

## 活動依存的カルシウム流入による競合的シナプス回路発達の 共通原理の解明に関する研究

Molecular mechanisms for calcium-mediated refinement of  
competitive synaptic wiring in the brain

渡辺 雅彦 (WATANABE MASAHIKO)

北海道大学・大学院医学研究科・教授



### 研究の概要

生後早期の発達過程における活動依存的なシナプス回路の強化と除去を通して、機能的なシナプス回路へとリファインされ高次神経機能が飛躍的に発達する。本研究プロジェクトでは、神経活動を伝達し細胞内カルシウムイオン濃度上昇へと導くグルタミン酸受容体やその機能制御分子、カルシウム依存的な細胞内シグナル分子に着目し、その遺伝子改変マウスの回路表現型解析を通して、シナプス回路発達の共通原理の解明を目指す。

研究分野：神経解剖学

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：シナプス回路、シナプス刈込み、グルタミン酸受容体、カルシウムイオン

### 1. 研究開始当初の背景

小脳プルキンエ細胞の近位樹状突起を一本の登上線維が独占支配し、遠位樹状突起を数十万本の平行線維が支配する。研究開始当初までに、研究代表者は、プルキンエ細胞に発現するグルタミン酸受容体 GluRd2 (GluD2) と顆粒細胞が分泌するセレベリン1 (Cbln1) とが平行線維シナプス形成を強化し、P/Q型カルシウムチャネルが近位樹状突起における一本の登上線維の独占的支配を促進する分子機構であることを明らかにした。この小脳における分子機構を、大脳シナプス回路発達のそれと比較すると、活動依存的な  $[Ca^{2+}]_i$  上昇が強化と除去を基盤とするシナプス回路発達を媒介している点で共通する一方 GluD2 のような特殊な分子機構が特定のシナプスを選択的に安定化するという構図が浮上してきた。

### 2. 研究の目的

本研究では大脳と小脳におけるシナプス回路発達の分子機構の相似性と相違性を追求することにより、脳における共通原理を解明する研究プロジェクトを企画した。その解析対象分子として、(1) グルタミン酸受容体とカルシウムチャネル、(2) これらの機能制御分子、(3) タンパクリン酸化酵素や脱リン酸化酵素などの  $[Ca^{2+}]_i$  依存的な細胞内シグナル分子に焦点を当て、神経活動の受容からその下流の細胞内過程の各階層に属する機能分子がシナプス回路発達のどの局

面をどのように制御しているのかを、個体レベルで解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

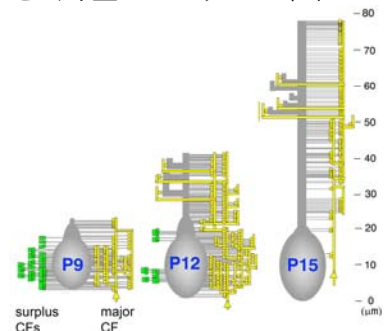
その手段として、遺伝子改変マウスモデルを開発しその表現型解析を行う上でベストと考えられる研究チームを組織し、最先端の神経解剖学・神経生理学・発生工学・行動学の手法を駆使して研究を推進している。

### 4. これまでの成果

研究開始から現在までの3年間に得られた研究成果は、98編の英文原著論文(インパクトファクターの合計値 534、一編当たり 6.010)として出版し、その主な概要は以下のとおりである。

#### 1) 登上線維の単一支配化機構と成体期における維持機構

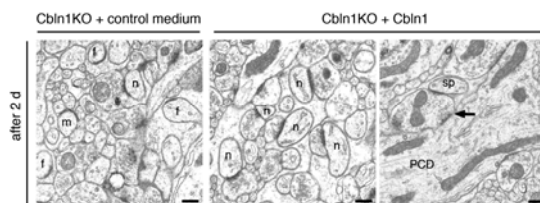
・生後第2週に樹状突起支配へとトランスロケートするのは優勢な1本の登上線維のみで、この過程をP/Q型カルシウムチャネルが制御する。



- ・生後第2週に起こるもう一つの変化は、登上線維が周囲のプルキンエ細胞に投射する側枝の除去で、この過程を代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 が制御する。
- ・成体期において勝ち残った登上線維の上行枝は側方側枝を派出する。グルタミン酸受容体 GluD2 やグルタミン酸トランスポーター GLAST は、この側枝のシナプス形成能を抑制することで単一支配が維持される。

## 2) 小脳平行線維シナプスの形成と維持の分子機構

- ・顆粒細胞からの分泌後、Cbln1 は Cbln3 と複合体を形成して平行線維シナプスのシナプス間隙に濃縮して局在する。
- ・Cbln1 と GluD2 は直接分子結合を行い、平行線維シナプスの形成と維持に関わる。

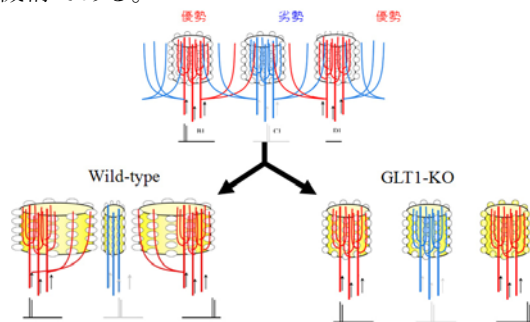


## 3) 興奮性および抑制性シナプスの形成部位の制御機構

- ・カルシニューリンは興奮性シナプスと抑制性シナプスの形成部位の選別に関わる。

## 4. 体性感覚野のパレルの臨界期発達と臨界期可塑性の分子機構

- ・NMDA 型グルタミン酸受容体の GluN2B はパレルの形成から臨界期終了までの時間的発達を早め、GluN2D はこれを送らせるように拮抗する。
- ・グルタミン酸トランスポーターGLT1 は障害誘導性の臨界期可塑性を増大させる分子機構である。



## 5. 今後の計画

これまで3年間で得られた研究成果をさらに発展し完成するとともに、特にシナプス回路発達におけるカルシニューリンの機能的役割の解明に力を注ぐ予定である。

## 6. これまでの発表論文等

- 1) Matsuda K, Miura E, Miyazaki T,

Kakegawa W, Emi K, Narumi S, Fukazawa Y, Itoh-Ishida A, Kondo T, Shigemoto R, Watanabe M, Yuzaki M: Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor d2, a bidirectional synaptic organizer. **Science**, in press.

2) Yamasaki M, Matsui M, Watanabe M: Preferential localization of muscarinic M1 receptor on dendritic shaft and spine of cortical pyramidal cells and its anatomical evidence for volume transmission. **J. Neurosci.** in press.

3) Miura E, Matsuda K, Morgan JI, Yuzaki M, Watanabe M: Cbln1 accumulates and colocalizes with Cbln3 and GluRd2 at parallel fiber-Purkinje cell synapses in the mouse cerebellum. **Eur. J. Neurosci.**, 29:693-706, 2009.

4) Hashimoto K, Ichikawa R, Kitamura K, Watanabe M, Kano M: Translocation of a "winner" climbing fiber to the Purkinje cell dendrite and subsequent elimination of "losers" from the soma in developing cerebellum. **Neuron** 63:106-118, 2009.

5) Takasaki C, Okada R, Mitani A, Fukaya M, Yamasaki M, Fujihara Y, Shirakawa T, Tanaka K, Watanabe M. Glutamate transporters regulate lesion-induced period plasticity in the developing somatosensory cortex. **J. Neurosci.** 28:4995-5006, 2008.

6) Ito-Ishida A, Miura E, Emi K, Matsuda K, Iijima K, Narumi S, Kondo T, Kohda K, Watanabe M, Yuzaki M: Cbln1 Regulates Rapid Formation and Maintenance of Excitatory Synapses in Mature Cerebellar Purkinje Cells in vitro and in vivo. **J. Neurosci.** 28:5920-5930, 2008.

7) Nishiyama H, Fukaya M, Watanabe M, Linden D: Axonal motility and its modulation by activity are branch-type specific in the intact adult cerebellum. **Neuron** 56:472-487, 2007.

8) Uchigashima M, Narushima M, Fukaya M, Katona I, Kano M, Watanabe M: Subcellular arrangement of molecules for 2-arachidonoyl-glycerol-mediated retrograde signaling and its physiological contribution to synaptic modulation in the striatum. **J. Neurosci.**, 27:3663-3676, 2007.

ホームページ等

<http://www.med.hokudai.ac.jp/~anat-2w/research.html>