using Cbln1 as a tool. *Front Neural Circuits* 7: 180. (DOI: 10.3389/fncir.2013.00180)
8. Ito-Ishida A, Kakegawa W, Kohda K, Okabe S, Yuzaki M. (2014) Cbln1 down-regulates the formation and function of inhibitory synapses in mouse cerebellar Purkinje cells. *Eur J Neurosci* [Epub head of print]. (DOI: 10.1111/ejn.12487)

9. Kudo T, Konno K, Uchigashima M, Yanagawa Y, Sora I, Minami M, Watanabe M. (2014) GABAergic neurons in the ventral tegmental area receive dual GABA/enkephalin-mediated inhibitory inputs from the bed nucleus of the stria terminalis. *Eur J Neurosci* [Epub head of print]. (DOI: 10.1111/ejn.12503)