PRESS RELEASE (2016/5/10)

北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY

北海道大学総務企画部広報課
〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目
TEL 011-706-2610　FAX 011-706-2092
E-mail: kouhou@jimu.hokudai.ac.jp
URL: http://www.hokudai.ac.jp

シナプスの AMPA 受容体密度を制御するしくみ

研究成果のポイント

- シナプスの強さを決める AMPA 型グルタミン酸受容体[1)] の数や密度は，標的細胞やシナプスの種類によって大きく異なるが，その違いをもたらすしくみについては不明な点が多い。
- AMPA 受容体は TARP[2)] と呼ばれるタンパク質を介してシナプスにつなぎ止められている。
- 本研究によって，AMPA 受容体の密度が高いシナプスと低いシナプスでは必要な TARP のサブタイプが異なることや，シナプスの種類に応じた TARP の使い分けによって AMPA 受容体の密度が適切に制御されていることが明らかになった。

研究成果の概要

脳内の情報処理においては，様々な強さのシナプスが適切な場所に配置されることが重要であると考えられています。シナプスの強さを決める AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の数や密度は，標的細胞やシナプスの種類によって大きく異なることが知られていますが，その制御機構には不明な点が多く残されています。本研究ではマウスの海馬[3)] CA1 領域のシャッファー側枝[4)] と錐体細胞や抑制性介在細胞[5)] との間に形成されるシナプスに焦点を当て，AMPA 受容体の密度と AMPA 受容体がシナプスに局在する際に必要な TARP と呼ばれるタンパク質との関係に着目しました。その結果，穴あき型の錐体細胞シナプス（以下，穴あき型シナプス）[6)] と，パルブアルブミン[7)] 陽性の抑制性介在細胞シナプスで特に AMPA 受容体の密度が高く，それ以外のシナプスとは必要な TARP のサブタイプが異なることが明らかになりました。これらの結果は，シナプスの種類に応じた密度で AMPA 受容体が発現するためには，TARP の使い分けが重要であることを示唆しています。

本研究成果は，2016 年 4 月 13 日に米国神経科学誌「The Journal of Neuroscience」に掲載されました。なお，本研究は，科学研究費補助金（24220007）及び日本医療研究開発機構（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：TARP γ-2 and γ-8 Differentially Control AMPAR Density Across Schaffer Collateral/Commissural Synapses in the Hippocampal CA1 Area.（海馬 CA1 領域のシャッファー側枝シナプス間の異なる AMPA 受容体密度は TARPγ-2 とγ-8 の使い分けによって制御される）
著者：山崎美和子[1]，深谷昌弘[1, 2]，山崎真弥[3]，畦地裕統[3]，夏目理恵[3]，阿部　学[3]，崎村建司[3]，渡辺雅彦[1]

（[1]北海道大学大学院医学研究科，[2]北里大学医学部，[3]新潟大学脳研究所）
公表雑誌：The Journal of Neuroscience （米国神経科学誌）
公表日：米国東部時間　2016 年 4 月 13 日（水）　（オンライン公開）

研究成果の概要

（背景）

脳内の大多数の興奮性シナプスにおいて，速いシナプス伝達を担っている AMPA 受容体の数や密度はシナプスの強さを決める指標であり，標的細胞やシナプスの種類によって大きく異なることが知られています。AMPA 受容体がシナプスに局在するためには TARP と呼ばれる膜貫通タンパク質と複合体を形成することが必要であることや，海馬 CA1 領域では 3 種類の TARP サブタイプ（TARPγ-2，γ-3，γ-8）が発現していることが分かっていますが，これらが AMPA 受容体の密度の調節にどのような役割を果たしているかは不明でした。

（研究手法）

成体期の野生型マウスと 3 種類の TARP サブタイプ欠損マウスを用いて，海馬 CA1 領域の錐体細胞と様々な抑制性介在細胞のシナプスにおける AMPA 受容体密度と TARP のサブタイプ構成，発現密度の関係について，蛍光 in situ ハイブリダイゼーション[8)]，蛍光抗体法[9)]，連続切片を用いた免疫電顕法[10)]を用いて検討しました。

（研究成果）

野生型成体マウスを用いて調べた結果，錐体細胞のシナプス（図 1）のうち穴あき型シナプスは，非穴あき型シナプスよりも AMPA 受容体の密度が 5 倍高いことが分かりました。両者における TARP の構成は大きく異なり，穴あき型シナプスでは TARPγ-2 とγ-8 が両方発現しているのに対し，非穴あき型では TARPγ-8 のみが発現していました。シナプスでの両者の発現を定量比較すると，穴あき型シナプスでは TARPγ-2 の発現レベルが有意に高いことが分かりました。同様に，抑制性介在細胞のうちパルブアルブミン陽性細胞シナプスはそれ以外の細胞種のものと比べ AMPA 受容体の密度が 3 倍高く，さらに TARPγ-2 の発現強度が有意に高いことが分かりました。

3 種類の TARP サブタイプ欠損マウスを用いた解析では，対照的な変化が観察されました。TARPγ-2 欠損マウスでは穴あき型シナプスと PV 陽性シナプスでの AMPA 受容体密度が著しく低下していましたが，元々密度が低いその他のシナプスではあまり変化がなく，結果的にシナプス間の受容体密度の差が減少しました。これに対し，TARPγ-8 欠損マウスでは穴あき型以外の錐体細胞シナプスで密度が著しく低下しましたが，穴あき型シナプスでの減少は限定的で，パルブアルブミン陽性細胞シナプスでは低下が見られませんでした。また TARPγ-3 欠損マウスでは全てのシナプスで AMPA 受容体密度の変化は認められませんでした。

さらにそれぞれの欠損マウスで，他の TARP サブタイプの増減を調べた結果，TARPγ-2 欠損マウスでは TARPγ-8 の増加が，TARPγ-8 欠損マウスでは TARPγ-2 の増加が認められました。このことは TARPγ-8 の欠損は TARPγ-2 の増加分で代償できるのに対し，TARPγ-2 の欠損は TARPγ-8 の増加分では代償しきれないことを示唆しており，TARPγ-2 は TARPγ-8 よりもシナプスに AMPA 受容体を集積させる効率が良いことを示唆しています（図 2）。

以上の結果から，AMPA 受容体の密度の高いシナプスと低いシナプスでは，必要な TARP サブタイプが異なることが明らかとなり，こうした使い分けによってシナプス強度の多様性と神経回路内での適

切な配置が実現されていると考えられます。

（今後への期待）

本研究で明らかとなった TARP サブタイプの使い分けは定常状態のシナプス伝達のみならず，発達や学習の基盤となるシナプス可塑性にも重要であると考えられます。今後はこうしたシナプスの種類や TARP サブタイプの違いが可塑性にもたらす影響について研究を進めていきたいと考えています。

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究科　講師　山崎　美和子（やまさき　みわこ）
TEL：011-706-5030　　FAX：011-706-5031　　E-mail：k-minobe@med.hokudai.ac.jp
ホームページ： http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20704/

【参考図】

図１　錐体細胞の穴あきシナプスと非穴あきシナプス

海馬錐体細胞の興奮性シナプスは棘突起の先端部に形成されている。これらは受容体やその足場となるタンパク質が凝集したシナプス後膜肥厚の形状から 2 つに大別される。不連続に途切れてドーナツ状もしくは馬蹄形を呈するものが穴あき型シナプス，連続的でほぼ円形のものが非穴あき型シナプスである。前者はサイズが大きいが少数であり，占める割合はシナプス全体の 10%程度である。

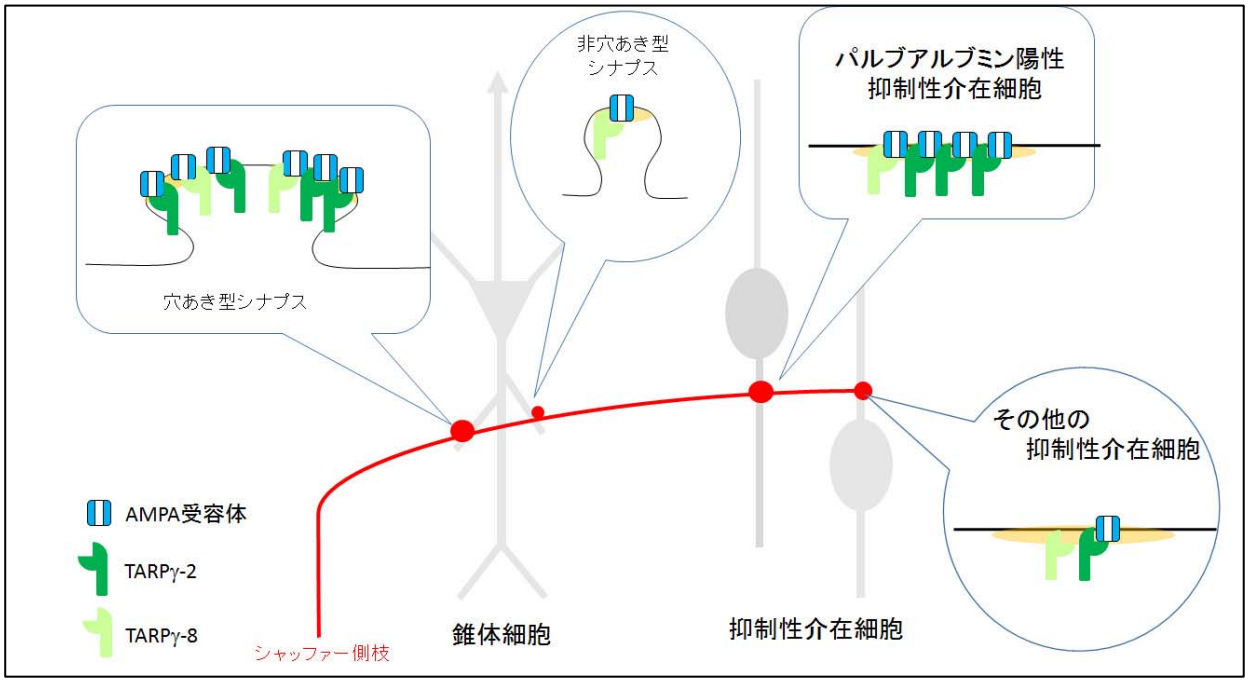

図 2　海馬 CA1 領域の 4 種類のシナプスにおける AMPA 受容体密度と TARP サブタイプの関係

海馬 CA1 領域のシャッファー側枝シナプスは 4 種類に分類される。このうちシナプスの AMPA 受容体密度が高いのは錐体細胞の穴あき型シナプスとパルブアルブミン陽性の抑制性細胞のシナプスであり，これらのシナプスでは高密度の受容体発現のために TARPγ-2 が必要である。

【用語解説】

1. AMPA 型グルタミン酸受容体
   神経情報の伝達や調節に使われる伝達物質の中で，グルタミン酸はニューロンやシナプスを興奮させる伝達物質である。イオンチャネル型グルタミン酸受容体のうち，興奮性シナプス伝達の強度を調節する AMPA 型受容体，シナプス可塑性の誘導に関わる NMDA 型受容体が広く知られている。
2. TARP
   Transmembrane AMPA receptor regulatory protein（TARP）は最初に同定された AMPA 受容体補助サブユニットである。TARP 自体はチャネル孔を形成しないが，AMPA 受容体に結合して細胞表面やシナプスへの集積を促進する作用がある。
3. 海馬
   海馬は大脳辺縁系の一部であり，記憶や学習，空間学習に関わる脳領域である。CA はアンモン角（Cornu Ammonis）の略であり，海馬からの出力を行う錐体細胞とその樹状突起から構成される CA1-CA3 までの連続した領域からなる。
4. シャッファー側枝
   CA3 錐体細胞から CA1 錐体細胞へ投射する，グルタミン酸を伝達物質とする興奮性投射線維である。
5. 抑制性介在細胞
   GABA（γ－アミノ酪酸）を伝達物質とし，錐体細胞をはじめとする標的細胞の膜電位を過分極させ

て興奮を抑制させる働きを持つ。特定の神経核や神経領域の内部で，近距離を配線するために介在細胞と呼ばれる。

6. 穴あき型シナプス
   通常のシナプスのようにシナプス後膜肥厚が円形ではなく，ドーナツ状または馬蹄形をしたもの。通常のシナプスよりもサイズが大きく，シナプス伝達強度に長期増強が起こると増加すると言われている。
7. パルブアルブミン
   カルシウム結合タンパク質であり，特定の種類の抑制性介在細胞に特異的に発現する分子マーカーとなる分子である。
8. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション
   mRNA（メッセンジャーRNA）の発現を組織切片上で検出する組織化学法。レポーター分子を組み込んだ mRNA の塩基配列と相補的な RNA（complementary RNA，リボプローブ）を用いて，蛍光シグナルとして検出する。蛍光 in situ ハイブリダイゼーションは検出レポーターとして蛍光物質をこの方法を用いることで，ある特定の遺伝子を発現している細胞種の同定や，発現量の多寡や変動を調べることができる。
9. 蛍光抗体法
   遺伝子発現をタンパク質の発現として捉える抗体を用いた組織化学法を免疫組織化学という。検出レポーターとして蛍光物質を用いる場合，これを蛍光抗体法という。この方法を用いることにより，細胞や組織内の分子の分布や局在を調べることができる。
10. 連続切片を用いた免疫電顕法
    免疫組織化学の反応検出を行い，その分子の局在を電子顕微鏡で観察する方法。連続切片を用いることによりシナプスや細胞内小器官といった微小な構造を立体再構築することが可能であり，面積当たりの発現量を検討することができる。