

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： 革新的先端研究開発支援事業
2. 研究開発課題名： 海馬神経回路形成における細胞接着分子と関連分子の機能と作用機構
3. 研究開発代表者： 高井 義美（神戸大学大学院医学研究科）
4. 研究開発の成果

脳の海馬は学習と記憶の要となる領域であり、歯状回顆粒細胞の苔状線維は CA3 野錐体細胞の樹状突起と巨大シナプスを形成している。しかし、この回路やシナプスの形成機構およびその可塑性の機構は不明であった。研究代表者らによって見出された細胞接着分子ネクチンとその結合分子アフアディンは、苔状線維巨大シナプスではプンクタアドヘレンシアジャンクションと呼ばれる接着部位にカドヘリンと共に局在し、神経回路とシナプスの形成に関与している。そこで本研究では、海馬の神経回路のうち、主として苔状線維に着目し、その回路と苔状線維-CA3 野錐体細胞樹状突起間の巨大シナプスの形成機構とそのシナプスの可塑性の機構におけるネクチンとアフアディンの機能を解明することを目的とした。27 年度は、次のような成果が得られた。(1)アフアディンノックアウトマウスで海馬苔状線維巨大シナプスの走査型電子顕微鏡画像の三次元立体再構築法による解析では、プンクタアドヘレンシアジャンクション、前シナプスのアクティブゾーンと後シナプスのシナプス後肥厚部が断片化して小型化していた。また、放出可能プールのシナプス小胞の数も減少していた。培養海馬切片における苔状線維単位シナプス伝達の電気生理学的解析では、興奮性シナプス伝達がシナプス前性とシナプス後性に障害されていた。これらの結果から、アフアディンは苔状線維巨大シナプスの構造形成と機能を制御していることが明らかになった。(2)アフアディンには t-アフアディンと s-アフアディンの2つのスプライシングバリエントがあるが、シナプスの形成過程においてそれぞれのバリエントは異なる機能を有していることが明らかになった。研究期間全体では、次のような成果が得られた。(1)大脳皮質と海馬のアフアディンが特異的に欠損したコンディショナルノックアウトマウスでは、皮質下帯状異所性灰白質(二重皮質)が形成され、ラディアアルグリア細胞の突起の形態とこの突起依存性の神経細胞の移動が異常であった。海馬では、苔状線維の伸長異常や CA3 野錐体細胞の位置異常があった。これらの結果から、アフアディンは発生期の脳において神経細胞の移動を制御していることが明らかになった。(2)海馬 CA3 野における電気生理学的シナプス可塑性とシナプス終末の形態変化との関係を明らかにするために、パッチクランプした顆粒細胞に、高頻度活動電位刺激を加えてシナプス終末の形態を観察したところ、大部分のシナプス終末において、その形態が刺激後 60 分以内に複雑にくびれた構造に分割された。この現象を Activity-dependent Alteration of the Morphology of a Synapse (AdAMS) と名付けた。AdAMS の誘導には、グルタミン酸受容体の活性化とそれによって引き起こされる後シナプススパイン内のカルシウム上昇、およびこのカルシウム上昇による細胞間逆行性シグナル分子である一酸化窒素とアラキドン酸の産生が必要であった。一方、海馬苔状線維シナプス終末の形態と単位シナプス伝達との同時記録では、シナプス終末の形態の複雑さと興奮性シナプス後電流の振幅との間に有意な相関が認められた。これらの結果から、海馬苔状線維シナプスには、シナプス活動に依存した形態学的可塑性の機構 AdAMS が備わっていることが明らかになると共に、この形態学的可塑性が電気生理学的可塑性に関与していることが示唆された。

主要な発表論文

- (1) Maruo T, Mandai K, Takai Y, et al. (2016) Activity-dependent alteration of the morphology of a hippocampal giant synapse. *Mol Cell Neurosci* 71: 25-33.
- (2) Toyoshima D, Mandai K, Maruo T, et al. (2014) Afadin regulates puncta adherentia junction formation and presynaptic differentiation in hippocampal neurons. *PLoS One* 9: e89763.