

シナプス形成過程研究チーム

Laboratory for Studying the Dynamic Process of Synaptogenesis Using a Combination of Biophysical, Molecular, and Cellular Techniques

チームリーダー LIU, Guosong

ヒトの脳は約 100 億個のニューロンから構成されており、シナプス接合部により相互に通じている。これらの接合部は精神の発達につれて確立し精緻となり、学習、記憶そして最終的には意識などの認知機能のための回路基質となる、複雑に絡み合った神経回路網を構築する。接合部に対しては正確な命令を出すため回路の形成を誘導する上で一助となる特定の原理があると考えられているが、これらの機構の原理の性質についての我々の理解はまだ不十分である。Hubel と Wiesel は、先駆的な研究を行い環境刺激から生じる神経活性のパターンが、回路を立体的に構成する上で決定的な役割を果たしていることを証明したが、このような活動がどのように構造を作り上げるためのシナプス接合部と相互作用するのかについて正確にはまだ解明されてはいない。同様に、シナプス可塑性の分野での研究によって個々のシナプスの接合部が潜在的にどのように修正されていくのかについて、次第に詳しい仕組みの展望が得られるようになって来ているものの、この場合にも、どのように生理活動パターンがこれらの機構に働きかけて複合シナプス全体に協調して変化を与えるのかについては、明らかではない。さらに、必要なことは神経ネットワークの中に同時的に存在するシナプスの接合部と協調した形で、意味のある機構を構成し、新たに出てくる計算論的特性を助長させるための活動により、“調子を合わせる”ことができる原理を記述することである。すなわち、このような記述によりシナプス・レベルでの理解と回路網レベルでの現象との間に概念上の橋をかけることを意図するものである。そこで、我々は、どのシナプスが樹状突起の軸に沿って形成されるのか、それが規定することになる相互作用の形、およびこれらの相互作用が神経型コンピュータに対して持つ意味合いを調べることで、上述のようなリンクを見いだそうとするものである。

1. シナプスのカルシウム・フラックスの信号/ノイズ比の亢進とマグネシウムによる老化脳の若返り

シナプス可塑性は、初期発達段階で、また機能的神経回路網に情報を保存しておくために神経回路を正しく構成する上で極めて重要であることは、知られていることである。しかしながら、シナプス可塑性の調節については、未だ解明できていない。そこで、我々は以前 NMDA レセプター・サブユニット 2B を過発現させることにより、遺伝子的にこの問題に取り組もうと試みたことがある。そのとき我々は、野生型マウスで NMDA レセプターの数および結合特性で年齢依存的变化を確認したが、その結果初期発達段階で NMDA レセプター活性および同時検出範囲の両方で減少がみられた。しかしながら、NR2B を過発現するマウスでは、この変化はなく、また NMDA レセプターの開存は長時間に亘っていた。Tsien らの研究員が行った行動実験で示唆されたことは、NMDA レセプター活性が亢進したマウスは、学習および記憶能力の増進も示す、ということである。これらの結果から、ほ乳類の脳で NMDA レセプター活性、可塑性、および学習と記憶間には重要な繋がりがあることが示唆された。

このような戦略を、短期記憶喪失を主たる症状とする、例えばアルツハイマー疾患などの神経疾患に対する新しい治療法開発のために用いることはできないものであろうか？この問いに答えるためには、シナプス可塑性の内因性調節

について分かっていなければならない。回路網での神経活性レベルの低下は、シナプス可塑性を増加させることを我々は確認している。顕著なことは、シナプスがもっとも潜在力を発揮できる状態の「最適」神経活性レベルのあることが明らかになったことである。我々は、NMDA レセプター経由の Ca フラックスの全体量と神経活性レベルをシナプスの潜在力発揮に結びつけるメッセンジャーとしての電圧ゲートのあるチャネルを確認した。これらのことを理解することにより、Ca フラックスを調節することのできるシナプス通路のすべてが、グルタミン酸感受性シナプスの可塑性の調節に関わっていると予測することができる。

シナプスの可塑性亢進の機構をさらに詳しく理解するため、我々はバックグラウンド活性および群発活性中の NMDAR 媒介 Ca フラックスの力学を分析した。また、単一シナプスでの NMDAR 量は、バックグラウンド Ca フラックスが恒常的に維持されるような Mg ブロックの度合いと相関していることを明らかにした。他方で群発活性と関連している Ca フラックスは数倍増大した。従って、 $[Mg^{2+}]_0$ の最適濃度は、シナプスの伝達中に Ca 力学の最大化をもたらす。

可塑性を亢進させる我々の生体内研究によって明らかになった新事実が、生体内で同一の最終結果を得るための新しい方法の発見につながるものなのか否かを確認するため、CSF での $[Mg^{2+}]_0$ を増加させる目的で水分を含有する Mg を成熟ラット（6～8 週齢）の食餌中に入れた。脳脊椎

液中 ($[Mg]_{CSF}$) の $[Mg^{2+}]$ 濃度は、長期治療後 1 から 1.2 mM に増加したが、これは *in vitro* でのシナプスの可塑性に関しては最も感受性の高い範囲に相当する。 $[Mg]_{CSF}$ の上昇も生体内でシナプスの可塑性を上昇させることになるのか否かを確かめるため、我々はシナプスの可塑性にとって決定的なシナプスのタンパク質発現を調べた。シナプス後部の部位での NR2B および GLUR1 の発現は著しく増大したが、シナプス前部の終末にある VGLUT1 は減少した。

$[Mg]_{CSF}$ 上昇が学習と記憶の改善につながるかどうかを検定するため、我々は若齢、老齢ラットおよび Mg 処置をした老齢ラットを対象にして、連合および空間短期記憶の比較を行った。新奇対象物認知作業の実験で老齢ラットは新しい対象物に有意な関心を示さなかったが、Mg 処置の老齢ラットは、若齢ラットと同様正常な関心を示した。高度 T 字型迷路での遅延別経路作業実験法を用いたところ、Mg 処理ラットの方が初回の実験で新しい環境で別経路をとる確率は高かったが、このことはエピソード様空間記憶が改善されたことを示唆するものである。さらに、Mg 処理ラットは標本実験と実験間での長い遅延 (2 分と 5 分) を通し、別経路をとる高い確率を示したが、これは短期空間記憶が改善されたことを示している。さらに、Mg 処理ラットは、迷路外での手掛かりを低めた条件下でも高い成果を示したが、これはパターン完成による連合記憶検索が改善したことを示唆するものである。我々の結果は Mg の役割は、加齢過程での記憶機能で重要な内因性の調節因子であることを示唆している。

2. 切片標本の学習および記憶におけるシナプスの可塑性のもつ役割の回路網分析: 複数インプット干渉によって発達させた CA1 領域での相配列依存性 LTP

脳の高次機能のための神経回路シナプスにとって、可塑性は重要であることに疑いはない。しかしながら、シナプスの可塑性が実際の神経系で記憶または学習、またはその両者で果たしている役割についてはほとんど分かっていない。本研究はこの問題解明のため、神経信号のコードがどのように実際の神経回路で「記憶される」のかに焦点を置くものである。様々なコード化の態様の中から、我々はニューロンのインプット配列誘発活性化を集中的に電気生理学および光学的精査を行った後に、CA1 領域に対する 2 つの準同一インプット間の干渉問題を選択した。興奮性および阻害性電流のバランスは、インプット信号パターンに依存して変わることを我々は明らかにした (E/I 論理変化)。E/I 論理変化は、複数インプット間の干渉に対する余裕を与える、より長い時間ウィンドウ (160 ミリ秒) を形成するものと考えられる。このことは θ 周期電気刺激に反復適用した棘波放電パターンによって確認された。このパターンは NMDA レセプター・チャンネルの活性化パターンと相俟って、CA1 回路に配列依存計算数値を発生させるものと我々は予測した。この予測に従って、我々は、LTP 誘導が相配列依存性であることを証明した。この現象は、神経計算の基礎の一部、すなわち脳がどのように事象の配列を記憶するのか、でありこのことは記憶に関し最も重要な概念の 1 つであると我々は考えている。

3. シナプス後部の Ca フラックスによる NMDA レセ

プターの自動調節

高解像イオン導入法の手法を用い、我々は NMDA チャネル経由の介在によりシナプスのシナプス後部カルシウム・フラックスが恒常的に調節されることを確認した。換言すれば、何らかの数少ない変動がカルシウム・フラックスを乱す原因になる場合、このことは機能的レセプターの逆調節をもたらし、カルシウム・フラックスを正確に同一にする。これは反 Hobbian 機構と考えられるが、この機構はシナプスのすべてが最大に増強される飽和樹状突起またはニューロンの出現を妨げ、その結果シナプス競争を可能にするものである。シナプス後部の NMDA の恒常性の調節信号は、長時間に亘るカルシウム・フラックスにとって不可欠な一部をなすものと考えられる。我々のカルシウム恒常性の所見は、いくつかの薬理学的摂動法でみとめられるものであるが、このことは一般的な原理であることを示唆するものである。我々は、現在この原理が全ニューロン・レベルで全体にみとめられるものか、または区画化された樹状突起のセグメントだけに適用できるものであるかどうか探索しているところである。このような種類の知識は、可塑性の主たる原因としてのカルシウムの調節に関連しているため、生物学的機構がどのように計算機構に位置付けられているのかという観点で、新しい考え方を導入する可能性をもたらすものと考えられる。

Our investigation into the regulatory mechanisms of synaptic signaling and neural network organization has yielded several important and novel insights.

The results of our study of the effects of magnesium levels on synaptic and network plasticity reveal the existence of an optimal magnesium concentration for the plasticity of neural networks, a role for calcium influx in the regulation of synaptic plasticity, and a framework of activity-based plasticity induction that we can use to make predictive models of neural network behavior. We have found that elevated extracellular magnesium concentrations can have significant positive effects on learning and memory function in aging animals.

Our input-dependent analysis of synaptic plasticity in hippocampal slice showed evidence of a neural network-level computational process that adjusts excitatory and inhibitory currents in response to input sequences, possibly evidence of basic sequential memory formation.

Our finding that postsynaptic NMDA-mediated calcium flux is homeostatically regulated at the single synapse level raises the question of what the maximum scale of this regulation is.

The regulation of calcium flux, which we have shown to be critical to synaptic plasticity, and the input-dependent regulation of excitatory-inhibitory ratios within neural networks, both hold promise as pillars of our understanding of physiological memory mechanisms, while the identification of a rejuvenating effect with the application of magnesium at a particular concentration promises to be important for treating aging-related cognitive decline in coming years.

Research Subjects

1. New strategies for enhancing synaptic plasticity in vitro and in vivo

2. Coordination of excitatory and inhibitory synaptic inputs input on dendritic tree
3. Interactions between pre-synaptic activity and post-synaptic properties of AMPA and NMDA receptors measured at individual synapses

Staff

Principal Investigator

Dr. Guosong LIU

Postdoctoral Associates

Dr. Yan LI

Dr. Inna SLUTSKY

BSI Visiting Scientists

Dr. Takashi TOMINAGA

Technical Assistants

Ms. Bing LI

Ms. Maria STAROVEROVA

Project Support Staff

Mr. Travis EMERY

Graduate Students

Ms. Emily HUESKE

Mr. Boris KRUPA

Mr. Safa SADEGHPOUR

Mr. Nathan WILSON

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Liu G.: "Local structural balance and functional interaction of excitatory and inhibitory synapses in hippocampal dendrites", *Nat. Neurosci.* **7**, 373–379 (2004). *

Slutsky I., Sadeghpour S., Li B., and Liu G.: "Enhancement of synaptic plasticity through chronically reduced Ca^{2+} flux during uncorrelated activity", *Neuron* **44**, 835–849 (2004). *