

成体脳におけるシナプス維持機構の解明

～神経障害時における回路再編機構解明への貢献に期待～

ポイント

- ・ 神経細胞の自発消失を誘導するマウスの作成に成功。
- ・ 神経終末消失時におけるシナプス後部の構造変化様式を解明。
- ・ 遺伝子導入により人工的にシナプス装置を誘導することに成功。

概要

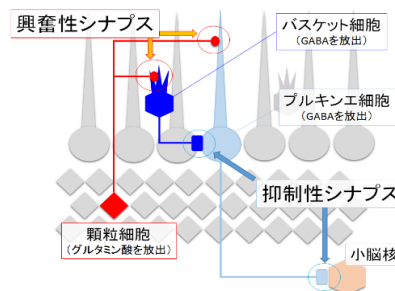
北海道大学大学院保健科学研究院の宮崎太輔准教授らの研究グループは、同大大学院医学研究院の渡辺雅彦教授、イェール大学医学部神経科学教室の富田 進教授らとの共同研究により、特定の神経細胞を選択的に自発消失させるマウスの作成に成功しました。

神経細胞同士はシナプスと呼ばれる構造で結合しており、シナプス前終末から放出された神経伝達物質*¹が、シナプス後部の受容体*²に結合することで化学的な信号伝達が行われます。一般的に、神経伝達物質と受容体の神経化学的特性には1対1の対応が成り立ち、細胞を興奮させる作用をもつグルタミン酸が放出されるシナプス後部にはグルタミン酸受容体が、細胞の活動を抑制させる GABA (γ-アミノ酪酸) が放出されるシナプス後部には GABA 受容体が、それぞれ集積しています。

本研究から、シナプス前終末の消失に伴うシナプス後部の構造変化は、神経伝達物質の種類により異なることが判明しました。

グルタミン酸を放出する細胞を消失させると、入力を受けていたシナプス後部の構造は維持され、グルタミン酸受容体の集積と伝達機能の維持が観察されました。一方 GABA を放出する細胞を消失させると、GABA 受容体の集積が消失しました。最後に抑制性シナプス接着分子ニューレキシン 3α*³ を興奮性シナプス前終末に発現させると、興奮性シナプス後部に GABA 受容体の集積が誘導されることが判明しました。以上の知見は、発達期シナプス形成過程では、GABA 受容体は軸索終末依存的に集積誘導され、グルタミン酸受容体は軸索終末とは独立して集積する可能性を示唆しています。さらにこの成果は神経障害など軸索損傷が起きた際、シナプス後部がどのように構造変化し神経回路が再編されるのかという研究に発展することが期待されます。

なお、本研究成果は、2021年10月18日(月)公開の *eLife* 誌にオンライン掲載されました。



小脳の神経回路

小脳にはグルタミン酸を放出する顆粒細胞、GABA を放出するバスケット細胞、プルキンエ細胞が存在する。これらの神経細胞を選択的に除去すると、プルキンエ細胞やバスケット細胞で興奮性前終末の消失が、小脳核やプルキンエ細胞で抑制性前終末の消失が観察された。

【背景】

シナプスではシナプス前終末から神経伝達物質が放出され、シナプス後部ではその神経伝達物質に対応した受容体が発現しています。しかし、このようなシナプス前終末とシナプス後部の神経化学的対応性がどのように制御されているかは明らかにされていませんでした。

【研究手法】

本研究では、周囲の細胞に毒性を及ぼすことなく目的の神経細胞を自発的に消失させることが可能な *Stbpx1* 遺伝子^{*4}に着目し、細胞特異的 Cre リコンビナーゼ^{*5}マウスとの交配あるいはアデノ随伴ウイルス^{*6}を用いた Cre リコンビナーゼ遺伝子導入法を組み合わせることで特定の神経細胞を消失させるモデルマウスを作成することに成功しました。このマウスを用い、小脳でのシナプス前終末消失誘導後における興奮性シナプス、抑制性シナプスの変化を免疫染色法・免疫電子顕微鏡法^{*7}を用いて明らかにしました。

【研究成果】

小脳皮質は興奮性ニューロンである顆粒細胞、抑制性ニューロンであるプルキンエ細胞、バスケット細胞などの数種類のニューロンから構成され、それぞれが興奮性及び抑制性シナプスで接続して神経回路を作っています (p1.図)。顆粒細胞特異的 *Stbpx1* 欠損マウスでは顆粒細胞の軸索がほぼ消失し、そのシナプス入力を受けるプルキンエ細胞及びバスケット細胞では興奮性シナプスの痕跡と思われるシナプス後部様構造が観察されました。興味深いことに、これらの構造は電子顕微鏡でも観察され、シナプス後部における興奮性グルタミン酸受容体の集積も維持されていました (図 1)。このマウスを用いた急性スライス実験では、局所的にグルタミン酸を投与することにより、プルキンエ細胞で興奮性の応答が記録されることから、グルタミン酸受容体は神経前終末が消失しても機能を維持したままシナプス後部に集積し続けることが明らかとなりました。次に、プルキンエ細胞特異的及びバスケット細胞特異的 *Stbpx1* 欠損マウスを作成したところ、抑制性神経終末の消失が観察されました。これらの標的となる小脳核やプルキンエ細胞体ではシナプス後部が消失し、抑制性 GABA 受容体の集積も観察されませんでした (図 2)。延髄下オリブ核は登上線維と呼ばれる軸索をプルキンエ細胞に投射し、興奮性シナプスを形成しています。この下オリブ核に抑制性シナプス前終末に発現するシナプス接着分子ニューレキシン 3 α を、アデノ随伴ウイルスを用いて強制発現させたところ、興奮性シナプスであるはずの登上線維-プルキンエ細胞シナプス後部において抑制性 GABA 受容体が集積するという興味深い結果が得られました (図 3)。以上の結果は興奮性シナプス後部におけるグルタミン酸受容体の集積はシナプス前終末非依存的に起こるのに対し、抑制性シナプス後部における受容体の集積はシナプス前終末によって誘導・維持されることを物語っています。

本研究成果は神経障害時におけるシナプス後部の挙動についての理解に大きく貢献すると考えられます。脳梗塞や血行障害などにより一時的に低下した運動機能が、残存ニューロンの軸索分化によって一部回復することが知られていますが、再生した軸索終末が標的細胞だけでなく、本来結合すべきでない細胞との間にシナプスを形成することが問題となっていました。今回得られた研究成果は神経回路再編時におけるシナプス選択性を制御する分子基盤の解明へとつながると考えられます。

【今後への期待】

今回得られた結果から、興奮性シナプス後部の分化と維持は自発的に起こり、抑制性シナプス後部の分化と維持はシナプス前終末に依存することが明らかとなりました。この成果は成熟した神経回路において軸索終末を消失させたときのシナプス構造変化がシナプスの種類によって異なることを示唆します。本研究成果は、神経障害時における回路再編がより選択的に行われる分子機構の解明に発展していくことが期待できます。

論文情報

論文名	Excitatory and inhibitory receptors utilize distinct post- and trans-synaptic mechanisms in vivo (興奮性及び抑制性受容体局在様式には、それぞれ異なるシナプス後部及びシナプス間メカニズムが存在する)
著者名	Taisuke Miyazaki ^{1,2,3} , Megumi Morimoto-Tomita ¹ , Coralie Berthou ⁴ , Kotaro Konno ³ , Yoav Noam ¹ , Tokiwa Yamasaki ¹ , Matthijs Verhage ⁵ , Pablo E. Castillo ⁴ , Masahiko Watanabe ³ , Susumu Tomita ¹ (¹ イェール大学医学部神経科学教室, ² 北海道大学大学院保健科学研究院, ³ 北海道大学大学院医学研究院解剖発生学教室, ⁴ アルバート・アインシュタイン医科大学神経科学教室, ⁵ アムステルダム自由大学認知研究センター及び同大メディカルセンター)
雑誌名	eLife (生物学の専門誌)
DOI	10.7554/eLife.59613
公表日	2021年10月18日(月)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院保健科学研究院 准教授 宮崎太輔 (みやざきたいすけ)

T E L 011-706-3330 メール miyazaki@med.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.hs.hokudai.ac.jp/archives/staff/21467/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

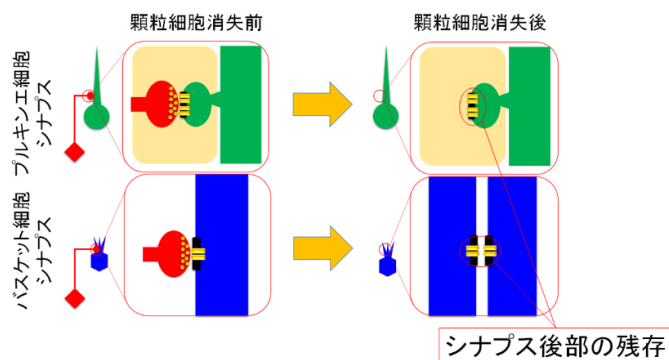


図 1. 興奮性神経前終末の消失前後の比較

顆粒細胞を除去して興奮性終末が消失すると、プルキンエ細胞ではスパインと呼ばれるシナプス後部の突起構造はそのまま維持され、グルタミン酸受容体もシナプス後部に残存していた(上)。バスケット細胞では、シナプス後部同士が接着して、グルタミン酸受容体の残存も観察された。

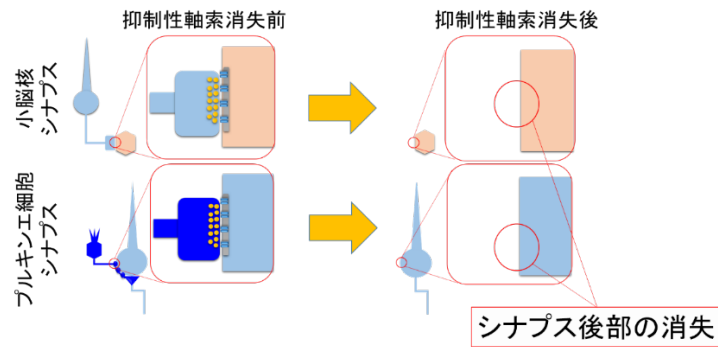


図 2. 抑制性神経前終末の消失前後の比較

プルキンエ細胞やバスケット細胞を除去して抑制性終末が消失すると、小脳核（上）、プルキンエ細胞（下）の両方においてシナプス後部構造は消失し、受容体の集積も消失した。

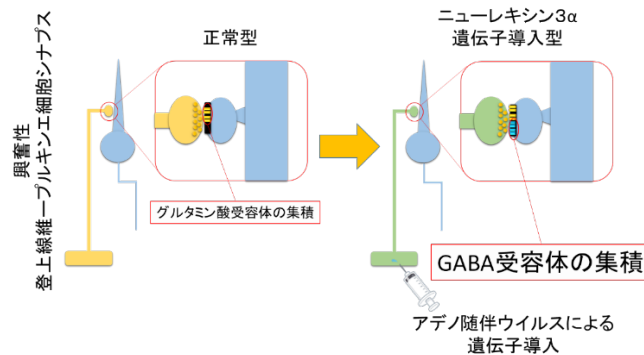


図 3. 興奮性終末にニューレキシン 3 α 遺伝子を導入した場合の、シナプス後部に GABA 受容体の集積が誘導されるイメージ図

アデノ随伴ウイルスを用いて興奮性登上線維終末にニューレキシン 3 α を強制発現するとシナプス後部に GABA 受容体の集積が誘導された。

【用語解説】

- * 1 神経伝達物質 … シナプス前終末からシナプス後部へと放出される化学物質。主要なものとしてグルタミン酸や GABA などのアミノ酸系伝達物質が知られている。グルタミン酸はシナプス後部の細胞を興奮（脱分極）させて細胞発火を促進させるのに対し、GABA はシナプス後部の細胞を抑制（過分極）させ、細胞発火頻度を低下させる。
- * 2 受容体 … 神経伝達物質と結合して、シナプス後部に情報を伝達する分子装置。それぞれの神経伝達物質に対応したグルタミン酸受容体や GABA 受容体などがある。
- * 3 ニューレキシン 3 α … ニューレキシンはシナプス前終末に発現し、シナプス後部に発現するニューロリジン 1 と結合することでシナプス間の結合に関わる接着分子。ニューレキシン 3 α は主に抑制性終末に発現することから、抑制性シナプス結合に関わる分子のひとつと考えられている。

- * 4 Stbpx1 … 神経伝達物質は神経前終末においてシナプス小胞と呼ばれる多数の細胞内膜構造に充填されている。Stbpx1 はシナプス小胞を細胞膜に融合させる働きをもち、神経前終末から神経伝達物質の放出に関わる分子。Stbpx1 は脳全体に広く発現しているが、この遺伝子を欠損させた神経細胞では周囲の細胞へ毒性を及ぼすことなく、自発的に死んでいく。

- * 5 Cre リコンビナーゼ … 遺伝子に人為的に組み込まれた認識配列を切断する“遺伝子ハサミ”。欠損させたい遺伝子の両端にこの認識配列を挿入すると、Cre リコンビナーゼの働きによって標的遺伝子を選択的に欠損させることができる。

- * 6 アデノ随伴ウイルス … 生物の細胞に対して感染力をもち、自身にコードされた遺伝子を感染細胞に送り込むことで目的の分子を感染細胞に産生させる事ができる。病原性が非常に低く、遺伝子治療や基礎実験で広く使用されている。

- * 7 免疫染色法・免疫電子顕微鏡法 … 抗体を用いてタンパク質の発現を捉える組織化学法を免疫染色法という。電子顕微鏡を用いた高解像度の分子検出を行う場合、免疫電子顕微鏡法という。細胞や組織内の分子の分布や局在を調べることができる。