

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2011

課題番号：23800019

研究課題名（和文） シナプス活動を可視化して時空間特性に迫る

研究課題名（英文） Spatial-temporal structure of synaptic inputs -large-scale spine imaging study-

研究代表者

高橋 直矢 (TAKAHASHI NAOYA)

東京大学・大学院薬学系研究科・助教

研究者番号：80609842

研究成果の概要（和文）：

新規に開発した大規模スパインイメージング法を用いて、海馬ニューロンの樹状突起におけるシナプス入力の時空間パターンを観察することに成功した。興奮性ニューロンにおいては近傍のスパインが同時に活動していたことから、同期入力が樹状突起の局所に集約されていることが見いだされた。一方で、Parvalbumin 陽性の抑制性ニューロンにおいては同期入力分散型であることを見だし、ニューロン種特異的なシナプス入力の空間制御が存在することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

To reveal the spatial geometry of synaptic inputs on dendrites, we optically imaged synaptic activities from hundreds of dendritic spines in hippocampal CA3 pyramidal cells. When a neuron received synchronous synaptic inputs, the coactivated spines tended to be located closely within $\sim 10 \mu\text{m}$ along the dendrites. In contrast, synchronous inputs were dispersed over dendrites of fast-spiking basket cells, a subclass of inhibitory interneurons in CA3. Thus, spatial integration of synaptic inputs is cell-type specific.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
年度			
総計	1,300,000	390,000	1,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：神経・筋肉生理学

キーワード：神経科学、脳・神経

1. 研究開始当初の背景

シナプス活動はニューロン間のコミュニケーションそのものである。ニューロンが受けたシナプス入力は発火活動に変換されて、次のニューロンへと伝えられる。ただし個々の入力の強度は非常に弱く、単独で発火を惹

起することはできない。そのため、同時に多数の入力（同期入力）を受けて蓄積されることで、はじめて発火することができる。シナプス入力はスパイン（後シナプス構造）を介して樹状突起上で加算され、細胞体へと伝えられることでスパイク発生の駆動力を生み

出している。ここで気を付けるべき点は、シナプス入力 of 統合過程では単純な時間的加算だけでなく、空間的な加算も考慮しなくてはならないということである。樹状突起の異なる位置で受けた入力は単調（線形的）に足し合わせられるわけではない。樹状突起の幾度にも分岐した複雑な形態や、そこで不均一に発現する種々のイオンチャネルや受容体によって、入力の加算様式がさまざまに変化することが明らかとなっている。すなわち樹状突起のどこに入力したのかによって、ニューロンの興奮性は大きく左右される。ところが、こうした議論は1つ決定的な問題を抱えている。それは、実際のニューロンで生じるシナプス入力がどのような空間特性をもつのか全くわかっていないということである。これまでに示された種々の加算様式の可能性について、実際のニューロン活動における実効性を評価できずにいるのである。本研究の目標は、こうしたギャップを解消することである。すなわち、実際のニューロンで生じるシナプス入力の時空間パターンを究明していく。これまで入力の空間パターンが記述されなかった主たる理由は、適切な実験アプローチの欠如に因るところが大きい。従来、シナプス入力の観察にはパッチクランプ記録法が汎用されてきた。同手法では、細胞体より入力の時系列パターンを観測することができるものの、その際にどのスパインが活動したのかという空間情報を知ることは不可能である。そこで我々は新たな計測手法として大規模スパインイメージング法を開発した。本手法では、カルシウム蛍光指示薬を用いてシナプス入力を可視化し、その時空間パターンを観察することが可能である。

2. 研究の目的

シナプス入力はニューロンの発火活動を決定し、脳内における情報伝播の基盤であると考えられる。ニューロンの樹状突起における入力の空間加算についてはさまざまな仮説が提唱されているものの、実際のシナプス活動がどのような空間パターンを呈するのかについては明確な解答がない。本研究では、新規に開発した大規模スパインイメージング法を用いてシナプス入力を個々のシナプスレベルで可視化する。同時に数百個のシナプス部位を観測することで、そこで見出されるシナプス活動の時空間特性を解明していく。また対象とする海馬神経回路には興奮性ニューロン以外にも多種多様な介在性ニューロンが存在している。それらニューロン種間での入力特性の違いを精査することにより、シナプス活動に根差す神経回路の作動原理の本質に迫っていく。

3. 研究の方法

海馬 CA3 野に標的を絞る。同領野は密な再帰回路を形成し、スライス標本においても自発的な同期発火および集合シナプス入力 that 豊富である。大規模スパインイメージング法を CA3 野のニューロンに適用し、自発入力の時空間パターンを観察する。同法では単一細胞にカルシウム蛍光色素を導入することで、同時に数百個のスパインから入力のタイミングを計測することができる。(1) まず樹状突起においてシナプス入力 that いつ、どこで、どのような頻度で生じているのかという入力の空間特性を定量化する。(2) 次に、同期性の集合シナプス入力が生じた際に、同時に活動したスパインの空間分布を検討する。(3) 最後に、以上の手順を CA3 野の抑制性ニューロンについても行う。一般に抑制性ニューロンはスパインを持たないが、シナプス部における局所的なカルシウム活動としてシナプス入力を可視化することができる。

4. 研究成果

本研究では、ニューロンの樹状突起におけるシナプス活動の時空間特性の解明にあたった。新規に開発した大規模スパインイメージング法を用いることにより、同時に数百個のスパインから個別に入力の時系列パターンを観察することに成功した (図 1)。以下では、先の研究計画に従ってその成果を述べる。

(1) 樹状突起上での個々のシナプス入力の分布

イメージング結果から各スパインでの入力頻度を算出し、スパインの空間座標との関係を検討した。細胞体より先端側および基底側、もしくは近位および遠位での各スパインの入力頻度を比較したが、それらに有意な違いは観察されなかった。興味深いことに、スパイン間での入力頻度の偏りは大きく、20%のスパインが全体の入力数のうち 80%程度を占めていることがわかった。一部のシナプス

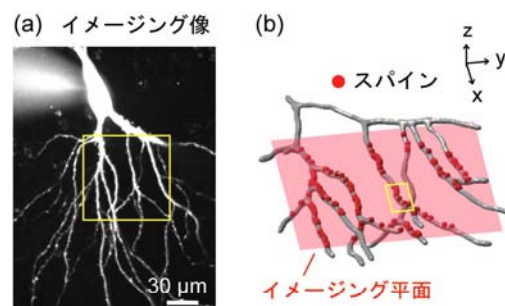


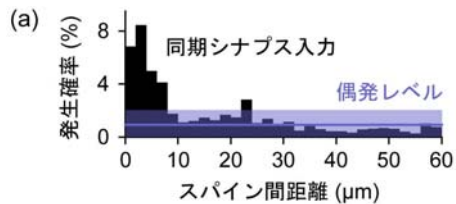
図 1. 大規模スパインイメージング法の確立 (a)

Fluo-5F によって可視化された海馬 CA3 野の錐体細胞。(b) 記録ニューロンの樹状突起の 3 次元構築像。イメージングされたスパインの空間座標を赤丸で示した。

が大部分の情報を伝播しているものと考察される。

(2) 同期シナプス入力の空間分布

同期入力の空間分布については、これまで「クラスター型」と「分散型」の2つの仮説が提唱され議論が分かれていた。そこで本研究では、100 ms 以内で同時に活動したスパインの空間配置を解析した。その結果、8 μm 以内の近傍のスパインがより高い頻度で同期入力を受けていることを見出した (図 2)。これは先の「クラスター型」を支持する結果であり、これまでの議論について明確な解答を得ることができた。本研究ではさらに、このクラスター入力の形成には NMDA 受容体の活性化が関与していることを明らかにした。



(c) クラスター入力の頻度分布

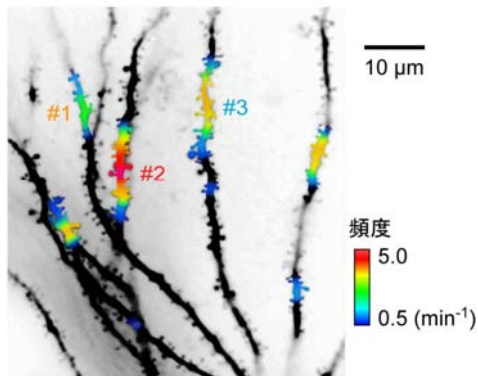


図 2. シナプス入力の空間パターンとクラスター入力 (a) 同期シナプス入力 (同時に活動したスパイン) の空間分布。8 μm 以内の近傍のスパイン間で同期入力が後頻度に観測される。(b) 同時に活動する近傍スパイン群の空間配置。

(3) ニューロン種間での時空間特性の違い
同様の検討を抑制性ニューロンである parvalbumin 陽性細胞についても行った。驚くべきことに、それらのニューロンでは同期入力は樹状突起全体に一様に分布しており、「分散型」の入力特性を有していることがわかった。これよりシナプス入力の時空間特性はニューロン種特異的であることが示唆された。

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 1 件)

① Takahashi N, Kitamura K, Matsuo N, Mayford M, Kano M, Matsuki N, Ikegaya Y, Locally synchronized synaptic inputs, *Science*, 査読有, 2012, 335:353-6, PMID: 22267814

[学会発表] (計 2 件)

① Takahashi N, Matsuki N, Ikegaya Y, Clustered synaptic inputs onto local dendrites: a large-scale spine imaging study, 第 34 回日本神経科学大会、横浜、2011 年 9 月

② Takahashi N, Matsuki N, Ikegaya Y, Locally Synchronized Dendritic Inputs in Hippocampal Pyramidal Cells, 8th FENS Forum of Neuroscience, バルセロナ、2012 年 7 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 直矢 (Takahashi Naoya)
東京大学・大学院薬学系研究科・助教
研究者番号：80609842

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

喜多村 和郎 (Kitamura Kazuo)
東京大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：60423159

松尾 直毅 (Matsuo Naoki)
京都大学・白眉センター・准教授
研究者番号：10508956

狩野 方伸 (Kano Masanobu)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40185963

松木 則夫 (Matsuki Norio)
東京大学・大学院薬学系研究科・教授
研究者番号：70126168

池谷 裕二 (Ikegaya Yuji)
東京大学・大学院薬学系研究科・准教授
研究者番号：10302613