

Title	細胞接着型Gタンパク質共役受容体を介する新規シナプス形成・動作機構の解明
Sub Title	A novel functional role of adhesion-GPCRs in synapse integrity.
Author	掛川, 渉(Kakegawa, Wataru)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
Abstract	<p>脳内の神経細胞間を結ぶ「シナプス」は、記憶の形成に関わる重要な構造である。近年、シナプス形成・機能を支える分子として、細胞接着型Gタンパク質共役受容体(Adhesion-GPCR, ADGR)が注目されている。ADGRは、種々の機能ドメインを有する細胞外領域と、GPCRに共通な7回膜貫通領域およびGタンパク質や他のシグナル分子と結合しうる細胞内領域からなるユニークな分子群であるが、脳内における働きは不明な点が多い。我々は最近、運動記憶を支える小脳神経回路の要衝を担う登上線維(CF) - 小脳プルキンエ細胞(PC)シナプス(以下、CFシナプス)において、PCに発現するBAI3が同シナプスの形成・機能を制御することを明らかにした(Kakegawa et al., Neuron 2015)。そこで本研究では、BAI3の機能様式について解析を進めることにした。</p> <p>まず、成熟期小脳のCFシナプスにおけるBAI3の重要性を調べるため、成熟PC-BAI3 KOマウスに外来性BAI3を導入した。すると、欠損マウスにおいて生後発達期に刈り込まれなかった過剰なCFが成熟期の段階において刈り込まれ、最終的に1つのプルキンエ細胞に1本の登上線維が投射する、いわゆる正常な"1本支配"の投射様式を示した。次に、成熟野生型マウスに発現する内在性BAI3を、RNA干渉法を用いて急性除去した。BAI3除去用microRNAをPCに導入すると、高効率でBAI3発現を抑えることができた。面白いことに、BAI3を急性除去した登上線維では、発達期に形成されたシナプスがはずれ、同時に同線維の退縮も認められた。また、BAI3除去された細胞にmicroRNA耐性を有するBAI3を発現させるとその表現型が改善されたのに対し、BAI3のリガンドとして同定された分泌性因子C1qL1との結合能を欠いた変異型BAI3を発現させた場合、表現型の回復は認められなかった。従って、CFシナプスは成熟期においてもダイナミックに改変され、その過程にもBAI3-C1qL1相互作用が重要であることが示唆された。</p> <p>The synapse is a structure linking between neurons in the brain, which is crucial site for learning and memory. Recently, adhesion-type G protein-coupled receptors (Adhesion-GPCRs, ADGRs) are intensively studied as key molecules regulating synapse integrity. ADGR is a family consisting of a long extracellular N-terminal region with multifunctional domains, seven transmembrane domain and an intracellular C-terminal domain in which G proteins and several signal molecules bind. Despite of its unique structure, the mechanisms by which AGDR functions in vivo are largely unknown. We previously demonstrated that BAI3, which is a member of ADGR family abundantly expressed at the synapses between cerebellar Purkinje cells and climbing fibers from inferior olivary neurons (CF synapses), is crucial for the CF synapse development (Kakegawa et al., Neuron 2015). In this study, to further understand the knowledge on ADGR, we focused on the functions of BAI3 in the mature cerebellum.</p> <p>First, to examine the importance of BAI3 in adult, we introduced exogenous BAI3 into BAI3-null Purkinje cells in mature cerebellum. Although BAI3-null Purkinje cells are innervated by abnormal inputs from several weak CFs, exogenous BAI3 almost completely rescued its abnormality. Next, when endogenous BAI3 was acutely knocked-down in adult Purkinje cells by using microRNA system, we could see the impairments in CF synapse morphology and functions. Interestingly, CF synapse deficit caused by an acute BAI3 knock-down was rescued by microRNA-resistant BAI3 but not mutant BAI3 which lacks N-terminal functional domain (named CUB domain), where a kind of secretion molecule C1qL1 selectively binds. Taken together, CF synapses are highly dynamic through BAI3-C1qL1 interaction even in adult.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170304

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	准教授	補助額	1,000 (特A)千円
	氏名	掛川 渉	氏名 (英語)	Wataru Kakegawa		
研究課題 (日本語)						
細胞接着型 G タンパク質共役受容体を介する新規シナプス形成・動作機構の解明						
研究課題 (英訳)						
A novel functional role of adhesion-GPCRs in synapse integrity.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>脳内の神経細胞間を結ぶ「シナプス」は、記憶の形成に関わる重要な構造である。近年、シナプス形成・機能を支える分子として、細胞接着型 G タンパク質共役受容体 (Adhesion-GPCR, ADGR) が注目されている。ADGR は、種々の機能ドメインを有する細胞外領域と、GPCR に共通な7回膜貫通領域および G タンパク質や他のシグナル分子と結合しうる細胞内領域からなるユニークな分子群であるが、脳内における働きは不明な点が多い。我々は最近、運動記憶を支える小脳神経回路の要衝を担う登上線維 (CF) -小脳プルキンエ細胞 (PC) シナプス (以下、CF シナプス) において、PC に発現する BAI3 が同シナプスの形成・機能を制御することを明らかにした (Kakegawa et al., Neuron 2015)。そこで本研究では、BAI3 の機能様式について解析を進めることにした。</p> <p>まず、成熟期小脳の CF シナプスにおける BAI3 の重要性を調べるため、成熟 PC-BAI3 KO マウスに外来性 BAI3 を導入した。すると、欠損マウスにおいて生後発達期に刈り込まれなかった過剰な CF が成熟期の段階において刈り込まれ、最終的に1つのプルキンエ細胞に1本の登上線維が投射する、いわゆる正常な“1本支配”の投射様式を示した。次に、成熟野生型マウスに発現する内在性 BAI3 を、RNA 干渉法を用いて急性除去した。BAI3 除去用 microRNA を PC に導入すると、高効率で BAI3 発現を抑えることができた。面白いことに、BAI3 を急性除去した登上線維では、発達期に形成されたシナプスがはずれ、同時に同線維の退縮も認められた。また、BAI3 除去された細胞に microRNA 耐性を有する BAI3 を発現させるとその表現型が改善されたのに対し、BAI3 のリガンドとして同定された分泌性因子 C1qL1 との結合能を欠いた変異型 BAI3 を発現させた場合、表現型の回復は認められなかった。従って、CF シナプスは成熟期においてもダイナミックに改変され、その過程にも BAI3-C1qL1 相互作用が重要であることが示唆された。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>The synapse is a structure linking between neurons in the brain, which is crucial site for learning and memory. Recently, adhesion-type G protein-coupled receptors (Adhesion-GPCRs, ADGRs) are intensively studied as key molecules regulating synapse integrity. ADGR is a family consisting of a long extracellular N-terminal region with multifunctional domains, seven transmembrane domain and an intracellular C-terminal domain in which G proteins and several signal molecules bind. Despite of its unique structure, the mechanisms by which AGDR functions in vivo are largely unknown. We previously demonstrated that BAI3, which is a member of ADGR family abundantly expressed at the synapses between cerebellar Purkinje cells and climbing fibers from inferior olivary neurons (CF synapses), is crucial for the CF synapse development (Kakegawa et al., Neuron 2015). In this study, to further understand the knowledge on ADGR, we focused on the functions of BAI3 in the mature cerebellum.</p> <p>First, to examine the importance of BAI3 in adult, we introduced exogenous BAI3 into BAI3-null Purkinje cells in mature cerebellum. Although BAI3-null Purkinje cells are innervated by abnormal inputs from several weak CFs, exogenous BAI3 almost completely rescued its abnormality. Next, when endogenous BAI3 was acutely knocked-down in adult Purkinje cells by using microRNA system, we could see the impairments in CF synapse morphology and functions. Interestingly, CF synapse deficit caused by an acute BAI3 knock-down was rescued by microRNA-resistant BAI3 but not mutant BAI3 which lacks N-terminal functional domain (named CUB domain), where a kind of secretion molecule C1qL1 selectively binds. Taken together, CF synapses are highly dynamic through BAI3-C1qL1 interaction even in adult.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Wakayama, S., Kiyonaka, S., Arai, I., Kakegawa, W., Matsuda, S., Ibata, K., Nemoto, Y.L., Kusumi, A., Yuzaki, M., Hamachi, I.	Chemical labelling for visualizing native AMPA receptors in live neurons.	Nature Communications	2017年4月			
河野まや, 掛川 渉, 柚崎通介	ニューロリハビリテーションの進歩: 中枢神経の可塑性とは.	Clinical Neuroscience	2017年5月			
Aimi, T., Kakegawa W., Yuzaki M.	BAI3 recruits surplus climbing fiber synapses in adult cerebellum.	平成 29 年度 次世代脳冬のシンポジウム	2017年12月			
Kakegawa, W., Yuzaki, M.	A novel D-serine signaling which underlies synaptic plasticity and motor learning in the cerebellum.	第 39 回 日本生物学的精神医学会シンポジウム	2017年9月			
Kakegawa, W., Yuzaki, M.	Synergistic action of two different GluD2 ligands on D-serine signaling in the cerebellum.	The 3rd International Conference of D-Amino Acid Research	2017年7月			