

グルタミン酸受容体の時空間制御におけるシナプス後肥厚の役割

鈴木江津子^{1,2}, 神谷温之¹ (1北海道大学医学研究科神経生物学分野, ²日本学術振興会)

興奮性シナプス後部には、シナプス後肥厚 (postsynaptic density: PSD) と呼ばれる電子密度の高い構造が見られる。PSD はシナプス前部のアクティブゾーンに面しており、様々な受容体やイオンチャネルが局在している。グルタミン酸受容体も PSD 内に密に発現することが知られており、その局在には PSD 内の主要なタンパク質である PSD-95 が関与している。PSD-95 は NMDA 受容体と直接結合することから NMDA 受容体の足場タンパク質として機能すると考えられてきた。しかし PSD-95 ノックアウトマウスでは AMPA 受容体を介するシナプス電流の減少やサイレントシナプスの増加がみられ、NMDA 受容体のみならず、膜貫通型 AMPA 受容体制御タンパク質 (TARPs) を介して AMPA 受容体の PSD 内での固定化に寄与することが明らかとなっている。AMPA 受容体は、細胞内の貯蔵プールからの膜移行、拡散、シナプスでの捕捉の3段階を経てシナプス後部に局在していると考えられている。蛍光イメージングなどを用いた近年の研究から、AMPA 受容体はシナプス部において非常に可動的であることが示されている。一方、我々は光反応性の不可逆的 AMPA 受容体阻害薬である ANQX を用い、定常状態では AMPA 受容体のシナプス部への移行がほとんど生じていないことを報告した [1]。上述の通り、シナプス部での AMPA 受容体の固定化には PSD-95 が関与することが知られており、“受容体スロット”としてシナプス部の AMPA 受容体数を制御する要因であると考えられている。定常状態におけるシナプス部への AMPA 受容体輸送の律速因子としては、PSD-95 による制御が関与しているのではないかとこの可能性を検討するため、AMPA 受容体のシナプス移行速度を野生型マウスと PSD-95 ノックアウトマウスとで比較した。本研究で用いた光反応性の AMPA 受容体阻害薬である ANQX は、光照射により AMPA 受容体と不可逆的に結合する。この性質を利用することにより、光照射後の興奮性シナプス後電位 (EPSP) の回復の時間経過から AMPA 受容体のシナプス部への輸送速度を推測することができる。この手法を用い、急性海馬スライス標本 CA1 野から光照射後の EPSP の回復速度を測定し AMPA 受容体のシナプス部への輸送速度を比較した。その結果、PSD-95 ノックアウトマウスの EPSP の回復速度は野生型マウスよりも促進していた。PSD-95 は

AMPA 受容体の可動性を抑制し、野生型マウスでは豊富な PSD-95 発現が定常状態での AMPA 受容体のシナプス移行を制限していたものと考えられた。

PSD-95 は NMDA 受容体や AMPA 受容体のみならず、カイン酸受容体のサブユニットである GluK2・GluK5 とも直接結合し、またカイン酸受容体のクラスター化に関与することが示されている。しかし、内在性のカイン酸受容体のシナプス部への局在に PSD-95 が関与しているのかについてこれまで直接検討されていない。そこで、我々は PSD-95 ノックアウトマウスを用い、内在性のカイン酸受容体のシナプス局在における PSD-95 の役割を検討した。海馬 CA3 野の苔状線維シナプスは、カイン酸受容体が密に発現しているシナプスであり、AMPA 受容体阻害下においてカイン酸受容体を介する時間経過の遅いシナプス応答が記録される。このようなカイン酸受容体を介するシナプス応答成分は、野生型マウスに比べて PSD-95 ノックアウトマウスでは減少していた。この結果は、シナプス部におけるカイン酸受容体の局在化に PSD-95 が重要な役割を果たしていることを示唆する。

以上の結果は、AMPA 受容体およびカイン酸受容体のシナプス局在が PSD-95 により強く制御されており、PSD-95 がグルタミン酸受容体のシナプス局在の時間的・空間的な制御因子として機能することを示唆するものである。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Kamiya H: *J Neurosci* **32**: 6517-6524, 2012

補体 C1q ファミリー分子による小脳プルキンエ細胞グルタミン酸シナプスの形成機能制御

掛川 渉, 柚崎通介 (慶應義塾大学医学部生理学教室, 科学技術振興機構-CREST)

我々の協調運動および運動記憶・学習は、小脳内に構築された神経回路網によって精密に制御されている。中でも、その要衝を担うプルキンエ細胞は、顆粒細胞軸索である平行線維と下オリブ核神経細胞軸索である登上線維より、グルタミン酸作動性シナプス (平行線維シナプスおよび登上線維シナプス) を介して強力な興奮性入力を受けている。このグルタミン酸シナプスの形成・機能を担う物質として、近年、自然免疫系を支える補体 C1q やその機能ドメインを有する C1q ファミリー分子が精力的に研究されている。これまで、我々は、顆粒細胞において産生され、平行線維終末より分泌される C1q ファミリー分子 Cbln1 が、

プルキンエ細胞上に発現するデルタ2型グルタミン酸受容体と平行線維終末に存在する Neurexin と3者複合体を構築することにより、平行線維シナプスの形態形成を促すことを明らかにしてきた [1]. また, Cbln1 は平行線維シナプスの形態形成ばかりでなく、平行線維シナプスで観察される代表的なシナプス可塑性であり、運動記憶・学習の分子基盤とされる長期抑圧現象 (long-term depression, LTD) の誘導においても深く関与していることが分かってきた [2]. そのため, Cbln1 は平行線維シナプスの形成および機能を調節する新しい分泌型“シナプスオーガナイザー”として、現在注目を浴びている [3].

興味深いことに、登上線維シナプスを形成する下オリブ核神経細胞にも、Clq 様分子1 (Clq-like molecule 1: ClqL1) と呼ばれる Clq ファミリー分子が発現する [4]. しかしながら、この ClqL1 が登上線維シナプスの形成や機能にどのように関与しているかについては、これまで報告されていない。そこで、我々は、この課題を解決するために、ClqL1 遺伝子を欠失した遺伝子改変動物 (ClqL1-KO マウス) を作製し、電気生理学・形態学・行動学的手法を用いて表現型解析を行った。

まず、下オリブ核神経細胞において産生された ClqL1 が小脳皮質分子層 (プルキンエ細胞樹状突起領域) に投射する登上線維の終末に局在しているかどうかを、抗-ClqL1 抗体を用いた免疫染色法により観察した。その結果、野生型 (WT) マウス小脳切片において、ClqL1 は登上線維シナプス前部のマーカー分子である小胞性グルタミン酸トランスポーター2 (vGluT2) と共局在していた。次に、ClqL1-KO マウスの登上線維シナプス形成様式を vGluT2 染色により観察したところ、KO マウスでは分子層における vGluT2 シグナルが WT マウスに比べ激減していた。この所見は電気生理学的にも確認され、KO マウスのプルキンエ細胞

より記録した登上線維由来興奮性シナプス後電流は WT マウスに比べ有意に減少していた。また、驚くべきことに、ClqL1-KO マウスは、成熟期においても幼若期 WT マウスで観察されるような、ひとつのプルキンエ細胞に複数の登上線維が投射する、いわゆる「幼若型」の登上線維投射様式を示した。

では、ClqL1-KO マウスで認められた登上線維シナプスの異常が、小脳 LTD や運動記憶・学習にどのような影響を与えうるのであろうか? 小脳急性切片を作製し、LTD 誘導刺激として平行線維および登上線維を同時かつ連続的に刺激すると、WT マウスでは LTD を引き起こしたのに対し、KO マウスでは LTD は認められなかった。さらに、ClqL1-KO マウスでは、小脳依存性運動学習課題のひとつである視機性眼球反応課題の成績も障害されていた。以上の結果より、ClqL1 は登上線維シナプスの形態形成・機能および小脳 LTD を支える重要な分子であることが示唆された。今後、ClqL1 がどのような挙動を介して登上線維シナプスを制御しているかについて解析を進めていきたい。

最後に、Cbln (1-4) および ClqL (1-4) のサブファミリー分子は小脳や下オリブ核だけでなく、脳全体にユビキタスに発現している [4]. そのため、我々が得た Cbln1 および ClqL1 に関する知見が、グルタミン酸シナプスの形成動作原理の理解に寄与するものと期待している。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Matsuda K et al: Science **328**: 363-368, 2010
2. Hirai H et al: Nat Neurosci **8**: 1534-1541, 2005
3. Yuzaki M: Curr Opin Neurobiol **21**: 215-220, 2011
4. Iijima T et al: Eur J Neurosci **31**: 1606-1615, 2010