

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」

平成 15 年度採択研究代表者

平野 丈夫

(京都大学大学院理学研究科 教授)

「小脳による学習機構についての包括的研究」

1. 研究実施の概要

小脳は運動制御・学習にかかわる中枢神経系領域である。小脳皮質は規則正しく比較的単純な神経回路で、中枢神経系がはたらくメカニズムを研究する際に、優れたモデルシステムになると期待される。小脳皮質の興奮性および抑制性シナプスでは、神経活動依存的な情報伝達効率変化であるシナプス可塑性が起これ、それらは運動学習の基盤になる現象と考えられている。本研究では、分子・細胞・組織・個体各レベルの研究を関連付け、小脳による学習機構全体のしくみを包括的に解明することをめざしている。より具体的には、(A)学習の基盤と考えられるシナプス可塑性の発現・維持・制御の分子機構解明と、(B)シナプス可塑性が小脳神経回路における情報処理および個体の運動制御・学習においていかなる役割をはたしているか、を明らかにすることを目標としている。これまでの本研究により、小脳の平行線維・プルキンエ細胞間の興奮性シナプスに局在するグルタミン酸受容体 $\delta 2$ サブユニットが PICK1 分子との相互作用を介して長期抑圧発現に寄与すること、 $\delta 2$ サブユニットを欠損したマウスでは抑制性シナプスも変化していること、また反射性眼球運動の制御および学習が障害されていること、等を明らかにした。さらにこのミュータントマウスでは、シナプス制御異常に起因する登上線維入力の亢進が、視運動性眼球運動と呼ばれる反射性眼球運動の顕著なタイミング遅れを引き起こしていることを示唆する結果も得た。また、平成 18 年度の研究で、小脳の長期抑圧と呼ばれるシナプス可塑性が起これやすくなり、ある種の運動学習が促進されるミュータントマウスを見出した。現在、その詳細に関する研究を続行している。

2. 研究実施内容

運動制御・学習にかかわる小脳皮質の興奮性および抑制性シナプスでは、神経活動依存的な情報伝達効率変化(シナプス可塑性)が起これ、それらが運動学習の基盤現象と考えられている。本研究では分子・細胞・組織・個体各レベルの研究を関連づけ、小脳による学習機構全体のしくみを包括的・統合的に解明することをめざしている。学習の基盤と考えられるシナプス可塑性の発現・維持・制御の分子機構解明と、シナプス可塑性が小脳神経回路における情報処理および個体の運動制御・学習においていかなる役割をはたしているか、を明らかにすることを目標としている。シナプス可塑性の分子機構に関しては、小脳皮質における唯一の出力神経細胞であるプルキン

エ細胞へのグルタミン酸性興奮性シナプスおよび GABA 性抑制性シナプスに焦点を絞って研究を行っている。プルキンエ細胞は二種類の興奮性シナプス入力を受ける。一つは小脳顆粒細胞からの平行線維入力であり、もう一つは下オリブ核からの登上線維入力である。両者がほぼ同期して入力すると、平行線維・プルキンエ細胞間シナプス伝達が持続的に減弱することが知られている。このシナプス可塑性は小脳長期抑圧と呼ばれ、運動学習の細胞レベルの一メカニズムと考えられてきた。

長期抑圧の分子機構に関する研究では、平行線維・プルキンエ細胞間シナプスに限局して存在するグルタミン酸受容体 $\delta 2$ サブユニットが PICK1 分子との結合を介して長期抑圧に関与することを示した(Yawata et al., 2006, *J. Neurosci*)。また、平行線維と登上線維入力の統合を担う分子と推定されてきた C キナーゼの長期抑圧誘導時の細胞内動態を明らかにした(Tsuruno & Hirano, 2007)。さらに、 $\delta 2$ サブユニットと結合する分子として同定されたデルフィリンを欠損させたミュータントマウスでは、小脳長期抑圧が引き起こされやすくなることも明らかにした。なお、このデルフィリン欠損マウスでは、特定の運動学習の亢進も認められた。デルフィリン欠損マウスは、シナプス可塑性発現とある種の運動学習の両者が亢進されている興味深い動物で、現在詳細な解析を続行中である。また、平行線維・プルキンエ細胞間シナプスで長期抑圧および長期増強が起こる際に、細胞全体ではなく単一のシナプスにおいていかなる機能的・形態的な変化が起こるかを調べる研究等も行っている。

プルキンエ細胞への抑制性シナプス入力は、登上線維入力等による脱分極により長時間増強される。このシナプス可塑性は **Rebound Potentiation (RP)** と呼ばれる。RP の制御機構に関する解析を行い、平成 18 年度の研究で Ca^{2+} 依存性蛋白質分解酵素のカルパインおよび GABARAP 分子が RP 発現において中心的な役割を果たすことを突き止めた。また、RP 制御の細胞内シグナル伝達経路のコンピューターシミュレーションを行い、RP 制御の全体像解明に向けた研究も進めている。

シナプス制御が神経回路における情報処理および個体の運動制御・学習においていかなる役割をはたしているかに関する研究では、 $\delta 2$ 欠損マウスで認められる視運動性眼球運動と呼ばれる反射性眼球運動の顕著なタイミング遅れの原因を調べ、登上線維入力の亢進がプルキンエ細胞の発火タイミングを異常にしていることが一因であることを明らかにした(Yoshida et al., 2007)。また上述したように、デルフィリン欠損マウスで視運動性眼球運動の適応が促進されていることも見出している。

共同研究を行っている黒田グループでは、活動電位のタイミングに依存したシナプス可塑性制御の細胞内分子情報伝達経路等に関するコンピューターシミュレーション解析を行い、NMDA 型グルタミン酸受容体のアロステリック性が重要な役割を担うという仮説を提唱した。また横井グループは、神経回路の可視化のためのレポータートランスジェニックマウスラインの作成を行い、シナプス間逆行性トレーサー APTTC を開発し、テトラサイクリン依存性プロモーターにより発現調節されるミュータントマウスの作成に成功した。船曳グループは、平野グループと共同実験を行い、上述した $\delta 2$ 欠損マウスにおける視運動性眼球運動の解析等に寄与した。

3. 研究実施体制

(1)「平野」グループ

①研究者名

平野 丈夫(京都大学大学院理学研究科 教授)

②研究項目

・小脳による学習機構についての包括的研究

(2)「黒田」グループ

①研究者名

黒田 真也(東京大学大学院理学系研究科 教授)

②研究項目

・シナプス可塑性を制御する細胞内分子情報伝達系のモデリング

(3)「横井」グループ

①研究者名

横井 峰人(京都大学大学院医学研究科先端領域融合医学研究機構 助教授(特任))

②研究項目

・シナプス可塑性異常等を示すミュータントマウスの作成

(4)「船曳」グループ

①研究者名

船曳 和雄(大阪バイオサイエンス研究所 副研究部長)

②研究項目

・ミュータントマウスにおける In Vivo 神経活動解析

4. 研究成果の発表等

(1)論文発表(原著論文)

平野グループ

国際

- Yawata, S., Tsuchida, H., Kengaku, M. & Hirano, T. Membrane-proximal region of GluR $\delta 2$ is critical for LTD and interaction with PICK1 in a cerebellar Purkinje neuron. *J. Neurosci.* 26, 3626-3633 (2006).
- Tsuruno, S. & Hirano, T. Persistent activation of protein kinase C α is not necessary for expression of cerebellar long-term depression. *Mol. Cell. Neurosci.* in press
- Yoshida, T., Funabiki, K. & Hirano, T. Increased occurrence of climbing fiber inputs to the cerebellar flocculus in a mutant mouse is correlated with the timing delay of optokinetic response.

Eur. J. Neurosci. in press

- Fujishima, K., Kurisu, J., Hirano, T. & Kengaku, M. Targeted disruption of Sept3, a binding partner of Sept5 and Sept7, unaffected neuronal development in the central nervous system. *J. Neurochem.* in press

黒田グループ

国内

- Shinozaki, T., Cateau, H., Urakubo, H. & Okada, M. Controlling synfire chain by inhibitory synaptic input. *J. Phys. Soc. Jpn.* in press

横井グループ

国際

- Sano, H., Nagai, Y. & Yokoi, M. Inducible expression of retrograde transynaptic genetic tracer in mice. *Genesis* 45, 123-128 (2007).

船曳グループ

国際

- Ashida, G., Abe, K., Funabiki, K. & Konishi, M. Passive soma facilitates submillisecond coincidence detection in the owl's auditory system. *J. Neurophysiol.* 97, 2267-2282 (2007).