

記憶学習に 安息期必要

京大チームタンパク質解明

【記者】学習に重要な働きをする脳は、神経細胞が興奮して神経伝達物質を放出し、他の神経細胞を興奮させる。この過程で、神経細胞は興奮した状態を維持し、学習の記憶を形成する。京大チームは、この過程で重要な役割を果たしているタンパク質の機能を解明した。このタンパク質は、神経細胞の興奮を抑制し、学習の記憶を形成する。このタンパク質は、神経細胞の興奮を抑制し、学習の記憶を形成する。このタンパク質は、神経細胞の興奮を抑制し、学習の記憶を形成する。

Functional uncoupling between Ca²⁺ release and afterhyperpolarization in mutant hippocampal neurons lacking junctophilins

Shigeki Moriguchi^{1*}, Miyuki Nishi^{1†*}, Shinji Komazaki¹, Hiroyuki Sakagami¹, Taisuke Miyazaki^{2*}, Haruko Masumiya³, Shin-ya Saito⁴, Masahiko Watanabe^{5*}, Hisatake Kondo⁶, Hiromu Yawo^{1†}, Kohji Fukunaga⁷, and Hiroshi Takahashi^{1††*}

¹Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Departments of ²Medical Chemistry and ³Cell Biology, Graduate School of Medicine, and ⁴Department of Developmental Biology and Neuroscience, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Sendai 980, Japan; ⁵Department of Biological Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606, Japan; ⁶Department of Anatomy, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan; and ⁷Department of Anatomy, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan

Edited by Clara Franzini-Armstrong, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA, and approved May 31, 2006 (received for review November 14, 2005)

Junctional membrane complexes (JMCs) composed of the plasma membrane and endoplasmic/sarcoplasmic reticulum seem to be a structural platform for channel cross-talk. Junctophilins (JPs) contribute to JMC formation by spanning the sarcoplasmic reticulum membrane and binding with the plasma membrane in muscle cells. In this article, we report that mutant JP double-knockout (JP-DKO) mice lacking neural JP subtypes exhibited an irregular hindlimb reflex and impaired memory. Electrophysiological experiments indicated that the activation of small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels responsible for afterhyperpolarization in hippocampal neurons requires endoplasmic reticulum Ca²⁺ release through ryanodine receptors, triggered by NMDA receptor-mediated Ca²⁺ influx. We propose that in JP-DKO neurons lacking afterhyperpolarization, the functional communications between NMDA receptors, ryanodine receptors, and small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels are disconnected because of JMC disassembly. Moreover, JP-DKO neurons showed an impaired long-term potentiation and hyperactivation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. Therefore, JPs seem to have an essential role in neural excitability fundamental to plasticity and integrated functions.

hippocampus | learning and memory | long-term potentiation | ryanodine receptor | SK channel

Functional communication between cell-surface and intracellular channels is an essential feature of excitable cells (1). During initiation of contraction in striated muscle cells, the activation of cell-surface dihydropyridine receptor (DHPRs) channels opens ryanodine receptors (RyRs) and triggers Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum via either the “Ca²⁺-induced Ca²⁺ release” or the “voltage-induced Ca²⁺ release” mechanism (2). The functional couplings between the channels take place in junctional membrane complexes (JMCs), designated as the “triad junction” in skeletal muscle, “diad” in cardiac muscle, and “peripheral coupling” in immature striated and smooth muscles (3, 4). Recent studies indicate that junctophilin (JP) subtypes, namely JP-1–JP-4, contribute to JMC formation in muscle cells (5, 6). In JP-1 knockout mice with perinatal lethality, mutant skeletal muscle shows deficiency of triad junctions and insufficient contraction probably caused by impaired communication between DHPRs and RyRs (7). In JP-2 knockout embryos showing cardiac arrest, mutant cardiac myocytes exhibit deficiency of peripheral couplings and arrhythmic Ca²⁺ signaling probably caused by functional uncoupling between DHPRs and RyRs (5). In the brain, both JP-3 and JP-4 are expressed in similar discrete neuronal sites and may collaboratively contribute to JMC formation (8, 9). However, the role of neural JP subtypes is largely unknown. Using knockout mice lacking both JP-3 and JP-4 (JP-DKO mice), we report their essential contributions to the tuning of excitability and plasticity in hippocampal pyramidal neurons.

Results
Generation of JP-DKO Mice Bearing Lethality. JP-4 knockout mice were generated by using standard gene-targeting methods, and blot analyses confirmed that the mutation introduced is a null mutation in the gene (see Fig. 6, which is published as supplemental information on the PNAS web site). The JP-4 knockout mice, showing no significant abnormalities in development, appearance and reproduction, were crossed with JP-3 knockout mice (9) to produce JP-DKO mice. Under normal housing conditions, JP-DKO mice showed severe growth retardation and lethality 3–4 weeks after birth. This lethality is caused by a feeding defect because JP-DKO mice were obviously rescued when the diet was switched from normal dry pellets to hydrated paste (Fig. 1A). This phenotype may be due to a defect in saliva secretion. The detection of normal pilocarpine-induced saliva secretion in mutant mice (K. Obara, M. Ishizuka, I. Saito, M.N., and H.L.T., unpublished observation) suggested that neural circuits controlling the salivary gland may be severely damaged in JP-DKO mice. Moreover, most of mature JP-DKO mice that survived (>90%) were infertile.

When normal mice were suspended by the tail, they struggled and kicked, and their lower limbs remained opened. By contrast, mature JP-DKO mice always crossed their legs when hung upside-down (Fig. 1B). We never detected such an irregular response in JP-3(+/-) JP-4(+/-) (JP-DHE), JP-3 knockout, or JP-4 knockout mice. This aberrant behavior, called the “foot-clasping reflex” (10), has been reported in several mutant animals bearing neurological defects.

Normal Morphology in JP-DKO Brain. In addition to having a regular brain size, mature JP-DKO mice retained normal layer organization and cell density in the cerebellum and cerebrum (see Fig. 7A, which is published as supporting information on the PNAS web site), and we found no abnormalities in basic histology and cytology in the mutant brain. Our electronmicroscopic observations also revealed no ultrastructural defects in the hippocampal and cerebellar regions from the JP-DKO brain. The normal expression of major endoplasmic reticulum (ER)-related pro-

Conflict of interest statement: No conflicts declared.
This paper was submitted directly (Track II) to the PNAS office.
Abbreviations: RyR, ryanodine receptor; JMC, junctional membrane complex; JP, junctophilin; DKO mice, double-knockout mice; ER, endoplasmic reticulum; AHP, afterhyperpolarization; SK channel, small-conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channel; NMDAR, NMDA receptor; EPSP, excitatory postsynaptic potential; APV, 2-amino-5-phosphonolvaleric acid; LTP, long-term potentiation; HFS, high-frequency stimulation; CaMKII, Ca²⁺/calmodulin protein kinase II.
*S.M. and M.N. contributed equally to this work.
†To whom correspondence should be addressed. E-mail: takahashi@pharm.kyoto-u.ac.jp.
© 2006 by The National Academy of Sciences of the USA.

京都新聞
平成 18 年 6 月 27 日 夕刊

脳神経細胞のたんばく質
記憶に重要な役割

京大教授ら
研究発表

毎日新聞
平成 18 年 6 月 27 日 夕刊

【奥野敬史】
うと話している27日、米科学アカデミー紀要「電子版」で発表された。竹島教授らが00年に発見したジャンクションフィリン(JP)。神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

竹島教授は「人ではこのタンパク質が異常にならず、認知障害を伴うハンチントン病類似疾患を引き起こすことが知られている。今回、この病気の仕組みを分子レベルで解明できた。神経細胞の過剰興奮を伴う神経疾患の治療薬開発にもつながる」と話している。

うと話している27日、米科学アカデミー紀要「電子版」で発表された。竹島教授らが00年に発見したジャンクションフィリン(JP)。神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

脳細胞つなぎ役 壊れると物忘れ

京大教授らマウスで実証



【奥野敬史】
今週、米科学アカデミー紀要「電子版」に掲載された。竹島教授ら、神経細胞のつなぎ役を担っているジャンクションフィリン(JP)が壊れると、物忘れの原因となる。竹島教授らは、マウスで実験した。ジャンクションフィリンは、神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

朝日新聞
平成 18 年 6 月 29 日 夕刊

日本経済新聞
平成 18 年 6 月 27 日 夕刊

記憶に重要な働き たんばく質を発見

京大など

【奥野敬史】
記憶に重要な働きをするたんばく質を発見した。京大などによる研究で、神経細胞のつなぎ役を担っているジャンクションフィリン(JP)が壊れると、物忘れの原因となる。竹島教授らは、マウスで実験した。ジャンクションフィリンは、神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

記憶に必須タンパク質を解明

京大教授

【奥野敬史】
記憶に重要な働きをするたんばく質を発見した。京大などによる研究で、神経細胞のつなぎ役を担っているジャンクションフィリン(JP)が壊れると、物忘れの原因となる。竹島教授らは、マウスで実験した。ジャンクションフィリンは、神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

記憶のコツは休息

脳の神経細胞 メカニズム解明

【奥野敬史】
記憶に重要な働きをするたんばく質を発見した。京大などによる研究で、神経細胞のつなぎ役を担っているジャンクションフィリン(JP)が壊れると、物忘れの原因となる。竹島教授らは、マウスで実験した。ジャンクションフィリンは、神経細胞表面の細胞膜と細胞内の小胞体膜の間にある約10ナノメートル幅の「ねじ」のような構造を「ねじ」のよう

産経新聞
平成 18 年 6 月 27 日 夕刊

読売新聞
平成 18 年 6 月 27 日 夕刊