

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 22 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

高井 義美

神戸大学大学院医学研究科
特命教授

海馬神経回路形成における細胞接着分子と関連分子の機能と作用機構

§ 1. 研究実施体制

(1) 高井グループ

① 研究代表者: 高井 義美 (神戸大学大学院医学研究科、特命教授)

② 研究項目

- 神経回路の形成と機能発現におけるネクチン、アフアディンおよびその関連分子による神経細胞の標的細胞認識や、シナプスの形態形成と機能制御、およびシナプス可塑性の機構について、細胞生物学や電気生理学的手法およびライブイメージング技術などを用いて研究を行う。
- 海馬における神経回路の形成と機能発現の分子機構を、細胞間接着分子とその関連分子の面から個体レベルで明らかにするために必要となるノックアウトマウスなどの作成と維持・管理を行う。

(2) 溝口グループ

① 主たる共同研究者: 溝口 明 (三重大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- 電子顕微鏡による海馬苔状線維終末の微細形態の解析
- 海馬における神経回路の形成とシナプス可塑性の機構の形態学的解析

§ 2. 研究実施の概要

1. 研究概要

脳の海馬は学習と記憶の要となる部位であり、そこでは神経細胞がシナプスを介して局所的な神経回路を形成しているが、そのシナプスや回路の形成機構や、記憶と学習に伴ってシナプスの形態が変化してシナプス伝達を調節する可塑性の機構の詳細は不明である。そこで本研究では、(1)神経回路形成における標的細胞認識機構、(2)シナプスの形成と機能の制御機構、(3)シナプス可塑性の機構について、細胞接着分子ネクチンとその結合分子アフアディンに着目して解明する。

2. 研究の背景

ネクチンとアフアディンは研究代表者らによって見いだされた分子で、上皮細胞の細胞間接着の形成に不可欠な機能を果たしている。シナプスのプンクタドヘレンシアジャンクション (PAJ)は、上皮細胞の細胞間接着装置と類似の構造で、海馬の苔状線維巨大シナプスの PAJ においてネクチンとアフアディンはカドヘリンとともに局在している。そのため、これらの分子は、海馬の神経回路とシナプスの形成に関与している可能性がある。

3. 研究実施内容

サブテーマ(1):アフアディン欠損マウスの海馬では、通常 CA3 野を標的する苔状線維が背側に異常に伸長し、CA1 野近くの領域に標的していた。さらに、CA3 野錐体細胞の集積が異常となり、錐体細胞層の乱れが認められた。

サブテーマ(2):アフアディンを欠損したマウスの海馬 CA3 野では、PAJ を構成する分子とシナプス終末で機能する分子の集積が低下し、シナプスの形態形成も異常であった。アフアディンを欠損した培養海馬神経細胞の電気生理学的解析においては、シナプス前性・後性にシナプス機能が低下していることが示され、アフアディンはシナプス分子の集積、シナプスの形態形成と機能を制御する重要な分子であると考えられる。さらに、その分子機構を明らかにするために、アフアディンやネクチンに結合する分子の同定を試み、種々のシナプス分子を見いだしている。

サブテーマ(3):海馬苔状線維の巨大シナプス終末をイメージングし、神経活動に依存した形態的なシナプス可塑性が誘導されるかを検討した。パッチクランプした顆粒細胞に、高頻度活動電位刺激を加えてシナプス終末の形態を観察したところ、約7割の巨大苔状線維終末において、その形状が刺激後 20 分から 1 時間以内に複雑にくびれた構造に分割されることが明らかになった。私どもはこのシナプス形態の変化を来す現象を iCSM (induced change of synaptic morphology) と仮に名付けている。iCSM はイオン透過性グルタミン酸受容体、ならびに代謝性グルタミン酸受容体のアンタゴニストによって阻害された。したがって、グルタミン酸受容体の活性化を介して iCSM が惹起されると考えられた。一方、同様の条件の刺激で、CA3 野錐体細胞で記録される NMDA 受容体を介したシナプス応答に長期増強 (LTP) が誘導された (NMDAR-LTP)。この NMDAR-LTP は NMDA 受容体の阻害剤 D-APV によって抑制された。このように、海馬苔状線維の iCSM および LTP は共に NMDA 受容体の制御を受けており、両者は少なくとも一部共通する機構で誘導されると考えられる。今後は iCSM と LTP を同時記録して、両者の関係を詳細に解析する。また、各種ネクチンやアフアディンのノックアウトマウスを用いて、iCSM におけるネクチンと

アファデインの機能と作用機構についても検討する。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

1. Komaki R, Togashi H, Takai Y. (2013) Regulation of dendritic filopodial interactions by ZO-1 and implications for dendrite morphogenesis. *PLoS One* 8: e76201. (DOI: 10.1371/journal.pone.0076201)
2. Yamamoto H, Maruo T, Majima T, Ishizaki H, Tanaka-Okamoto M, Miyoshi J, Mandai K, Takai Y. (2013) Genetic deletion of afadin causes hydrocephalus by destruction of adherens junctions in radial glial and ependymal cells in the midbrain. *PLoS One* 8: e80356. (DOI: 10.1371/journal.pone.0080356)
3. Toyoshima D, Mandai K, Maruo T, Supriyanto I, Togashi H, Inoue T, Mori M, Takai Y. (2014) Afadin regulates puncta adherentia junction formation and presynaptic differentiation in hippocampal neurons. *PLoS One* 9: e89763. (DOI: 10.1371/journal.pone.0089763).