

# 記憶形成を司る中枢シナプス伝達調節分子メカニズム

## The Molecular Mechanism of Central Synaptic Modulation

### Underlying the Memory Formation

(研究プロジェクト番号 : JSPS-RFTF 96L00205)

プロジェクトリーダー

高橋 智幸 東京大学大学院医学系研究科・教授

コアメンバー

真鍋 俊也 神戸大学医学部・教授

小野寺加代子 東京大学大学院医学系研究科・講師

辻本 哲宏 東京大学大学院医学系研究科・講師

齋藤 直人 東京大学大学院医学系研究科・助手

小林 克典 東京大学大学院医学系研究科・助手



## 1. 研究目的

学習や記憶は神経細胞と神経細胞の繋ぎ目“シナプス”における電気信号の伝達効率が変化することによって成立する。シナプス伝達効率は伝達物質の放出効率とシナプス後細胞の受容体を介する応答効率によって決定され、いずれのメカニズムにも多種類の膜タンパク質と細胞内シグナル分子が関与している。本研究プロジェクトでは分子生物学と電気生理学の手法を組み合わせることによって伝達物質の放出効率調節機構を明らかにすることを試みた。

## 2. 研究成果概要

### 2-1. 代謝型グルタミン酸受容体によるシナプス伝達物質放出調節メカニズム

中枢神経終末端に発現する代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) は神経終末端から伝達物質グルタミン酸が放出されて結合することによって活性化され、伝達物質の放出を自己制御する。記憶の中枢とされる海馬では、高頻度にグルタミン酸が放出されて mGluR が活性化されると長時間持続するシナプス前抑制が生じる (長期抑圧) ことを見出した。MGLuR 欠損マウスにおいて長期抑圧の程度はごく僅かであった (図 1)。更にこの長期シナプス抑圧は  $Ca^{2+}$  とカルモジュリン、2 型カルモジュリンカイネース CaMKII に媒介されることが明らかになった (図 2B)。CaMKII は後シナプス受容体応答効率の長期増強に必要なことが知られている。

MGLuR は脳幹の聴覚中継巨大シナプス calyx of Held の神経終末端にも発現しており、伝達物質の放出を自己制御している (短期抑制)。このシナプスにおいて神経終末端とシナプス後細胞から同時に細胞内記録を行う方法を開発した (図 3)。この方法を用いて mGluR を介するシナプス前抑制作用のメカニズムを解析したところ、GTP 結合タンパク質 (G タンパク質)  $G_{\alpha}$  から解離した  $\beta\gamma$  サブユニットが神経終末端の P/Q 型  $Ca^{2+}$  チャネルを抑制することによって伝達物質の放出を抑制するメカニズムの全貌が明らかになった (図 2A)。海馬シナプスと異なり CaMKII は関与しない。

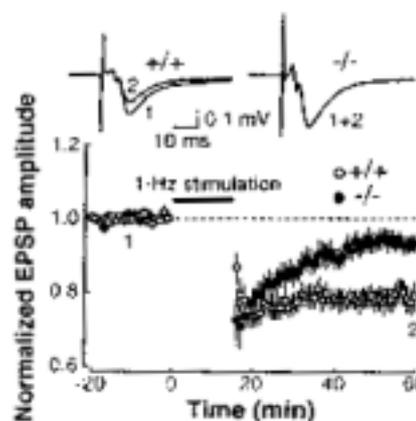


図 1 海馬苔状繊維 CA3 シナプスにおいて 1Hz 刺激で誘発される長期抑圧 (○) 。MGLuR2 ノックアウトマウス (●) では誘発されない。

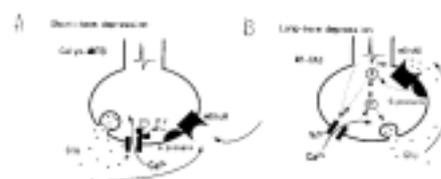


図 2 神経終末端 MGLuR のはたらき。A. Calyx of Held シナプス。B. 海馬苔状繊維 CA3 シナプス。Y は CaMKII、X は明らかでない。

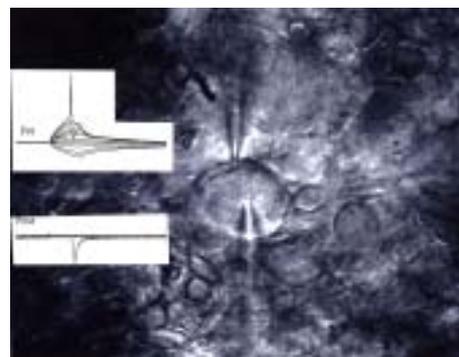


図 3 Calyx of Held シナプスにおけるプレ (上)・ポスト (下) 同時ホールセル記録法。プレの活動電位とポストシナプス応答。

## 2-2. 神経終末端の電位依存性 $\text{Ca}^{2+}$ チャネルの伝達物質放出調節における役割

成熟動物の中枢シナプス終末端の  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルの多くは P/Q 型であるが、生後発達の途上では N 型や R 型が一過性に発現することが見出された。神経終末端の  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルは伝達物質の放出に必要な  $\text{Ca}^{2+}$ の主たる供給経路であるが、 $\text{Ca}^{2+}$ チャネルが G タンパク質  $\beta\gamma$ サブユニットを介して抑制を受ける細胞内制御機構は  $\text{GABA}_B$  受容体アデノシン A1 受容体など多くの前シナプス受容体の共通終路となっている。これに対して、流入した  $\text{Ca}^{2+}$ に依存して P/Q 型  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルが活性化するメカニズムを新たに見出した。神経終末端に活動電位が到達して  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルが開き  $\text{Ca}^{2+}$ が流入すると、この  $\text{Ca}^{2+}$ は終末端内に存在する  $\text{Ca}^{2+}$ 結合タンパク質 NCS-1 と結合して活性化し、P/Q 型  $\text{Ca}^{2+}$ チャネルの開口を促進するようにはたらくことが明らかになった(図 4)。この作用によって次の活動電位によって生じる  $\text{Ca}^{2+}$ の流入量が増加し、その結果伝達物質の放出量が増加して、伝達効率が増大すると予測される。

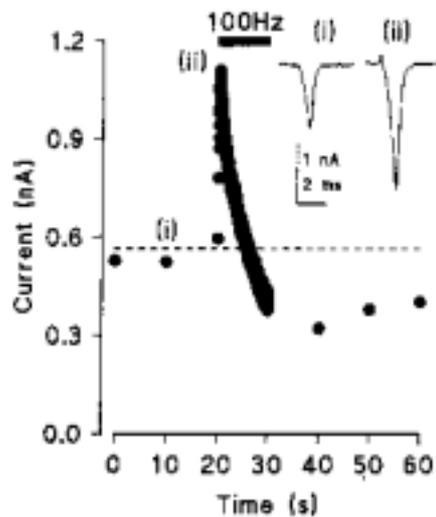


図4 高頻度刺激(100 Hz)による神経終末端  $\text{Ca}^{2+}$ 電流振幅(縦軸)の増強。  $\text{Ca}^{2+}$ 電流は 1ms の脱分極性パルスで誘発している(i, ii)。

## 2-3. 神経終末端の G タンパク質の伝達物質放出調節における役割

伝達物質の放出抑制に働く 3 量体 G タンパク質の他に神経終末端内には単量体 G タンパク質が存在する。G タンパク質の活性阻害剤、促進剤をそれぞれ calyx of Held 神経終末端内に直接注入して、シナプス応答の振幅に対する作用、高頻度刺激によるシナプス抑制と回復時間を解析した結果、神経終末端内単量体 G タンパク質の主な役割は高頻度刺激によって枯渇したシナプス小胞の補給を促進することであると結論が得られた(図 5)。

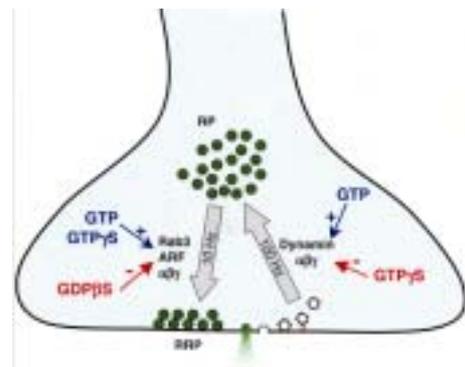


図5 神経終末端における G タンパク質の役割。シナプス小胞貯蔵プール(RP)から放出可能プール(RRP)への補給、エンドサイトーシスによる RP の補給に G タンパク質が関与する。

## 3. 結論

シナプス伝達物質放出効率の調節に関して、代謝型グルタミン酸受容体、電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ チャネル、GTP 結合タンパク質の役割を明らかにした。これらのタンパク質とその役割が生後発達や老化に伴ってどのように変化するかは今後の課題である。またこれらのタンパク質の変化を伴う精神神経疾患の存在の可能性も検討を要する。シナプス可塑性の研究は従来の「入力依存性可塑性」の研究に留まらず「発達可塑性」「病的可塑性」の研究へと発展させることによって分子基盤がより鮮明になると考えられる。

## 主な発表論文

1. Yokoi M, Kobayashi K, Manabe T, Takahashi T, Sakaguchi I, Katsuura, Shigemoto R, Ohishi H, Nomura S, Nakamura K, Nakao K, Katsuki M, Nakanishi S (1996) Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking metabotropic glutamate receptor subtype 2. *Science* **273**, 645-647.
2. Kobayashi K, Manabe T, Takahashi T (1996) Presynaptic long-term depression at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse. *Science* **273**, 648-650.
3. Takahashi T, Forsythe I, Tsujimoto T, Barnes-Davies M, Onodera K (1996) Presynaptic calcium current modulation by a glutamate receptor. *Science* **274**, 594-597.
4. Forsythe I.D, Tsujimoto T, Barnes-Davies M, Cuttle M.F, Takahashi T. (1998) Inactivation of presynaptic calcium current contribute to synaptic depression at a fast central synapse. *Neuron* **20**, 797-807.
5. Manabe T, Noda Y, Mamiya T, Katagiri H, Houtani T, Nishi M, Noda T, Takahashi T, Tsujimoto T, Nabeshima T & Takeshima H. (1998). Facilitation of long-term potentiation and memory in mice lacking nociceptin receptors. *Nature* **394**, 577-581.
6. Takahashi T., Hori, T., Kajikawa Y., Tsujimoto T. (2000). The role of GTP-binding protein activity in fast central synaptic transmission. *Science* **289**, 460-463.