

2007 年度シナプス研究会
『シナプスの形成と成熟の分子機序』

[日時] 2007年12月6(木)午後1時~7日(金)午前12時30分
[場所] 自然科学研究機構 生理学研究所(愛知県岡崎市) 1階会議室
[当番世話人] 竹居光太郎(横浜市大院・医・分子薬理)

[プログラム]

12月6日

13:00~15:30 セッション1: シナプス分子集積の可視化

座長: 能瀬 聡直(東大院・新領域創成科学・複雑理工)

- 1) 本蔵 直樹(東大・医・疾患生命工学センター)
「樹状突起スパインの形態と可塑性を担うアクチン線維構築」
- 2) 高坂 洋史(東大院・理・物理)
「細胞接着を介したシナプス誘導過程の生体内可視化」
- 3) 深澤 有吾(生理研・脳形態解析)
「イオンチャンネル型神経伝達物質受容体のシナプス上分布」

15:30~15:50 休憩(コーヒーブレイク)

15:50~18:20 セッション2: シナプス可塑性のシステムズバイオロジー

座長: 作村 諭一(奈良先端科技院大・情報科学)

- 1) 土居 智和(大阪バイオサイエンス研・システムズ生物学)
「小脳シナプス可塑性におけるシグナル伝達の計算機シミュレーション」
- 2) 浦久保 秀俊(東大院・理・生物化学)
「スパイクタイミング依存シナプス可塑性のタイミング検知メカニズム」
- 3) 作村 諭一(奈良先端科技院大・情報科学)
「シグナル伝達の拡散と局所性を利用したシナプス可塑性」

18:30~20:30 ポスター発表 & 懇親会 (@ 5階談話室)

12月7日

9:00~11:30 セッション3: AMPA受容体のトラフィックと神経可塑性

座長: 高橋 琢哉(横浜市大院・医・生理)

- 1) 林 崇(ジョーンズホプキンス大・医・神経科学)
「イオンチャンネル型グルタミン酸受容体と会合分子群のパルミトイル化による制御」
- 2) 松田 信爾(慶大・医・生理)
「AP-4によるAMPA受容体の細胞内輸送制御」
- 3) 宮崎 智之(横浜市大院・医・生理)
「社会的隔離による経験依存的AMPA受容体シナプス移行阻害」

11:30~12:30 セッション4: 優秀ポスター口頭発表

座長: 竹居 光太郎(横浜市大院・医・分子薬理)

(*) ポスター発表終了時に優秀ポスター2演題を選出・発表致します

セッション1：[セッション座長] 能瀬 聡直（東大院・新領域創成科学・複雑理工）

「シナプス分子集積の可視化」

シナプス部への分子集積は、シナプスの形成と可塑性を担う最も基本的な過程である本セッションでは、この過程の可視化に関し、3名の講演者に話していただく。最初の2題は細胞骨格と細胞接着分子の挙動のライブイメージングについて、3題目は、凍結切断レプリカ免疫電子顕微鏡法を用いた高解像度の分子局在解析についてである。シナプス機能分子の動態や分布から見えてくるシナプス制御の仕組みについて活発な議論を期待している。

講演 1-1：本蔵 直樹（東大・医・疾患生命工学センター）

「樹状突起スパインの形態と可塑性を担うアクチン線維構築」

大脳皮質において、興奮性シナプスの多くは樹状突起スパイン上に形成され、またその形態は非常に多様である。近年、スパイン頭部構造の大きさと機能的なグルタミン酸受容体の発現量が相関すること、長期増強(LTP)に際してはスパイン頭部の体積増大が生じること、これら現象がアクチン線維に依存していることが示されている。スパインにはアクチン線維(F-actin)が多く存在し、他の細胞骨格タンパク質はほぼ皆無であることから、F-actin が主要な細胞骨格と考えられている。しかし、これまでの研究では単一スパイン内での F-actin の構築、即ちその配列や動態は未知であった。そこで我々は、スパインに存在するアクチン線維構築を調べ、異なる三種の性質を持つアクチン線維群を発見した。これらのアクチン線維群を調べた結果、F-actin 動態がスパインの形態、安定性、構造可塑性を担うと、推察される結果を得た。

講演 1-2：高坂 洋史（東大院・理・物理）

「細胞接着を介したシナプス誘導過程の生体内可視化」

シナプス形成過程における細胞接着の役割を明らかにするために、ショウジョウバエ胚の神経筋結合をモデル系として、生体内でのシナプス可視化を行なった。シナプス前膜と後膜の両方に存在する細胞接着分子ファシクリン2 (Fas2) に着目して、シナプス後細胞上の Fas2-GFP のシナプス形成過程における挙動を解析した。シナプス後膜部への Fas2 の集積には、軸索上の細胞接着分子 Fas2 との細胞外相互作用が必要であることが分かった。蛍光消光回復法を用いた解析により、神経支配に伴って後シナプス部の Fas2 の可動性が低下することが明らかになった。また fas2 欠失胚では、足場タンパク質や神経伝達物質受容体の後シナプス部への集積が低下した。以上の結果は、生体内において細胞接着分子 Fas2 の経シナプスの相互作用による集積が、後シナプス部への分子局在を誘導することを示唆する。

講演 1-3：深澤 有吾（生理学研・脳形態解析）

「神経伝達物質受容体のシナプス上分布」

神経伝達物質受容体及び関連分子の細胞膜上局在を2次的且つ定量的に解析することが出来る、凍結切断レプリカ標識法を用いて行ってきた。これまでにグルタミン酸受容体として、NMDA型、AMPA型グルタミン酸受容体、グループI代謝型グルタミン酸受容体、GABA受容体としてGABAA受容体の局在を幾つかの脳領域で解析を行い、それぞれの受容体がシナプス結合の種類に応じて特徴的な局在様式をとることが明らかになってきた。そこでこれらを概説し、受容体局在の調節機構について考察する。またシナプス内 AMPA 受容体局在の差異がシナプス伝達特性にどの様に影響するかについて解析したので報告したい。

セッション2：[セッション座長] 作村 諭一（奈良先端科技院大・情報科学）
「シナプス可塑性のシステムズバイオロジー」

神経機能実現の裏には、生体分子の濃度が一過性に変化するなど、分子間の動的な相互作用が関与している。分子のシステム的な挙動、つまり複数の要素が規則に従って同時に変化する様子を、我々が頭の中で描くことは難しい。しかし計算機シミュレーションはそれを可能にする。本セッションでは、シナプス可塑性に関する分子システムを、計算機シミュレーションを用いて説明する研究を紹介する。システムズバイオロジーを神経科学の1つのツールとして認知して頂き、「メカニズムの提示」と「実験による検証」という両輪により分野の更なる発展に貢献できれば幸いである。

講演2-1：土居 智和（大阪バイオサイエンス研・システムズ生物学）

「小脳シナプス可塑性におけるシグナル伝達の計算機シミュレーション」

小脳LTDシグナル伝達経路を生化学方程式に基づいて計算機シミュレーションを試み、以下の2つの小脳LTDの現象を再現・説明した。小脳プルキンエ細胞は平行線維と登上線維から入力を受けている。平行線維入力の後に登上線維という入力順序で、プルキンエ細胞スパインのCa²⁺濃度が著しく上昇し、LTDが誘導される。シミュレーションにより、平行線維入力下流の代謝系経路に時間遅れがあり、細胞内Ca²⁺ストア上のIP3受容体が、平行線維入力によるIP3産生と登上線維入力によるCa²⁺流入の同時性を検出しようことを示した。また、共同研究により、ケージドCa²⁺光分解と小脳LTD誘導のシグモイド状の定量的関係を、シミュレーションで再現した。シグモイドの関係はPKCとMAPKの正のフィードバックループが影響していることを実験とシミュレーションの両方から明らかにした。

- Doi T, Kuroda S, Michikawa T, and Kawato M: Inositol 1, 4, 5-trisphosphate-dependent Ca²⁺ threshold dynamics detect spike timing in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.* 25: 950-961 (2005).
- Tanaka K, Khiroug L, Santamaria F, Doi T, Ogasawara H, Ellis-Davies G, Kawato M, Augustine GJ: Ca²⁺ requirements for cerebellar long-term synaptic depression: role for a postsynaptic leaky integrator. *Neuron* 54: 787-800 (2007).

講演2-2：浦久保 秀俊（東大院・理・生物化学）

「スパイクタイミング依存シナプス可塑性のタイミング検知メカニズム」

スパイクタイミング依存シナプス可塑性（STDP: Spike-timing-dependent synaptic plasticity）は脳の記憶や学習に重要な役割を果たしている。しかし、STDPのスパイクタイミング検知メカニズムには未だ謎の部分が多い。そこで、我々は Froemke and Dan (*Nature* 416, pp 433, 2002) および Froemke et al. (*Nature* 434, pp 221, 2005) をもとに詳細なシミュレーションモデルを構築し、スパイクタイミング検知メカニズムを検討した。その結果、NMDA受容体の新規なアロステリック効果を仮定すると、複雑なタイミング発火による可塑性における実験結果を全て説明でき、またNMDA受容体性EPSPに見られる抑圧を説明することができることが分かった。これらの発見はNMDA受容体の単純なアロステリック効果が、脳のスパイク活動を長期可塑性へコードするカギとなっている可能性を示唆する。

講演2-3：作村 諭一（奈良先端科技院大・情報科学）

「シグナル伝達の拡散と局所性を利用したシナプス可塑性」

海馬シナプスのLTP/LTDが、情報の送り手側の状態、つまりシナプス前神経の活動に依存的であることは良く知られている。近年の研究では、情報の受け手側の都合、つまりシナプス後神経のNMDA受容体のサブタイプに依存することも分かってきた。後者の機能について、NMDA受容体の下流の分子シグナルを想定することができるが、果たして新しく発見された機能に対して必ずしも新しいシグナル経路が必要なのだろうか。本研究では、上記の可塑性が新たなシグナル経路を用いることなく説明できる可能性を計算機実験により調査した。主に導入した仮定は、シナプス後膜直下のタンパク質高密度領域では分子拡散が抑制されるため、シグナル伝達に局所性が発生するというものである。我々の結果は、既知のシグナル経路だけでも上記の可塑性（送り手依存、受け手依存）が両立して説明できることを示す。

- Naoki H, Sakumura Y, and Ishii S: Local Signaling with molecular diffusion as a decoder of Ca²⁺ signals in synaptic plasticity, *Molecular Systems Biology*, doi:10.1038/msb4100035, (2005).

セッション3：[セッション座長] 高橋 琢哉（横浜市大院・医・生理）

「AMPA 受容体のトラフィックと神経可塑性」

脳における興奮性シナプスの大半はグルタミン酸シナプスである。AMPA 受容体はグルタミン酸受容体の一つであり、記憶、学習をはじめとした脳内情報処理において非常に重要な役割を果たしている。最近、AMPA 受容体の細胞内 trafficking が神経可塑性の分子基盤の一つであることが明らかになってきている。本セッションでは AMPA 受容体の細胞内 trafficking を制御している分子メカニズムを *in vitro*, *in vivo* の両方向から議論していく。

講演 3-1：林 崇（ジョンス・ホプキンス大・医・神経科学）

「イオンチャンネル型グルタミン酸受容体と会合分子群のパルミトイル化による制御」

グルタミン酸は、哺乳類の中枢神経系における主要な興奮性の神経伝達物質である。速い興奮性シナプス伝達を担う AMPA 型グルタミン酸受容体の翻訳後修飾による制御は、学習・記憶の分子基盤として重要な役割を果たすと考えられる。我々は、従来知られていたリン酸化による可逆的な制御に加え、AMPA 受容体自体のパルミトイル化により、受容体の局在や膜輸送過程が調節されている事を見出した。AMPA 受容体には多くの結合分子が存在し、その内 GRIP1b/2b、PSD-95、PSD-93 等はパルミトイル化修飾を受ける事が知られている。今回、AMPA 受容体を含むグルタミン酸受容体とその会合分子群のパルミトイル化による制御機構に関して、最新の知見を報告する。

- ・ Hayashi T, Rumbaugh G, Huganir RL: Differential regulation of AMPA receptor subunit trafficking by palmitoylation of two distinct sites. *Neuron*, 47(5): 709-723(2005).

講演 3-2：松田 信爾（慶大・医・生理）

「AP-4 による AMPA 受容体の細胞内輸送制御」

神経細胞は、樹状突起と軸索という、機能的・構造的に大きく異なった領域をもった極性細胞である。AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）は主に樹状突起にゆそうされ、軸索ではわずかしこ存在しないことが知られているが、この極性輸送を制御する分子機構は明らかにされていない。我々は小胞輸送に関与するヘテロ 4 両体アダプタータンパク質である Adaptor Protein Complex-4 (AP-4) が Transmembrane AMPA receptor Regulatory Protein (TARP) を介して間接的に AMPA 受容体に結合することを明らかにした。また AP-4 のサブユニットのひとつである AP-4 β のノックアウトマウスの神経細胞では TARP および AMPA 受容体が樹状突起のみならず軸索にも存在していた。これに対して代謝型のグルタミン酸受容体 mGluR1 α や NMDA 受容体は樹状突起にのみ局在していた。さらに AMPA 受容体には結合するが AP-4 には結合しない変異 TARP を発現させた神経細胞では AMPA 受容体が軸索にも存在するようになった。これらの結果から AP-4 が AMPA 受容体の樹状突起特異的輸送を制御することが示唆された。

講演 3-3：宮崎 智之（横浜市大院・医・生理）

「社会的隔離による経験依存的 AMPA 受容体シナプス移行阻害」

経験依存的な脳の可塑的变化に関わる分子細胞のメカニズムは未だ不明な点が多い。近年の研究により、AMPA 受容体のシナプスへの移行がシナプス可塑性における重要な分子機構であることが示唆されている。高橋らはラットのバレル皮質において、経験依存的に AMPA 受容体がシナプスへの移行することを示した (Takahashi et al. *Science* 2003)。そこで我々は、生後の早い段階における社会的隔離が、シナプス可塑性にどのような影響を及ぼすかを検討した。その結果、社会的隔離はバレル皮質における AMPA 受容体のシナプスへの移行を阻害し、ヒゲによる知覚機能を障害した。また、一連の影響は、ストレスにより副腎皮質から分泌されるグルココルチコイドの作用を阻害することにより改善した。このことは、社会的隔離がグルココルチコイド受容体を介して、脳の可塑的变化に影響を及ぼすことを示唆するものである。