



グルタミン酸受容体 GluD2 は神経傷害後のシナプス回路再生に 必須である

研究成果のポイント

- ・他の脳領域とは異なり、小脳では切断された平行線維は速やかに再生して効率的にプルキンエ細胞を再支配するが、その理由は不明であった。
- ・平行線維・プルキンエ細胞シナプスに選択的に発現しその接着を制御するグルタミン酸受容体 GluD2 に着目し、この高い回路再生能との因果関係を追求した。
- ・野生型マウスと GluD2 欠損マウスのいずれも、平行線維の切断直後には平行線維は著明に減少し、平行線維シナプスの多くは変性に陥った。野生型マウスでは、まず残存した線維が肥大化してシナプス数が増加し、続いて平行線維の分枝による増加も起こり、受傷前の状態にまで回復した。しかし、GluD2 欠損マウスではこのような再生過程は一切起こらず、変性した状態のままであった。
- ・平行線維・プルキンエ細胞シナプス回路の高い再生能力はこのシナプスに発現する GluD2 の分子機能によるものであると結論された。

研究成果の概要

交通外傷や刺傷などにより末梢神経が切断されると、切断端から神経軸索は徐々に再生・伸長し、元の標的細胞を再支配して手や足が再び動くようになります。しかし、頭部外傷や脳血管障害により中枢神経が断裂すると、障害部位を超えた軸索再生^{*1}が起こることはほとんどありません。この壁を破ることが、現在の再生医学の大きな課題となっています。例外的に、小脳の平行線維^{*2}は切断されても速やかに再生し、効率的にプルキンエ細胞^{*3}を再支配することが古くから知られていましたが、その理由は不明でした。渡辺教授らは、この平行線維・プルキンエ細胞シナプス回路の高い再生能力が、このシナプスに選択的に発現しているグルタミン酸受容体 GluD2^{*4}の働きによるものであることを突き止めました。この分子が発達期のシナプス形成と形成後の維持にも関わっていることを考え合わせると、GluD2 はこのシナプス回路の発生から再生までの全ての過程を制御している重要な分子であることが判明しました。

本研究成果は、2016年4月27日(水)出版の米国の神経科学ジャーナル「Journal of Neuroscience」で公開されました。

なお、本研究は、科学研究費補助金(基盤研究(S)24220007, 基盤研究(C)24500413)により行われました。

論文発表の概要

研究論文名：GluD2 endows parallel fiber–Purkinje cell synapses with a high regenerative capacity (GluD2 は平行線維・プルキンエ細胞シナプスに高い再生能力を賦与する)

著者：市川量一¹，崎村建司²，渡辺雅彦³

所属：¹札幌医科大学医学部，²新潟大学脳研究所，³北海道大学大学院医学研究科

公表雑誌：Journal of Neuroscience xx:7412-7424 (2016)

公表日：米国東部時間 2016 年 4 月 27 日 (水) (オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

iPS 細胞などを用いた新たな再生医学の研究と挑戦が活発に行われている現在でも、中枢神経系における軸索再生は未だ困難な状況にあります。しかし、小脳のニューロンである顆粒細胞の軸索（平行線維）は、ナイフやメスで切断しても軸索再生が容易に起こり、プルキンエ細胞に対して効率的にシナプスを再生することが、1980 年代の解剖学的研究からわかっていました。渡辺教授らは、これまで平行線維・プルキンエ細胞シナプスに選択的に発現するグルタミン酸受容体 GluD2 の機能解析を行い、この分子が発生期の平行線維・プルキンエ細胞シナプスの形成及び形成後の維持に中心的な役割を果たしていることを明らかにしてきました。今回、GluD2 はこのシナプスにユニークな高い再生能力にも関与しているのではないかと考え、以下のような実験を行いました。

(研究手法)

生後 2 ヶ月令の野生型マウスと GluD2 欠損マウスの小脳皮質に幅 2mm の間隔で 2 本の切創を加え、周囲の小脳領域から入力してくる平行線維を切断した“小脳の島”を作成しました。切断を行わないコントロール群、受傷後 1 日群、7 日群、30 日群の小脳の島を解析対象として、平行線維と平行線維シナプスがどのように再生するのかを光学顕微鏡観察、及び連続切片を用いた電子顕微鏡立体再構築により解析しました。

(研究成果)

野生型マウスでは、次の 3 つの段階を経て平行線維と平行線維シナプスが再生することがわかりました（参考図）。

1. 変性期：受傷後 1 日目、平行線維及び平行線維シナプスの数はどちらも半分以下にまで減少しました。これは、小脳の島外から投射していた平行線維が切断により変性し、島内からの投射線維は切断から免れ残存していることを意味します。
2. 肥大型：受傷後 7 日目においても平行線維数は半減以下に減少したままでしたが、残存している平行線維が著明に肥大しました。コントロール群では一つの平行線維終末は一つのシナプスだけを形成する 1:1 結合であるのに対して、肥大した平行線維終末は平均 2 個のシナプス (1:2 結合) を形成するようになりました。その結果、平行線維シナプス数が増加し、コントロール群と同じレベルにまで回復しました。これは、再生の初期段階は、残存している平行線維が形態を変化させ、結合比を増大させることでシナプス再生を行っていることを物語ります。
3. 再編期：受傷後 30 日目になると、残存していた平行線維から側枝が発芽して伸長し、平行線維数もコントロール群の 70%以上にまで回復しました。さらに、平行線維の肥大化も解消し、シナプス

の結合比も 1:1 に戻りました。これは、再生の後期段階では平行線維自体も再生することで、平行線維シナプスが数的にも形態学的にも受傷前の状態に回復することを物語ります。

一方、GluD2 欠損マウスでは、肥大期や再編期に見られる再生に向けた変化が全く起こらず、平行線維と平行線維シナプスは変性期の状態のまま続いていました。この研究成果は、平行線維・プルキンエ細胞シナプスに選択的な GluD2 が、このシナプスに高い再生能力を賦与していることを示しています。

(今後への期待)

最近、小脳以外の脳領域では、グルタミン酸受容体 GluD2 と類縁分子である GluD1 が特定のシナプス回路に選択的に発現していることがわかりつつあります。今後、中枢神経系における軸索再生能力の有無やその性質の違いを GluD ファミリー分子の発現との関係において解明できれば、新たな軸索再生への糸口が見つかるかもしれません。

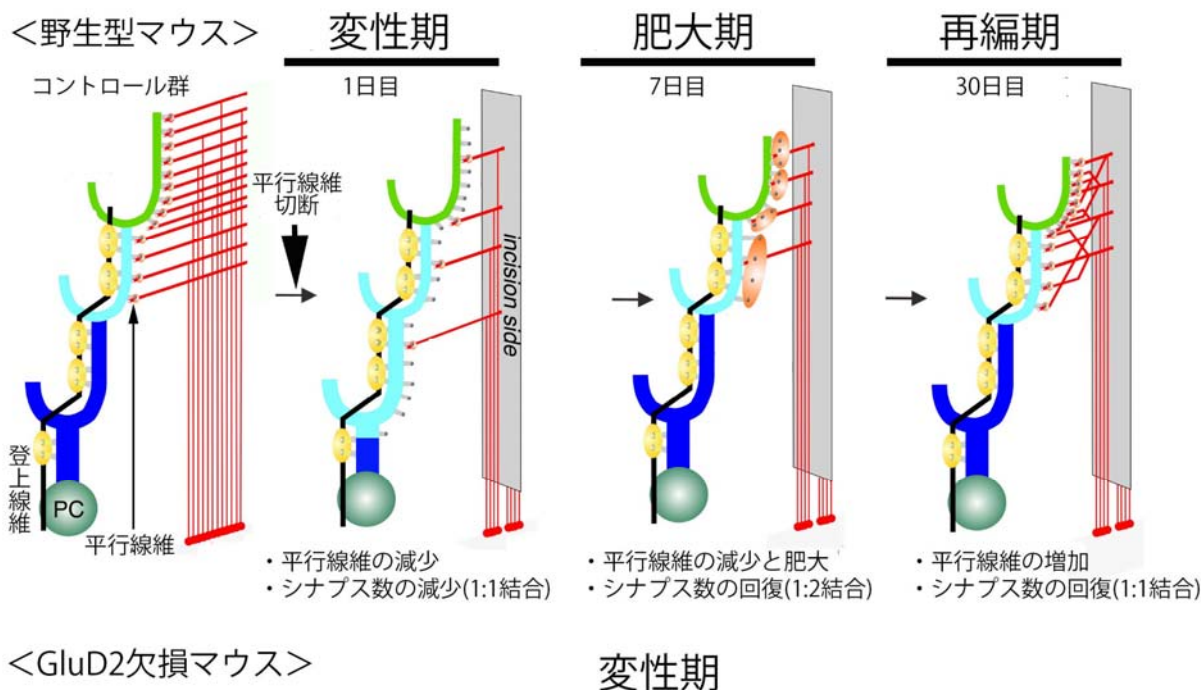
お問い合わせ先

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/>

[参考図]



図：野生型マウスにおける平行線維シナプスの再生過程と GluD2 欠損マウスの表現型

[用語解説]

1. 軸索再生

軸索再生とは、外傷などにより切断された神経細胞の軸索が標的細胞へ向かって伸展し、神経回路を再構築することである。末梢神経軸索が損傷領域を超えて再生するポテンシャルを有するのに対し、中枢神経系は神経細胞の複雑なネットワークで構成されており、一度損傷を受けてこのネットワークが破壊されると回復は難しい。切断された中枢神経軸索が再び伸展し、標的細胞とシナプスを形成することが出来れば機能的な回復が望めるはずであるが、実際にこのような現象はほとんど起こらない。損傷を受けた神経細胞が再び神経ネットワークに組み込まれて機能するためには、軸索の伸展、標的部位への誘導、標的細胞とのシナプス形成、ミエリン化という段階をふんだ再生が必要である。すなわち、損傷した中枢神経軸索から標的細胞への新たな軸索再生が不可欠である。(脳科学辞典：軸索再生(藤田幸, 山下俊英)より)

2. 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小脳の顆粒細胞が受取り、平行線維と名付けられた軸索を介してプルキンエ細胞の樹状突起に伝える。

3. プルキンエ細胞

小脳による運動制御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平行線維を介して受取り、登上線維が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。

4. グルタミン酸受容体 GluD2

イオンチャネル型グルタミン酸受容体には、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ファミリーがあり、GluD1 と GluD2 の 2 種類が存在する。GluD2 は小脳プルキンエ細胞に選択的に発現する。注目すべき GluD2 の発現特性は、プルキンエ細胞が形成する 2 種類のグルタミン酸作動性シナプスのうち、平行線維シナプスにのみ存在し、登上線維シナプスには発現しないことである。