

# シナプス・神経細胞と遺伝子改変マウス

平野丈夫 Tomoo Hirano

京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学系神経生物学学科・教授。東京都生まれ。1985年東京大学医学博士。著書に『脳と心の正体——神経生物学者の視点から』（東京化学同人）など。動物の学習・記憶の基盤と考えられるシナプス可塑性の分子レベルでの制御機構と、動物の行動制御におけるシナプス可塑性の役割の解明を目指し、おもに哺乳類の小脳を用いて研究している。



目覚めたときに自分が何者であるか思い出せなくなっていたとしたら、どうしますか。私たちの生活・行動は記憶に大きく依存しています。ここでは、学習・記憶の基盤となっている神経細胞レベルのメカニズムに関する私たちの研究を紹介します。

## はじめに

まず、私たちの研究の背景を簡単に説明しておきましょう。人には、出来事や物の名前を覚える陳述記憶に加えて、自転車の乗り方やスポーツの技能を体で覚える手続き記憶が備わっています。これら2つのタイプの記憶・学習は哺乳類など各種の動物で認められており、それぞれ担当する脳部位が異なります。手続き記憶に関連する運動の学習において、重要な役割を担う部位の一つが小脳です。小脳はおもに運動制御をおこなっていて、小脳に疾患があると滑らかな運動が難しくなることが知られています。私たちの研究グループは、小脳による運動学習メカニズムの全体像を、分子・細胞といったミクロのレベルから神経回路での情報処理過程まで、総合的に明らかにすることを目指しています。

運動学習の細胞レベルでの基盤と考えられているのが、小脳のシナプスでみられる可塑性という現象です。シナプスは神経細胞間で神経伝達物質を介して情報伝達をおこなう場であり、神経細胞活動に依存して情報伝達効率が変化することをシナプス可塑性とよびます。私たちは、小脳皮質内のシナプス可塑性がいかなる分子的メカニズムで起こるかを解明するため、動物個体から取り出した神経細胞を用いて研究しています。また、シナプス可塑性が起こらなくなったり、逆に起こりやすくなったりしたとき、運動学習がどのように変化するかを、遺伝子改変マウスを利用して調べています。

## 私の興味と研究の経緯

私が神経科学研究者の道へ進んだのは、自分の頭のなかがどうなっているのか、そ

こで何が起きているのかに興味をもっていったからです。とくに、脳や神経系が働くしくみを分子・細胞というミクロのレベルで明らかにしたいと思い、これまで研究をつづけてきました。まずは、私が現在の研究にたどり着くまでの経緯を、学生時代まで遡って説明します。

私は東京大学理学部の動物学教室に入り、修士課程に進学しました。そのとき所属した研究室は、鞭毛・繊毛運動などの制御機構をおもな研究対象としていたのですが、高橋景一教授（当時）が私の興味に配慮してくださり、インドヒラマキガイという淡水産巻貝の中枢神経系を用いた電気生理学実験をおこなうことになりました。巻貝の中枢神経系は個々の神経細胞が巨大で、解剖顕微鏡下で識別可能なため、生理学的研究が容易なのです。当時の私の目標は、のちにノーベル賞を受賞することになるエ

リック・カandelでした。彼は海産巻貝の一種であるアメフラシを材料に、学習の基礎となるシナプス可塑性の研究をおこなっていました。先に述べたとおり、シナプス可塑性は現在の私の主要な研究対象でもあります。私はこの時点で、単純なシステムを用いて脳・神経系が働く基本メカニズムを細胞レベルで研究する道を選択したので

す。研究は興味深く、結果もそれなりに得られました。しかしその過程で、神経機能の解析には高度な電気生理学実験手法が必要だということにも気づかされました。そしてその習得のためには、それを専門とする研究室のほうがよいと考えようになり、私は東京大学医学部の博士課程に進学することにしました。

博士課程ではホヤ胚を用い、神経細胞や筋細胞など電氣的興奮性を示す細胞が分化

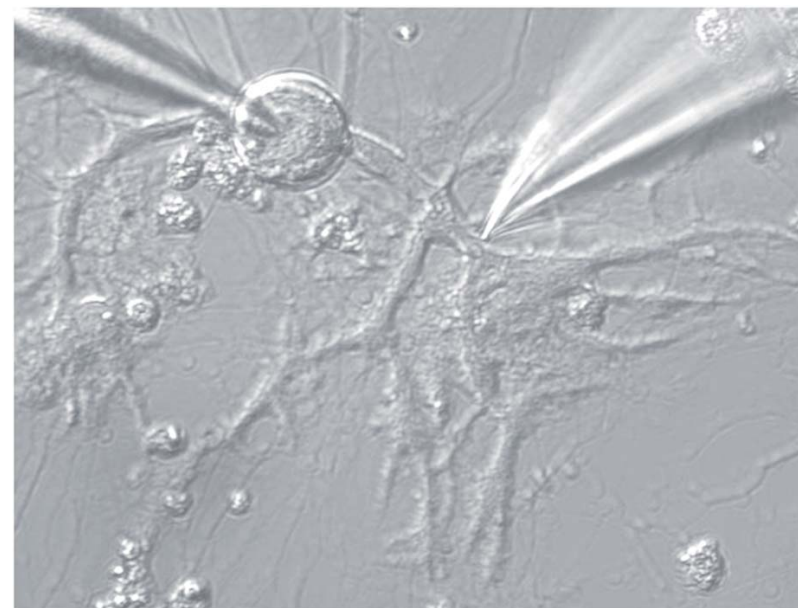


図1 培養したプルキンエ細胞と、パッチクランプ実験に用いるガラス電極

する過程で、興奮性を引き起こすイオンチャネル分子がどのように変化するかを、高橋国太郎教授と研究しました。この研究にもやりがいを感じていましたが、博士論文作成の目処がたつと、自分自身で長期的研究テーマを立てることを考えはじめました。そして、興味の原点への復帰を模索して選んだのが、哺乳類小脳培養神経細胞にパッチクランプ法(図1)を適用して電気生理学的解析をおこなうという、現在の研究につながるテーマです。

私は以下のように考えたのです。アメフラシなど、単純な神経系を有する無脊椎動物の研究はカンデルらが大きく先行している。したがって、そうした研究に従事するならカンデル研究室等へ留学すべきだろう。しかし、他の実験システムを探るのも一つの方法ではないか。哺乳類神経細胞の培養技術はかなり進歩した。また、パッチクランプ法を適用すれば、哺乳類の小型神経細胞からも細胞内電位記録が得られるはずだ。培養系では哺乳類神経細胞の同定は難しい

かもしれないが、小脳なら、比較的大型で個性的な形態を示すプルキンエ細胞と小型の顆粒細胞は同定できそうだ。それに、両細胞間のシナプスでは可塑性が起こると考えられており、それが運動学習にかかわる可能性も指摘されている。これを試してみない手はない、と。

その後、私は東京大学医学部で助手となり、UCLAへ留学し、群馬大学医学部講師、京都大学医学部助教授を経て現職に就きました。その間、培養小脳神経細胞を用いた電気生理学研究が途切れることはありませんでしたが、同時により幅広い研究テーマと研究手法を取り入れてきました。京都大学医学部では、中西重忠教授(当時)ら分子生物学者との共同研究をはじめ、理学研究科への異動後は、みずからの研究室で分子生物学・生化学実験、生細胞蛍光イメージングをおこなえる体制を整えました。また、医学部時代に細々とはじめた遺伝子改変マウスの行動解析も、理学研究科では本格的におこなえるようにしました。さらに

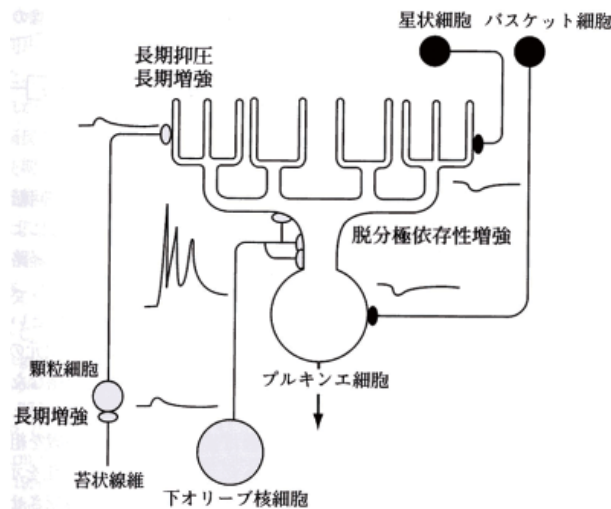
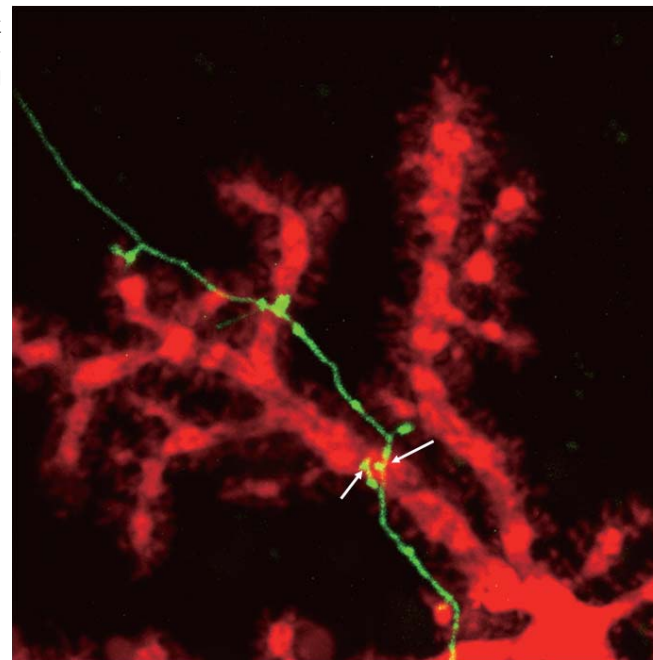


図2 プルキンエ細胞へのシナプス入力とシナプス可塑性(長期抑圧、長期増強、脱分極依存性増強)

図3 培養下での顆粒細胞(緑)・プルキンエ細胞(赤)間シナプス(矢印)



最近、コンピュータシミュレーションでシナプス可塑性制御の分子機構を解析する理論的研究もはじめています。

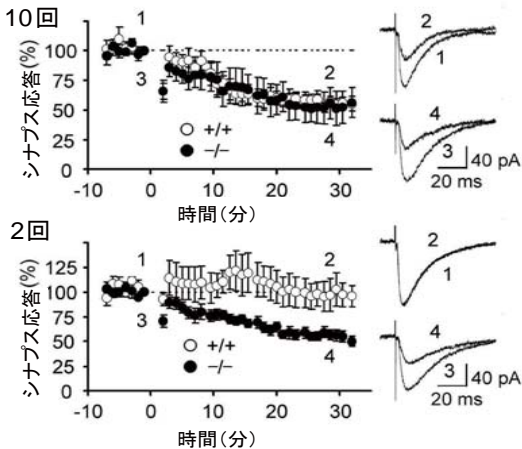
### 研究内容と最近の成果

小脳皮質は比較的単純で規則正しい神経回路からなるため、哺乳類の中枢神経系が働くメカニズムを研究するための優れたモデルシステムになります。なかでも私たちは、小脳皮質内唯一の出力神経細胞であるプルキンエ細胞に注目しました。プルキンエ細胞は、興奮性および抑制性のシナプス入力を受けており(図2)、これらのシナプスでは可塑性がみられます。たとえば、顆粒細胞と下オリブ核神経細胞の同期した活性化により情報伝達効率が持続的に減

弱するシナプス可塑性が起こり、長期抑圧とよばれています。私たちはプルキンエ細胞で起こるシナプス可塑性を培養下で再現することに成功し、その培養実験系および小脳の切片標本を用いて、小脳シナプス可塑性に関する分子・細胞レベルの研究をおこなってきました。

顆粒細胞・プルキンエ細胞間シナプス(図3)では、グルタミン酸が伝達物質として働いています。これまでの研究によって、長期抑圧が生じるには、顆粒細胞・プルキンエ細胞間シナプスにしか存在しないグルタミン酸受容体デルタ2サブユニットという分子が必要であるとわかりました。現在、このデルタ2サブユニットが長期抑圧にかかわるメカニズムについて研究を進めています。デルタ2サブユニットを欠損した遺伝子改変マウスでは長期抑圧が起こらなく

図4 デルフィリン欠損マウス (−/−) では野生型マウス (+/+) よりも長期抑圧が引き起こされやすい。少ない回数の誘導刺激 (2回) で長期抑圧が引き起こされた (Takeuchi et al., 2008, PLoS ONE より)



なり、重い運動失調・運動学習障害が生じました。この結果は、デルタ2サブユニットとそれに依存した長期抑圧等のシナプス制御が、小脳の正常な機能発現に必要不可欠だということを示しています。

私たちは最近、長期抑圧が起こりやすくなっている遺伝子改変マウスも見出しました。デルタ2に結合するデルフィリンが欠損したマウスです。このマウスでは、少数回のシナプス可塑性誘導刺激で、顆粒細胞・プルキンエ細胞間シナプスでの長期抑圧が起こりました (図4)。また、このマウスの運動学習について調べると、視機性眼球運動の適応という学習が、通常のマウスより速やかに起こることがわかりました。視機

性眼球運動というのは、前庭動眼反射とともに、頭部回転時の視野のブレを補正する反射性眼球運動です (図5)。視機性眼球運動の適応は、動物が縦縞模様の左右への動きを見つづけることにより、眼球の動きが速くなって縦縞模様の動きによりよく追従できるようになる現象を指します。デルフィリン欠損マウスでは、長期抑圧・運動学習が亢進していたのです。これも、長期抑圧が運動学習において重要な役割を担っていることの一つの証拠です。

ここまで、長期抑圧と運動学習の関連を紹介してきましたが、小脳で起こるシナプス可塑性は長期抑圧だけではありません。星状細胞とプルキンエ細胞間の抑制性シナ

前庭動眼反射 (VOR) 視機性眼球運動 (OKR)

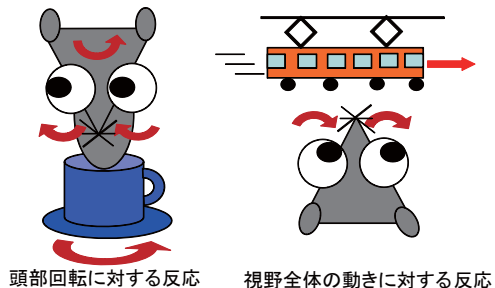


図5 頭部回転時の視野のブレを補正する前庭動眼反射と視機性眼球運動。吉田盛史氏作図

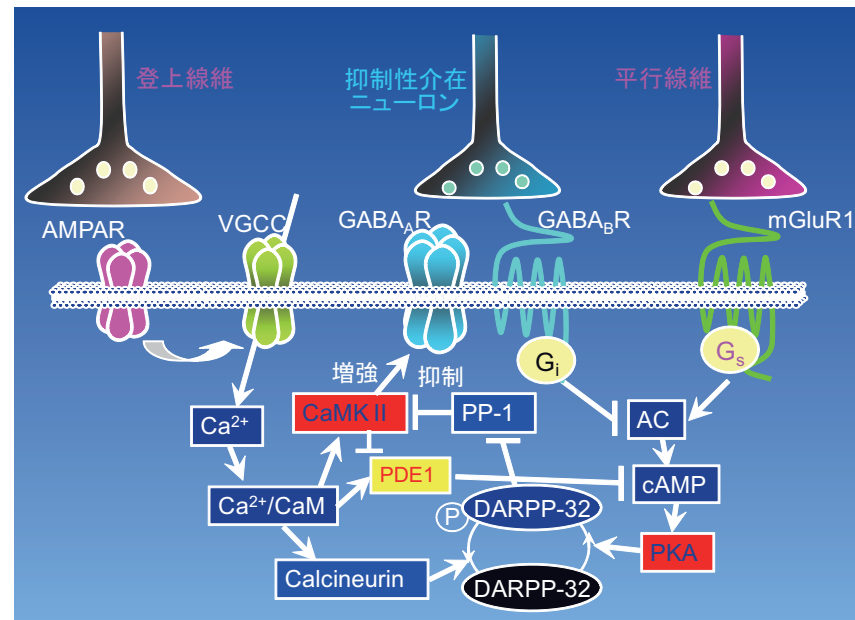


図6 脱分極依存性増強の制御にかかわるプルキンエ細胞内分子情報伝達系 (Kawaguchi and Hirano, 2002, J. Neurosci; Sugiyama et al., 2007, Eur. J. Neurosci; Kitagawa et al., 2009, Mol. Syst. Biol.)

プスでも可塑性 (脱分極依存性増強) が起こり (図2)、長期抑圧と協調して運動学習・運動制御に寄与していると推測されています。この抑制性シナプス可塑性についても、私たちは研究をおこなってきました。そして最近、脱分極依存性増強の制御にかかわる多数の分子間の相互作用 (図6) の詳細を、コンピュータ上にモデルとして再現することができました。このモデルを利用すれば、多数の細胞内分子間相互作用を定量的に検討し、複雑な分子ネットワークを一つのシステムとして解析することが可能です。さらに、さまざまな条件下でのシナプス伝達の状況を理論予測することもできるようになりました。実際に、このモデルで図6に示した PDE1 という酵素の量を変えると、脱分極依存性増強の起こりやすさも変化す

ることがわかり、PDE1 が脱分極依存性増強の起こりやすさの制御に重要な役割を果たすという予測が立ちました。その後、この理論予測は神経細胞を用いて実験的に実証できました。

おわりに

私たちはこれからも、シナプスの働きを中心に、脳・神経系が働くメカニズムをより深く包括的に理解すべく、研究を進めていきたいと思っています。長年興味をもちつづけてきたテーマなので、目指すところが大きく変わることはないでしょうが、一方で新たな研究の展開も模索しつづけていこうと考えています。