

シナプス刈り込みのしくみを解明 ～シナプス結合の強さの絶対値と相対値の両方が重要～

1. 発表者：

川田 慎也（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：大阪府立精神医療センター 医師）
宮崎 太輔（北海道大学大学院医学研究科 解剖学講座 解剖発生学分野 助教）
山崎 真弥（新潟大学脳研究所 細胞神経生物学分野 助教）
三國 貴康（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：マックスプランク・フロリダ研究所 研究員）
山崎 美和子（北海道大学大学院医学研究科 解剖学講座 解剖発生学分野 講師）
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）
渡辺 雅彦（北海道大学大学院 医学研究科 解剖学講座 解剖発生学分野 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）
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の小脳の神経細胞においてシナプス結合の強さが全般的に減弱している遺伝子改変マウスを作製しました。
- ◆シナプス結合の強さの全般的な減弱はシナプス刈り込みの早期過程には影響を与えず、後期過程のみ障害することが分かりました。
- ◆シナプス結合の強さの全般的な減弱は細胞内でのカルシウムシグナル及び最初期遺伝子 *Arc* の発現に影響を与えシナプス刈り込みを障害していることが分かりました。

3. 発表概要：

記憶・学習・情動・運動などの高次機能が正常に働くためには生後発達期の神経回路形成が重要であると言われていています。生後間もなく神経細胞同士の結合部位であるシナプスが過剰に形成され、その後必要なものだけが選別される“シナプス刈り込み”と呼ばれる現象が起こることが知られています。シナプス刈り込みは神経系のさまざまな領域で起こる現象であり、神経回路形成の根幹をなしていると考えられています。また、シナプス刈り込みの異常は統合失調症や自閉スペクトラム症といった精神疾患の引き金になるとも考えられており、そのメカニズムの解明は臨床的にも重要です。

刈り込まれるシナプスの選別に重要なのはシナプス結合の強さで、より強いシナプス結合を持つシナプスは生き残り、弱いシナプス結合を持つシナプスが刈り込まれるとされています。しかし、強いシナプス結合と弱いシナプス結合の「相対的な」差が重要なのか、それとも、生き残るシナプスにはある程度のシナプス結合の「絶対的な」強さが重要なのか、これまで明らかではありませんでした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の狩野 方伸教授らのグループは、小脳において、シナプス結合の絶対的な強さが半分程度に弱くなったが、強いシナプス結合と弱いシナプス結合の相対的な強さの差は正常と変わらない遺伝子改変マウスを作製し、シナプス刈り込みを調べました。その結果、このマウスではシナプス刈り込みが生後 11 日目までは正常に起こりますが、その後刈

り込みが進まなくなることを明らかにしました。つまり、生後 12 日までの刈り込みには強いシナプス結合と弱いシナプス結合の相対的な差が、生後 12 日以降の刈り込みには強いシナプス結合と弱いシナプス結合の相対的な差だけでなくシナプス結合の絶対的な強さが重要であることを明らかにしました。

本研究成果は、2014 年 8 月 7 日に科学雑誌「Cell Reports」のオンライン版で公開されます。

なお、本研究は、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラムの一環として、また科学研究費補助金などの助成を受けて行われました。

4. 発表内容：

①研究の背景・先行研究における問題点

生後の発達過程において、「シナプス刈り込み」と呼ばれる現象が大人の機能的な神経回路を作り上げるために重要とされています。生まれたばかりの動物の神経系には過剰なシナプスが形成されていますが、その後の発達に伴って必要なものだけが選別され、不必要なものが除去され、環境に適応した神経回路が出来上がります。この過程に異常があると本来であれば除去されるべきシナプスが残存したり、必要以上に除去されてしまったりして、神経回路として十分に機能を果たせなくなります。統合失調症や自閉スペクトラム症といった精神疾患では、シナプス密度の異常が指摘されており、シナプス刈り込みの異常がこれらの疾患の一因を担っている可能性が指摘されています。これまでの研究からより強いシナプス結合を持つシナプスが生き残り、弱い結合のものは刈り込まれるということは知られています。しかし一方で複数のシナプスの間で結合の強さに相対的な差があれば、個々のシナプス結合の絶対的な強さが上下してもシナプス刈り込みが進行するか否かは知られていませんでした。

この問題はシナプス結合の強さを調節するメカニズムと神経回路発達に関連という点からも重要です。なぜならシナプス結合の相対的な強度差は、より活動が高いシナプス結合のみが強められる”Hebbian plasticity”（注 1）によって生じ、このシナプス可塑性が神経回路発達へ関与することが知られているのに対し、個々のシナプス結合の絶対的な強度を神経細胞全体で上下させて調節する”Homeostatic plasticity”（注 2）の神経回路発達への関与についてはほとんど知られていないからです。

②研究内容（具体的な手法など詳細）

今回、東京大学大学院医学系研究科の狩野 方伸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の生後発達に着目しました。生後間もない動物のプルキンエ細胞（注 3）には多数の登上線維（注 4）がシナプス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くなり、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強い登上線維だけがシナプスを作るようになります。今回研究グループは、登上線維の除去（シナプス刈り込み）が進行する生後発達期において、小脳の登上線維-プルキンエ細胞間のシナプス結合の絶対的な強さが半分程度に弱くなった一方で、強いシナプス結合と弱いシナプス結合の相対的な強さの差は正常なままの遺伝子改変マウスを作製しました。この遺伝子改変マウスでは、シナプス後部で神経伝達物質を受け取る蛋白質の量を制御している TARP γ -2 という分子をプルキンエ細胞で欠いています。この遺伝子改変マウスにおいて、電気生理学的及び形態学的手法を用いて、登上線維-プルキンエ細胞間に作られるシナプスの生後発達を調べました。幼若期のマウスの小脳を 0.3 mm くらいの厚さのスライスにしてリンゲル液の中で神経細胞を生かしておき、ホール

セルパッチクランプ法（注5）という方法でプルキンエ細胞の活動を記録し、シナプスを形成している登上線維を電気刺激することで、記録しているプルキンエ細胞に何本の登上線維がシナプスを作っているかを調べました。その結果、遺伝子改変マウスでは、生後7-11日目には過剰な登上線維のシナプスの刈り込みが正常に進行したのに対して、それ以降の生後12-16日目では刈り込みが障害されていて、結果として過剰な登上線維のシナプスが残存したままの状態で成体となることが分かりました。また、野生型マウスではプルキンエ細胞の樹状突起が発達するのに伴って登上線維のシナプスの分布は細胞樹状突起に沿って伸展していくのですが、遺伝子改変マウスではこの進展の度合いが十分ではありませんでした。これらの結果から、生後7-11日目に起こるシナプス刈り込みの前期過程と登上線維のプルキンエ細胞樹状突起への伸展には、強いシナプス結合と弱いシナプス結合の相対的な強さの差が重要であるのに対して、生後12-16日目に起こる後期過程においては、相対的な結合の強さの差だけでなく、個々のシナプス結合の絶対的な強さが重要であることが明らかとなりました。さらに、シナプス結合の強さが減弱しているために、登上線維からのシナプス伝達の結果としてプルキンエ細胞に流れ込むカルシウムが減少し、そしてカルシウムによって駆動される最初期遺伝子（注6）*Arc*の活性化が不十分なことが、シナプス刈り込みの後期過程の異常を引き起こしていることを明らかにしました。

③本研究の意義・今後の予定 など

本研究の成果は、シナプス刈り込みにおいてシナプス結合の相対的な強度差だけでなく個々のシナプス結合がもつ絶対的な強度差が重要であることを示しました。すなわち **Hebbian plasticity** と **Homeostatic plasticity** という 2 種類のシナプス可塑性が生後発達期のシナプス刈り込みの異なった時期に寄与することを示唆しています。シナプス刈り込みは神経系のあらゆる領域の回路発達に重要な現象であり、本研究の成果は小脳だけでなく大脳皮質・海馬・線条体などにも展開でき、精神疾患の原因究明において新たな方向性を示すものと期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Cell Reports」（2014年8月7日オンライン版）」

論文タイトル：Global scaling down of excitatory postsynaptic responses in cerebellar Purkinje cells impairs developmental synapse elimination

著者：Shinya Kawata, Taisuke Miyazaki, Maya Yamazaki, Takayasu Mikuni, Miwako Yamasaki, Kouichi Hashimoto, Masahiko Watanabe, Kenji Sakimura, 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

7. 用語解説：

(注1) **Hebbian plasticity**：シナプス可塑性の一種。長期増強や長期抑圧など、シナプスの活動のパターンに応じて、活動したシナプスのみに起こるシナプス結合の強度の長期的な変化のこと。

(注2) **Homeostatic plasticity**：シナプス可塑性の一種。神経細胞の興奮性の変化に応じてそれを打ち消す方向に神経細胞全体で起こるシナプス結合の強度変化のこと。

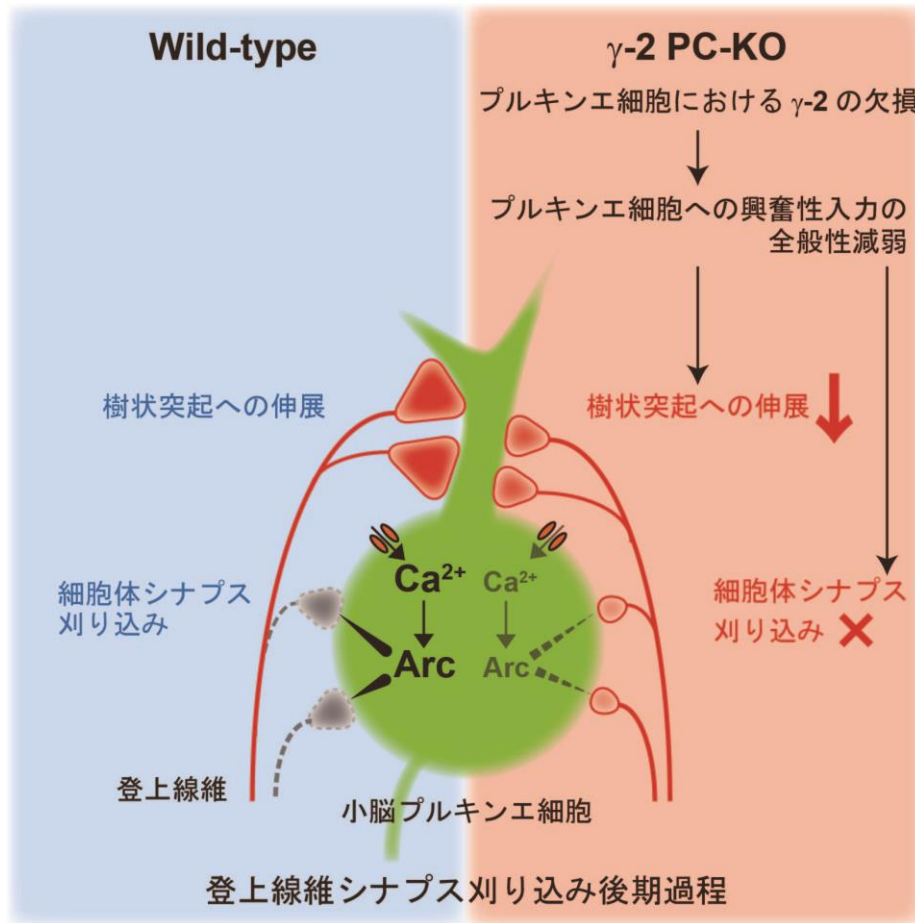
(注3) **プルキンエ細胞**：小脳皮質に存在する大型の神経細胞で、特に樹状突起が発達しているのが特徴です。小脳皮質の信号を、小脳核を介して大脳、脳幹、脊髄に送り、円滑な運動を行うために重要な働きをしています。

(注4) **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5) **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6) **最初期遺伝子**：細胞が種々の刺激を受けると一過性に誘導される遺伝子があり、その中でも極めて早期に誘導される遺伝子群を最初期遺伝子 (**immediate early gene**) と呼びます。

8. 添付資料：



図：図内左の「Wild-type」は通常のマウスのシナプス刈り込みのメカニズムを、図内右の「 γ -2 PC KO」は神経伝達物質を受け取る蛋白質の量を制御している $TARP_{\gamma-2}$ という分子をプルキンエ細胞で欠く遺伝子改変マウスの刈り込みのメカニズムを模式的に表したものです。 γ -2 PC KOでは、プルキンエ細胞への興奮性入力の強さが細胞全体で減弱しており、つまりシナプス結合の絶対的な強さが弱くなっています。その結果として、登上線維シナプスの分布の樹状突起への進展の度合いが弱くなり、生後 12 日から 16 日目に起こるべきであるプルキンエ細胞の細胞体からのシナプス刈り込みが障害されていました。その原因は、プルキンエ細胞に流れ込むカルシウムが減少し、そしてカルシウムによって駆動される *Arc* の活性化が不十分であることでした。