



## 発達期の2つのNMDA型グルタミン酸受容体サブユニットは シナプス回路の発達と成熟を相反的に制御する

### 研究成果のポイント

- ・発達期の脳に発現するNMDA型グルタミン酸受容体<sup>1)</sup>の2つのサブユニット<sup>2)</sup>のうち、GluN2Bは臨界期における体性感覚系のシナプス回路改築<sup>3)</sup>を早め、GluN2Dはこれを遅延させていることを発見した。
- ・GluN2Bの発現は体性感覚情報を末梢から大脳皮質に伝える上行性投射路に、GluN2Dの発現はこの投射路を抑制する局所回路に選択的であることを明らかにした。
- ・この2つのサブユニットの異なる回路発現を基盤として、体性感覚系の興奮と抑制の伝達機構が調和的に発達することを示唆する。

### 研究成果の概要

臨界期<sup>4)</sup>と呼ばれる脳の発達過程では、個体の置かれた環境や与えられた刺激に応じて、シナプス回路が活動依存的及び経験依存的に変化します。この臨界期におけるシナプス回路改築にはグルタミン酸という興奮性伝達物質が深く関わり、NMDA型グルタミン酸受容体はその改築を媒介します。臨界期の脳にはGluN2BとGluN2Dという2種類のNMDA受容体のサブユニットが発現していますが、その機能的役割の違いはこれまで不明でした。今回の研究では、皮膚などで捉えた体性感覚情報を伝達する体性感覚系<sup>5)</sup>のシナプス回路に焦点を当て、その役割の相違性についてGluN2B欠損マウスとGluN2D欠損マウスを用いて比較しました。すると、GluN2Bには体性感覚系の臨界期改築を早く開始させ早く終了させる促進作用がある一方、GluN2Dには遅延作用があることが判明しました。さらに、GluN2Bは体性感覚情報を末梢から大脳皮質へ運ぶ上行性投射路に発現し、GluN2Dはこの投射回路の伝達を抑制する局所回路に発現していることがわかりました。これらの観察結果は、体性感覚系の投射路に発現するGluN2Bはその発達を直接的に促進するアクセルとして働き、局所回路に発現するGluN2Dは投射路の改築にブレーキをかけることで間接的にシナプス回路の発達を抑制していることを示しています。この相反作用を通して、シナプス回路全体の発達と成熟が調和的に制御されていることが考えられます。

本研究成果は、2014年8月27日出版の米国神経科学誌「The Journal of Neuroscience」で公開され、ハイライトとして「This Week in The Journal」としても紹介されました。また、サイエンス誌9月28日号(345巻1575頁)のEditor's Choiceにも取り上げられました。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：Opposing role of NMDA receptor GluN2B and GluN2D in somatosensory development and maturation. (NMDA 型グルタミン酸受容体 GluN2B と GluN2D は体性感覚系シナプス回路の発達と成熟を相反的に制御する)

著者：山崎美和子<sup>1</sup>，岡田理恵子<sup>1</sup>，高崎千尋<sup>2</sup>，土岐志麻<sup>1</sup>，深谷昌弘<sup>3</sup>，夏目理恵<sup>4</sup>，崎村建司<sup>4</sup>，三品昌美<sup>5</sup>，白川哲夫<sup>6</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>北海道大学大学院歯学研究科，<sup>3</sup>北里大学医学部，<sup>4</sup>新潟大学脳研究所，<sup>5</sup>立命館大学総合科学技術研究機構，<sup>6</sup>日本大学歯学部

公表雑誌：The Journal of Neuroscience (米国神経科学誌)

公表日：米国東部時間 2014 年 8 月 27 日 (水)

## 研究成果の概要

### (背景)

生後間もない時期のシナプス回路は過剰で重複が多く、情報の伝達処理系としては未熟な状態にあります。その後の発達に伴い、使われて活性化したシナプスは選択的に強化されて残り、使われなかったものは除去されるというシナプスの刈込みなどが起こり、個体史を反映して生活環境に適応できる機能的な神経回路へと改築されていきます。このような経験依存的なシナプス回路改築により、幼少期に育った地域の言語が自然と母国語になったり、年少期に始めた楽器演奏やスポーツの技能が著しく向上していきます。

これまで私達の研究室では、シナプス回路の発達と成熟した分子機構の解明に取り組み、その中で NMDA 型グルタミン酸受容体サブユニット GluN2B が体性感覚系のシナプス回路改築に必須であることを報告してきました。しかし、発達期の脳には、GluN2B に加え、もう一つのサブユニット GluN2D が発現していて、シナプス回路発達における両者の機能が相同的なのか拮抗的なのかは不明でした。今回の研究では、GluN2B 欠損マウスと GluN2D 欠損マウスを用いて、体性感覚系のシナプス回路発達における 2 つのサブユニットの機能的役割の違いを探索しました。

### (研究手法)

作製した GluN2B 欠損及び GluN2D 欠損マウスを用いて、脳幹・視床・大脳皮質における体性感覚系のマップ構造<sup>6)</sup>の出現時期と、末梢感覚神経損傷に伴ってマップが変化する臨界期の終了時期を調べ、野生型マウスと比較検討しました。また、GluN2B 及び GluN2D の細胞発現とシナプス局在を、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション<sup>7)</sup>、蛍光抗体法<sup>8)</sup>、免疫電顕法<sup>9)</sup>を用いて検討しました。

### (研究成果)

ネズミの上顎部には鋭敏な触覚毛が整然と配列し、そこで捉えた体性感覚情報は脳幹と視床を經由して上行し、最終的に大脳皮質の体性感覚野に届けられます。この感覚情報を伝達し処理するシナプスは触覚毛の配列と相同のクラスターを作り、そのマップ構造を体性感覚野や中継核において観察することができます(図 1)。このマップ構造は生後に出現し、臨界期中であれば除毛や感覚神経損傷などの実験操作により消失したり縮小します。しかし、臨界期が終了する生後 5 日目を過ぎると、実験操作では変化しない永続的なマップへと成熟します。GluN2B 遺伝子

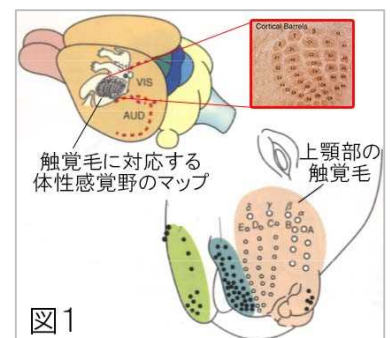
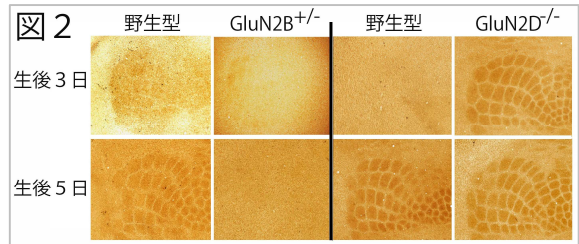


図 1

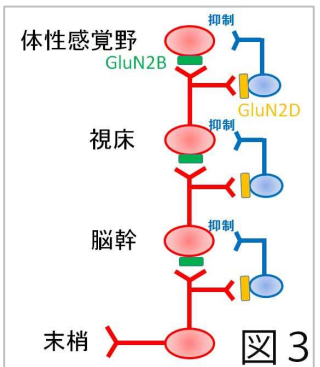
を一つ欠損する  $GluN2B^{+/-}$  マウスでは野生型マウスに比べ、マップの出現時期が1日遅れ、臨界期終了時期も1日遅れていました。反対に、 $GluN2D$  遺伝子の両方を欠損する  $GluN2D^{-/-}$  マウスでは、野生型マウスに比べ出現時期も臨界期終了時期も1日早まっていることがわかりました（図2）。

次に、この相反作用の理由を探る目的で、 $GluN2B$  と  $GluN2D$  が体性感覚経路のどこで働いているのかを特定するため、それぞれの発現ニューロンとシナプス局在を



検討しました。すると、 $GluN2B$  は体性感覚系の上行路を構成する興奮性投射路に沿って分布し、 $GluN2D$  はこの投射路に対して抑制を行う局所回路に選択的に分布していることが明らかになりました（図3）。

以上の観察結果から、上行性投射路に発現する  $GluN2B$  は体性感覚系の発達と成熟を直接的に促進するアクセルとして働き、局所回路に発現する  $GluN2D$  は投射路の改築にブレーキをかけることで間接的にシナプス回路の発達と成熟を抑制していることがわかりました。この相反作用を通して、シナプス回路全体の発達と成熟が調和的に制御されていることが考えられます。



#### （今後への期待）

大脳皮質が最大に進化したヒトでは臨界期が非常に長くなり、その分だけ環境や教育などの後天的要因の重要性が増大しました。今回の研究成果は、臨界期における神経回路の健全な発達には、シナプス回路への刺激が単に興奮を作り出すだけでなく、それが抑制性ニューロンの機能や分化も伴って成熟することが、興奮と抑制の連携がとれたシナプス回路の調和的発達に重要であることを示しています。

#### お問い合わせ先

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) NMDA 型グルタミン酸受容体

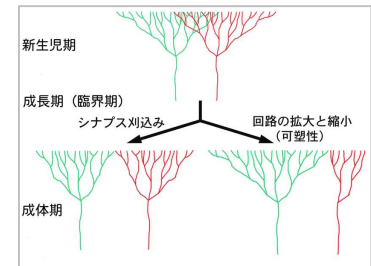
イオンチャネル型グルタミン酸受容体には、興奮性シナプス伝達に関わる AMPA 型受容体とカイニン酸型受容体、シナプス可塑性の誘導に関わる NMDA 型受容体、さらにグルタミン酸との結合能やシナプス伝達能を失ったデルタ型受容体からなる。この中で、NMDA 型受容体は、電位依存性  $Mg^{2+}$  阻害と高い  $Ca^{2+}$  透過性という特異な性質を持ち、この性質が活動依存的及び経験依存的なシナプスの構造的・機能的可塑性を誘導する。

##### 2) サブユニット

会合して形成されるタンパク質の構成タンパク質。

### 3) シナプス回路改築

臨界期において、活動性や使用履歴に応じてシナプスの強化と除去（シナプス刈込み）や、活動性の優劣に応じた回路の拡大・縮小（可塑性）が効率的に起こる。その結果、過剰で重なりが多い未熟な神経回路は、その個体の生活履歴を反映する機能的な成熟した回路へと改築される。



### 4) 臨界期

生体の発達の比較的早期において、ある刺激（経験）が与えられたとき、その効果が最もよく現れる時期。その時期が過ぎても完全に可変性がなくなるのではなく、敏感期とも呼ばれる。

### 5) 体性感覚系

皮膚、粘膜、毛根、関節、筋などの末梢器官で捉えた、痛覚、温度覚、触覚、深部知覚などを体性感覚という。これらの体性感覚情報は、脳や脊髄の中継核を介して、大脳皮質の体性感覚野に届けられる。この末梢から体性感覚野までの経路を体性感覚系（路）という。

### 6) 体性感覚系のマップ構造

上顎部の触覚毛（洞毛）は5列になって基盤の目のように整然と配列する。それぞれの触覚毛に由来する感覚神経は、体性感覚系の中継核や体性感覚野に相同なシナプスクラスタを形成している。このクラスタを可視化することで、体性感覚系のマップ構造を観察できる。

### 7) 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。蛍光 in situ ハイブリダイゼーションは検出レポーターとして蛍光物質を用いる。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。

### 8) 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。検出レポーターとして蛍光物質を用いる。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。

### 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。