

小幡研究ユニット

Obata Research Unit

ユニットリーダー 小幡 邦彦
OBATA, Kunihiko

神経回路は興奮性ニューロンと抑制性ニューロンとの共同作業によって機能を発揮する。抑制性ニューロンのほとんどが GABA を神経伝達物質にしているが、その形態、分布、結合様式はさまざまである。我々の研究目的は各脳部位における GABA ニューロンの構築と役割とを明らかにして、神経回路のはたらきを総合的に理解することである。そのために GABA 合成酵素であるグルタミン脱炭酸酵素の GAD65 と GAD67 の遺伝子のノックアウトおよび GAD67 遺伝子に蛍光タンパク GFP の遺伝子をノックインしたマウスをすでに作成しており、今後もこれを利用する。また GABA は植物、微生物にも広く存在することから、動物でも神経伝達以外の役割をもっている可能性がある。とくに抗酸化作用を検証して、GABA の生理的役割の全貌を明らかにする。

1. GAD67 ノックアウトマウスにみられる口蓋裂の発生機構の研究 (常川, 小幡; 荒田 (BSI 記憶学習機構研究チーム))

口蓋裂の多くは口蓋原基が左右から挙上しても先端の融合が起こらないためであるが、GAD67 KO マウスの場合には口蓋原基挙上が起こっていない。これを補助する舌の運動が KO では神経系の異常のために不十分であるという仮説を確かめるために、以下の実験を行った。口蓋形成期の胎仔につき超音波画像診断装置で子宮内での運動を記録した。開口、舌後退運動が野生型では自発的に起こっているが、KO ではほとんどみられなかった。胎仔の摘出脳幹脊髄標本で、舌下神経根と第 4 脊髄神経前根から神経発射を記録した。野生型では頭部の筋活動に同期した神経発射がみられるが、KO ではほとんどみられなかった。別に見いだした原基の培養や舌切除した胎仔では KO でも口蓋形成が起こる実験成績と合わせて、上の仮説が支持された。

2. GABA ニューロンの活動制御 (廣野, Munsch, Pepe, 小幡)

GFP/GAD67 ノックインマウスの脳スライス標本について、抑制性 GABA ニューロンを同定してパッチ記録を行い、カテコールアミンによる活動制御の脳部位における違いを明らかにする。外側膝状体ではドーパミンが D2 受容体を活性化して GABA 性介在ニューロンを脱分極して、投射ニューロンを抑制し、小脳ではノルアドレナリンがアルファ1 受容体を活性化してプルキンエ細胞を興奮させることを見いだした。

Any neuronal network is composed of various types of excitatory and inhibitory neurons. We aim to understand the organization and function of each neuronal network by elucidating the architecture and role of inhibitory GABAergic neurons. GAD65 and 67 knockout mice and GAD67/GFP knock-in mouse that we produced recently are useful for our analyses.

1. Mechanism of cleft palate in GAD67 knock-

out mouse

Ultrasonic observation of the head and tongue movement of embryos in the uterus showed that the movement in the GAD67-deficient mice was infrequent compared with that of the wild-type mice. Rhythmic body movement-related discharges recorded from the hypoglossal nerve and C4 ventral root were infrequent in the excised brainstem-spinal cord preparation. These phenomena might be related to the induction of cleft palate.

2. Regulation of GABAergic neurons by catecholamine systems

Patch clamp recordings from GFP-fluorescent neurons in slice preparations of GFP knock-in mouse have demonstrated activation of GABAergic interneurons by dopamine in the lateral geniculate nucleus and of Purkinje cells by noradrenaline in the cerebellum.

Dopamine D2 and alpha1 adrenergic receptors are involved, respectively.

Staff

Unit Leader

Dr. Kunihiko OBATA

Research Scientists

Dr. Moritoshi HIRONO

Dr. Naoko TSUNEKAWA

Technical Staff I

Ms. Noriko SHIMAZAWA

RIKEN/BSI Collaborators

Dr. Akiko ARATA (Lab. Mem. Learn., BSI)

Outside Collaborators

Dr. Thomas MUNSCH (Otto-von-Guericke Univ.)

Magdeburg, Germany)
Prof. Hans-Christian PAPE (Otto-von-Guericke Univ.
Magdeburg, Germany)
Prof. Yuchio YANAGAWA (Dept. Genet. Behav. Neurosci., Gunma Univ.)

Trainee

Mr. Hajime YAMANAKA (Natl. Inst. Neurosci.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

- Ebihara S., Yamamoto T., Obata K., and Yanagawa Y.: "Gene structure and alternative splicing of the mouse glycine transporter type-2", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **317**, 857–864 (2004). *
- Bin J., Kitamura A., Yasuda H., Sohya K., Maruyama A., Yanagawa Y., Obata K., and Tsumoto T.: "Brain-derived neurotrophic factor acutely depresses excitatory synaptic transmission to GABAergic neurons in visual cortical slices", *Eur. J. Neurosci.* **20**, 709–718 (2004). *
- Stork O., Zhdanov A., Kudersky A., Yoshikawa T., Obata K., and Pape H.: "Neuronal functions of the novel serine/threonine kinase Ndr2", *J. Biol. Chem.* **279**, 45773–45781 (2004). *
- Yamagata Y. and Obata K.: "Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II is reversibly autophosphorylated, inactivated and made sedimentable by acute neuronal excitation in rats *in vivo*", *J. Neurochem.* **91**, 745–754 (2004). *
- Hirono M., Denis C. S., Richardson G. P., and Gillespie P. G.: "Hair cells require phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate for mechanical transduction and adaptation", *Neuron* **44**, No. 2, pp. 309–320 (2004). *
- Yamanaka H. and Obata K.: "Displaced granule cells in the molecular layer of the cerebellar cortex in mice treated with methylazoxymethanol", *Neurosci. Lett.* **358**, 132–136 (2004). *
- Yamanaka H., Yanagawa Y., and Obata K.: "Development of stellate and basket cells and their apoptosis in mouse cerebellar cortex", *Neurosci. Res.* **50**, 13–22 (2004). *
- Ding R., Tsunekawa N., and Obata K.: "Cleft palate by picrotoxin or 3-MP and palatal shelf elevation in GABA-deficient mice", *Neurotoxicology and Teratology* **26**, 587–592 (2004). *
- Tsunekawa N., Arata A., and Obata K.: "Development of spontaneous mouth/tongue movement and related neural activity, and their repression in fetal mice lacking glutamate decarboxylase 67", *Eur. J. Neurosci.* **21**, 173–178 (2005). *
- Munsch T., Yanagawa Y., Obata K., and Pape H.: "Dopaminergic control of local interneuron activity in the thalamus", *Eur. J. Neurosci.* **21**, 290–294 (2005). *
- Tsunekawa N., Yanagawa Y., and Obata K.: "Develop-

ment of GABAergic neurons from the ventricular zone in the superior colliculus of the mouse", *Neurosci. Res.* **51**, 243–251 (2005). *

(総説)

- Kuwana S., Okada Y., Sugawara E., and Obata K.: "Role of GABA in central respiratory control studied in mice lacking GABA-synthesizing enzyme 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase", *Adv. Exp. Med. Biol.* **551**, 157–163 (2004).
- 小幡邦彦: "抑制性ニューロンの分化と回路形成", *生体の科学* **55**, 20–25 (2004).
- 小幡邦彦: "GABA性ニューロンの発生と機能: 遺伝子改変マウスでわかったこと", *蛋白質 核酸 酵素* **49**, 295–300 (2004).

口 頭 発 表 Oral Presentations

(国際会議等)

- Tsunekawa N., Arata A., and Obata K.: "GABA modulates the generation of spontaneous motor activity in fetal mouse", 34th Ann. Meet. of Soc. for Neuroscience (Neuroscience 2004), San Diego, USA, Oct. (2004).
- Uusisaari M. I., Akemann W., Javier G. D., Grandes P., Obata K., Joho R. H., and Knöpfel T.: "Expression and function of Kv3.1 and Kv3.3 potassium channels in neurons of deep cerebellar nuclei", Shanghai International Conference on Physiological Biophysics (Shanghai ICPB'04), (Shanghai Society of Biophysics), Shanghai, China, Nov. (2004).
- (国内会議)
- 北村明彦, 廠賦, 安田浩樹, 丸山篤史, 惣谷和広, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 津本忠治: "GAD67-GFP ノックインマウス大脳視覚の GABA ニューロンへの興奮性シナプス伝達の BDNF による抑圧", 第 81 回日本生理学会大会, 札幌, 6 月 (2004).
- 廣野守俊, Gillespie P. G.: "PIP2 による有毛細胞 adaptation の制御", 第 81 回日本生理学会大会, 札幌, 6 月 (2004).
- 常川直子, 荒田晶子, 小幡邦彦: "GAD67 遺伝子欠損マウス胎仔における頭部と舌の自発運動と神経発射", 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9 月 (2004).
- 伊佐かおる, Sooksawate T., Behan M., 小幡邦彦, 柳川右千夫, 伊佐正: "GAD67-GFP ノックインマウスを用いた上丘中間層 GABA 作動性ニューロンの電気生理学的及び形態学的特性", 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9 月 (2004).
- 田中正彦, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 丸野内隼: "In vitro における小脳プルキンエ細胞樹状突起形成過程の経時観察", 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9 月 (2004).
- 田中大介, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 村上富士夫: "大脳皮質 GABA 作動性ニューロンの吻尾軸方向への移動", 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9 月 (2004).
- 上松正和, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 吉田祥子: "培養小脳組織

からの GABA 放出パターンを観察”, 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro2004), 大阪, 9 月 (2004).
丸山篤史, 小原圭吾, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 津本忠治: “大

脳皮質の興奮性および抑制性ニューロンの樹状突起発達に対する神経活動抑制の効果”, 第 97 回近畿生理学談話会, (日本生理学会), 京都, 11 月 (2004).