

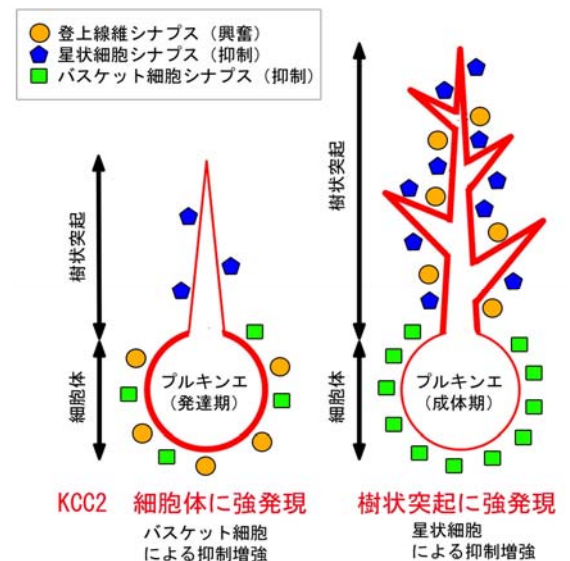


興奮と抑制のバランスを制御する巧妙な調節機構を解明：

発達期と成体期の小脳プルキンエ細胞で異なる塩素イオン排出系輸送体 KCC2 の発現制御

研究成果のポイント

- ・塩素イオンの細胞外排出に関わる KCC2 は、神経伝達物質による抑制作用を決定する輸送体である。
- ・プルキンエ細胞に対して興奮作用を及ぼす登上線維シナプスと抑制作用を及ぼすバスケット細胞シナプスが細胞体に密集する発達期では、KCC2 は細胞体に発現集積した。
- ・登上線維シナプスが樹状突起に移動する成体期では、星状細胞が抑制性シナプスを形成する樹状突起領域で高い発現を示した。
- ・これらの観察結果は、KCC2 が特定の抑制性シナプスの抑制作用を増強することで、興奮と抑制のバランスを図る分子機構であることを示唆する。



研究成果の概要

KCC2 は塩素イオンの細胞外排出を行う輸送体で、生後発達期に発現が増加してニューロン内部の塩素イオン濃度を低下させます。この濃度低下により、GABA などの抑制性伝達物質がシナプスに働くと細胞内に塩素イオンが流入し、強い抑制作用を発揮できるようになります。しかし、抑制性シナプスの形成部位と KCC2 の発現制御との関係はこれまでほとんど不明でした。そこで、シナプス回路が最もよくわかっている小脳プルキンエ細胞に着目して、KCC2 の発現解析を行いました。発達期の未熟なプルキンエ細胞では、まず細胞体に対して興奮性の登上線維シナプスと抑制性のバスケット細胞シナプスが形成されます（上左図）。このような発達期では、細胞体において KCC2 の強い発現集積が起きました。一方、成熟して登上線維シナプスが細胞体から樹状突起へと移動するようになると、KCC2 の強い発現は細胞体から消失し、星状細胞が抑制性シナプスを形成する樹状突起領域へとシフトしました（上右図）。このような発達期と成体期で異なる発現調節は、KCC2 が特定の抑制性シナプスの抑制作用を調節することで、興奮と抑制のバランスを図る分子機構であることを物語っています。

本研究成果は、2012 年 12 月 6 日に欧州神経科学誌「European Journal of Neuroscience」のオンライン速報版で公開されました。

論文発表の概要

研究論文名 : KCC2 is preferentially recruited to climbing fiber synapse during development and the stellate cell-targeting dendritic zone at adulthood in cerebellar Purkinje cells. (小脳プルキンエ細胞に発現する KCC2 は、発達期では登上線維シナプスに、成体期では星状細胞の投射樹状突起領域に集積する)

著者・所属 : 河北一誠¹, 内ヶ島基政², 今野幸太郎², 宮崎太輔², 山崎美和子², 渡辺雅彦²

¹北海道大学医学部, ²北海道大学大学院医学研究科

公表雑誌 : **European Journal of Neuroscience** (欧州神経科学誌)

公表日 : 英国時間 2012 年 12 月 6 日

研究成果の概要

(背景)

ニューロンにおける塩素イオンの濃度勾配の形成と維持は、抑制性伝達物質の抑制作用の強度を規定し、生命機能の維持や正常な神経機能発現に不可欠です。KCC2 は塩素イオンの細胞外排出に関わるイオン輸送体で、生後の発達につれてニューロンでの発現が高まり、これに伴いニューロン内の塩素イオン濃度は低下し、GABA やグリシンなどの抑制性伝達物質の強い抑制作用を發揮します。

プルキンエ細胞は、器用で円滑な運動を可能にする小脳の中心的ニューロンです。このニューロンを支配して興奮作用を發揮する登上線維の支配様式は、複数の線維が支配する発達段階の多重支配から、1本の線維による単一支配へと移行します。多重支配期には、複数の登上線維がプルキンエ細胞の細胞体を取り囲んで密にシナプスを形成し、互いに競合しあいます。やがて、その中から1本の勝者が樹状突起へと駆け上がって神経支配を確立し、他の敗者は細胞体から除去されて単一支配が完成します。その際、登上線維シナプスの強い興奮作用と対抗する抑制性シナプスは、発達期ではバスケット細胞であり、その抑制作用により細胞体の登上線維シナプスを除去します。一方、成体期では、星状細胞が樹状突起上の登上線維シナプスと対抗する抑制性シナプスを形成します。このように、シナプス回路の発達成熟過程が最も良くわかっているプルキンエ細胞を材料にして、KCC2 の発現がシナプス回路発達とどのように連動して制御されているのかを探ることにしました。

(研究手法)

まず、KCC2 の発現検出に必要な KCC2 に対する特異的抗体を作成しました。次に、これを用いて出生時から成体期に至るまでのマウス小脳プルキンエ細胞における KCC2 のタンパクレベルでの時空間的発現変化を、光学顕微鏡および電子顕微鏡レベルで解析しました。本研究は、医学部医学科学生 of 河北一誠君が医学部正課の勉学と医学部ハンドボール部の課外活動を行いながら3年次からこの研究に着手し、卒業を迎えた6年次にまとめた研究論文です。研究の実施にあたっては、医学研究科解剖発生学分野のスタッフが指導と助言を行いました。

(研究成果)

プルキンエ細胞の細胞体が、興奮性の登上線維シナプスと抑制性のバスケット細胞シナプスが密集する発達期では、KCC2 は細胞体上の登上線維シナプスに著明な集積を示しました(次ページの図)。この登上線維シナプスに関連した KCC2 の細胞体集積は、やがてこれと入れ替わるバスケット細胞シナプスによる抑制作用を強化し、登上線維による単一支配化を加速するものと考えられます。一方、登上線維の単一支配が確立しそのシナプスが細胞体から樹状突起に移動する成体期になると、細胞体

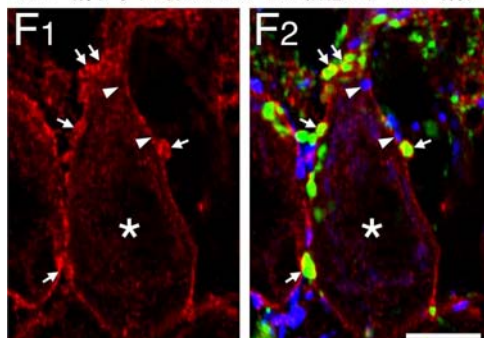
での強い KCC2 の集積は消失し、強い発現部位は星状細胞による抑制性シナプスが配置する樹状突起領域となりました。

このような発達期と成体期で異なる抑制性ニューロンに関連した KCC2 の発現調節は、特定の抑制性伝達を選択的に強化し維持する分子機能を反映し、これにより調和のとれた興奮と抑制を作り出す機構であると理解することができます。

(今後への期待)

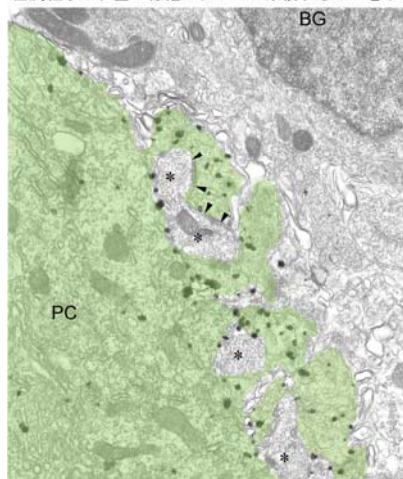
発達期の登上線維シナプスへの集積は、KCC2 の発現が神経活動に依存して調節されていることを示唆し、興奮の高まりが次に抑制力の強化を導くことで脳の恒常性を維持していると考えられます。さらに、抑制性伝達物質によるニューロンネットワークの形成と機能が脳の発達や機能発現において重要であることを考え合わせると、KCC2 発現調節の分子細胞機構の解明とそれを標的とした創薬が、発達障害やてんかんなどの発生機序の解明や新たな治療法の開発につながることも期待されます。

登上線維シナプス（矢印、緑）の周囲に集積する KCC2（赤）。矢頭はバスケット細胞シナプス（青）



生後 10 日齢マウスのプルキンエ細胞

金属粒子は、登上線維シナプスに集積する KCC2 を示す



生後 7 日齢マウスのプルキンエ細胞

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@hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20704/>