慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	脳の興奮・抑制バランスを調節する分子メカニズムの解明
Sub Title	Molecular mechanisms to control brain excitation/inhibition balance
Author	山崎, 世和(Yamasaki, Tokiwa)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	脳の神経細胞をつなぐシナプスには興奮性と抑制性があり、そのバランスが適切に調節されることは脳の正常な機能に必須である。本研究では、シナプス接着分子Neuroligin（NL）に着目し、興奮・抑制バランス制御の分子機構解明を目指した研究を展開している。 NLにはNL1からNL4の遺伝子が存在し、NL1は興奮性、NL2/4は抑制性、NL3は両方のシナプスを制御することが知られているが、これらの興奮・抑制を切り替えるスイッチ機構は不明である。 申請者はこれまで、抑制性シナプス制御因子GARLHがNL2だけでなくNL3にも結合することをin vitroの実験で見出していたことから、GARLH結合がNLの抑制性スイッチであるという仮説を立てた。 2年計画の初年度ある2018年度では、GARLH-NL3結合が脳内で実際に見られるか確認するとともに、上記仮説について検証を行い、以下の結果を得た。 ・脳においてGARLH-NL3結合が存在することを確認するとともに、興奮性特異的NL1も一部、GARLHと結合していることを見出した。 ・興奮性のNL1をGARLHと強制的に結合することで、その局在が興奮性から抑制性に変化することを示した。 ・GARLH-NLの結合にはNLの膜貫通領域が必須であることを明らかにした。 これらの結果は、申請者の立てた仮説を支持するものであった。よって申請者は、膜貫通領域に変異を導入しGARLHとの結合を欠失したNL3の変異体を作成、神経初代培養細胞や脳内の神経細胞にこれらを発現させ、その局在と、興奮性・抑制性それぞれのシナプスに与える影響について、現在解析している。さらにNLの抑制性スイッチの生理的意義を明らかにするために、NL3欠損マウスへのGARLH非結合型NL3変異体を戻す実験を計画している。すでに導入したNL3欠損マウスは順調に殖えており、現在は脳に広くNL3変異体を発現させるウイルスベクターを調整している。 In the brain, neurons are connected and interact through synapses, which contains excitatory and inhibitory. The balance of them must be regulated for proper brain functions. In this study, we re investigating molecular mechanisms regulating excitatory/inhibitory balance by focusing on Neuroligin family, one of the critical synaptic adhesion protein families. NL family contains 4 genes, NL1-NL4. NL1 and NL2/4 regulate excitatory and inhibitory synapses respectively, while NL3 regulates both. However, the molecular mechanisms to switch NLs between excitatory and inhibitory are unclear. In previous study, we found that inhibitory synaptic regulatory protein, GARLH, binds with not only NL2 but also NL3 in vitro, so we hypothesized that GARLH-binding is the excitatory/inhibitory switch of NLs. In the first year of this two-year project, we confirmed GARLH-NL3 binding in the brain, and examined this hypothesis, then we've got following results. ・While we confirmed GARLH-NL3 binding in the brain, excitatory-specific NL1 also partially binds to GARLH in vivo. ・Forced binding of NL1 to GARLH alters NL1 localization from excitatory to inhibitory. ・Transmembrane domain of NL is necessary for GARLH binding. These data support our hypothesis. Therefore, we are next investigating the physiological functions of GARLH-NL binding with NL3 mutant (NL3-mut) whose binding to GARLH is disrupted. We are examining the localization of NL3-mut and its effects for excitatory and inhibitory synapses respectively using primary culture neurons. Additionally, we are planning rescue experiments with NL3-mut to NL3 KO mice. We are expanding NL3-KO colony and making viral vector for NL3-mut expression.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180362

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or

publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2018 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2019 年 4 月 5 日

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	助教（有期・医学部）	補助額	1,000 （特A）千円
	氏名	山崎 世和	氏名（英語）	Tokiwa Yamasaki		

研究課題（日本語）

脳の興奮・抑制バランスを調節する分子メカニズムの解明

研究課題（英訳）

Molecular mechanisms to control brain excitation/inhibition balance

１．研究成果実績の概要

脳の神経細胞をつなぐシナプスには興奮性と抑制性があり、そのバランスが適切に調節されることは脳の正常な機能に必須である。本研究では、シナプス接着分子 Neuroligin（NL）に着目し、興奮・抑制バランス制御の分子機構解明を目指した研究を展開している。
NL には NL1 から NL4 の遺伝子が存在し、NL1 は興奮性、NL2/4 は抑制性、NL3 は両方のシナプスを制御することが知られているが、これらの興奮・抑制を切り替えるスイッチ機構は不明である。申請者はこれまで、抑制性シナプス制御因子 GARLH が NL2 だけでなく NL3 にも結合することを in vitro の実験で見出していたことから、GARLH 結合が NL の抑制性スイッチであるという仮説を立てた。
2 年計画の初年度ある 2018 年度では、GARLH-NL3 結合が脳内で実際に見られるか確認するとともに、上記仮説について検証を行い、以下の結果を得た。
・脳において GARLH-NL3 結合が存在することを確認するとともに、興奮性特異的 NL1 も一部、GARLH と結合していることを見出した。
・興奮性の NL1 を GARLH と強制的に結合することで、その局在が興奮性から抑制性に変化することを示した。
・GARLH-NL の結合には NL の膜貫通領域が必須であることを明らかにした。
これらの結果は、申請者の立てた仮説を支持するものであった。よって申請者は、膜貫通領域に変異を導入し GARLH との結合を欠失した NL3 の変異体を作成、神経初代培養細胞や脳内の神経細胞にこれらを発現させ、その局在と、興奮性・抑制性それぞれのシナプスに与える影響について、現在解析している。さらに NL の抑制性スイッチの生理的意義を明らかにするために、NL3 欠損マウスへの GARLH 非結合型 NL3 変異体を戻す実験を計画している。すでに導入した NL3 欠損マウスは順調に殖えており、現在は脳に広く NL3 変異体を発現させるウイルスベクターを調整している。

２．研究成果実績の概要（英訳）

In the brain, neurons are connected and interact through synapses, which contains excitatory and inhibitory. The balance of them must be regulated for proper brain functions. In this study, we re investigating molecular mechanisms regulating excitatory/inhibitory balance by focusing on Neuroligin family, one of the critical synaptic adhesion protein families.
NL family contains 4 genes, NL1-NL4. NL1 and NL2/4 regulate excitatory and inhibitory synapses respectively, while NL3 regulates both. However, the molecular mechanisms to switch NLs between excitatory and inhibitory are unclear. In previous study, we found that inhibitory synaptic regulatory protein, GARLH, binds with not only NL2 but also NL3 in vitro, so we hypothesized that GARLH-binding is the excitatory/inhibitory switch of NLs. In the first year of this two-year project, we confirmed GARLH-NL3 binding in the brain, and examined this hypothesis, then we've got following results.
・While we confirmed GARLH-NL3 binding in the brain, excitatory-specific NL1 also partially binds to GARLH in vivo.
・Forced binding of NL1 to GARLH alters NL1 localization from excitatory to inhibitory.
・Transmembrane domain of NL is necessary for GARLH binding.
These data support our hypothesis. Therefore, we are next investigating the physiological functions of GARLH-NL binding with NL3 mutant (NL3-mut) whose binding to GARLH is disrupted. We are examining the localization of NL3-mut and its effects for excitatory and inhibitory synapses respectively using primary culture neurons. Additionally, we are planning rescue experiments with NL3-mut to NL3 KO mice. We are expanding NL3-KO colony and making viral vector for NL3-mut expression.

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）
Tokiwa Yamasaki	A unique approach to identify receptor interactors	Symposium on S&B International Education Program	June, 2018