

鍋倉 淳一

自然科学研究機構生理学研究所  
教授

生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関

## § 1. 研究実施体制

### (1) 鍋倉グループ

- ① 研究代表者: 鍋倉 淳一 (生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門、教授)
- ② 研究項目: 生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関。
  - 1) 発達期大脳皮質におけるシナプスおよびグリア動態の生体内可視化のための2光子励起顕微鏡観察システムの最適化と応用
  - 2) アストロサイトおよびマイクログリアの活性制御可能な遺伝子改変マウスの作成、および光操作による生体内グリア活性化技術の構築
  - 3) 慢性疼痛モデルの大脳皮質感覚野回路の再編の基本情報の抽出とグリア連関の抽出

### (2) 小泉グループ

- ① 主たる共同研究者: 小泉 修一 (山梨大学医学部、教授)
- ② 研究項目: グリアーシナプス機能連関因子の解析。
  - 1) 慢性疼痛動物の大脳皮質 S1 野におけるグリア性シナプス再編因子の探索及び分子メカニズムの解明
  - 2) アストロサイト及びマイクログリアの活性化制御を可能とする遺伝子改変動物を用いた、グリア-ニューロン連関の解析実験

## § 2. 研究実施の概要

脳機能発現の基盤である神経回路の長期変化について、多光子励起顕微鏡を用いたシナプスの生体内長期間観察を中心に研究を遂行し、生体におけるシナプス動態の基本情報を明らかにする。これをもとに、内外環境の変化に伴うシナプスの長期再編の特徴を抽出し、それを制御するメカニズム、特に、ニューロンによるグリア機能の制御やグリアによるシナプス再編機構について、*in vitro*における関連する候補分子の抽出と*in vivo*における検証を主な研究の軸として、長期回路再編の背景にあるニューロンおよびグリアの機能変化を明らかにする。これにより、内的・外的要因に伴う脳機能表現の変化の基盤である局所回路機能の変化を発達期・成熟期および、慢性疼痛などの各種障害モデル動物で検証し、大脳皮質におけるシナプス再編と行動との因果関係を検討する。

今年度は、末梢神経損傷後に起こる長期間続く難治性痛覚過敏の脳内基盤を明らかにするために、末梢神経損傷モデルマウスを用いて、生体 2 光子励起顕微鏡による第一次感覚野のシナプス再編や行動解析を行うとともに、そのメカニズムについて検討を行った。損傷後に末梢の痛覚が次第に増悪し(増悪期)、その後過剰な痛みが長期間持続する(維持期)。痛覚などの末梢感覚情報が入力する反対側の大脳皮質体性感覚野(対側感覚野)の錐体細胞において、シナプスの新生・消失(組み替え)が痛覚増悪期に更新し、維持期には痛覚過敏が持続しているにもかかわらず、シナプスの組み替えは正常まで減少していた。この結果は、末梢損傷後の早期に神経回路の組み替えが起こり、末梢感覚入力に対して過剰応答をする脳内回路が長期間維持されていることが、長期的に持続する痛覚過敏の一因であることを示唆する。急性期に神経回路の組み替えが起こる原因として、大脳皮質体性感覚野のアストロサイト活動が関与していることが、その活動の薬理学的な阻害や、光操作による活性化技術を用いた実験結果から明らかになりつつある。また、シナプス再編を引き起こすシグナルについて、ATP や各種神経成長関連因子について検討を加えている。

一方、損傷末梢神経と同側の大脳皮質体性感覚野(同側感覚野;正常な感覚を示す末梢側から感覚情報が入力する)においてもアストロサイト活動の上昇が観察された。しかし、この同側感覚野の神経細胞シナプスの入れ替え率は亢進しておらず、障害側と対側の末梢四肢の感覚に異常は見られなかった。この結果から、大脳皮質感覚野におけるシナプス再編の亢進には、1)末梢からの入力活動の上昇と、2)アストロサイトの活動上昇が必要であることが示唆された。そこで、同側感覚野神経細胞の活動を薬理的に亢進させた結果、シナプス入れ替え、特にシナプス新生の促進がおこり、健常末梢の痛覚が過敏になった。これらの結果から、末梢神経や感覚器の異常がなくても、大脳皮質感覚野における神経回路の再編により末梢感覚の変化を誘導できることが判明した。これは、障害側と反対健常側にも痛覚異常が観察される病態である「ミラーイメージペイン」発症機序として治療にも貢献できる可能性を示唆する。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報

1. Noguchi Y, Shinozaki Y, Fujishita K, Shibata K, Imura Y, Morizawa Y, Gachet C, Koizumi S. (2013) Astrocytes Protect Neurons against Methylmercury via ATP/P2Y<sub>1</sub> Receptor-mediated Pathways in Astrocytes. *PLoS One* 8(2):e57898. (DOI: 10.1371/journal.pone.0057898.)
2. Beppu K, Kosai Y, Kido MA, Akimoto N, Mori Y YUKI, Kojima Y, Fujita K, Okuno Y, Yamakawa Y, Ifuku M, Shinagawa R, Nabekura J, Sprengel R, Noda M. (2013) Expression, Subunit Composition and Function of AMPA-type Glutamate Receptors are Changed in Activated Microglia: Possible Contribution of GluA2 (GluR-B)-Deficiency under Pathological Conditions. *Glia* 61: 881-891. (DOI: 10.1002/glia.22481.)
3. Imura Y, Morizawa Y, Komatsu R, Shibata K, Shinozaki Y, Kasai H, Moriishi K, Moriyama Y, Koizumi S. (2013) Microglia release ATP by exocytosis. *Glia* 61 (8): 1320-1330. (DOI: 10.1002/glia.22517.)
4. Miyamoto A, Wake H, Moorhouse AJ, Nabekura J. (2013) Microglia and synapse interactions: fine tuning neural circuits and candidate molecules. *Front Cell Neurosci* 7: 70. (DOI: 10.3389/fncel.2013.00070.)
5. Takatsuru Y, Nabekura J, Koibuchi N. (2013) Activity of Layer II/III neurons in the somatosensory cortex (SCC) plays a critical role on the functional recovery after focal stroke in the contralateral SCC. *Neurosci Lett* 543: 168-171. (DOI: 10.1016/j.neulet.2013.03.049)
6. Shigetomi E, Bushong EA, Hausteiner MD, Tong X, Jackson-Weaver O, Kracun S, Xu J, Sofroniew MV, Ellisman MH, Khakh BS. (2013) Imaging calcium microdomains within entire astrocyte territories and endfeet with GCaMPs expressed using adeno-associated viruses. *J Gen Physiol* 141 (5): 633-47. (DOI: 10.1085/jgp.201210949.)
7. Shigetomi E, Jackson-Weaver O, Huckstepp RT, O'Dell TJ, Khakh BS. (2013) TRPA1 channels are regulators of astrocyte basal calcium levels and long-term potentiation via constitutive D-serine release. *J Neurosci* 33 (24): 10143-53. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5779-12.2013.)
8. Chin Y, Kishi M, Sekino M, Nakajo F, Abe Y, Terazono Y, Kato F, Koizumi S, Gachet C, Hisatsune T. (2013) Involvement of glial P2Y<sub>1</sub> receptors in cognitive deficit after focal cerebral stroke in a rodent model. *J Neuroinflammation* 10: 95. (DOI: 10.1186/1742-2094-10-95.)

9. Nakagawa H, Hishikawa K, Eto K, Ieba N, Namikawa T, Kamada K, Suzuki T, Miyata N, Nabekura J. (2013) Fine spatiotemporal control of nitric oxide release by infrared pulse-laser irradiation of a photolabile donor. *ACS Chem Biol* 8: 2493-2500. (DOI: 10.1021/cb400361m)
10. Shinozaki Y, Nomura M, Iwatsuki K, Moriyama Y, Gachet C, Koizumi S. (2014) Microglia trigger astrocyte-mediated neuroprotection via purinergic gliotransmission. *Sci Rep* 4: 4329. (DOI: 10.1038/srep04329)