

様式 2-4-1

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
グループ共同研究実施報告書
〔研究分野：運動と発現・制御の神経機構に関する研究〕

1. グループ共同研究代表者

所属機関・職名・氏名 理化学研究所・脳科学総合研究センター・
記憶学習機構研究チーム(平成 15 年 4 月より)
研究員・尾崎美和子

2. 研究課題名

神経活動のパターンにより制御されるニューレグリン/ARIA の機能解析

3. 日本側グループ組織(代表者及び分担者の所属・職・氏名)

代表者

所属 理化学研究所 脳科学総合研究センター
細胞内情報研究チーム(現：記憶学習機構研究チーム)

職名 研究員

氏名 尾崎美和子

分担者

所属 東京都臨床医学総合研究所、炎症

職名 研究員

氏名 伊藤康一

4. 米国側グループ組織(代表者及び分担者の所属・職・氏名)

代表者

所属 Section on Developmental Neurobiology,
National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS),
National Institutes of Health (NIH)

(Present:

職名 Director of NINDS and chief of Section on Developmental Neurobiology

氏名 Gerald D Fischbach

5. 研究期間 平成 13 年 4 月 1 日～平成 15 年 3 月 31 日

6. 研究の概要, 成果及び意義(1000字)

1) 研究の概要と意義

神経細胞には電気的な活動があり、神経活動には環境等の外部情報により影響をうけるパターンが存在する。我々は、この神経活動パターンを解析し制御することにより、脳情報処理システムの基本原理に迫り、更には治療へ応用できないかと考えてきた。現在、我々は橋-小脳路系の神経ネットワークを用いることにより、どのような神経活動のパターンがシナプス形成、神経回路発達に重要であるかを分子生物学的に明らかにしようとしている。特に本研究では、神経栄養因子の一つで、シナプス形成関連遺伝子ニューレグリンに焦点をあて研究を進めてきた。ニューレグリンは神経活動依存的に発現、局在、蛋白分断等が制御されており、シナプス形成だけでなく、完成されたシナプスにおいても興奮性シナプスと抑制性シナプス間の協調を制御している可能性のあるユニークな分子である。本研究において我々はニューレグリン分子の挙動を指標に、どのような神経活動のパターンがどのような機能を制御しているかを明らかにしていこうと考えた。これまで、神経活動パターンを解析するに当り、理論的解析、シミュレーションによる解析等が行われてきたが、分子生物学的側面から意味あるパターンを抽出し、脳情報処理機構である電気生理学的現象を分子生物学的側面から説明していこうといった試みは、パターン解析の一つの方法でもある。最終的には神経細胞のもつ神経活動パターンを解読し、理解することにより、運動機能系の可塑性を制御し、新たな神経回路形成が可能かどうか、あるいは失われた機能を回復できるかどうかを検証していきたいと考えている。

(2) 研究の成果

これまでに我々は、マウスニューレグリン遺伝子をクローニング同定し、システムティックな欠損部位をもつニューレグリン変異遺伝子を作成し、*In vitro* で機能解析を行ってきた。その際、神経活動パターンを分子生物学的側面から解析するために必要な、培養細胞用電気刺激装置の開発を行ってきた。これまで、我々はその装置を用い、橋-小脳路系におけるニューレグリン分子の発現、局在、蛋白分断が神経活動依存的に制御されていることを証明し、神経活動パターンとの関係を明らかにしてきた。また、神経筋接合部と海馬では、アセチルコリン受容体の発現と活性がニューレグリンにより制御されていることが、共同研究者である Dr. Fischbach らのグループから報告されている。これまで彼等はニューレグリンの特定機能部位を欠損させたノックアウトマウスを作成し、主に神経筋接合部に着目し研究を進めてきた。

本共同研究期間中には、上記現象の解析を更に深めるため、彼らが作成したノックアウトマウスを解析し、更に一連の(全長ニューレグリンと欠損部位をもつニューレグリンを大量発現させた)ニューレグリントランスジェニックマウスを作成、解析することにより、橋-小脳路系でのニューレグリンの機能を *In vitro* と *In vivo* で明らかにし、神経活動パターンとニューレグリンとの関係を明らかにした。

7. その他（実施上の問題点，特記事項等）

出張日程が研究期間内で、状況と必要に応じ、変更可能であると便利であると思った。

8. 業績（平成 13 年度～平成 14 年度）

[原著論文]

- Miwako Ozaki, Tsutomu Hashikawa, Kazutaka Ikeda, Yukie Miyakawa, Tomio Ichikawa, Yoshihiro Ishihara, Toshiro Kumanishi, Ryoji Yano (2002) Pontine nuclear neurons are degenerated in weaver mutant mice, losing pontocerellar mossy fibers during cerebellar development, *Eur. J. Neurosci*, 16 (4), 565-574.
- K. Sakamaki, T. Inoue, M. Asano, K. Sudo, H. Kazama, J. Sakagami, S. Sakata, Miwako Ozaki S. Nakamura, S. Toyokuni, N. Osumi, Y. Iwakura and S. Yonehara (2002) Ex vivo whole-embryo culture of caspase-8-deficient embryos normalize their aberrant phenotypes in the developing neural tube and heart, *Cell Death and Differentiation*, 9, 1196-1206.
- Miwako Ozaki (2002) Profiling for Patterned Neuronal Impulses and the Roles of Neuregulin, *NeuroSignals*, 11, 158-174.

[総説 & その他]

- Miwako Ozaki (2003) Fundamental principles for brain information processing, *Annual Report for Japan Women Scientist*. In press.
- Miwako Ozaki (2002) Patterns of neuronal impulses and function of neuregulin *NeuroSignals* 11, 191-196.
- Miwako Ozaki (2001) Neuregulins and the Shaping of Synapses, *Neuroscientist*, 7(2):146-154.
- 尾崎美和子 (2002) 神経活動パターンの解析と脳の可塑性, *臨床神経科学 Clinical Neuroscience*, 20 (7) 842-843.
- 尾崎美和子 (2001-2002) 6 つの国際会議学会誌に要旨掲載

[工業的所有権]

- 尾崎美和子 (2003) 特開 2003-144136 発明の名称：細胞刺激装置と細胞刺激方法
- 尾崎美和子 (2003) 特開 2003-137900 発明の名称：ニューレグリンの抗体
- 尾崎美和子 / 伊藤康一 (2003) 特願 2003-116895 発明の名称：培養細胞用刺激電極の形状
- 尾崎美和子 (2002) 特願 2001-347316 (日本国内優先権主張番号) 発明の名称：培養細胞を大量に刺激するための電気刺激装置と刺激方法 複数国へ国際特許出願中

Form 2-4-2

Japan-US Brain Research Cooperation Program

Group Joint Study Report

[field:]

1. The Representative of Group Joint Study:

Brain Science Institute, Riken/ Staff Scientist/ Miwako Ozaki

2. Project Title: **Functional Analyses of Neuregulin / ARIA Controlled by Patterned Neural Activity**

3. Japanese Investigator's Name, Title, Affiliation and Phone Number:

Chief: Name; Miwako Ozaki

Title; Staff Scientist

Affiliation; Laboratory for Cellular Information Processing, (Present; Laboratory for Memory

and Learning)

Brain Science Institute, RIKEN

Phone Number; +81 48 462 1111 Ext. 6486

Collaborator; Name; Kouich Itoh

Title; Researcher

Affiliation; Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

Phone Number; +81 3 3823 2101 Ext. 5287

4. U.S. Investigator's Name, Title, and Affiliation:

Chief: Gerald D Fischbach

Director of NINDS and chief of Section on Developmental Neurobiology

Section on Developmental Neurobiology,

National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS),

National Institutes of Health (NIH)

5. The Term of Research: From April 1st., 2001 To March 31th, 2003 (Two Years)

6. Abstract, Result and Significance of Research (300 Words):

When compared to other cells the most distinctive feature of neural cells is that each cell has its own particular electrical activity. We have examined the role of neuronal impulses and demonstrated

that synaptic plasticity may be able to be controlled by neural activity of different patterns, such as different frequencies or oscillation patterns. Activity with a specific pattern will carry information which is a history of each neural cell. Identifying the meaning of patterns of neuronal impulses is essential to understand neural plasticity in brain. The proposed research is first to clarify the roles of patterned neuronal activity to determine which type of electrical program can control what kind of phenomena in the brain. Particularly, in this study we focused on functions of neuregulin/ARIA, a neurotrophic factor in ponto-cerebellar system for analyses of patterned neuronal impulses.

To the present we have analyzed the function of neuregulin in cerebellum using recombinant neuregulin that we cloned and identified. In addition, the group of Dr. Fischbach made knock-out mice that lacked specific functional domains. We also have examined the relationship between function of neuregulin and patterns of neuronal impulses using the knock-out mice and a series of neuregulin transgenic mice as well. Sequentially, the research was extended to achieve *in vivo* analyses. As a final goal, a successful implantation of a micro-chip which has specific programs of neuronal impulses will be planned to control the organization and function of the cerebellar cortex.

7. The Others (Practical Issues, Special Mention Matters):

Nothing