

令和 3 年 5 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16249

研究課題名（和文）2光子励起顕微鏡による前頭前野スパインの可塑性原理の探索

研究課題名（英文）Analysis of spine plasticity in prefrontal cortex using 2-photon microscopy

研究代表者

柳下 祥（Yagishita, Sho）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・講師

研究者番号：50721940

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：前頭葉スパインの可塑性誘発条件をケージドグルタミン酸の2光子励起により探索した結果、グルタミン酸刺激だけでは可塑性は誘発されにくい、ノルアドレナリンや活動履歴などが可塑性制御に関わることがわかった。さらにこのノルアドレナリンの作用は、 α_2 受容体を介しているが、この受容体は神経細胞には発現していないため当初予想していないような新規可塑性制御シグナル路が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前頭葉は脳高次機能に関わり、これを制御する細胞基盤の理解は精神疾患の理解などに重要である。しかし、神経細胞機能の主要な制御機序である可塑性がどのように生じてきたのかというのは殆どわかっていなかった。今回の研究成果に基づき、新たな誘発条件がわかり、このような機序が精神疾患モデルでどのように変化しているのか、治療薬作用にどのように関係しているのかといった研究へと展開する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：I explored the conditions for inducing plasticity in frontal dendritic spines using two-photon excitation of caged-glutamate, and found that glutamate stimulation alone did not induce plasticity, but noradrenaline and activity history facilitated plasticity induction. In addition, this noradrenaline action is mediated by α_2 receptors, which are not expressed in neurons, suggesting a novel and unexpected signaling pathway for activity-dependent plasticity control.

研究分野：神経科学

キーワード：樹状突起スパイン 前頭葉 形態可塑性

1. 研究開始当初の背景

頭前野は様々な脳高次機能の中核で、その基盤にはシナプス可塑性が想定されるが、具体的にどのような信号がシナプス可塑性を引き起こすかよく分かっていない。海馬シナプスの可塑性はシナプス入力と細胞発火の同期活動で容易に生じ、場所経験を逐次記憶することに対応する一方、線条体側坐核の D1 細胞のシナプスは同期活動に加えて報酬ドーパミン信号が可塑性成立要件であり (Yagishita et al., Science, 2014)、報酬による学習に対応したシナプス基盤と考えられる。このように可塑性が成立する条件解明は個体学習をシナプス基盤から理解する手がかりになる。

神経細胞の接続部であるシナプスは、シナプス可塑性により結合強度を変化することが可能であり、記憶などの脳機能に重要と考えられている。1つ1つのシナプス構造は1um以下と微小であるが、2光子アンケーシング法によりシナプス後部構造である単一スパインの刺激することで探索が可能となった。これにより、スパイン形態可塑性(頭部増大)が電気的なシナプス可塑性の基盤となることが明らかにされてきた (Matsuzaki et al., Nature 2004)。場所記憶に関わる海馬において、錐体細胞のシナプスはグルタミン酸シナプス入力と細胞の発火の同期 (spike-timing dependent plasticity, STDP)刺激によりスパイン頭部増大が生じ、この結果、頭部増大によりグルタミン酸受容体が増え、グルタミン酸受容体を介した電気的な応答も増強される (Tanaka et al, Science 2008)。この STDP 刺激で誘発される可塑性は海馬が場所経験を逐次記憶することに対応しえる。

2. 研究の目的

本研究では、前頭前野スパインの可塑性の成立条件と制御機序の探索を目的とする。具体的には、既に確立しているマウス脳スライス標本における2光子刺激系を用いて、誘発刺激パターンの探索、神経修飾物質など可塑性修飾因子の探索を行う。得られた成立条件を手がかりにイメージングを駆使し細胞内シグナル・小器官を可視化し可塑性制御機序を探索する。

3. 研究の方法

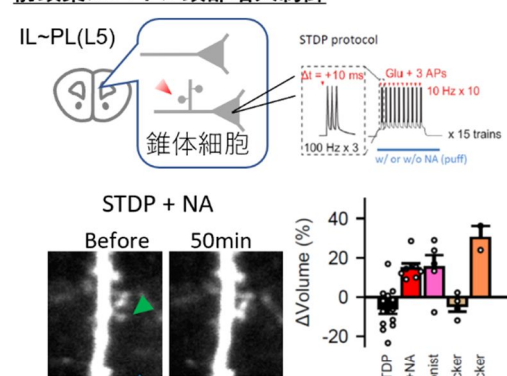
2光子刺激によるグルタミン酸アンケーシングにより単一スパインに可塑性刺激を与える際に、樹状突起の遠位側が脳表面に露出すると樹状突起ダメージになるなど、スライス条件の詳細な検討が必要であったが、この最適化に成功し、頭部増大の誘発が可能なスライス条件を見出した。この系をもちいて脳急性スライスにより可塑性誘発条件を探索した。

4. 研究成果

生理的な条件に近い同期発火を模したグルタミン酸2光子刺激によるシナプス入力と発火による STDP 刺激によりスパイン頭部増大が起きる条件を探索した。このスパイン頭部増大は一般にグルタミン酸電流の増大を伴い電気刺激における長期増強の単一スパイン基盤と考えられている。この探索の結果、まず、前頭葉スパインは STDP のみでは可塑性を起こさないが、ノルアドレナリン存在下では可塑性を起こす。ノルアドレナリンは学習に伴い前頭葉で放出される (Uematsu et al., Nat Neuro 2017)ためこの放出により可塑性が制御される可能性が考えられる。薬理的な検討からはこのノルアドレナリン作用は 2 受容体依存的で、1 受容体には依存しなかった。興味深いことに最近の Single cell RNAseq を用いた Allen Institute の研究成果 (Tasic et al, Nature 2018) によるとミクログリアが 2 受容体を発現する一方、1 は錐体細胞に発現しており、このノルアドレナリンの効果はミクログリアを介する可能性または 2 受容体が微量に錐体細胞に発現しているか薬理的な実験の限界である可能性が考えられた。

加えて、活動履歴などにより超早期遺伝子である c-fos が陽性の細胞 (全体の 5%程度) では STDP のみで可塑性が生じた。介在神経を化学遺伝学により抑制した個体から脳スライスを作ると前頭葉錐体細胞全体で

A. ノルアドレナリンによる前頭葉スパイン頭部増大制御



B. スパイン頭部増大を制御する新規シグナル路の仮説

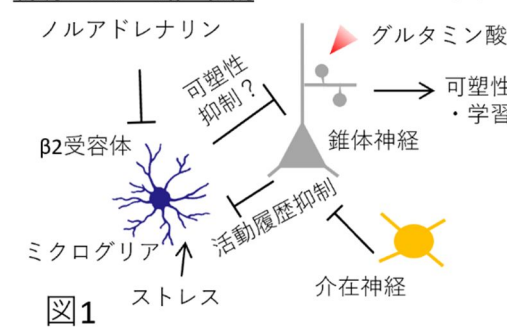


図1

c-fos 細胞の割合が増え、STDP のみで可塑性を生じる細胞の割合が増えた。また活動により転写を制御する CREB を過剰発現すると、同様に STDP のみで可塑性が生じた。化学遺伝学により錐体細胞の活動を抑制すると STDP とノルアドレナリンでも可塑性が生じなくなった。最近の研究から神経活動が β_2 受容体を介してミクログリアの機能を調節することが明らかになってきている (Stowell et al., Nat Neuro 2019; Liu et al., Nat Neuro 2019)。このことからミクログリアを介したスパイン形態可塑性の制御により活動履歴に依存した制御が一元的に説明できる可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iino Yusuke, Sawada Takeshi, Yamaguchi Kenji, Tajiri Mio, Ishii Shin, Kasai Haruo, Yagishita Sho	4. 巻 579
2. 論文標題 Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 555 ~ 560
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-2115-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yagishita Sho	4. 巻 74
2. 論文標題 Transient and sustained effects of dopamine and serotonin signaling in motivation related behavior	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 91 ~ 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.12942	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------