



## 精神神経疾患と強く関連するグルタミン酸受容体 GluD1 は 高次脳領域に豊富に発現し、シナプス形成を制御する

### 研究成果のポイント

- ・統合失調症<sup>1)</sup>、気分障害<sup>2)</sup>、自閉症スペクトラム<sup>3)</sup>などの精神神経疾患と強く関連する遺伝子の一つであるグルタミン酸受容体<sup>4)</sup>GluD1 を、高感度で特異的に検出する発現解析ツールの開発に成功した。
- ・このツールを用いた解析により、GluD1 が認知・運動・情動・記憶に関わる高次脳領域に発現し、特定のシナプス回路に選択的に局在していたことを発見した。
- ・GluD1 遺伝子欠損マウスのシナプス回路解析から、この分子がシナプス回路の形成制御に関与していることが明らかとなった。

### 研究成果の概要

グルタミン酸は、脳における興奮性シナプス伝達の主要な伝達物質で、神経情報の生成と伝達、脳の可塑性、シナプス回路発達などに重要な役割を果たしています。これを伝えるグルタミン酸受容体の中には、グルタミン酸との結合能を失いシナプス伝達機能を失ってしまった不思議な分子ファミリー（GluD ファミリー）が存在します。これまで小脳プルキンエ細胞に豊富な GluD2 についての研究から、この分子がシナプスの構造的および機能的結合性を制御する重要な分子であり、その遺伝子異常により小脳性の運動障害が起こることを遺伝子変異を有するヒト家系やマウスの研究から明らかにしてきました。しかし、その類縁分子である GluD1 については、シナプス発現から分子機能に至るまで、これまで全く不明な分子でした。今回、私達は GluD1 に着目し、この分子が脳や小脳などの高次脳領域に発現し、シナプス回路の結合性を強化することを世界で初めて発見しました。

本研究成果は、2014 年 5 月 28 日出版の米国神経科学誌「The Journal of Neuroscience」（34 巻、7412-7424 頁）で公開され、さらに本号のハイライトとして「This Week in The Journal」としても紹介されました。

本研究は、戦略的創造研究推進事業（CREST）の「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域の一環として、また科学研究費補助金の助成を受けて行われました。

## 論文発表の概要

研究論文名：Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum. (グルタミン酸受容体 GluD1 の高次能領域における豊富な発現と小脳平行線維・介在ニューロンシナプス形成への関与)

著者：今野幸太郎<sup>1</sup>，松田恵子<sup>2</sup>，中本千尋<sup>3</sup>，内ヶ島基政<sup>1</sup>，宮崎太輔<sup>1</sup>，山崎美和子<sup>1</sup>，崎村建司<sup>3</sup>，柚崎通介<sup>2</sup>，渡辺雅彦<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科，<sup>2</sup>慶応義塾大学医学部，<sup>3</sup>新潟大学脳研究所

公表雑誌：The Journal of Neuroscience 34:7412-7424 (2014) (米国神経科学誌・査読有)

公表日：米国東部時間 2014年5月28日

## 研究成果の概要

### (背景)

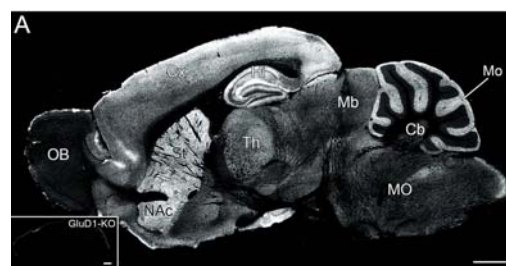
生後間もない時期はシナプスを介して接続する神経回路は過剰で重複が多く、未熟な状態にあります。その後の発達に伴い、選択的な強化と除去を基盤とするシナプスの刈込み<sup>5)</sup>が起こり、個体史を反映し生活環境に適応した機能的な神経回路へと改築されていきます。これまで私達の研究室では、シナプス回路の発達成熟の分子機構の解明に取り組み、グルタミン酸受容体 GluD2 が小脳の特定のニューロン（プルキンエ細胞）の特定のシナプス（平行線維シナプス）に発現し、平行線維・プルキンエ細胞シナプスの結合性の強化と維持に関わる分子であることを実験的に証明してきました。今回注目した GluD1 は、GluD2 と類縁の分子として20年前以上に同定されていましたが、その発現や機能的役割については全く不明なままでした。私達は、統合失調症、気分障害、自閉症スペクトラムなどの精神神経疾患がシナプスの形成異常との関連が注目され、GluD1 がこれらの精神神経疾患と強く関連する遺伝子の一つであることから、大脳や小脳などの高次領域でシナプス結合性の強化を介して高次脳機能の基盤となっているという仮説を立てるに至りました。この仮説を検証するために、慶応義塾大学の柚崎研究室と新潟大学脳研究所の崎村研究室と共同して研究を推進しました。

### (研究手法)

渡辺雅彦教授が GluD1 の発現解析を可能にする高感度特異抗体とリボプローブを作成し、今野幸太郎助教が中心となって蛍光 in situ ハイブリダイゼーション<sup>6)</sup>、蛍光抗体法<sup>7)</sup>、イムノブロット<sup>8)</sup>、免疫電顕法<sup>9)</sup>によりマウス脳における GluD1 の細胞発現とシナプス局在を解析し、さらに GluD1 遺伝子欠損マウスのシナプス回路を電子顕微鏡を用いて詳細に検討して GluD1 によるシナプス結合に対する機能を追求しました。

### (研究成果)

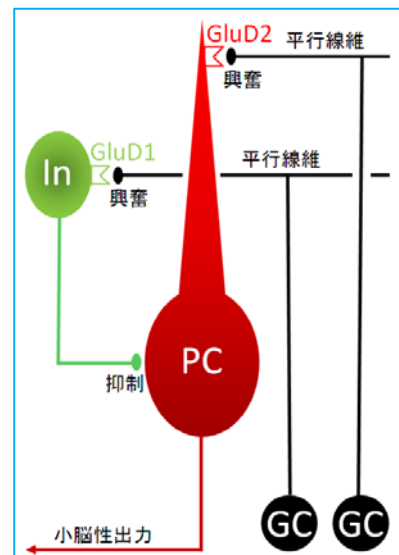
GluD1 は大脳皮質（認知に関与）、海馬（記憶）、線条体（認知と運動制御）、扁桃体と分界条床核（情動）、小脳皮質（運動学習と協調運動）などに豊富に発現し（右図の白い部分）、高次脳機能との関連性が浮かび上がってきました。また、海馬と小脳で細胞発現を調べたところ、海馬では興奮性ニューロンに優位な、小脳では抑制性介在ニューロンに選択的な発現が認められ、細胞種選択的な発現



特性も明らかになりました。

次に、シナプス回路レベルでの GluD1 の局在を明らかにする目的で、GluD2 が豊富な小脳皮質を解析対象とし、両者の回路発現を比較しました。その結果、GluD1 は平行線維・介在ニューロンシナプスに選択的に発現していたことから、GluD1 と GluD2 は異なるニューロンに発現しているものの、どちらも平行線維シナプスに選択的であるという共通点も明らかになりました。さらに、GluD1 欠損に伴うシナプスの変化に着目して検討したところ、平行線維・介在ニューロンシナプスが著明に減少し、介在ニューロンの細胞数も有意に減少していました。

以上の観察結果から、GluD2 と同様に、GluD1 にも細胞種選択的および入力選択的な発現特性が備わり、シナプス結合を強化する分子機能を有していることが判明しました。これを平行線維側からみれば、その情報処理の主回路である平行線維→プルキンエ細胞（右図の PC）シナプスに GluD2 が、その間に介在する抑制回路である平行線維→介在ニューロン（右図の In）シナプスに GluD1 が発現し、それぞれの回路の結合性強化を通して GluD ファミリーが小脳皮質の基本的回路構築に協同していることを物語っています。



#### （今後への期待）

GluD1 は小脳皮質にとどまらず、認知や記憶、情動などの中枢である大脳にも豊富な発現していることから、今後はこれらの領域でのシナプス形成制御と精神神経疾患の発症との関係に焦点を当てて研究を展開することで、病因やその発症基盤の解明へとつながることが期待されます。

## お問い合わせ先

### 【研究内容に関すること】

北海道大学大学院医学研究科 教授 渡辺 雅彦（わたなべ まさひこ）

TEL : 011-706-5032 FAX : 011-706-5031 E-mail : watamasa@med.hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20704/>

## 用語解説

### 1. 統合失調症

思考や感情がまとまりにくくなる精神機能の著しい分裂を基礎障害とする精神疾患で、人口の1%前後の生涯罹患率を持つ。遺伝的素因による影響が約3分の2、環境による影響が約3分の1と考えられている。

### 2. 気分障害

ある程度の期間にわたって持続する気分（感情）の変調で、うつ病（大うつ病、単極性うつ病）や双極性障害（躁うつ病）などからなる。

### 3. 自閉症スペクトラム

自閉症は、社会性や他者とのコミュニケーション能力に困難が生じる障害の一種である。この自閉症と特定不能な広汎性発達障害などの各疾患を、広汎性発達障害の連続体の一要素として捉える概念を自閉症スペクトラムという。

### 4. グルタミン酸受容体

イオンチャネル型グルタミン酸受容体には、興奮性シナプス伝達に関わる AMPA 型受容体とカイニン酸型受容体、シナプス可塑性の誘導に関わる NMDA 型受容体、さらにグルタミン酸との結合能やシナプス伝達能を失ったデルタ型受容体からなる。

### 5. シナプスの刈込み

シナプスの数や密度は生後早期において爆発的な増加を遂げた後に、使われたシナプスは強化され維持される一方、使われなかったシナプスや活動性の弱いシナプスは除去される。この過程をシナプスの刈込みとよび、幼少期（臨界期、敏感期）に効率的に起こる。これが、幼少期に母国語の形成獲得、器楽演奏やスポーツ技能の目覚ましい向上の原動力となる。

### 6. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション

遺伝子発現を mRNA（メッセンジャーRNA）の発現として捉える組織化学法（組織切片上で分子を検出する方法）を in situ ハイブリダイゼーションという。mRNA の塩基配列と相補的な RNA（complementary RNA, リボプローブ）を用いて検出する。検出レポーターとして蛍光物質を用いる場合、これを蛍光 in situ ハイブリダイゼーションという。この方法を用いることで、ある特定の遺伝子を発現している細胞種の同定や、発現量の多寡や変動を調べることができる。

### 7. 蛍光抗体法

遺伝子発現をタンパク質の発現として捉える抗体を用いた組織化学法を免疫組織化学という。検出レポーターとして蛍光物質を用いる場合、これを蛍光抗体法という。この方法を用いることにより、細胞や組織内の分子の分布や局在を調べることができる。

### 8. イムノブロット

電気泳動により分離した組織や細胞由来のタンパク質を膜に転写して、抗体を用いて目的のタンパク質を検出する方法。組織や細胞のタンパク質含量を比較したり、分子のサイズを測定することに用いられる生化学的な方法の一つ。ウエスタンブロットともいう。

### 9. 免疫電顕法

免疫組織化学の反応検出を電子顕微鏡を用いて行う方法。シナプスや細胞内小器官の微小な構造における分子検出が可能になる。