



代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 はシナプス刈込みを駆動して 小脳神経回路を成熟させる

研究成果のポイント

- ・小脳のプルキンエ細胞は精緻で円滑な運動機能に関わるニューロンで、その樹状突起の近位部を一本の登上線維が支配し、十万本の平行線維が遠位部を支配するという特異な神経回路構築を特徴とする。
- ・我々はこれまで、細胞内カルシウム濃度調節やシナプス接着に関わる分子機構が登上線維間の同種競合や平行線維との異種競合を促進することで、登上線維の単一支配を確立することを明らかにしてきた。
- ・今回、プルキンエ細胞に発現する代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 が樹状突起近位部からの平行線維シナプスを除去することで、異種入力線維のテリトリーが分離することを明らかにした。

研究成果の概要

過剰で重複の多い初期神経回路は、生後早期の神経活動の亢進に伴うシナプス回路の選択的強化と除去を通して、機能的な神経回路へと改築されます。これまで、骨格筋を支配する脊髄運動神経や小脳プルキンエ細胞^{※1}を支配する登上線維^{※2}など、入力線維が競合することで多重支配から単一支配へ移行して神経投射が成熟することがわかっていました。しかし、プルキンエ細胞に入力するもう一つの平行線維^{※3}のシナプス回路がどのような発達変化を遂げるのかは不明でした。本研究により、生後早期のマウスのプルキンエ細胞では樹状突起の全域にわたって平行線維シナプスが形成され、生後 15～20 日の間に樹状突起の近位部から除去されることで、近位部の登上線維テリトリーと遠位部の平行線維テリトリーに分離することが判明しました。この平行線維シナプスの除去には、プルキンエ細胞に発現する代謝型グルタミン酸受容体^{※4}mGluR1 が関与していることも判明しました。

本研究成果は、2016 年 2 月 8 日（月）出版の米国科学アカデミー紀要「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」で公開されました。本研究は、科学研究費補助金（24220007）及び AMED「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」（15653072）の一環として行われました。

論文発表の概要

研究論文名 : Territories of heterologous inputs onto Purkinje cell dendrites are segregated by mGluR1-dependent parallel fiber synapse elimination

(プルキンエ細胞樹状突起における異種入力線維のテリトリーは、代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 依存的な平行線維シナプス除去により分離する)

著者 : 市川量一¹, 橋本浩一², 宮崎太輔³, 内ヶ島基政³, 山崎美和子³, 饗場 篤⁴, 狩野方伸⁴, 渡辺雅彦³

所属 : ¹札幌医科大学医学部, ²広島大学大学院医歯薬保健学研究科, ³北海道大学大学院医学研究科, ⁴東京大学大学院医学系研究科

公表雑誌 : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (米国科学アカデミー紀要)

公表日 : 日本時間 (現地時間) 2016 年 2 月 9 日 (火) 午前 5 時 (米国東部時間 2016 年 2 月 8 日 (月) 午後 3 時) (オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

脳が果たしている様々な神経機能は、その情報処理に特化した特異なシナプス回路を基盤として生み出されます。神経機能に特化した神経回路の構築は、まず胎児期において遺伝的プログラムに従ってその土台が作られます。しかし、この段階のシナプス回路は過剰で重複が多く、接続性も不正確で、未熟な状態にあります。その後、生後発達過程で受容する刺激や経験は神経活動となって脳に伝わり、それに応じた強化と除去を基盤とするシナプス回路の刈込み^{※5} が起こります。これにより、それぞれの個体史を反映し、生活環境に適応できる機能的なシナプス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、国内外の他の研究室と共同で、シナプス伝達の主役となるグルタミン酸情報伝達系によるシナプス回路の改築の分子機構の解明に取り組んできました。

私達が取り組んでいるシナプス回路は、精緻で円滑な運動機能や運動学習の中心的ニューロンである小脳プルキンエ細胞です。プルキンエ細胞のシナプス回路には、①登上線維の単一支配、②登上線維と平行線維それぞれの分節化したテリトリー支配、という 2 つの顕著な特徴があり、小脳運動機能の回路基盤と考えられています。これまで、①については、生後発達過程において複数の登上線維が支配する多重支配期を経て単一支配へと移行することや、細胞内カルシウムイオン濃度調節に関わるカルシウムイオンチャネル Cav2.1 や代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1、平行線維シナプスの接着に関わるグルタミン酸受容体 GluR2 が登上線維の単一支配化に不可欠な分子機構であることを明らかにしてきました。しかし、②がどのようにして形成されるのかについては、その過程や分子機構も含め全く不明でした。

(研究手法)

テリトリーの形成過程を明らかにするために、生後 7 日から 30 日までの野生型マウスのプルキンエ細胞 (各発達段階で 3 個ずつ) を対象として、1 個のプルキンエ細胞あたり千数百枚の連続電子顕微鏡切片を作製し、樹状突起の基部から先端までの登上線維シナプスと平行線維シナプスを一つずつ同定し、シナプス回路を立体再構築しました。さらに、テリトリー形成における代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 の機能的役割を追求するために、この遺伝子を欠損する mGluR1 ノックアウトマウスを同様の方法で解析して形成障害の表現型を確認する実験や、ウイルスベクターを用いて mGluR1 ノッ

クアウトマウスに mGluR1 を導入して、その表現型が解消することを確認するレスキュー実験も行いました。

(研究成果)

生後 7 日から 15 日までの野生型マウスでは、平行線維シナプス (図 1 の青い線維と水色の膨らみ) が樹状突起の全域にわたって分布しています。その間、1 本の優勢な登上線維 (赤い線維と黄色の膨らみ) は細胞体から樹状突起に向かって伸長し、劣勢な登上線維 (ピンクの線維) が細胞体から除去され、登上線維による単一支配を確立しました。生後 20 日になると、平行線維シナプスが樹状突起の近位部から突然消失しました。この観察結果から、生後 15 日から 20 日の間に平行線維シナプス除去が起こり、これにより登上線維テリトリーと遠位部の平行線維テリトリーとが分離することが判明しました。

過去の研究から、生後 15 日から 16 日における代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 の活性化は登上線維シナプスの除去を駆動することがわかっていたため、ほぼ同時期に起こる平行線維シナプス除去にも mGluR1 が関わっているのではないかと考えました。これを検証する目的で、mGluR1 欠損マウスを解析すると、平行線維シナプス除去が障害されており、生後 30 日になっても平行線維シナプスが樹状突起の全域に広がり、テリトリーの分離が起こらないままになっていました。同様の表現型は、mGluR1 の下流で活性化するタンパク質リン酸化酵素 PKC γ 欠損マウスでも観察されました。ウイスルベクターを用いて生後 20 日の mGluR1 欠損マウスに mGluR1 を導入するレスキュー実験を行い、生後 40 日にシナプス回路を精査したところ、樹状突起近位部から平行線維シナプスが除去されてテリトリーの分離が起こることがわかりました。

以上の結果から、mGluR1 から PKC γ に至るシグナル伝達系の活性化は、劣勢な登上線維の除去に加え、樹状突起近位部から平行線維シナプスの除去に関わることが明らかとなりました。従って、プルキンエ細胞の 2 つの回路特性 (登上線維の単一支配と分離した支配テリトリー) は、このシグナル伝達系の活性化を通して発達し、構築されることが明らかとなりました (図 2)。

(今後への期待)

練習や訓練に伴う運動機能の向上 (運動学習) は、登上線維の神経活動と同期して活動する “誤った” 平行線維シナプスの伝達効率を抑圧すること (小脳シナプス抑圧として知られるシナプス可塑性現象) で実現すると考えられています。発達過程における異種入力線維による支配テリトリーの分離は、プルキンエ細胞における神経情報の処理や統合機能を最適化し、登上線維と平行線維の異種シナプス活動に基づくシナプス可塑性の誘発特性にも影響を与え、運動機能制御の基盤となる小脳神経回路の構造・機能の成熟に貢献すると考えられます。

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. プルキンエ細胞

小脳の神経情報処理系における中心的なニューロン。運動司令に関する神経情報と、運動を行った結果生じる感覚情報を受取り、そのズレを最小化することで、目的に沿った器用で精緻な運動機能に関与する。

2. 登上線維

延髄下オリーブ核からの投射線維で、運動の目的と結果のズレを「誤差信号」として、プルキンエ細胞の樹状突起近位部に届ける。その強い神経活動性は、プルキンエ細胞に強い脱分極を引き起こし、カルシウムチャンネルを通して大量のカルシウムイオンを流入させる。

3. 平行線維

脳幹や脊髄に由来する運動司令に関する神経情報と、運動を行った結果生じる感覚情報を受取り、これをプルキンエ細胞の樹状突起遠位部に伝える。登上線維の活動により、特定の平行線維シナプスに長期抑圧が誘導されてシナプス伝達効率が低下する。

4. グルタミン酸受容体

イオンチャン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。代謝型グルタミン酸の mGluR1 はプルキンエ細胞に豊富に発現し、その活性化は細胞内カルシウム貯蔵庫からのカルシウム放出やタンパク質リン酸化酵素を活性化する。

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て維持される一方、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呼び、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。

[参考図]

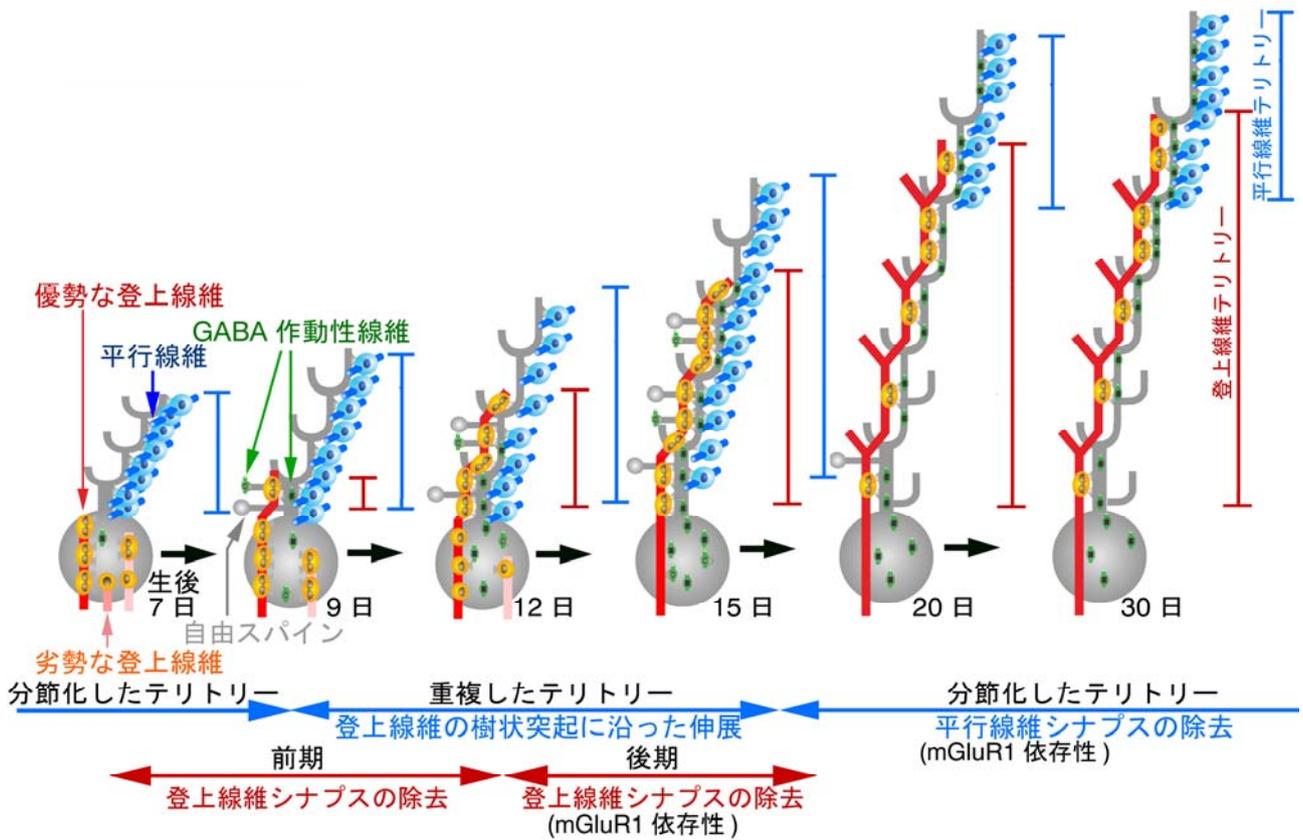


図 1 : 野生型マウスにおける平行線維と登上線維支配の発達変化

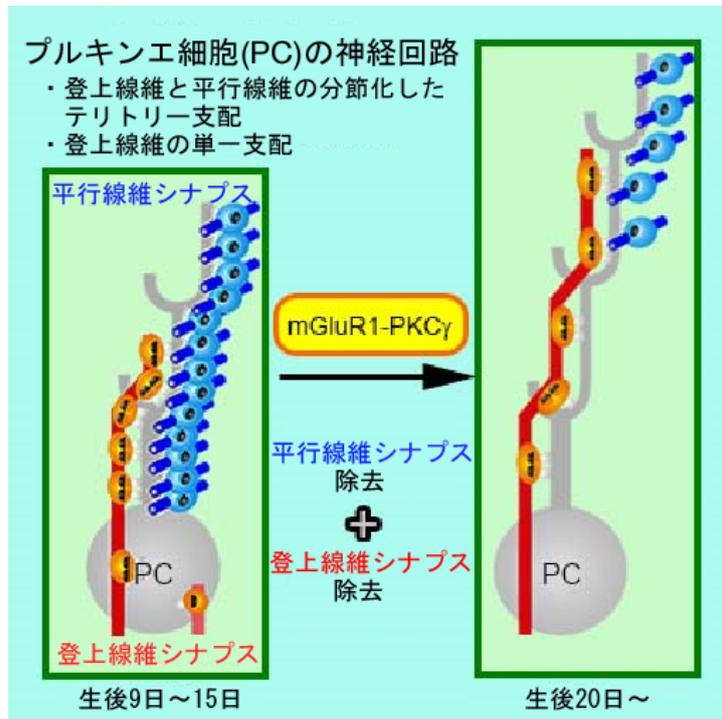


図 2 : mGluR1 伝達系によるシナプス回路発達