

神経伝達物質放出の修飾機構解明のための分子生理学的研究

Molecular physiological study for the elucidation of mechanisms for modulation of neurotransmitter release

真鍋 俊也 (MANABE TOSHIYA)

東京大学・医科学研究所・教授



研究の概要

本研究計画では、中枢神経系における神経伝達物質の放出機構とその修飾機構の分子・細胞機構を明らかにすることを目的とした。シナプス前終末に存在する神経伝達物質の放出を制御する機能分子の遺伝子改変マウスを用いて機能解析を進め、多くの機能分子による神経伝達物質放出の修飾機構を分子・細胞・個体レベルで明らかにした。

研究分野：神経科学一般

科研費の分科・細目：分子・細胞神経科学

キーワード：神経伝達物質、遺伝子改変マウス、生理学、シナプス、エクソサイトーシス

1. 研究開始当初の背景

記憶などの高次脳機能は、シナプスにおける伝達効率の長期的変化によりもたらされると考えられおり、一部の例外を除いて、それはシナプス後細胞で発現するとされている。私たちの研究室も含め、世界中の多くの研究室でシナプス後細胞での可塑性誘導・発現機構が明らかにされてきているが、可塑性が誘導されるためには、神経伝達物質の放出や放出機構自体の可塑的变化が決定的に重要であるが、これまでこの領域については、研究が十分に進んでいるとは言えない。

シナプス前終末における神経伝達物質の放出機構そのものについては明らかになりつつあるが、放出過程の可塑的变化については、きわめて限られた知見しか得られていない。シナプス後細胞での可塑性に関する知見は多いが、それにも影響を与えるシナプス前終末での放出過程の可塑性を明らかにしなければ、シナプス機能のごく一面しかみていないことになる。ある種の神経疾患では、神経伝達物質の放出機構の異常が関与しており、放出装置の効率や単位放出量（シナプス前性量子サイズ）の短期的・長期的修飾機構を明らかにすることは、基礎神経科学だけでなく、臨床的にもきわめて大きな意義を有する。

これまで、当研究室では、シナプス前終末からの神経伝達物質放出機構やその可塑性に関する研究で多くの世界的な研究成果をあげてきた。例えば、海馬 CA3 領域苔状線維

シナプスにおけるシナプス前性の長期抑圧 (LTD) 現象を世界に先駆け発見し、*Science* 誌に連報で発表しているし、これら以外にも数多くの論文を発表している。本研究計画では、このようなこれまでの経験や技術を生かし、神経伝達物質放出過程の修飾機構の全貌を明らかにすることを究極的な目標とし、具体的には、以下の2項目について研究を進める。

2. 研究の目的

(1) シナプス前終末内での Ca^{2+} 動態による神経伝達物質放出の修飾機構と (2) ひとつのシナプス小胞に含まれるグルタミン酸の含有量を決定する機構の解明のために、シナプス前終末でのみ遺伝子操作の影響がでる変異マウスの機能解析を進める。具体的には、 Ca^{2+} 動態の制御にかかわる機能分子や細胞内小器官に注目し、それらの神経伝達物質放出過程の可塑性発現における役割を明らかにする。また、シナプス前性に量子サイズが決定される分子機構も明らかにする。

3. 研究の方法

マウスの海馬スライス標本を用いて電気生理学的に神経伝達物質放出の修飾機構を解析する。細胞内 Ca^{2+} 動態を制御する分子や Ca^{2+} により機能調節されるシナプス前終末の機能分子を研究対象とし、それらに関連する細胞内小器官の役割についても機能解析を進める。また、シナプス前終末でのみ遺伝子

操作の効果が出るようなマウスを作製してシナプス伝達の解析を行う。さらに、シナプス伝達の最小単位である微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) や興奮性シナプス伝達を媒介する AMPA 受容体の低親和性阻害薬などを用いて量子サイズの評価を行い、量子サイズを決定する機能分子の同定と解析を進める。研究の後半以降では、研究対象としてきた機能分子の遺伝子改変マウスの個体レベルでの神経行動解析を進める。行動実験バッテリーを行い、異常がみられた項目については、さらに詳細に検討する。

4. これまでの成果

シナプス前終末に存在する CAST、ミトコンドリア、Ca²⁺の細胞内放出に関連する分子、CaMKII、SNAP-25、syntaxin-1A などの機能分子の遺伝子改変マウスを用いて、シナプス前終末からの神経伝達物質放出の機能解析を進めた。これらの遺伝子改変マウスのほとんどで、電気生理学的な解析において神経伝達物質の放出機構とその調節機構に異常を見出した。

また、行動解析においても、これらの遺伝子改変マウスの一部において、個体レベルでの異常を同定することもできた。

5. 今後の計画

上記の解析結果をさらに確実なものとするとともに、まだ結論の出していない実験項目についてさらに実験を追加し、結果を確定させる。また、すでに論文として報告した研究項目もあるが、それ以外についても研究期間内に実験を終了し、論文発表を行う。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Inoue, T., Hoshina, N., Nakazawa, T., Kiyama, Y., Abe, T., Yamamoto, T., Manabe, T. and Yamamoto, T. (2014). Lemur kinase 3 deficiency causes pronounced locomotor hyperactivity and impairs endocytic trafficking. *J. Neurosci.* (in press).

Watanabe, Y., Katayama, N., Takeuchi, K., Togano, T., Itoh, R., Sato, M., Yamazaki, M., Abe, M., Sato, T., Oda, K., Yokoyama, M., Takao, K., Fukaya, M., Miyakawa, T., Watanabe, M., Sakimura, K., Manabe, T. and Igarashi, M. (2013). Point mutation in syntaxin-1A causes abnormal vesicle recycling, behaviors, and short-term plasticity. *J. Biol. Chem.* 288:34906-34919.

Nomoto, M., Takeda, Y., Uchida, S., Mitsuda, K., Enomoto, H., Saito, K., Choi, T., Watabe, A. M., Kobayashi, S., Masushige, S., Manabe, T. and Kida, S. (2012). Dysfunction of the RAR/RXR

signaling pathway in the forebrain impairs hippocampal memory and synaptic plasticity. *Mol. Brain* 5:8.

Delawary, M., Tezuka, T., Kiyama, Y., Yokoyama, K., Wada, E., Wada, K., Manabe, T., Yamamoto, T. and Nakazawa, T. (2012). NMDAR2B tyrosine phosphorylation is involved in thermal nociception. *Neurosci. Lett.* 516:270-273.

Kato, H. K., Kassai, H., Watabe, A. M., Aiba, A. and Manabe, T. (2012). Functional coupling of the metabotropic glutamate receptor, InsP₃ receptor and L-type Ca²⁺ channel in mouse CA1 pyramidal cells. *J. Physiol. (Lond.)* 590:3019-3034.

Wakabayashi, C., Kiyama, Y., Kunugi, H., Manabe, T. and Iwakura, Y. (2011). Age-dependent regulation of depression-like behaviors through modulation of adrenergic receptor α_{1A} subtype expression revealed by the analysis of IL-1Ra knockout mice. *Neuroscience* 192:475-484.

ホームページ等

http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/Neuronal_Network/Neuronal_Network/Index.html