

研究題目 脳内における活動依存的な神経回路形成分子の網羅的探索と機能解析

研究組織

研究代表者：高野 哲也（九州大学）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

脳内には約 150 兆個のシナプスが存在し、これらが多様な神経回路を形成しているが、各回路の形成過程や脳機能制御の分子メカニズムは依然として未解明である。本研究は、個々の神経回路網を構成する分子成分を網羅的に探索するための新たな空間プロテオーム技術を開発し、神経回路特有の分子基盤の解明を目的とする(図 1)。昨年度、近位依存性ビオチン標識法 (BioID) を用いて、前頭前野 (PFC) - 扁桃体 (BLA) という単一神経回路において、神経回路特異的な約 400 種類のタンパク質を同定することに成功した。そこで、本年度は新規神経回路特異的分子 PBCL1 に着目し、形態学および電気生理学的解析を通じ、情動記憶形成に関与する神経回路特異的な分子メカニズムの解明を目指す(図 1)。

に組織学的解析により PFC-BLA 回路シナプスの密度を評価した。次に、BLA 領域の脳切片を用いて電気生理学的解析を行い、シナプス伝達に及ぼす影響を検討した。加えて、オープンフィールド試験、高架十字迷路試験、3 室社会テスト、恐怖条件付け試験などの行動試験を通じ、PBCL1 発現抑制マウスの行動特性も評価した。これらの解析結果から、PBCL1 が PFC-BLA 回路のシナプス形成・機能を制御し、恐怖記憶の想起を調節していることが初めて示された(図 3)。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

(1) 新規分子 PBCL1 によるシナプス形成制御

PBCL1 のシナプス形成への影響を評価するため、アデノ随伴ウィルス (AAV) を用いて PFC-BLA 神経回路特異的に PBCL1 の発現を抑制し、BLA 領域においてシナプスマーカーを用いた免疫染色を行った。その結果、神経回路特異的に PBCL1 を発現抑制すると、PFC-BLA 回路のシナプス密度の有意な減少が確認された (図 2)。

[1-2]研究の方法・経過

本研究は、昨年度同定した PFC-BLA 神経回路特異的分子 PBCL1 の詳細な機能解明を目的として、以下の手法により解析を行った。まず、アデノ随伴ウィルス (AAV) を用いた神経回路特異的 PBCL1 発現抑制マウスを作製し、これらを対象

(2) PBCL1 による興奮性シナプス伝達の制御

上記(1)の結果を確認するため、電気生理学的解析を実施し、PBCL1 がシナプス伝達に与える影響を評価した。具体的には、神経回路特異的

に PBCL1 の発現を抑制したマウスを用いて、ホールセルパッチクランプ記録法により自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC) を記録した。その結果、対照群 (shCont) に対して、PBCL1 抑制群 (shPBCL1) では sEPSC の振幅および頻度が有意に減少していることが確認された。次に、この活動変化が PFC - BLA 神経回路の活性に依存しているかを検証するため、チャンネルロドプシン - 2 (ChR2) を用いて PFC - BLA 神経回路に発現させ、電気生理学の実験を実施した。その結果、ChR2 によって誘導される PFC - BLA 神経回路特異的な活動が、PBCL1 の機能抑制により有意に減少することが明らかとなった。

(3) PBCL1 による恐怖記憶想起の制御機構

PFC - BLA 神経回路は、不安の強度に応じた情動応答の調節において重要な役割を担っている。そこで、神経回路特異的に PBCL1 の発現を抑制したマウス (shPBCL1) を用いて、これらの不安行動について解析した。軽度～中程度のストレス応答を評価するオープンフィールドテストおよび高架十字迷路試験、3 室社会テストでは、探索行動や社交性に対して有意な差は認められなかった。しかし、重度なストレス応答を評価する恐怖連合学習試験においては、文脈および音刺激による条件提示時のすくみ反応が、PBCL1 発現抑制群において有意に低下することがわかった。これらの結果は、PBCL1 が重度のストレス下での恐怖記憶の想起に寄与し、不安の強度に応じた PFC - BLA 神経回路のシナプス機能制御に中心的な役割を果たしていることを示唆する(図 3)。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究では、従来解析が困難であった特定神経回路内のタンパク質動態を網羅的に評価するため、神経回路特異的 BioID 法を開発し、PFC - BLA 神経回路に存在する分子群を網羅的に同定した。さらに、新規分子 PBCL1 が本神経回路特有の分子として同定され、重度のストレス条件下における恐怖記憶の想起に関与するシナプス形成・機能制御の中心分子であることが示された。実際、軽度から中程度のストレス下では影響が認められなかった一方、重度のストレス下では PBCL1 の発現抑制により PFC - BLA 神経回路のシナプス密度および機能が著しく低下することが明らかとなった。これらの成果は、PBCL1 を標的とすることで、PFC - BLA 神経回路の重篤な機能不全に起因する不安障害や PTSD などの神経精神疾患に対する新たな

治療戦略および治療法の開発に大きな可能性を示唆する。今後は、PBCL1 の分子機能および相互作用ネットワークのさらなる解明を進めることで、神経回路特異的な個別化医療や副作用の少ない新規治療法の実現に向けた発展が期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表 (抜粋)

1. シンポジウム「近位依存性ビオチン標識 (BioID)法を応用した脳内のシナプスプロテオーム」、オーガナイザー&シンポジスト、Neuro2024、2024 年 7 月
2. シンポジウム「近位依存性ビオチン標識 (BioID)法で解読する脳の分子景観」第 96 回日本生化学学会、2024 年 11 月
3. シンポジウム「BioID 技術が解読するシナプス空間のプロテオームダイナミクス」、第 47 回日本分子生物学会、オーガナイザー&シンポジスト、2024 年 11 月

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後は、本研究で確立した神経回路特異的 BioID 法を他の脳領域や異なる神経回路へ応用し、各回路の分子プロファイルを網羅的に取得する。これにより、脳全体の分子地図の構築と各回路固有の分子機構の解明を目指す。さらに、本研究で同定された新規分子 PBCL1 は、PFC-BLA 神経回路に特有であり、恐怖記憶想起に中心的な役割を果たしている。今後は、PBCL1 のシナプス機能制御機構および相互作用分子を詳細に解析する。これにより、将来的には PBCL1 を標的とする新規治療法の開発や、PFC-BLA 神経回路の機能不全に起因する不安障害や PTSD などの神経精神疾患の病態解明が期待される。