

脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出
平成 21 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告

高橋 智幸

同志社大学生命医科学部
教授

シナプス前性神経回路制御メカニズムの生後発達

§ 1. 研究実施体制

(1) 高橋グループ

- ① 研究代表者: 高橋智幸 (同志社大学・生命医科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・ シナプス前末端イメージング
 - ・ シナプス小胞回収制御機構の生後発達
 - ・ シナプス前末端Caチャンネル生後発達スイッチ機構
 - ・ 伝達物質小胞充填機構

§ 2. 研究実施の概要

(1) 脳の情報伝達を調節する新しいメカニズムを発見

生化学と電気生理学の手法を組み合わせ、**Rho キナーゼが神経細胞間の情報伝達を調節する重要な分子であることを発見した。**

神経細胞間の接合部、シナプスの前末端には伝達物質が直径 50 ナノメートルのシナプス小胞に格納されている。電気信号がシナプス前末端に到達すると、シナプス小胞が前末端膜に融合し、伝達物質を開口放出する(エキソサイトーシス)。伝達物質はシナプス後膜の受容体と結合して電気信号に変換されて情報が受け渡される。シナプス前末端膜に融合した小胞膜はその後末端内に取り込まれ(エンドサイトーシス)、再びシナプス小胞としてリサイクルされる。昨年の研究で、エンドサイトーシスがシナプス後膜から放出された一酸化窒素によって加速することや cGMP 依存性プロテインキナーゼ(PKG)と脂質のホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸(PIP₂)が関与していることを特定したが、PKG と PIP₂ の間の反応をつなぐ分子は未発見のままであった (Eguchi et al., *Neuron* 2012)。そこで多くの候補の中から Rho キナーゼを絞り込み、ラットの脳組織からシナプス膜成分を取り出し、質量分析装置を使って PIP₂ 分子の含有量を測定した。Rho キナーゼ阻害剤を加えると PIP₂ が減少し、活性剤によって増加すること、および、PKG 阻害剤が PIP₂ を減少させる効果を Rho キナーゼ活性剤が打ち消すことから、Rho キナーゼが PKG と PIP₂ をつなぐ物質であることを突き止めた。そこで、膜容量測定法と呼ばれる電気生理学的手法で、この反応が神経伝達にどのように働いているのかを検討した。その結果、抑制剤によって Rho キナーゼの働きを阻害するとエンドサイトーシスは遅くなること、また PKG 阻害剤によるエンドサイトーシスの減速は、Rho キナーゼの活性剤によって打ち消されることが分かり、Rho キナーゼが PKG と PIP₂ の間の反応を仲介し、シナプス小胞膜のエンドサイトーシスを制御していることが明らかとなった。本研究の成果は、2013 年 7 月の *Journal of Neuroscience* に掲載された(論文 1)。

(2) 脳の成熟過程では高精度の情報伝達系の確立に神経活動が欠かせられない。脳の成熟過程では、シナプス伝達物質の放出に関わる Ca チャネルのサブタイプがスイッチすることにより、高精度で高速の情報伝達を担うシナプスが確立することが知られているが、このスイッチの仕組みは不明であった。今回、新生ラットの小脳切片を培養する手法を使って、様々な薬物の効果をテストした結果、神経活動をブロックする薬物を培養液に与えると、Ca チャネルのサブタイプがスイッチしなくなることを見出した。逆に神経活動を促進する薬物は、スイッチを促進した。そこで神経活動を抑制する薬物と一緒に神経栄養因子として知られる BDNF または NT-4 を投与するとスイッチが回復した。また、神経栄養因子が結合する受容体のブロッカーを投与したところ、スイッチが抑制された。さらに神経活動抑制剤と神経栄養因子受容体ブロッカーを約1週間幼若ラットの小脳に注入し続けたところスイッチが抑制された。生後発達の上において、神経活動によって神経栄養因子が分泌され、これによって Ca チャネルサブタイプのスイッチが起こると推論される。本研究の成果は 2013 年 11 月の *Journal of Neuroscience* に掲載された(論文 2)。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

1. Taoufiq Z, Eguchi K, Takahashi T. (2013) Rho-kinase accelerates synaptic vesicle endocytosis by linking cyclic GMP-dependent protein kinase activity to phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate synthesis. *J Neurosci* 33: 12099-12104. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0730-13.2013)
2. Miki T, Hirai H, Takahashi T. (2013) Activity-dependent neurotrophin signaling underlies developmental switch of Ca²⁺ channel subtype mediating neurotransmitter release. *J Neurosci* 33: 18755-18763. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3161-13.2013)