

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 シナプスにおける逆行性シグナルが生後発達期の機能的神経回路形成に果たす役割の解明

東京大学・大学院医学系研究科・教授 かのう まさのぶ
狩野 方伸

研究分野：神経生理学・神経科学一般

キーワード：分子・細胞神経科学

【研究の背景・目的】

生まれたばかりの動物の神経系には、シナプスが過剰に存在するが、成長につれて、必要なシナプスは強められて残存し、不必要なシナプスは除去されて、成熟した機能的神経回路が完成する（シナプス刈り込み）。これまで私たちは、生後発達期の小脳登上線維—プルキンエ細胞シナプスをモデルとして、この分野で世界をリードしてきた。機能的神経回路形成において、シナプス後部の活動が重要であることは明らかになっているが、シナプス後部の神経細胞の情報をシナプス前部に伝える逆行性シグナルについては、殆どわかっていない。

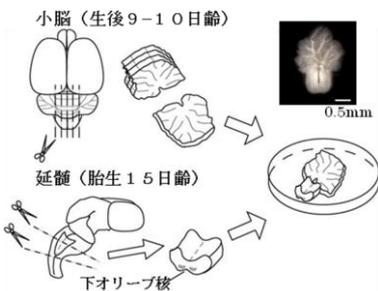


図1 延髄—小脳共培養標本

私たちは、最近、登上線維の起始核である下オリーブ核を含む脳幹と小脳を共培養して、シナプス刈り込みを *in vitro* で再現することに成功した（図1）。この標本を使って、シナプス刈り込みの新規候補遺伝子の網

羅的スクリーニングが可能になった。また、ウイルスベクターを新生児マウスの小脳に注入してプルキンエ細胞特異的に候補分子を操作し、その影響を *in vivo* で調べる方法も確立している。

本研究では、これらのスクリーニング法を駆使し、生後発達期の小脳登上線維シナプスの刈り込みに関与する逆行性シグナルを明らかにする。さらに、内因性カンナビノイドのうちで、成熟脳における主要な逆行性シナプス伝達物質である 2-arachidonoylglycerol (2-AG) が、発達期の機能的神経回路形成に果たす役割を解析する。これらにより、生後発達期の機能的神経回路形成に、逆行性シグナル伝達が果たす役割とその機構の解明を目指す。

【研究の方法】

延髄—小脳の共培養系において、レンチウイルスノックダウンベクターを用いて、プルキンエ細胞特異的に標的分子をノックダウンし、プルキンエ細胞の電気生理学的解析によって、登上線維シナプス刈り込みに影響を与えるものを絞り込む。これら候補分子のシナプス刈り込みへの関与を、さらに *in vivo*

におけるウイルスによるノックダウンや遺伝子改変マウスを用いた解析によって検証し、プルキンエ細胞側の逆行性シグナル分子を同定する。

次に、同定した分子が作用する受容体のうちで登上線維またはグリア細胞に発現するものを、ウイルスによる *in vivo* でのノックダウンにより検索する。また、同定した逆行性シグナル分子の遺伝子改変マウスにおいて、小脳神経回路の動作を、*in vivo* で解析する。さらに、2-AG に関連するノックアウトマウスの小脳シナプス刈り込みと大脳皮質の神経回路動作を解析し、2-AG シグナルの機能的神経回路形成における役割を明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究によって、生後発達期のシナプス刈り込みに関わる逆行性シグナルが同定されれば、そのシグナルの発生するシナプス後部の機構と、そのシグナルを受容するシナプス前部の機構の解明につながる。私たち独自の新たなスクリーニング方法により、本研究期間内に、多くの新たな分子が同定され、シナプス刈り込みを担う逆行性シグナルの機構が明らかになり、発達期の神経系における機能的神経回路形成の機構や基本原理解明につながる事が大いに期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Uesaka N, Mikuni T, Hashimoto K, Hirai H, Sakimura K, Kano M: Organotypic coculture preparation for the study of developmental synapse elimination in mammalian brain. *J Neurosci* 32:11688-11699, 2012.
- Mikuni T, Uesaka N, Okuno H, Hirai H, Deisseroth K, Bito H, Kano M: Arc/Arg3.1 is a postsynaptic mediator of activity-dependent synapse elimination in the developing cerebellum. *Neuron* 78: 1024-1035, 2013

【研究期間と研究経費】

平成 25 年度—29 年度
425,400 千円

【ホームページ等】

http://plaza.umin.ac.jp/~neurophy/Kano_lab/Top.html
mkano-tky@m.u-tokyo.ac.jp