

大脳皮質シナプス可塑性の 2光子励起解析

key word

学習、記憶、シナプス、細胞運動、アクチン、大脳、長期増強(LTP)、グルタミン酸、2光子励起法、ケイジド試薬

河西 春郎

自然科学研究機構・生理学研究所 生体膜部門教授
東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター教授

1981年東京大学医学部卒業。85年医学博士。90年東京大学医学部助手、93年同大学大学院助教授を経て、99年より生理学研究所教授。2004年より東京大学教授を兼任。専門は神経生理学。



はじめに

神経回路にとって、単一シナプスはその結合の最小単位である。特に、脊椎動物中枢神経のグルタミン酸作動性シナプスの場合、それが樹状突起スパインという独特な突出構造につくられるために、これが真に機能単位として用いられている可能性が昔から想定されてきた。しかし、単一シナプス前終末の電気刺激が困難であるため、単一シナプス/スパインの機能研究は著しく遅れていた。われわれは2光子励起法をケイジドグルタミン酸に応用して、大脳皮質の単一スパインを刺激する方法論を開発し、スパインの機能が強く形態と相関することを明らかにした〔Matsuzakiら, 2001〕。また、この技術を用いて、単一スパインに可塑性刺激をいれることに成功し、スパインのグルタミン酸感受性が個別に可変であること、それがスパイン頭部増大という形態変化をともなっていること、さらに小さなスパインが可塑性の好発部位であることを明らかにした〔Matsuzakiら, 2004〕。これらの結果は、大きなスパインは脳の記憶痕跡そのものであるという可能性を示す。本稿では、われわれの研究の背景、経緯や手法、そして展望を

解説する。

1. 樹状突起スパインの発見から最近まで

a. スパイン形態に関する研究

19世紀末にCajalは、Golgi染色法によって樹状突起のスパインを発見し、これを軸索終末と樹状突起の接合部と認識し、神経細胞説(Neuron doctrine)の証拠のひとつにあげた(表1)。同じ脳の部位でも高等動物ほどスパインが発達していることもすでに指摘している。Grayによる電子顕微鏡観察で、スパインのシナプス後部としての位置が確定し、現在ではグルタミン酸作動性入力の9割がスパインに形成されることがわかっている(図1A、B)。スパインの形態は変化に富み、頭部が大きく発達した mushroom spine(大きなスパイン)と、頭部の小さいthin spine(小さなスパイン)に大別される。

精神遅滞児においてスパインの形成異常(spine dysgenesis)が一般にみられることが報告された(図1C)[Purpura, 1974]。なかでも、遺伝性の精神遅滞である脆弱症候群(Fragile syndrome)のスパインは細長く密度は高く(図1C)、精神遅滞がスパイン原発性の病気である可能性を支持する。

2光子励起顕微鏡が登場すると、小さなスパインが生きたまま蛍光観察できるようになり、自然刺激あるいは反復刺激でスパインが新たに出現することが報告された[Engert & Bonhoeffer, 1999; Lendvaiら, 2000]。後述べるように、これらのスパインの新生は刺激から20分遅れて出現し、機能的可塑性とは乖離している。また、GFP発現トランスジェニック動物の脳を直接2光子励起法で観察することにより、長期間にわたる安定性を調べる研究がなされ、大きなスパインは1か月から1年もネズミの大脳皮質で安定に存在し得ること、小さいスパインは消失しやすいことが明らかになった[Trachtenbergら, 2002; Grutzendlerら, 2002]。

表1 樹状突起スパインの研究小史

1888年	樹状突起スパインの発見(R. Cajal)
1949	ヘップ則の提唱(D. Hebb)
1959	スパインがシナプス後部であることの電顕的実証(E.G. Gray)
1959	樹状突起スパインの受動的膜特性(W. Rall)
1973	長期増強の発見(T.V. Bliss & T. Lomo)
1974	精神遅滞のスパイン異常(D. Purpura)
1982	スパイン twitch 説(F. Crick)
1989	スライスパッチクランプ法(T. Takahashi, A. Konnerth & B. Sakmann)
1996	単一スパインネックを通る小分子の拡散定数の実測(K. Svoboda & W. Denk)
1999	反復刺激によるスパインの新生(T. Bonhoefer ; K. Svoboda)
2001	単一スパインの2光子グルタミン酸法による刺激および スパインの形態機能連関の発見(H. Kasai & M. Matsuzaki)
2002	スパイン形態可塑性・安定性の <i>in vivo</i> 動物での観察(K. Svoboda ; W. Gan)
2004	単一スパインでの長期増強の誘発および スパイン頭部増大の発見(H. Kasai & M. Matsuzaki)

b. スパインの形態と機能に関する研究

Cajal は、当初からスパインと学習の関係を考えていたようである。しかし、この予言が立証されるには時間を要した。Hebb は有名なヘップの学習法則を 1949 年に提唱する。その本のなかで、長期的に残る記憶痕跡はシナプスの形態的なものであろうとしきりに述べているが、当時はシナプス終末のほうに気がなったようである〔Hebb, 1949〕。このヘップ則に合致するシナプス可塑性、長期増強(LTP)は、海馬で見つけられた〔Bliss & Lomo, 1973〕。

それでは、シナプス機能はスパイン形態とどう関係するのだろうか。1960 年代に、Rall によって樹状突起の電気的特性に関する理論的な考察がなされ、スパインのネックという細い構造(直径 0.1 ~ 0.2 μm、長さ 0.2 ~ 1 μm)の電気抵抗が高く、ここでスパインで生じたシナプス後電位が減衰すると考えられた〔Shepherd ら, 1996〕。これをうけて、Crick はスパイン

のネックが短くなれば(spine twitch)、その減衰が減るので、シナプスの重みが増すことを指摘し、そのような過程が記憶と関係する可能性を推論し、スパインに存在する細胞骨格を調べることの重要性を訴えた[Crick, 1982]。実際、その後、F-actinをはじめとする多くの細胞骨格がスパインに見つかってくる。

しかし、スパイン twitch 説そのものは、現在は否定的である。なぜなら、

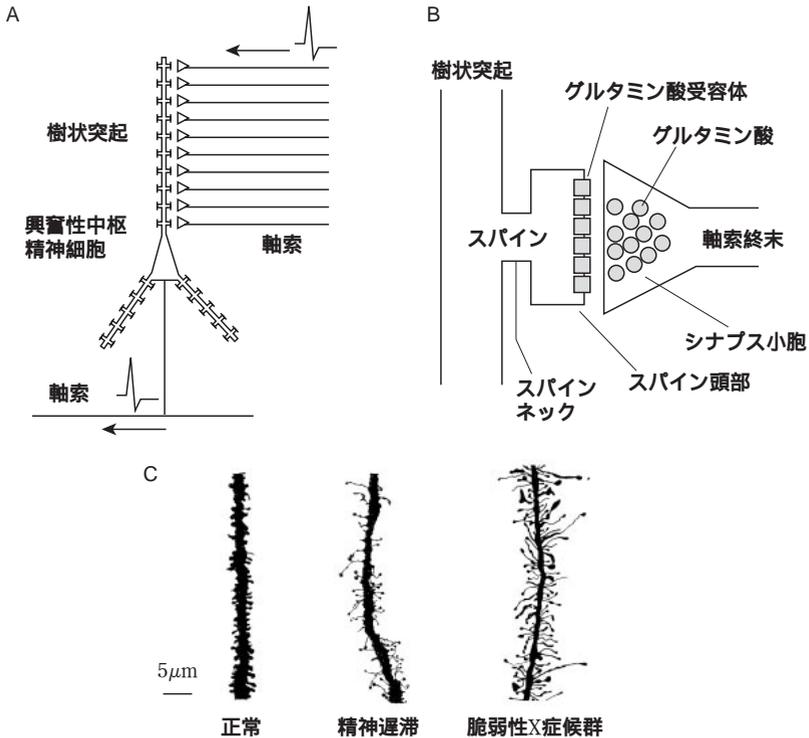


図1 大脳皮質錐体細胞のスパイン形態

A：大脳皮質錐体細胞の模式図。B：シナプスの構造。C：Golgi法によるヒト大脳新皮質の錐体細胞の樹状突起。左から正常知能児、非特異的精神遅滞児、脆弱性X症候群男児。