

## シナプス可塑性の最初の数分間でアクチン線維は再編される ～細胞内の微小空間でおこる分子動態を解読する新しい技術～

### 1. 発表者：

小橋 一喜（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 神経細胞生物学分野  
特任研究員）

井上 康博（京都大学大学院工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻 教授）

岡部 繁男（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 神経細胞生物学分野 教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆スパイン内部の微小空間での分子動態を読み出す新技術により、情報伝達分子の様な大きな分子が選択的にアクチン線維により動きが制限されていることがわかりました。
- ◆シナプス可塑性の誘導直後にアクチン線維の再編と情報伝達分子の分布変化を通じてシナプスの機能変化が惹起されるという新しい分子機構を提案しました。
- ◆従来の技術ではスパイン内での分子の動きは直接測定が不可能でしたが、今回の新技術により記憶学習の基礎となるスパイン内分子動態の研究の加速が期待されます。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科の小橋一喜特任研究員、岡部繁男教授、京都大学工学研究科の井上康博教授らの研究グループは、細胞内の分子動態を読み出す技術である蛍光相関分光法（FCS、注1）、ラスタ走査画像相関分光法（RICS、注2）と二光子励起（注3）の技術を組み合わせて、細胞内の微小体積からの分子動態情報を読み出す手法を開発しました。この手法により神経細胞の樹状突起スパイン（スパイン、注4）内での分子の動きを測定することが可能になりました。スパインは記憶・学習の基盤とされているシナプス可塑性（注5）によってその性質が変化します。それに伴ってスパイン内部でアクチン線維が変化し、分子の動きも変化すると考えられてきましたが、直接的な測定は不可能でした。新技術によりスパイン内の分子動態を直接測定した所、大きな分子に限ってスパイン内での動きがアクチン線維によって抑制されていること、更にシナプス可塑性誘発直後の数分間だけ抑制が解除されることがわかりました。分子量の大きな複数の情報伝達分子でこのような抑制の解除が観察され、この現象はシナプス可塑性に伴う情報伝達分子の分布の変化にも関与していました。以上の結果は、非常に短時間だけ分子の動きが変化することが、記憶学習の基盤となるシナプス可塑性に重要な役割を持つという新しい可能性を提案するものです。

### 4. 発表内容：

スパインは神経細胞のつなぎ目であるシナプスの一部であり、軸索末端から放出される神経伝達物質を検出する神経伝達物質受容体はこのスパインの膜表面に集積しています。スパインはそのサイズが数ミクロン以下の微小構造であり、樹状突起の幹（シャフト）から伸び出しています。スパインの内部にはアクチン線維が多く含まれる特殊な細胞質が存在していますが、この細胞質の性質については不明の点が多く残されています。これまではスパイン内部の分子の動きを測定するには、蛍光消退法と呼ばれる手法が使われてきました。スパイン内部の蛍光分子に強いレーザー光を当てて蛍光を消退させ、その後の蛍光シグナルの強度を測定することで分子の動きを測定するのが蛍光消退法の原理ですが、この手法で測定できるのはスパインに

樹状突起のシャフトから出入りする分子の速度であり、スパイン内部の分子動態を直接測定することは出来ません。今回、FCS、RICS という蛍光分子の動きを微小体積内で測定する手法と、二光子励起による蛍光分子の活性化を組み合わせた測定手法を開発し、スパイン内部の分子の動きを直接測定することに成功しました（図1）。

FCS、RICS によりスパイン内部の分子の動きを直接測定した所、GFP の様な分子量の小さな分子の動態は樹状突起シャフトでもスパインでも同じでしたが、分子量が 10 万を超える分子の場合には、スパイン内での分子の動きが特異的に抑制されていました。アクチン線維の脱重合によりこの動態の抑制は解除されたことから、大きな分子の動きがアクチン線維により制限されていることがわかりました。スパイン内部でのアクチン線維の密度を実験的に推定し、更にアクチン線維を想定した物理障壁が存在する状態での分子動態のモデルを作成することで、分子のサイズに応じた動きの制限が生じるかどうかを調べた所、実験的に検証した分子サイズの範囲内で動態の制御が起こり得ることが確認されました。更にシナプス可塑性を誘導した場合には、可塑性誘導の刺激を加えた直後の数分間だけ、スパイン内での大きな分子の動きが促進されることがわかりました（図2）。この動態の促進は、シナプス可塑性に伴うスパインのサイズの増大に関与することが知られている、低分子量 G 蛋白質の制御分子である Tiam1（注6）でも観察され、その分子動態の抑制の解除にはアクチン線維の再編の制御が必要でした。更に Tiam1 分子はシナプス可塑性の誘導によってそのスパイン内での分布が変化することから、一過性に分子の動態抑制が解除されることで分子の分布が変化し、その後の可塑性に伴うシナプス機能が長期的に変化する、という分子機構が存在することが示唆されました。

これまでスパインの様な微小な体積の内部での分子動態の測定は技術的に困難で、正確な測定がなされていませんでしたが、今回の研究により、スパイン内部での分子動態を直接的に測定するための方法論が確立されました。単純な分子サイズの違いに応じて、スパイン内部と樹状突起のシャフトで分子の動きが異なることが初めて明らかになり、スパインに特有の分子間相互作用が存在する可能性を示しました。更にこの分子の動きの違いを生み出している要因がアクチン線維であり、シナプスの長期的な変化を誘導するための刺激が加わると、極めて短時間だけアクチンによる分子の動きの制限が解除される、という結果は、分子の単純に物理的な性質の違いによってシナプス可塑性が制御される、という新しい可能性を示唆しています。スパインにおいて機能するリン酸化酵素などの情報伝達分子には分子量の大きなものが多く、その理由の一つとしてアクチンの再配置による制御を受けやすくする、という要因があるのかもしれない。微小体積の中での分子の拡散による情報伝達の制御という現象は、神経細胞以外の細胞においても利用されている機能制御メカニズムである可能性があり、今後の研究の発展が期待されます。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Cell Reports*」4月30日オンライン版（米国東部夏時間）

論文タイトル：Precise temporal regulation of molecular diffusion within dendritic spines by actin polymers during structural plasticity

著者：Kazuki Obashi, Atsushi Matsuda, Yasuhiro Inoue, and Shigeo Okabe\*

DOI 番号：10.1016/j.celrep.2019.04.006.

アブストラクト URL：[https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(19\)30461-9](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(19)30461-9)

## 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 分子細胞生物学専攻 神経細胞生物学分野  
教授 岡部 繁男 (おかべ しげお)

TEL : 03-5841-1928

Email : okabe@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) 蛍光相関分光法(FCS) :

蛍光物質の動きを定量するための光学的手法で、レーザー光の集光部位からの蛍光シグナルを高い時間分解能で定量し、そのゆらぎを測定する。ゆらぎの時間的自己相関を計算し、モデルにフィットすることで分子運動や分子密度の推定を行う。この手法により細胞内での分子運動を非侵襲的に測定することが可能である。

(注2) ラスター走査画像相関分光法(RICS) :

レーザー走査型顕微鏡のスキャン機能を利用して、レーザー光を標本内の微小空間内でラスタ一走査し、走査中に測定された蛍光シグナル強度のゆらぎについて空間相関解析を行う手法である。FCSと同様に蛍光分子の動態に関する情報が得られ、かつ空間的な位置変化との相関についての情報を得ることもできる。ラスタ一走査のX軸方向の相関解析から速い拡散についての情報が得られ、Y軸方向の相関解析から遅い拡散についての情報が得られる。

(注3) 二光子励起 :

蛍光分子の励起は通常は一つの光子が分子と相互作用することによって起こるが、局所の光子密度が高い場合には二つの光子が同時に分子と相互作用して分子励起が引き起こされる。この現象を二光子励起と呼ぶ。非常に高い光子密度が達成されるのは対物レンズの焦点の近傍に限定されるため、局所励起が実現され、FCSの測定の際の蛍光分子励起に利用することもできる。

(注4) 樹状突起スパイン (スパイン) :

神経細胞同士が情報をやりとりする場所をシナプスと呼び、情報を送り出す側をシナプス前部、受け取る側をシナプス後部と呼ぶ。多くの場合にシナプス前部は軸索と呼ばれる神経の突起に形成され、シナプス後部は樹状突起と呼ばれる突起に形成される。特に大脳皮質や海馬においては樹状突起に形成されるシナプス後部は数ミクロン程度の小さな「とげ」の上に作られる場合が多く、この小さなとげのことを樹状突起スパイン (スパイン) と呼ぶ。スパインはさまざまな大きさや形状を持ち、神経回路の活動に応じてその形を変化させる。さらに精神疾患や発達障害などの脳の疾患においてスパインの数、密度、大きさなどが変化するとされており、これらの疾患の原因にスパインの機能障害が存在するという仮説も提唱されている。

(注5) シナプス可塑性：

シナプスを介しての情報のやり取りは、それぞれのシナプスの活動に応じて長期的に増強されたり（長期増強）、減弱されたり（長期減弱）することが知られている。シナプス結合がシナプスの活動に応じてその強弱を調節されることが、神経回路の中に情報を蓄える上で重要であり、記憶や学習などを脳が制御する際にもシナプス可塑性が用いられる。シナプスが強くなる長期増強の際にはスパインの形が大きくなり、逆にシナプスが弱くなる長期減弱の際にはスパインの形も小さくなる。長期増強により大きくなったスパインは機械的にも安定化され、スパインが長期間安定して維持されることにも関係していると考えられている。

(注6) Tiam1：

**T-cell lymphoma invasion and metastasis-inducing protein 1** の略称であり、生化学的にはグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）に分類され、低分子量 GTPase を GDP 型から GTP 型に変換することで活性化する機能を持つ。特に Tiam1 は移動する細胞の先端端の膜に局在して Rho ファミリー低分子量 GTPase の一つである Rac1 を活性化することが知られており、神経細胞でも同様に Rac1 の活性を制御することでシナプス可能性に伴うスパイン形態の増大を正に制御していると考えられている。

8. 添付資料：

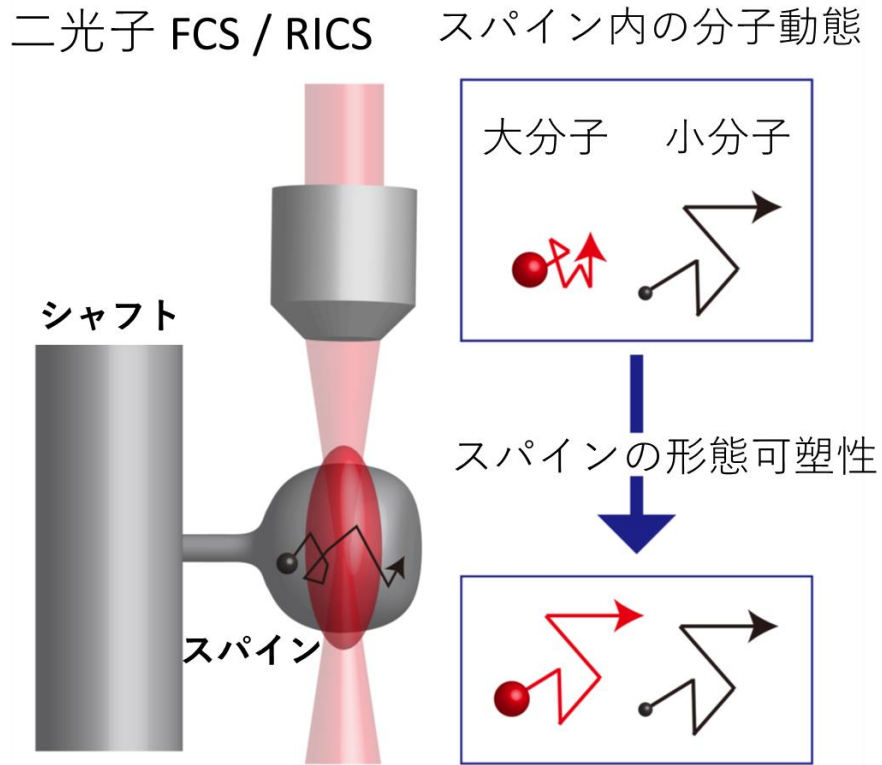


図1

二光子励起による FCS/RICS により、スパイン内部での分子の動きを定量化することが可能になった（左図）。スパイン内での分子動態の測定から、可塑性の誘導によりスパイン内部の大きな分子（左側の大きな丸）の動きが特異的に増大し、その後の分子局在の変化につながる事が明らかとなった。

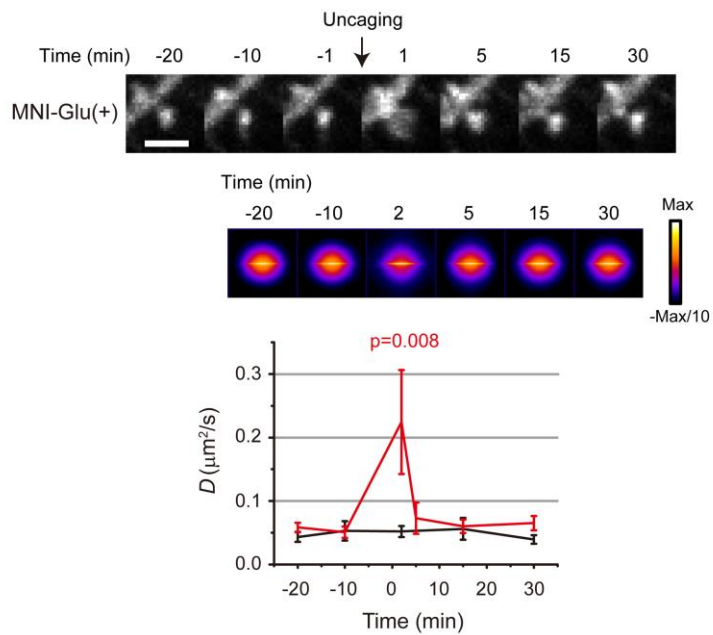


図 2

二光子励起による RICS をスパイン可塑性の誘導(uncaging)の前後で行い、大きな分子量の蛍光プローブの分子動態の時間的变化を測定した。上段がスパインの蛍光イメージ。可塑性誘導の直後にスパイン形態が大きく変化している (1 min)。中間の段は RICS の空間相関画像。可塑性誘導 2 分後に特異的に分子拡散速度の上昇が観察される。下段は RICS のデータから推定した拡散係数(D)をプロットしたもの。2 分後の時点で特異的に拡散係数が上昇していることがわかる。