

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23年 4月 13日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 自然科学研究機構・生理学研究所

職・氏名 ^(ふりがな) 教授・重^{しげ}本^{もと}隆^{りゅう}一^{いち}

1. 事業名 相手国（オーストリア）との共同研究 振興会対応機関（ FWF ）

2. 研究課題名 代謝調節型グルタミン酸受容体の扁桃体における役割

3. 全採用期間

平成 21年 4月 1日 ~ 平成 23年 3月 31日 （ 2年 0ヶ月）

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 5,000 千円

初年度経費 2,500 千円、 2年度経費 2,500 千円、 3年度経費 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
しげもと りゅういち 重本隆一	自然科学研究機構生理学研究所・教授	扁桃体外側核神経終末におけるグループ III 代謝調節型グルタミン酸受容体の局在
ふかざわ ゆうご 深澤有吾	自然科学研究機構生理学研究所・助教	扁桃体シナプスにおける AMPA 型グルタミン酸受容体密度
かまさわ なおみ 釜澤尚美	自然科学研究機構生理学研究所・特任助教	扁桃体シナプスにおける電位依存性カルシウムチャネルの局在
ドゥイ ワヒュー インドリアティ Dwi Wahyu Indriati	総合研究大学院大学・大学院生	電位依存性カルシウムチャネルのシナプスにおける密度と局在

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 Innsbruck Medical University・Professor・Francesco Ferraguti

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○Francesco Ferraguti	Innsbruck Medical University・Professor	代謝調節型グルタミン酸受容体作動薬の恐怖条件付け学習とその消去に対する作用
Walter Kaufmann	Innsbruck Medical University・Research Associate	カルシウム依存性カリウムチャネルの局在
Yu Kasugai	Innsbruck Medical University・Postdoctoral Fellow	扁桃体シナプスにおける GABAA 受容体の局在と密度変化

6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

日本側研究代表者は、20年前から代謝調節型グルタミン酸受容体 (mGluR) の cDNA クローニングや脳内局在解析に従事し、オーストリア側研究代表者は代謝調節型グルタミン酸受容体の最初のサブタイプ (mGluR1) のノックアウトマウスを使った初めての報告を行った。このことが縁となり、10年以上の共同研究を行っているが、本研究では特に双方のグループが最近独立に研究を始めていた扁桃体の神経回路とそこに存在する代謝調節型グルタミン酸受容体の機能について、新たな共同研究を行うことができた。我々のグループは扁桃体に発現している mGluR7 が taste aversion や fear response などの情動行動に重要であること (Masugi et al., 1999)、mGluR7 ノックアウトマウスが易痙攣性を示すこと (Sansig et al., 2001) を報告していたのに対し、Ferraguti のグループは扁桃体の中でも intercalated nucleus (ITC) と呼ばれる神経核に集積している抑制性細胞に注目し、その基本的特性 (Garacitano et al., 2007) や恐怖条件付けの消去における役割を報告していた。本研究では、ITC 周辺に少数ではあるが強い mGluR1 免疫陽性を示す神経細胞が存在し、medial paracapsular ITC の神経細胞から投射を受けていることが明らかになった。この medial paracapsular ITC の神経細胞は GABA 作動性で恐怖条件付けの消去の際に活性化される ITC の神経細胞を抑制している (Busti et al., 2011)。従って mGluR1 免疫陽性細胞も恐怖条件付けやその消去に何らかの役割を持っている可能性が高いと考えられ、現在、この神経細胞を特異的に除去する試みを行っている。

また、扁桃体に豊富に存在する mGluR7 を含むグループ III の代謝調節型グルタミン酸受容体の役割をさらに解析するために、扁桃体外側核において mGluR4, mGluR7, mGluR8 がどのような神経終末に発現しているのかを調べた。mGluR7 は扁桃体内や視床に由来する神経終末に検出されたが、恐怖条件付けの消去に関係するといわれている prefrontal cortex からの投射神経終末にはほとんど検出されなかった。同様の解析を他の mGluR についても進めていると同時に、これらの受容体の拮抗薬の投与による薬理実験を行った結果、mGluR8 の拮抗薬によってマウスの恐怖条件付けに有意な変化が認められることが分かった。受容体の局在とその薬理的ブロックによっておこる行動変化の関係について、現在論文を執筆中であり平成23年中には投稿する予定となっている。

さらに神経終末に存在する代謝調節型グルタミン酸受容体によって調節されることが広く知られている電位依存性カルシウムチャンネルについて、電子顕微鏡的な局在解析を行った。特に P/Q-type の電位依存性カルシウムチャンネルについては、凍結切断レプリカ法によってシナプス前終末の伝達物質放出部位に特異的な集積を認め (Dwi et al., FENS meeting, 2009)、本共同研究がフランスのパスツール研究所、スイス連邦工科大学ローザンヌ校、ドイツのフライブルグ大学のグループとの新たな共同研究に進展した。電気生理学的に検出されるカルシウムイメージングと我々の結果と照合させ、P/Q-type, N-type, R-type の電位依存性カルシウムチャンネルに対する多くの抗体を使って、扁桃体に存在するグループ III の代謝調節型グルタミン酸受容体が、どのタイプの電位依存性カルシウムチャンネルに特異的に共役しているのかを調べていく。

また、電位依存性カルシウムチャンネルから流入するカルシウムによって活性化されるカリウムチャンネルの一つである BK channel について、Ferraguti のグループの Kaufmann と春日井が凍結切断レプリカ法による解析を行い、神経細胞体には散在するものと高密度のクラスターを形成するものの2種類の BK channel が認められることを報告した (Kaufmann et al., 2009; 2010)。このうちクラスターを形成しているものは、細胞膜直下に Hypolemmal cisternae と呼ばれる ER 様の膜構造をもっており、我々のグループはこのクラスターに P/Q-type の電位依存性カルシウムチャンネルがほぼすべてに共存していることを見出した (Dwi et al., unpublished)。