

発達期のシナプス結合を選別するメカニズムを解明 —生後間もなくの神経細胞の「活動タイミング」が脳の発達の決め手に—

1. 発表者：

河村 吉信（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 神経生理学分野 特任研究員（研究当時）、現：広島大学医歯薬保健学研究院 神経生理学分野 特任助教）

中山 寿子（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 神経生理学分野 特任研究員（研究当時）、現：広島大学医歯薬保健学研究院 神経生理学分野 助教）

橋本 浩一（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 神経生理学分野 准教授（研究当時）、現：広島大学医歯薬保健学研究院 神経生理学分野 教授）

崎村 建司（新潟大学脳研究所 細胞神経生物学分野 教授）

喜多村和郎（東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻 神経生理学分野 准教授）

狩野 方伸（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 神経生理学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆生後発達期のマウスやラットの小脳の神経細胞において、必要な神経細胞間の接合（シナプス結合）が神経細胞の活動のタイミングに依存して選別されることを明らかにしました。
- ◆多数のシナプス入力と同時に働くことで、神経細胞の発達期に特有の‘バースト発火’を受け手側の神経細胞で起こすことを明らかにしました。
- ◆このバースト発火が神経細胞内のカルシウム濃度を上昇させ、これに最も近接したタイミングで活動した入力側の神経細胞とのシナプス結合だけを強めることを明らかにしました。

3. 発表概要：

生後発達期に脳の神経回路が形成される過程において、必要なシナプス結合の強化と、不必要なシナプス結合の除去（シナプス刈り込み）が起こり、神経回路の大規模な再編成が行われます。必要な結合の強化や不必要な結合の除去は、神経細胞の活動に依存するとされており、これまでの研究で神経細胞の活動に依存して機能するさまざまな分子がシナプス刈り込みに関わる因子として同定されていました。しかし、脳内における神経細胞のどのような活動がシナプス結合の選別に重要なのかは全く知られていませんでした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の狩野 方伸教授、喜多村 和郎准教授らのグループは、ラットおよびマウスを用いた実験から、発達期の小脳において必要なシナプス結合の強化とシナプス刈り込みに関わる神経細胞の活動パターンを同定し、シナプス結合が選別されるルールを明らかにしました。多数の弱いシナプス入力（情報を伝える側の神経細胞が発する電位・電流変化）が協働して受け手側の神経細胞に発火を引き起こし、その発火に最も寄与した入力側の神経細胞とのシナプス結合のみが強化されることが分かりました。

本研究成果は、2013年11月14日に科学雑誌「Nature Communications」のオンライン版で公開されます。

4. 発表内容：

ヒトを含む動物の脳では、生後まもなくは大人では見られない過剰なシナプス結合が形成されており、機能的にも未成熟な状態にあります。生後発達にともなって、これらの過剰なシナプス結合の中から必要なものだけが選別され、不必要なものが除去されることによって成熟

した神経回路が完成します。後者のシナプス結合が除去される過程は「シナプス刈り込み」と呼ばれ、正確な神経回路形成と正常な脳機能の発現に必須です。特に、シナプス刈り込みの異常によって、神経回路形成が不全に陥ると、社会性障害をきたす統合失調症や自閉症といった精神疾患の発症につながる可能性が指摘されています。これまでの研究から、正常なシナプス刈り込みには、神経細胞が外界からの適切な刺激によって、電氣的に活動することが必要であることが知られている一方で、どのような分子メカニズムを介してこの過程が制御されているのかについて、さまざまな分子が同定されていました。しかしながら、生後まもなくの動物の脳において、実際どのような神経細胞の活動がシナプス結合の選別とシナプス刈り込みに直接関わっているのかについては、ほとんど全くと言っていいほど知見がありませんでした。

東京大学大学院医学系研究科の狩野 方伸教授、喜多村 和郎准教授らのグループは、シナプス刈り込みの代表的なモデルである、小脳の登上線維-プルキンエ細胞間のシナプス結合の生後発達に着目しました。生後まもなくのプルキンエ細胞（注1）には多数の登上線維（注2）がシナプス結合を形成していますが、発達にともなってそのうちの一本だけが選別されて強化され、その他の登上線維が除去されることで、大人ではそれぞれのプルキンエ細胞に対して一本の登上線維だけが結合を形成しています。今回研究グループは、幼若期のラットおよびマウスの脳内において登上線維-プルキンエ細胞間で、シナプス入力（情報を伝える側の神経細胞が発する電位・電流変化）があった場合にその入力を受け取ったプルキンエ細胞で生ずる反応を直接調べることで、発達期のシナプス結合の選別に関わる神経活動を同定することに成功し、そのルールを明らかにしました。脳内におけるシナプス入力を測定するために、ホールセルパッチクランプ法（注3）という方法を用い、麻酔下の幼若期のラットおよびマウスから神経細胞の活動を記録しました。生後まもなくの動物では、多数の登上線維がプルキンエ細胞にシナプス結合を介して入力しており、一つ一つのシナプス入力ではプルキンエ細胞に発火（活動電位）を引き起こすことはできません。しかしながら、脳内においては、多数の登上線維からのシナプス入力が時間的に同期しており、プルキンエ細胞が特徴的なバースト発火（注4）を引き起こすことがわかりました。このバースト発火と登上線維入力のタイミングおよび大きさの関係が発達にともなってどのように変化するかを詳細に調べたところ、バースト発火に最も近いタイミングで入力するシナプス結合が選択的に強くなることが明らかとなりました。つまり、プルキンエ細胞を発火させることに最も貢献した入力のみが強められることを示しています

（添付資料）。これは、大脳皮質や海馬において学習・記憶の細胞メカニズムと考えられている「発火タイミング依存的シナプス可塑性（注5）」と同様のルールにしたがって、一本の登上線維のシナプス結合が選別されていることを意味しています。さらに、このバースト発火がプルキンエ細胞の細胞内カルシウム濃度を上昇させることから、細胞外からのカルシウム流入が、発火タイミング依存的な登上線維シナプス結合の選別に重要な働きを担っていると示唆されました。実際、研究グループの過去の研究によって、プルキンエ細胞で主なカルシウム流入を担っている分子である P/Q 型電位依存性カルシウムチャネルを欠損した遺伝子改変マウスでは、登上線維シナプス結合の選択的強化とシナプス刈り込みに異常があることが示されています。そこで、プルキンエ細胞特異的 P/Q カルシウムチャネル欠損マウスにおいて、プルキンエ細胞の発火と登上線維シナプス入力との関係を調べたところ、予想通り、発火タイミング依存的なシナプス結合の選別に異常があることが見出されました。

本研究で得られた結果は、発達期のシナプス結合の選別のメカニズムとして、多数の弱いシナプス入力が協働することで神経細胞の発火を引き起こし、その発火に最も寄与する入力を選択的に強化することによって、最終的に残る入力線維を選ぶことを示しています。生後発達期においては、小脳に限らず、大脳や海馬をはじめとする多くの脳領域で神経細胞の同期的活

動があることが知られており、今回研究グループが明らかにしたシナプス結合の選別のメカニズムが、ヒトを含む動物の脳の、生後発達期における神経回路形成の共通メカニズムとして働いていると期待されます。

本研究は、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラム（課題D：「社会的行動を支える脳基盤の計測・支援技術の開発」）の一環として、また、科学技術振興機構「さきがけ」、科学研究費補助金などの助成を受けて行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Communications」（2013年11月14日オンライン版）

論文タイトル：Spike timing-dependent selective strengthening of single climbing fibre inputs to Purkinje cells during cerebellar development

著者：Yoshinobu Kawamura, Hisako Nakayama, Kouichi Hashimoto, Kenji Sakimura, Kazuo Kitamura and Masanobu Kano

6. 問い合わせ先：

【本研究に関するお問い合わせ】

狩野 方伸（かのう まさのぶ）

東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻神経生理学分野 教授

Tel：03-5802-3314, 03-5841-3538

Fax：03-5802-3315

Email：mkano-tky@m.u-tokyo.ac.jp

喜多村 和郎（きたむら かずお）

東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻神経生理学分野 准教授

Tel：03-5802-3314, 03-5841-3538

Fax：03-5802-3315

Email：kkitamura@m.u-tokyo.ac.jp

【文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラムに関するお問い合わせ】

脳科学研究戦略推進プログラム事務局

担当：大塩

Tel：03-5282-5145

Fax：03-5282-5146

Email：srpbs@nips.ac.jp

7. 用語解説：

（注1）プルキンエ細胞：小脳皮質に存在する大型の神経細胞で、小脳皮質の信号を、小脳核を介して大脳、脳幹、脊髄に送り、円滑な運動を行うために重要な働きをしています。

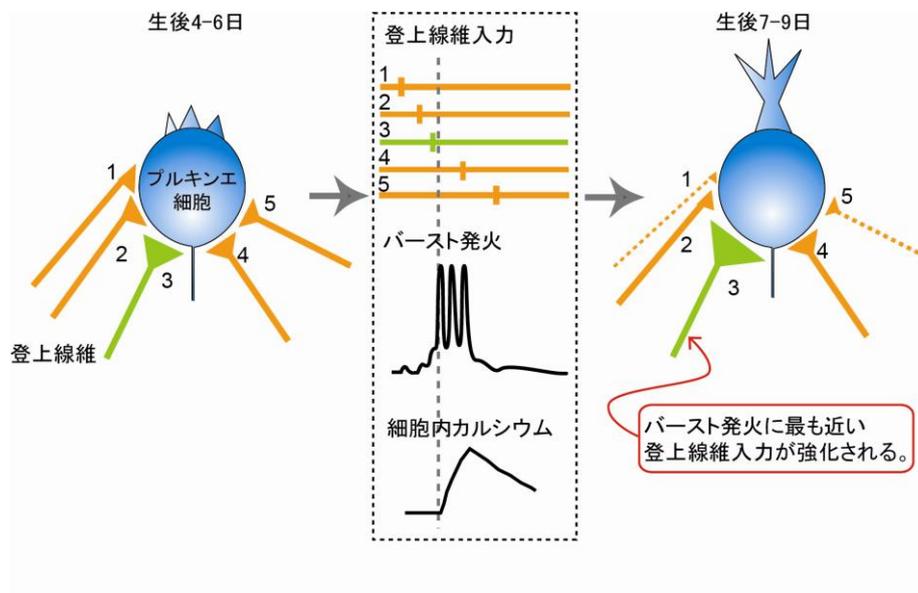
（注2）登上線維：脳幹の延髄にある神経核（下オリーブ核）から、小脳皮質のプルキンエ細胞へ情報を伝える神経細胞の軸索。大人では、ほとんどのプルキンエ細胞がわずか1本の登上線維からシナプス入力を受けています。

(注3) ホールセルパッチクランプ法：神経細胞のシナプス入力および発火活動を電氣的に計測する方法。ガラス電極を用い、細胞膜と電極を密着させることで漏れ電流を最小限にし、神経細胞が発する微弱な電位・電流変化を計測することができる方法。

(注4) バースト発火：神経細胞が短い時間間隔で高頻度に複数の活動電位を発生する状態。強いシナプス入力を受ける場合や、神経細胞そのものの性質による場合がありますが、今回観察されたものは、登上線維のシナプス入力によるものでした。

(注5) 発火タイミング依存的シナプス可塑性：入力側の前シナプス活動と受け手側の後シナプス細胞の発火のタイミングによって、シナプス結合の強度が強化されたり減弱されたりする機構。通常、前シナプス活動の直後に後シナプス発火が起こるとそのシナプス結合の強度が強化されます。

8. 添付資料：



本研究成果のまとめ

マウスやラットにおける発達期小脳のシナプス結合の選別は、登上線維入力とプルキンエ細胞の発火の間のタイミングで決まり、プルキンエ細胞のバースト発火に最も寄与した登上線維のシナプス結合のみが強化される。