

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：脳ダイナミックスの分子機構

2. 研究代表者名：三品 昌美

(東京大学大学院医学系研究科分子神経生物学 教授)

3. 研究概要：

構造が機能を生み、機能が構造に影響を及ぼすハードとソフトが渾然一体となったシステムが脳の特性である。脳の解明には、中枢神経回路網のダイナミックな構造変換原理を実体としてシナプス分子を基盤に探求し、シナプスのダイナミックな機能的構造的変化が脳高次機能に果たす役割を解析することが肝要である。この認識に基づき、ゼブラフィッシュ神経回路特異的分子操作法など独自の的方法論を開発し、神経回路網の形成に関わる分子とともに中枢シナプス形成のシグナルを明らかにしている。同時に、我々が独自に開発したC57BL/6マウスの遺伝的背景における部位時期特異的標的遺伝子組換え法を発展させ、特定の脳部位においてNMDA受容体およびグルタミン酸受容体GluR・2が脳高次機能に果たす役割を解析している。

4. 中間評価結果：

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

本研究プロジェクトで開始した研究の第一段階の突破に成功している。学習能力に優れたC57BL/6マウスで、線条体及び海馬CA3領域等におけるNMDA受容体の部位特異的ノックアウト、小脳プルキンエ細胞における $\delta 2$ 受容体の時期特異的ノックアウトを実現させ、シナプス可塑性研究の今後の展開に大きな技術的貢献をした。また、ゼブラフィッシュを対象とした神経回路網特異的遺伝子操作に関する研究についても、神経系の形成分子を探索する有効な方法を開発すると共に、シナプス形成における軸索終末の成熟の分子機序に関して着実な成果を挙げた。その他、瞬き反射の条件付け学習におけるGluR・2とGluR・1の役割解析、モルヒネ耐性と依存におけるNMDA受容体の役割の解析、小脳プルキンエ細胞特異的GluR・2と10Hzのリズムを持つ不随意運動の解析、などが挙げられる。

当初の研究計画に沿って順調に進展し、大きな方針変更はないように思う。脳部位および時期特異的遺伝子ノックアウト、あるいは脳部位特異的遺伝子ノックアウトにより脳内でのグルタミン酸受容体の機能を明らかにした。ゼブラフィッシュでは、DNA架橋剤TMPを用いる高効率変異法と、野性型と変異体ゲノム間のサブトラクションにより目標とする遺伝子座を含むゲノム領域を単離するためのRDA法を確立した。この2つの方法は有用かつ確実にRDA法は他のグループによっても利用されている。

脳部位および時期特異的遺伝子ノックアウトは世界的にみてアメリカ利根川教授グル

ープと並んで最も高いレベルにある。RDA 法は他のグループにより高く評価されている。

崎村グループは従来のマウス 129 系よりも優る C57BL/6 系統 ES 細胞株を樹立した。三品研究室に優秀な若手研究者が多数育ち、彼等が次々と技術的困難を克服して、研究成果を挙げていることは高く評価できる。しかし、ミュータントマウス作成および分子生物学的研究の体制は整っているが、ミュータントマウスの表現型の生理学的・形態学的解析については他の研究グループへの依存度が高いように思うという批判もあった。

実績から考えて、研究費は適切に使用されていると思われる。非常勤者人件費がかなり大きい、マウスとゼブラフィッシュの飼育と維持にかかる費用として妥当である。

手法が確立したので、今後これらを用いて本研究の究極の目的「記憶・学習の分子機構」に向かって成果が挙がるものと期待される。作製した遺伝子改変マウスを活用して、NMDA 受容体及び  $\delta 2$  受容体の多面的な役割を特にシナプスの可塑性メカニズムとの関連で解明するという研究方針は妥当である。ただし、ゼブラフィッシュを対象とした神経回路網特異的遺伝子操作法の活用に関しては、マウス脳シナプスにおける構造的可塑性の研究と具体的接点をもてるような方向での研究の進展が望まれる。

研究計画についてはほぼ妥当と考えるが、多少研究テーマが広がりすぎているようにも思う。個々のミュータントマウスの表現型の解析等が底の浅いもので終わってしまわないように留意する必要がある。今後これまでの研究で作られたマウス等の生物学的解析に主眼が移ることになると予想される。その際に、研究対象の焦点を絞って、自前で解析を押し進めるのか、あるいは他の研究グループとの共同で水準の高い研究を進めていくのか？三品グループのこれからのポジションを確定していく上でも、重要な決断であろう。

#### 4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

優れた若手研究者の参加により、一流国際誌に多くの論文が発表されている。学習能力に優れた C57BL 系統マウスで、線条体及び海馬 CA3 領域等における NMDA 受容体の部位特異的ノックアウト、小脳プルキンエ細胞における  $\delta 2$  受容体の時期特異的ノックアウトを実現させ、それぞれの変異動物の表現型について多くの興味ある知見を得ている。ゼブラフィッシュを対象とした神経回路網特異的遺伝子操作法を確立した。

科学的インパクトに関しては、今後これらの変異動物の作製技術の活用とゼブラフィッシュを用いたシナプス形成機構の研究との連携により、シナプスの構造的可塑性の分子機序の解明にどこまで切り込めるかによって評価されるべきであろう。作製される変異マウスや変異ゼブラフィッシュは、三品グループ以外の研究にも大変有用である。また、開発されたテクノロジーも、波及効果が高い。

確実に見込まれる成果としては、部位及び時期特異的ノックアウトマウスの活用により、NMDA 受容体、 $\delta 2$  受容体の多面的な機能がさらに広範かつ詳細に明らかにされるであろう。また、神経科学にブレークスルーをもたらす研究としては、機能的可塑性から構造的可塑性に至る分子メカニズムの解明が期待されるが、現在までの成果を踏まえてこの研究

のさらなる発展への端緒をどのようにつかむかが、今後の課題であろう。創薬や統合失調症、Mental retardation に関連しても貢献したいと三品教授は中間評価の面接で述べていたが、この点でも期待する。

#### 4-3. 総合的評価

部位及び時期特異的ノックアウトマウスの作製に関する卓越した技術力を、我が国の神経科学研究の発展に向けてより有効に生かすためには、他の研究室との比較的オープンな関係での共同研究を心がけるべきであろう。ノックアウト動物の表現型の解析を高いレベルで行うには、多分野の研究者との協調が必要であり、現在以上に積極的に共同研究に取り組むべきである。

三品教授は大変エネルギッシュで、御自身も述べられている通り、脳のメカニズムの全てを知りたいと希望されており、実際そのように研究されているように見受けられる。一つの生物学的問題に絞って、そこに全てを投下するという、多くの生命科学研究者のやり方とは対極的ではある。少なくとも1研究プロジェクトの間にこの目標は達成できない以上、ある種の完結性を持たせることは必要であろう。

本研究の遠大な目的「記憶・学習の分子機構」「脳ダイナミックスの分子機構」と RDA、遺伝子ノックアウトなどの目ざましい技術的成功との間にはある程度隔たりがあるように思う。これは脳研究には避け難いことかも知れないが、三品教授のような一級の研究者には時に考えてもらう必要がある。本研究の中で、分子生物学的研究に比べて生理的・機能的研究が弱い。GluR  $\delta$  2、GluR  $\epsilon$  1 のノックアウトで起る行動的变化のメカニズムについての解析は物足りない。ゼブラフィッシュの結果がマウスに結びつかなければ、その意味は小さいものになるのではないか。

当初の研究計画は着実に進展している。今後の最大の課題は、ゼブラフィッシュの神経系でシナプス形成に関連して特異的に機能する分子種を検索し、それらを手がかりとして哺乳動物の中枢シナプスの構造的可塑性の分子メカニズムを解明することである。現在の神経科学の直面する最重要課題への野心的な挑戦であり、成果を期待したい。