

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04259

研究課題名(和文) シナプス可塑性時のグルタミン酸受容体動態解析

研究課題名(英文) Dynamics of glutamate receptor during synaptic plasticity

研究代表者

平野 丈夫 (Hirano, Tomoo)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：50181178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：学習と記憶の細胞レベルの基盤現象であるシナプス可塑性の一型である長期抑圧の発現機構を、私たちが開発した新実験手法で調べた。海馬領域の興奮性シナプスで起こる長期抑圧はシナプス後部のAMPA型グルタミン酸受容体数の減少により起こり、その主因は受容体のエンドサイトーシスによる細胞内への取り込みの増強と考えられていた。私たちは、AMPA受容体を蛍光タンパク質で標識し、培養した海馬神経細胞でその個々のエンドサイトーシスとエキソサイトーシスを高いシグナル・ノイズ比と高時空間分解能で可視化する手法を開発し、長期抑圧発現にはAMPA型受容体のエキソサイトーシスの減少が重要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have studied expression mechanism of long-term depression (LTD) using a novel experimental method we developed. LTD is a type of synaptic plasticity, which is a cellular basis of learning and memory. The LTD expression is accompanied by the decrease in number of postsynaptic AMPA-type glutamate receptor, which was suggested to be caused by enhancement of endocytosis. We labelled AMPA receptor (AMPA) with fluorescent protein SEP, and performed live-cell imaging of AMPAR-SEP in cultured hippocampal neurons. The new method enabled us to visualize individual endo- and exocytosis of AMPAR with a high signal to noise ratio and high spatiotemporal resolution. The results indicate that hippocampal LTD is primarily caused not by the enhancement of AMPAR endocytosis but by the suppression of AMPAR exocytosis.

研究分野：神経科学

キーワード：シナプス可塑性、グルタミン酸受容体、エキソサイトーシス、エンドサイトーシス、海馬、蛍光イメージング、長期増強、長期抑圧

## 1. 研究開始当初の背景

シナプス可塑性は、神経活動依存性の情報伝達効率変化であり、学習と記憶の基盤現象である。その異常は、神経・精神疾患の一因となり、薬物依存症にもかかわる (Kessels & Malinow, 2009; Kauer & Malenka, 2007)。シナプス可塑性には、持続的な情報伝達亢進である長期増強と持続的減弱が起こる長期抑圧があり、海馬領域の興奮性シナプスにおける長期増強と抑圧に関して多くの研究がなされてきた。各々の可塑性には、シナプス後膜上の AMPA 型グルタミン酸受容体数の増減が関与すること、受容体の細胞膜上へのエキソサイトーシス、細胞膜から細胞内への取り込みであるエンドサイトーシス、および細胞膜上での受容体の側方移動がかかわることが知られていた (Makino & Malinow, 2009; Opazo & Choquet, 2011)。AMPA 受容体は 4 つのサブユニットで構成される分子であり、海馬では GluA1, 2, 3 サブユニットが発現しており、サブユニット構成の異なる受容体は可塑性発現時に異なる振る舞いをすると想定されていた。しかしながら、各サブタイプの AMPA 受容体が、通常時、長期増強時、長期抑圧時の各々において、どのような挙動を示すかは不明であった。特に、受容体のエンドサイトーシスについては、シナプス可塑性に際して、いつどこでどのタイプの受容体が細胞内に取り込まれるのかが不明であった。

私たちは、シナプス後膜内外での AMPA 受容体の動態を高時間空間分解能で可視化できる新実験手法を確立し、海馬の長期増強に際して、異なるサブタイプの AMPA 型グルタミン酸受容体がシナプス後膜内外で各々が固有の動態変化を示すことを報告した (Tanaka & Hirano, 2012)。実際には、培養に用いるカバーガラスを、シナプス形成誘導能をもつニューレキシン分子でコートし、その上に海馬神経細胞を培養して、シナプス後膜様構造をガラス面上に直接形成させた。その上で、ガラス面上のシナプス後膜内外において、蛍光標識した AMPA 受容体を、1 蛍光分子も検出可能な高コントラストが得られる全反射蛍光顕微鏡を用いて観察した。この方法によって、AMPA 受容体のエキソサイトーシスおよび細胞膜上での側方移動を観察できた (Tanaka & Hirano, 2012)。さらに、長期増強時に、GluA1/GluA2 ヘテロ 4 量体、GluA2/GluA3 ヘテロ 4 量体および GluA1 ホモ 4 量体が、異なる場所とタイミングでエキソサイトーシスされることも明らかにした。また、実験方法と条件検討の詳細および留意事項は、Nature Protocols 誌 (Tanaka et al., 2014) で報告した。

## 2. 研究の目的

私たちが開発した新実験手法を用いたこれまでの研究により、長期増強に際してのシナプス後膜内外での AMPA 受容体のエキソ

サイトーシス変化を明らかにできた。しかしながら、受容体の制御に関して、エキソサイトーシスと対をなすエンドサイトーシスの評価は行えていない。そこで本課題で以下の研究を実施することにより、長期抑圧に際しての AMPA 受容体動態変化の全体像を明らかにすることをめざした。

(1)シナプス後膜内外での AMPA 受容体の個々のエンドサイトーシスを同定し、定量的に評価する実験方法を確立する。

(2)長期抑圧時に各サブタイプの AMPA 受容体がいつ (誘導刺激後のタイミング) どこで (シナプス後膜隣接部またはシナプス後膜外) エンドサイトーシスされるかを明らかにする。

(3)長期抑圧時の AMPA 受容体のエキソサイトーシス変化を明らかにし、エンドサイトーシスの結果と合わせて、長期抑圧時の AMPA 受容体動態を包括的に理解できるようにする。

## 3. 研究の方法

ニューレキシンでコートしたガラス面上に PSD95 と呼ばれるシナプス後部に局在する足場タンパク質が集積するシナプス後膜様構造を形成させ、その内外で蛍光標識した AMPA 型グルタミン酸受容体動態を全反射蛍光顕微鏡により観察する手法は確立されており、本研究でもその手法を用いた。なお、AMPA 受容体の蛍光標識には、pH 感受性の GFP 誘導体である SEP を用いた。また、ガラス面上にシナプス後部様構造を直接形成する手法は以下の通りであった。まずガラス面をビオチン化牛血清アルブミンでコートし、その上にビオチンと結合するストレプトアビジンを加え、次にビオチン化抗 Fc 抗体を加える。そして、その上に Fc を融合したニューレキシンを加える。この手法でニューレキシンをコーティングしたカバーガラス上に海馬神経細胞を培養すると、神経細胞はニューレキシン、ニューロリジンの結合を介してガラス面に密着し、シナプス後膜様構造がガラス面上に直接形成された (Tanaka et al., 2014)。なお、興奮性シナプス後膜は、PSD95 に赤色の蛍光を発する RFP を融合したタンパク質を用いて同定した。

エンドサイトーシスの検出方法は以下の通りである。SEP は中性では蛍光を発するが、内部が酸性のエンドゾーム等では蛍光が減弱するため、主に細胞膜上の受容体が可視化される。エンドサイトーシス後、SEP の蛍光シグナルはエンドゾーム内の酸性化により次第に減弱するが、それには時間がかかる。そこで、エンドサイトーシスされた直後の蛍光シグナルを選択的に検出できる以下の方法を用いた。U 字形で先端に小孔を開けたガラス小管 (U 管) を用いて、酸性化した液 (pH6.0) を局所投与して、注目する領域の細胞外液を素早く酸性化させ、細胞膜表面の受容体に融合した SEP の蛍光を消光し、細胞内

にエンドサイトーシスされた直後の未だ酸性化されていない小胞内の SEP 蛍光信号を選択的に検出する手法 (Merrifield et al., 2005) を適用した。

まず、AMPA 受容体の GluA1 サブユニットに SEP を融合したタンパク質が、定常時にどこで (シナプス後膜近傍またはそれ以外) どのくらいの頻度でエンドサイトーシスされるか調べた。上述した U 管を用いて、細胞外液の pH を 6.0 と 7.4 ですばやく繰り返し切り替え、pH 6.0 で新規に検出されるようになり、その後消光する蛍光信号をエンドサイトーシスされた GluA1-SEP と見なした。

これまでの研究から、長期抑圧時には、GluA1 サブユニットを含む AMPA 受容体の活発なエンドサイトーシスが起これると想定された (Brown et al., 2005; Unoki et al., 2012)。また、細胞外液の  $Mg^{2+}$  濃度を低くして NMDA を投与することにより、長期抑圧を誘導できることが報告されていた。そこで、この化学刺激により GluA1 のエンドサイトーシス頻度の増加が起こるか否かを調べた。シナプス後膜近傍およびそれ以外の細胞膜領域に分けて解析を行った。まずパッチクランプ法を用いて、NMDA 投与という化学刺激によりシナプス応答の長期抑圧が引き起こされていることを確認した。また、NMDA 受容体阻害剤の AP5 投与により、化学刺激により引き起こされる GluA1 のエンドサイトーシス変化およびシナプス応答の長期抑圧が抑えられるか調べた。

海馬神経細胞では Glu1 の他に、GluA2 と GluA3 が発現し、GluA1,2 ヘテロ 4 量体、GluA2,3 ヘテロ 4 量体および GluA1 ホモ 4 量体が存在する。そこで、次に GluA2-SEP の平常時および長期抑圧時のエンドサイトーシスも調べた。

長期抑圧時 GluA1, GluA2 のエキソサイトーシスがどのように変化するかも調べた。個々の AMPA 受容体のエキソサイトーシスの検出と頻度変化の検出方法は既に確立した手法を用いた (Tanaka & Hirano, 2012)。化学刺激により長期抑圧を引き起こし、その後で GluA1-SEP, GluA2-SEP のエキソサイトーシスがいかなる変化をするか明らかにした。細胞膜上の受容体数はエキソサイトーシスとエンドサイトーシスのバランスで決まるはずであり、長期抑圧時に両者がどのように変化して、細胞膜上の AMPA 受容体数が決まるかを推測した。

シナプスでの伝達効率については、シナプス後膜での受容体数制御が重要であり、細胞膜上でシナプス後膜とそれ以外の領域での受容体の分布比も検討する必要がある。シナプス周辺部とそれ以外の領域でのエキソサイトーシス・エンドサイトーシスの割合は、シナプス後膜とそれ以外の領域に局在する AMPA 受容体数比に影響を及ぼすと考えられる。長期抑圧発現時に各部位で GluA1, GluA2 のエキソサイトーシス・エンドサイトーシス

がどのように変化するかを明らかにすることも試みた。

上述の研究結果が通常のシナプスにも適用できるか否かを、全反射蛍光顕微鏡による観察方法の変法である斜光照明法を用いて観察領域内に存在する通常シナプスで検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 長期抑圧時の細胞膜上 AMPA 受容体数の変化

まず、海馬神経細胞の培養系で NMDA 投与により LTD が引き起こされることを、パッチクランプ法により微小シナプス後電流を記録し、その大きさが小さくなることで確認した (Fujii et al., 2018)。

ニューレキシンでコートしたガラス面上で海馬神経細胞を培養して、PSD95 が局在するシナプス後膜様構造 (PSLM) を形成させた。そして、その内外で SEP 蛍光標識した AMPA 型グルタミン酸受容体サブユニット GluA1 (GluA1-SEP) を全反射蛍光顕微鏡で観察した。NMDA を投与することにより長期抑圧を引き起こし、PSLM 内外での GluA1-SEP 輝度変化を調べた。そうしたところ、GluA1-SEP 信号は NMDA 投与により早く大きく減少した。しかしながら、この GluA1-SEP 蛍光輝度減少の一部は細胞内に存在する小胞体内の GluA1-SEP の変化を反映していると推測された。そこで、U 管を用いて細胞外液の pH を急速に酸性化 (pH 5.5) することにより、細胞内の GluA1-SEP 蛍光を求め、それを中性 (pH 7.4) 外液中で記録した全 GluA1-SEP 蛍光から差し引くことにより、細胞表面の GluA1-SEP の蛍光輝度を求めた。そうしたところ、NMDA 投与後 PSLM 内外で GluA1-SEP 蛍光輝度が数分間かけてゆっくりと減少することが判明した (Fujii et al., 2018)。

### (2) 個々の AMPA 受容体エンドサイトーシスの検出

U 管を用いた急速外液 pH 交換法により、エンドサイトーシスされた直後の GluA1-SEP を含む細胞内小胞を検出することができた。この pH 交換法では 100-200m 秒で細胞外液の pH を変更することが可能であり、4 秒間隔で pH 交換をすることができた。GluA1-SEP のエンドサイトーシスは PSLM 周辺および PSLM から離れたシナプス後膜外領域の両者で起こった (Fujii et al., 2017)。

### (3) 長期抑圧時の AMPA 受容体エンドサイトーシスの変化

NMDA 投与は PSLM でエンドサイトーシス頻度を一過性に (1 分間程度) 増加させたが、その後頻度は減少した。PSLM 外でも NMDA 投与後に同様の変化が起こったが、一過性の頻度増加は PSLM ほど顕著ではなかった。一方、その後の頻度減少は PSLM 外の方が PSLM よりも明確であった。なお、NMDA 投与以前の

GluA1-SEP のエンドサイトーシスはクラスリンおよびダイナミンに依存しなかったが、NMDA 投与開始直後に一過性に頻度増加するエンドサイトーシスはクラスリンとダイナミンに依存していた (Fujii et al., 2017)。また、一過性に上昇する GluA1-SEP のエンドサイトーシスは、個々の現象の大きさが他の時期のエンドサイトーシスよりも大きかった (Fujii et al., 2018)。LTD 発現に際して細胞膜表面の GluA1-SEP 量が数分かけて減少する時に、GluA1-SEP のエンドサイトーシスの頻度と大きさが増加していなかったことから、GluA1-SEP 信号の減少はエンドサイトーシスの増強では説明できないことがわかった (Fujii et al., 2018)。細胞表面のタンパク質量は、エキソサイトーシスとエンドサイトーシスのバランスで決まるので、次にエキソサイトーシスを調べることにした。

#### (4) 長期抑圧時の AMPA 受容体エキソサイトーシスの変化

NMDA 投与により、PSLM では GluA1-SEP のエキソサイトーシス頻度が一過性に (1 分間程度) 増加し、その後は減少傾向を示した。一方で、PSLM 以外の領域では、NMDA 投与後ゆっくりとだが明確な GluA1-SEP エキソサイトーシス頻度の減少が起こった。この PSLM 外でのエキソサイトーシス頻度減少が、細胞膜上の GluA1-SEP 数の減少を引き起こす主因と考えられた (Fujii et al., 2018)。

#### (5) 通常のシナプスでの AMPA 受容体エキソサイトーシス変化

ニューレキシンコートを行っていないガラス面上に培養した海馬培養神経細胞の通常のシナプスに斜照明法を適用して、NMDA 投与後に PSLM 内外で観察された GluA1-SEP のエンドサイトーシスとエキソサイトーシス変化と同様の現象が通常のシナプスでも起こるか否かを検討した。通常のシナプスを観察するための斜照明法では、取得された画像のシグナル・ノイズ比が高くなってしまったものの、PSLM で観察されたのと同様の変化が NMDA 投与により引き起こされることを確認できた (Fujii et al., 2018)。

#### (6) 生理的溫度での観察

これまでの実験は室温で行ってきた。動物の体温に近い 34 度でも同様の結果が得られるか検討した。34 度では SEP 蛍光輝度が減少し、また退色も早く起こるため、長期的な記録が困難であったが、NMDA 投与により室温での結果と定性的に同様の結果が得られた (Fujii et al., 2018)。

#### (7) GluA1 と GluA2 サブユニットの比較

ここまでの実験は、すべて AMPA 受容体を構成するサブユニットの一つである GluA1 に注目して実験を行ってきた。他のサブユニットも GluA1 と同様の変化を示すか否かを調べ

るために、GluA2-SEP を用いた実験を実施した。NMDA 投与後、細胞膜上の GluA2-SEP は GluA1-SEP と同様に PSLM 内外で減少したが、GluA2-SEP 量は GluA1-SEP と異なり、NMDA 投与開始 10 分後くらいから回復傾向を示した。また、NMDA 投与開始直後の PSLM での GluA2-SEP のエンドサイトーシス・エキソサイトーシス頻度については、エキソサイトーシス頻度が若干増加傾向を示したものの、明確な変化を示さなかった。一方で、PSLM 領域以外では、NMDA 投与後にエンドサイトーシスとエキソサイトーシス頻度が減少したが、その変化は GluA1-SEP と比較すると小さく、またエキソサイトーシス頻度は時間経過に伴い回復する傾向を示した (Fujii et al., 2018)。以上の結果から、LTD 発現に際して、各 AMPA 受容体サブユニットは異なる動態を示すと考えられる。海馬の AMPA 受容体の多くは、GluA1 と GluA2 各々 2 個からなるヘテロ 4 量体と GluA2 と GluA3 各々 2 個からなるヘテロ 4 量体であり、可塑性発現時等に GluA1 ホモ 4 量体が発現すると考えられている。今回の結果は、AMPA 受容体のサブタイプが LTD 発現に際して、各々が異なる変化を示す可能性を示唆している。

#### (8) トランスフェリン受容体の変化

鉄イオンの輸送にかかわるトランスフェリン受容体は、高頻度でクラスリン・ダイナミン依存性エンドサイトーシスされることから、これまでエンドサイトーシスに関する研究でしばしば実験対象とされてきた。そこで、NMDA 投与によるトランスフェリン受容体動態変化を調べ、AMPA 受容体の変化と比べてみることにした。NMDA 投与後、AMPA 受容体とは異なり、トランスフェリン受容体数は増加した。また、NMDA 投与直後にトランスフェリン受容体のエンドサイトーシス頻度は一過性に増加し、その後ゆっくりと減少してから回復する傾向を示した。一方、エキソサイトーシスは NMDA 投与直後多少増加傾向を示したが、ほとんど変化しなかった。また、トランスフェリン受容体変化は、PSLM 内外ではほぼ同様であった (Fujii et al., 2018)。以上の結果から、細胞膜上のトランスフェリン受容体の NMDA 投与後の増加は、主にエンドサイトーシスの抑制によって起こっていると思われる。AMPA 受容体とトランスフェリン受容体は、NMDA 投与による LTD 発現時に異なる動態変化を示すことが明らかになった。

#### (9) 長期抑圧時の PSD95 変化

NMDA 投与によって長期抑圧を引き起こした時には、シナプス後部の PSD に局在する PSD95 の量も増減することがわかった。本研究では PSLM を同定するために、PSD95 に赤色蛍光タンパク質である RFpT を融合したタンパク質を海馬神経細胞で発現させていたが、NMDA 投与後 PSD95 は一過的に増加し、その後元のレベルよりも減少した (Fujii et al.,

2018), PSD95 は AMPA 受容体をシナプス後膜につなぎとめることに寄与すると考えられており、長期抑圧時の PSD95 の減少は、シナプス後膜の AMPA 受容体数の減少の一因となっていることが考えられる。

#### (10) 結論

ガラス面直上に形成させたシナプス後膜様構造 (PSLM) 内外で、GluA1-SEP と GluA2-SEP の蛍光を全反射蛍光顕微鏡で観察する手法と、高速細胞外液交換法を組み合わせ、海馬神経細胞における長期抑圧発現時の AMPA 受容体動態を調べた。そして、長期抑圧の発現は、主に AMPA 受容体エキソサイトーシスの抑制により引き起こされることを明らかにした。

#### <引用文献>

1, Brown TC, Tran IC, Backos DS, Esteban JA. (2005). NMDA receptor-dependent activation of the small GTPase Rab5 drives the removal of synaptic AMPA receptors during hippocampal LTD. *Neuron* 45, 81-94.  
2, Fujii S, Tanaka H, Hirano T. (2017). Detection and characterization of individual endocytosis of AMPA-type glutamate receptor around postsynaptic membrane. *Genes to Cells* 22, 583-590.  
3, Fujii S, Tanaka H, Hirano T. (2018). Suppression of AMPA receptor exocytosis contributes to hippocampal LTD. *Journal of Neuroscience* (In press). doi: 10.1523/JNEUROSCI.3210-17.2018  
4, Kauer JA, Malenka RC. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nature Reviews Neuroscience* 11, 844-858.  
5, Kessels HW, Malinow R. (2009). Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron* 61, 340-350.  
6, Makino H, Malinow R. (2009). AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis. *Neuron*, 64, 381-390.  
7, Merrifield CJ, Perrais D, Zenisek D. (2005). Coupling between clathrin-coated-pit invagination, cortactin recruitment, and membrane scission observed in live cells. *Cell* 121, 593-606.  
8, Opazo P, Choquet D. (2011). A three-step model for the synaptic recruitment of AMPA receptors. *Molecular and Cellular Neurosciences* 46, 1-18.  
9, Tanaka H, Hirano T. (2012). Visualization of subunit-specific delivery of glutamate receptors to postsynaptic membrane during hippocampal long-term potentiation. *Cell Reports* 1, 291-298.

10, Tanaka H, Fujii S, Hirano T. (2014). Live-cell imaging of receptors around postsynaptic membrane formed on adhesion-protein-coated glass. *Nature Protocols* 9, 76-89.

11, Unoki T et al., (2012).

NMDA receptor-mediated PIP5K activation to produce PI(4,5)P<sub>2</sub> is essential for AMPA receptor endocytosis during LTD. *Neuron* 73, 135-148.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

1, Nakamura Y, Hirano T. (2016) Intracellular Ca<sup>2+</sup> thresholds for induction of excitatory long-term depression and inhibitory long-term potentiation in a cerebellar Purkinje neuron. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469, 803-808.

2, Bando Y, Irie K, Shimomura T, Umeshima H, Kushida Y, Kengaku M, Fujiyoshi Y, Hirano T., Tagawa Y. (2016).

Control of spontaneous Ca<sup>2+</sup> transients is critical for neuronal maturation in the developing neocortex. *Cerebral Cortex* 26, 106-117.

3, Hirano T., Yamazaki Y, Nakamura Y. (2016).

LTD, RP and motor learning.

*Cerebellum* 15, 51-53.

4, Fujii S, Tanaka H., Hirano T. (2017). Detection and characterization of individual endocytosis of AMPA-type glutamate receptor around postsynaptic membrane.

*Genes to Cells* 22, 583-590.

5, Wakita R, Tanabe S, Tabei K, Funaki A, Inoshita T, Hirano T. (2017)

Differential regulations of vestibulo-ocular reflex and optokinetic response by  $\beta$ - and  $\alpha$ 2-adrenergic receptors in the cerebellar flocculus.

*Scientific Reports* 7, 3944.

doi: 10.1038/s41598-017-04273-9.

6, Inoshita T, Hirano T. (2018).

Occurrence of long-term depression in the cerebellar flocculus during adaptation of optokinetic response.

*eLife*, 7, e36209.

doi: 10.7554/eLife.36209

7, Funahashi J, Tanaka H., Hirano T. (2018).

Visualization of synchronous or asynchronous release of single synaptic vesicle in active-zone-like membrane formed on neurotrophin-coated glass surface.

Frontiers in Cellular Neuroscience. 12, 140. doi: 10.3389/fncel.2018.00140  
8, Fujii S, Tanaka H, Hirano T. (2018).  
Suppression of AMPA receptor exocytosis contributes to hippocampal LTD. Journal of Neuroscience (In press) doi: 10.1523/JNEUROSCI.3210-17.2018  
9, Merkurjev D, Hong WT, Iida K, Oomoto I, Goldie BJ, Yamaguti H, Ohara T, Kawaguchi SY, Hirano T, Martin KC, Pellegrini M, Wang DO. (2018).  
Synaptic m6A epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts for dynamic tripartite synapse modulation.  
Nature Neurosci. (In press)

〔学会発表〕(計 9 件)

1, Hirano T. (2015, 5)  
“LTD and motor learning”. 7th International symposium of the society for research on the cerebellum, Brussel, Belgium.  
2, 藤井俊平、田中洋光、平野丈夫(2016, 3)  
海馬長期抑圧時における膜表面 AMPA 受容体の量的変化の精確な推定。第 93 回日本生理学会大会、札幌  
3, 船橋潤一郎、田中洋光、平野丈夫(2016, 3)  
海馬シナプス前部におけるエキソサイトーシスとエンドサイトーシスの全反射蛍光顕微鏡による可視化。第 93 回日本生理学会大会、札幌  
4, 井下拓真、平野丈夫 (2016, 3)  
視運動性眼球運動 (OKR) 適応後の小脳シナプス長期抑圧の抑制。第 93 回日本生理学会大会、札幌  
5, 田中洋光、藤井俊平、平野丈夫(2016, 6)  
シナプス後膜内外におけるグルタミン酸受容体の個々のエキソサイトーシスとエンドサイトーシスの検出法開発。68 回日本細胞生物学会大会、京都  
6, Tanaka H, Sakaguchi D, Hirano T. (2016, 7).  
Amyloid  $\beta$  suppresses exocytosis of GluA1 containing AMPA-type glutamate receptors in hippocampal long-term potentiation. 第 39 回日本神経科学大会、横浜  
7, Fujii S, Tanaka H, Hirano T. (2016, 11).  
Analyses of cell-surface amount, individual endo- and exocytosis of AMPA receptors, revealed suppression of exocytosis is important in hippocampal LTD. Neuroscience 2016, San Diego, USA.  
8, Funahashi J, Tanaka H, Hirano T. (2016, 11).  
Dynamics of synaptic vesicle protein after single vesicle exocytosis at a hippocampal presynaptic active zone recorded by a novel live-cell imaging method. Neuroscience 2016, San Diego, USA.

9, Inoshita T, Hirano T. (2016, 11)  
Training to induce adaptation of optokinetic response suppressed long-term depression in the cerebellar flocculus of mouse. Neuroscience 2016, San Diego, USA.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.neurosci.biophys.kyoto-u.ac.jp/main.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平野 丈夫 (HIRANO, Tomoo)  
京都大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：50181178

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

田中 洋光 (TANAKA, Hiromitsu)  
京都大学・大学院理学研究科・助教  
研究者番号：30705447

### (4) 研究協力者

藤井 俊平 (FUJII, Shumpei)  
船橋 潤一郎 (FUNAHASHI, Junichiro)  
坂口 大輝 (SAKAGUCHI, Daiki)  
森 智美 (MORI, Tomomi)