

発達期小脳における自発神経活動の成熟過程を解明

1. 発表者：

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、
国際高等研究所ニューロインテリジェンス国際研究機構（WPI-IRCN）
副拠点長）

2. 発表のポイント：

- ◆生まれたばかりの動物の小脳において、多くのプルキンエ細胞（注1）の自発的神経活動が同期していることが明らかになりました。
- ◆プルキンエ細胞の自発活動の同期は発達が進むにつれて次第に減少することを発見し、この過程がプルキンエ細胞に入力する登上線維（注2）の配線と活動パターンの変化によるものであることを明らかにしました。
- ◆これまで知られていなかった幼若期における自発的神経活動パターンの成熟過程を明らかにしたことで、生後発達期の活動依存的な機能的神経回路形成メカニズムの解明に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

生後間もない脳には過剰な神経結合（シナプス）が存在しますが、発達の過程で必要なシナプスが強化されて残るとともに不要なシナプスは除去されて、機能的な神経回路が完成します。この過程は「シナプス刈り込み」と呼ばれ、機能的な神経回路が出来上がるために不可欠です。これまでの研究からシナプス刈り込みは神経活動に依存して進むと考えられていますが、生後発達期にどのようなパターンの神経活動が生じているのか、またそれがシナプス刈り込みとどのような関係にあるのかは不明でした。

今回、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のジャンマルク グッド 研究員（研究当時）と狩野方伸教授の研究グループは、山梨大学大学院総合研究部医学域神経生理学の喜多村和郎教授らの研究グループと共同で、発達期の小脳における自発的な神経活動の成熟過程とシナプス刈り込みの関係を明らかにしました。

本研究グループは、発達期のシナプス刈り込み過程の詳細な解析が進んでいるマウス小脳の登上線維とプルキンエ細胞に着目しました。生後間もないマウスにおいては、プルキンエ細胞同士の自発活動が高い同期性を示し、その同期性は発達が進むにつれて減少することを明らかにしました。さらに、この同期性の減少がシナプス刈り込みによる登上線維の配線の変化と登上線維の活動パターンの変化の両方によって起こっていることが明らかになりました（「本研究成果のまとめ」の図を参照）。

本研究成果は、11月22日（水）午前2時（米国東部標準時間11月21日（火）正午）に「Cell Reports」オンライン版に掲載されました。

本研究は、科学研究費補助金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

正常な脳では、神経細胞が適切な相手と適切な数と強さの結合（シナプス）を作り、機能的な神経回路が作られています。このような機能的神経回路は、生まれた時に完成しているのではなく、生後の発達過程において必要なシナプスが残り不要なシナプスが除去される「シナプス刈り込み」と呼ばれる過程を経て完成します。発達の特定の時期に起こるシナプス刈り込みの異常が神経回路の発達異常を引き起こし、自閉スペクトラム症などの発達障害の原因となる可能性が指摘されています。シナプス刈り込みには、生後発達期における自発的な脳活動や経験に依存して起こる神経活動が不可欠であるとされています。特に生まれたばかりの発達初期では、体の感覚器や運動器が未熟であるために、脳の自発的な活動がシナプス刈り込みの過程すなわち脳の発達に重要な役割を果たしていると考えられます。このことから、これまで脳のさまざまな部位で発達期における自発活動の変化が調べられてきました。しかし、発達期の自発活動の変化がどのようなメカニズムによって起こり、それがシナプス刈り込みや神経回路形成とどのような関係にあるのかは、まだ完全には理解されていません。

②研究内容

本研究では、発表者のグループのこれまでの研究によって、シナプス刈り込みの過程が詳細に解析されているマウス小脳の登上線維とプルキンエ細胞に着目しました。生まれたばかりのマウスのプルキンエ細胞には、ほぼ同じ強さの信号を伝える5本以上の登上線維がプルキンエ細胞に結合していますが、生後1週間ほどで、1本の登上線維のみが強い信号をプルキンエ細胞に伝えられるようになり（“勝者”の登上線維）、その後、これ以外の弱い信号を伝える登上線維（“敗者”の登上線維）は除去されて、成熟した動物のプルキンエ細胞は、1本の勝者の登上線維からのみシナプスを受けるようになります。一方、1本の登上線維は生直後は近傍の複数のプルキンエ細胞に弱く結合していますが、勝者が決まる時期には1つのプルキンエ細胞だけに強く結合するようになります。このようにシナプス刈り込みの過程が良く分かっている細胞において、自発活動の成熟過程を調べれば両者の関係が明らかになることが期待されます。

研究グループはまず、発達期小脳におけるプルキンエ細胞の自発活動の変化を明らかにするために、生きた動物の脳の中で神経細胞を観察できる2光子励起顕微鏡（注3）を用いて、生直後からさまざまな発達時期におけるマウスの小脳でプルキンエ細胞の自発活動を観察しました。その結果、生まれたばかりのマウス小脳では、プルキンエ細胞同士の活動が高い確率で同時に起こること、すなわち高い同期性を示すことがわかりました。そして、発達に伴ってその同期性が次第に減少していくことが明らかになりました。同期性が減少する時間経過を詳しく調べたところ、生後1週間で成熟動物とほぼ同じ同期性になることが分かり、プルキンエ細胞に結合する登上線維のうち1本が強化される過程の時間経過とほぼ同じであることが明らかとなりました（「本研究成果のまとめ」の図を参照）。

登上線維の強化と配線の変化がプルキンエ細胞の自発活動の変化の直接の原因なのかという疑問を明らかにするため、研究グループは次に、シナプス刈り込みに異常があるノックアウトマウスを用いて同じ実験を行いました。研究グループのこれまでの研究で、1本の登上線維が強化される過程が障害されることが分かっている電位依存性カルシウムチャネルの遺伝子をプルキンエ細胞でノックアウトしたマウスでは、野生型マウスでプルキンエ細胞の自発活動の同期性が減少する生後9日目においても同期性の減少が不完全で、形態学的な解析からも余分な配線が残っていることがわかりました。また、生後2週目以降に余分な登上線維シナプスが形

成されるグルタミン酸受容体デルタ2のノックアウトマウスでは、生後8日目の自発活動は正常でしたが、生後14日目の自発活動は野生型と比べて同期が高くなっていました。これらの結果から、生後発達初期の自発活動の高い同期性とその発達に伴う減少は、登上線維の配線のパターンとシナプス結合の強化にその原因があることが強く示唆されました（「本研究成果のまとめ」の図を参照）。

一方、登上線維の活動自体は発達過程で変化しないのかを明らかにするために、研究グループは次に、登上線維の自発活動を2光子励起顕微鏡で直接観察したところ、プルキンエ細胞の自発活動と同様に、生直後は同期性の高い状態にありましたが、生後1週を過ぎるとプルキンエ細胞の同期性と同等レベルに減少しました。すなわち、登上線維自体の活動も、生後発達の過程で同期性の高い状態から低い状態に変化することがわかりました（「本研究成果のまとめ」の図を参照）。これらの結果から、生後発達期の小脳におけるプルキンエ細胞の自発活動パターンは、登上線維の配線つまりシナプス刈り込みと活動パターンの両方によって決まっていることが明らかとなりました。

③研究の意義と今後の予定

これまでさまざまな脳部位において、脳の自発活動の発達過程に伴う変化が調べられてきました。大脳においても、生直後の自発活動の高い同期とその発達に伴う非同期化が報告されています。しかし、神経回路が非常に複雑で、発達期のシナプス刈り込み過程がよく分かっていないため、神経回路形成と自発活動の関係は明らかではありません。今回、小脳においても同様の自発活動の発達変化が観察され、その原因がシナプス強化と刈り込みの過程と直接関係していることが明らかとなったことから、他の脳部位においても類似のメカニズムが働いていることが期待されます。今回の研究では、自発活動とシナプス刈り込みの関係について明らかにしましたが、今後、感覚入力や運動など経験に依存した神経活動が神経回路形成に果たす役割についても調べる必要があります。また、最近の自閉スペクトラム症モデルマウスを用いた研究では、発達期の小脳の活動が大脳の活動を調節することで大脳回路の正常な発達を促すことが示唆されており、小脳のみならず大脳や他の脳部位との関係について研究をすすめることで、脳全体の機能的発達が神経回路レベルで解明されることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Cell Reports」（米国東部標準時間2017年11月21日オンライン版）

論文タイトル：Maturation of cerebellar Purkinje cell population activity during postnatal refinement of climbing fiber network

著者：Jean-Marc Good, Michael Mahoney, Taisuke Miyazaki, Kenji F. Tanaka, Kenji Sakimura, Masahiko Watanabe, Kazuo Kitamura, Masanobu Kano

DOI 番号：10.1016/j.celrep.2017.10.101

6. 問い合わせ先：

<研究内容に関すること>

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 狩野 方伸 (かのう まさのぶ)

TEL : 03-5841-3538 FAX : 03-5802-3315

Email : mkano-tky@m.u-tokyo.ac.jp

<広報に関すること>

東京大学医学部総務係

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL : 03-5841-3303 FAX : 03-5841-8585

Email:ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

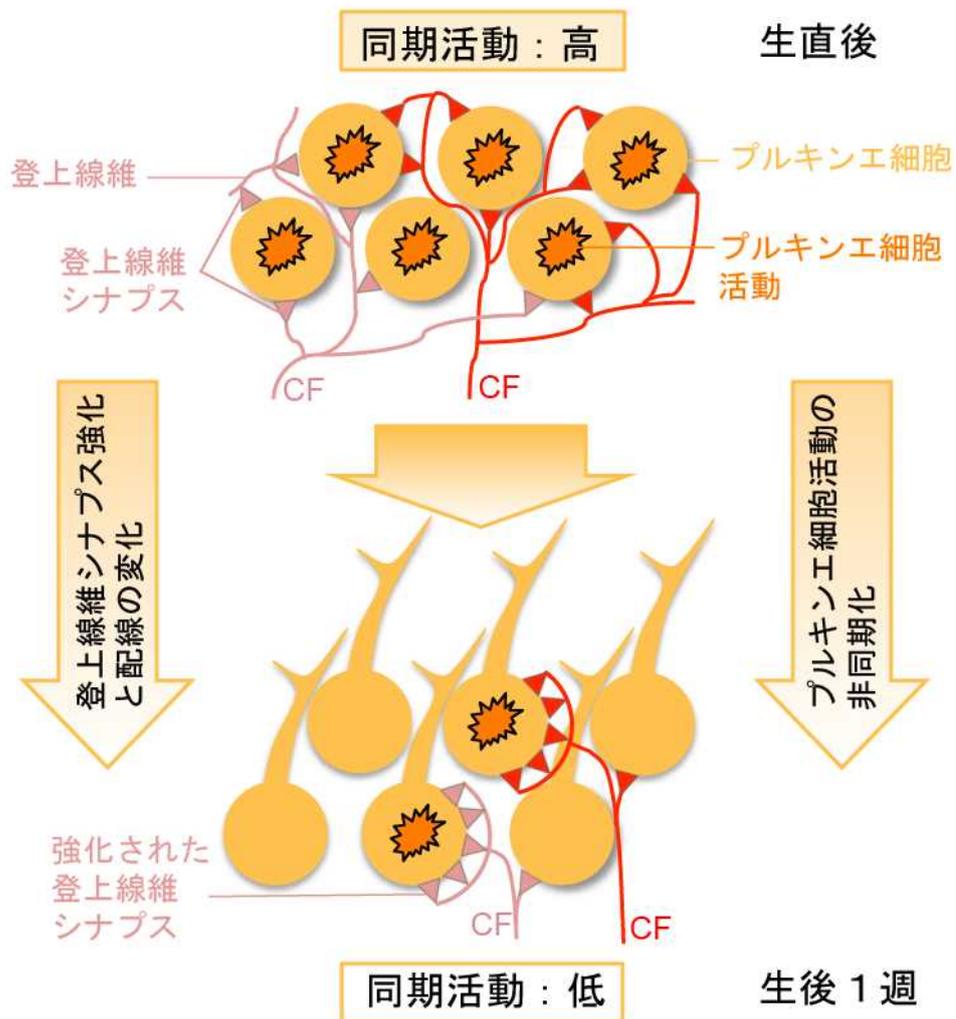
7. 用語解説：

(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入力線維。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を受けています。

(注3) 2光子励起顕微鏡：パルスレーザーを光源とするレーザー顕微鏡。一般的な光学顕微鏡では観察できない生体組織の内部を観察することができるため、生きた動物の脳における神経細胞の観察などによく用いられています。

8. 添付資料：



本研究成果のまとめ

生後まもない小脳においてプルキンエ細胞の自発活動は高い同期を示すが、生後1週目で成体と同程度まで低下する。この過程は、登上線維のシナプス強化・配線の変化と登上線維の活動パターンの変化の両方によって起こる。