

## 研究課題別 事後評価結果

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： 三品 昌美（東京大学 大学院医学系研究科 教授）

### 3. 研究内容及び成果

本研究は、脳内における部位・時期特異的標識遺伝子組換え法や神経回路特異的分子操作法等を用いることにより、神経回路網の形成と再編の分子機構を明らかにし、脳の発達や記憶・学習等、脳ダイナミックスの基盤解明を目指した。その結果以下の主な成果を得た。

#### 1) シナプス可塑性分子が担う脳機能の解明

遺伝的に正常で均一なC57BL/6純系マウスについて、部位・時期特異的遺伝子組換え法を独自の技術で開発し、線条体、海馬、小脳プルキンエ細胞、小脳顆粒細胞等でグルタミン酸受容体のサブタイプ( $\delta 2$ ,  $\epsilon 1$ ,  $\zeta 1$ )を特異的にノックアウトし、記憶・学習をはじめとする脳の高次機能における役割を調べた。

瞬目反射の条件付け学習に関する研究結果を解析し、条件刺激と無条件刺激とのタイミングに応じて脳内のシステムが使い分けられていることを明らかにした。また、NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) 受容体は異なる脳部位でモルヒネ耐性とモルヒネ依存性を制御することが示された。

さらに、C57BL/6系純系マウス由来の胚幹細胞とCre組換え酵素を用いる純系脳部位時期特異的標的遺伝子組換え法によって、線条体特異的にNMDA受容体を欠損したマウス、海馬CA3領域特異的にNMDA受容体GluR $\zeta 1$ あるいはGluR $\epsilon 2$ を欠損したマウス、海馬CA3領域特異的に細胞接着分子 $\beta$ カテニンを欠損したマウス、海馬CA3領域特異的にTrkB受容体を欠損したマウス、成熟脳で誘導的に小脳プルキンエ細胞特異的にGluR $\delta 2$ を欠損したマウスを得ることに成功した。

その結果、グルタミン酸受容体GluR $\delta 2$ は成体小脳のシナプス結合に必須であることが明らかになり、また線条体におけるNMDA受容体や海馬CA3領域におけるNMDA受容体、TrkB受容体の役割に関する重要な知見を得ることが出来た。

#### 2) シナプス形成分子の探索

脳神経系の発達の解析が容易な脊椎動物ゼブラフィッシュを用いて、シナプス形成機能解析系の開発に取り組み、ゼブラフィッシュの神経回路特異的遺伝子操作法の開発、神経網形成機構の解明や変異株のゲノム間サブトラクションによる神経回路形成遺伝子の探索を進め、網膜視蓋投射の形成に重要なシャペロニンCCT $\gamma$ を同定した。

また、メダカのトランスポゾンを利用した遺伝子トラップ法やゼブラフィッシュを用い神経回路特異的遺伝子操作法を開発し、神経網形成機構に関し新しい知見を得た。このゼブラフィッシュ神経回路特異的分子操作法は、多くの候補分子の生体内における機能を系統的に解析出来る系として威力を発揮すると考えられる。

### 3) コンディショナルターゲティング法の改良とこの方法を用いたシナプス伝達に関与する分子群の機能解析

遺伝子改変マウス作製法の開発を進め、新たにC57BL/6N純系マウスの胚盤胞からES細胞株「RENKA」を樹立すると共に、この細胞株を用いて効率的に生殖系列遺伝するキメラマウスを作製する方法を確立した。

また、欠損マウスの解析から、TARP (Transmembrane AMPA ( $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Methoxazole-4-Propionic-Acid) receptor regulatory protein)  $\gamma$ -8が海馬においてAMPA受容体の発現量と活性を調節していることを示した。AMPA型グルタミン酸受容体を細胞膜やシナプスactive zoneに集積させる分子として報告されていたカルシウムチャンネル $\gamma$ -2サブユニット(stargazin)が、AMPA型グルタミン酸受容体GluR $\alpha$ 1およびGluR $\alpha$ 2サブユニットのチャンネル活性を著しく亢進させるばかりでなく、アロステリックな効果を持ちチャンネル特性を変化させることを見出した。脳に発現しているstargazinファミリー $\gamma$ -2、 $\gamma$ -3、 $\gamma$ -4、 $\gamma$ -5、 $\gamma$ -7、 $\gamma$ -8の欠損マウスを作製し、AMPA型受容体機能調節メカニズムを解析した。

以上、部位特異的グルタミン酸受容体欠損C57BL/6純系マウスに基づく本研究は、従来のノックアウト法の限界を打ち破り、脳の高次機能のシステム制御機構に迫ることを可能にし、脳科学の複数の分野を融合して統合的脳研究を推進する原動力になる。遺伝的背景が脳の高次機能に大きく影響することから、均一の遺伝的条件下で可塑性分子と脳の高次機能の関係を解析する本研究は重要性と独創性が高く、世界標準となるべき成果を提供するものである。

## 4. 事後評価結果

### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

特許出願や査読付きの国際誌に数多くの論文を発表する等、研究チーム全体として非常に高いアクティビティーを示した。また、今後C57BL/6純系マウスでコンディショナルノックアウト技術を使った成果も続々と発表されることが期待出来る。

研究代表者らの遺伝子改変マウス作製技術は最高レベルであり、国際的な技術的貢献度は

極めて高い。作製した遺伝子改変マウスは将来、貴重な疾患モデル動物となる可能性がある。

#### **4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献**

「部位時期特異的遺伝子改変マウスの作製法」、「ゼブラフィッシュ神経回路特異的分子操作法」といった独創性が高く、世界最高水準の方法を用いた研究を推進しており、国際的な科学的・技術的インパクトと貢献度は極めて大きい。

C57BL/6純系マウスでのコンディショナルノックアウトは、今後神経回路の機能的研究において必須となる技術であり、系統への配慮も含めた周到的な研究体制の構築は今後の研究推進に大きく貢献すると思われる。

#### **4-3. その他の特記事項(受賞歴等)**

2003年6月17日：第44回藤原賞 藤原科学財団  
「神経情報伝達と脳可塑性の分子機構に関する先駆的研究」