

機関番号：12601

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17017005

研究課題名（和文） シグナル伝達ネットワークの安定性と可塑性の解析

研究課題名（英文） System analysis of stability and plasticity of signal transduction

研究代表者

黒田 真也 (KURODA SHINYA)

東京大学・大学院理学系研究科・教授

研究者番号：50273850

研究成果の概要（和文）：本研究では、シグナル伝達ネットワークの「安定性」や「可塑性」の解析対象として、シナプス可塑性を解析した。大脳新皮質のスパイクタイミング依存シナプス可塑性（STDP）の数理モデルを構築し、STDPの再現にはNMDA受容体の新規アロステリック性が必要であることを明らかにした。視蓋ニューロンは、特定方向に動く視覚刺激に反応する方向選択性と呼ばれる特性を持つ。方向選択性は、STDPにより神経ネットワークが変化することで獲得されると考えられている。STDPモデルを用いて方向選択性の学習機構を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the stability and plasticity of signaling transduction cascades. We have especially targeted synaptic plasticity. We developed a computational model of spike-timing dependent plasticity (STDP) in the cerebral cortex, and we found that a novel allosteric kinetics of NMDA receptors is required for STDP. The tectal neurons in the *Xenopus* tadpole can respond to moving visual stimuli in one preferred direction than in any other direction. Acquisition of direction selectivity has been shown to be mediated through the modification of synaptic connectivity by STDP. We proposed a mechanism for the acquisition of direction selectivity with computational models of STDP and a retino-tectal circuit.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	25,300,000	0	25,300,000
2006年度	15,400,000	0	15,400,000
2007年度	15,600,000	0	15,600,000
2008年度	15,800,000	0	15,800,000
2009年度	15,900,000	0	15,900,000
総計	88,000,000	0	88,000,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：システム生物学、シグナル伝達、シナプス可塑性

## 1. 研究開始当初の背景

シグナル伝達ネットワークは、複数の生命現象を共通のネットワークを用いて動的に制御しつつ、「安定性」や「可塑性」といったシステムとしての特性を導いている。しかし、その分子基盤に基づくダイナミクスの理解はほとんど進んでいない。

## 2. 研究の目的

本研究では、特に脳のシナプス可塑性にフォーカスしてシグナル伝達ネットワークの「安定性」や「可塑性」の解析を行う。大脳皮質におけるスパイクタイミング依存シナプス可塑性 (STDP) の実験観測による *in vivo* ダイナミクスと、コンピュータシミュレーションを用いた *in silico* ダイナミクスの両方を詳細に比較する。これにより、これまでの実験のみでは説明できない「安定性」や「可塑性」のシステム的理解やモデルから実験で検証可能な予測を導く。本研究では、主に次の2つのテーマについて研究を行う。

### (1) STDP メカニズムの解明

海馬や大脳新皮質では、プレ・ポストシナプスニューロンの発火タイミングの違いに依存して誘導される STDP が、発達や学習に重要である。申請者らは STDP の膜電位・シグナル伝達モデルを構築し、複雑なプレ・ポストの発火タイミングにより導かれる長期増強 (LTP) や長期抑圧 (LTD) 再現可能であるかどうかを検討する。もし、LTP や LTD の再現のために、新たなシグナル伝達の性質が必要であることが予言された場合は、実験で実証を試みる。さらに、モデルを簡略化してニューロンネットワークのシミュレーションに適用可能な簡易 STDP モデルを提案する。

### (2) STDP による方向選択性の獲得

開発した簡易 STDP モデルをアフリカツメガエルの視覚系神経ネットワークに適用し、STDP による視覚システムの機能獲得過程の解明を試みる。アフリカツメガエルの視覚系ニューロン的一种である視蓋ニューロンは、特定方向に動く視覚刺激を検知して発火する性質を持っている。この性質を方向選択性と呼ぶ。方向選択性は生得的な性質でなく、生後の様々な視覚経験により STDP が生じ、神経ネットワークが変化することで獲得されると考えられている。しかし、神経ネットワークがどのように変化し、方向選択性が獲得されるのか明らかでない。そこでアフリカツメガエルの視覚系神経ネットワークをコンピュータ内に再構築し、STDP によって視蓋ニューロンが方向選択性を獲得する過程の

解明を試みる。

## 3. 研究の方法

詳細な数理モデルを構築してコンピュータシミュレーションを行い、実験観測と比較しながら内部ダイナミクスを明らかにするアプローチを取った。

## 4. 研究成果

### (1) STDP メカニズムの解明

我々はシグナル伝達ネットワークに基づいた STDP モデルを開発した。開発した STDP モデルは、大脳錐体ニューロンにおいてあらゆる発火パターンにより入力される LTP と LTD を再現した。また、STDP の入力には NMDA 受容体のアロステリック効果が必要であることを示した。

まず、STDP 膜電位・シグナル伝達モデルを構築した (図 1a)。モデル中、プレシナプスニューロン発火 (プレ発火) はシナプスへのグルタミン酸刺激により表現され、ポストシナプスニューロン発火 (ポスト発火) は電流入力に伴う膜電位ダイナミクスにより表現される。ポストの膜電位を固定しつつ、一定頻度 (1Hz) のプレ発火を行うと、固定した膜電位に依存して LTP/LTD が入力された。これは、膜電位依存シナプス可塑性の実験結果と一致する。

続いて、プレシナプスニューロン-ポストシナプスニューロン (プレ-ポスト) のペア発火による STDP の再現を試みた。その結果、STDP の LTP 部分は再現できたものの、LTD 部分は再現できなかった (図 1c 左)。これは、実験より示唆されている STDP の LTD を導く機序が不完全であることを示す。先行研究では、ポスト→プレ発火時にはポスト発火に伴う VGCC (voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel) 性の  $Ca^{2+}$  シグナルが、プレ発火時の NMDA (N-methyl-D- aspartate) 受容体の活性を抑圧することで LTD を導く可能性が示唆されている。しかし、モデルシミュレーションでは、VGCC 性の  $Ca^{2+}$  シグナルよりはるかに大きな NMDA 受容体自身の  $Ca^{2+}$  シグナルが、タイミング非依存的に NMDA 受容体自身を抑圧し、ポスト発火による  $Ca^{2+}$  シグナルの検知を妨害してしまった。VGCC 性の小さな  $Ca^{2+}$  シグナルは LTD のタイミング検知器として働かなくてはならないが、同時に NMDA 受容体性の大きな  $Ca^{2+}$  シグナルはシナプス可塑性の誘導に必要である。シナプスの  $Ca^{2+}$  シグナルは、ポスト→プレ発火のタイミング検知とシナプス可塑性の誘導という2つの役割を要求されており、それを分離することができない。

このように、 $\text{Ca}^{2+}$ シグナルは2つの役割を持たなくてはならない。しかし、 $\text{Ca}^{2+}$ は一種類の分子であり、この場合空間的に同じ場所で作用している。我々は、矛盾を埋める種々の可能性を検討した結果、NMDA 受容体にアロステリック効果があるのではないかとする仮説にたどり着いた (図 1b 左)。NMDA 受容体を活性化させるグルタミン酸結合サイトと、活性を抑圧する  $\text{Ca}^{2+}\text{CaM}$  結合サイトの間のアロステリック効果があると仮定すると、ポスト発火 (VGCC 性の  $\text{Ca}^{2+}$ シグナル) による NMDA 受容体の抑圧を実現しつつ、NMDA 受容体性の  $\text{Ca}^{2+}$ シグナルによる可塑性の誘導を実現することができた。NMDA 受容体にアロステリック効果をモデルに取り入れてシミュレーションを行うと、STDP の LTD を完全に再現することができた (図 1c 右)。

さらに、我々の STDP モデルは、プレ→ポスト発火やポスト→プレ発火による STDP のみならず、プレ→ポスト→プレ発火、ポスト→プレ→ポスト発火 (Triplet)、プレ→ポスト→ポスト→プレ発火 (Quadruplet) により誘導されるシナプス可塑性ほか、ありとあらゆるニューロン発火で誘導されるシナプス可塑性を正確に再現することが分かった。さらに、実験で観測される NMDA 受容体抑圧の時間パターンもアロステリック効果の存在を支持することが分かった。ひるがえって、この結果は NMDA 受容体の未知のアロステリック効果、あるいはそれに相当する効果が STDP に必要なタイミング検知メカニズムであることを示唆する理論的予言することができた。

さらに、作成された詳細な STDP モデルを縮約し、本質を抽出した単純 STDP モデルを開発することに成功した。その結果、プレ・ポスト発火の順序にもなう NMDA 受容体の2重の役割をより明確にすることができた。この単純 STDP モデルはコンピュータシミュレーションを行う際の計算コストが低いため、多数のシナプスが各々独立に STDP を生ずる神経ネットワーク中における STDP をシミュレーションすることができる。

## (2) STDP による方向選択性の獲得

我々は、実験結果を再現するアフリカツメガエルの視覚系神経ネットワークモデルを作成し、そのモデルの解析を行なった。その結果、視蓋ニューロンが方向選択性を獲得するためには、STDPに加えて視蓋ニューロン同士の興奮性のシナプス結合が重要な役割を果たすことが分かった。

まず、解剖学や電気生理学の知見に基づいて、視覚系神経ネットワークモデルを構築した (図 2)。このモデルは、網膜神経節細胞が分布する網膜層と、視蓋ニューロンと介在ニューロンが分布する視蓋層の二層からなっ

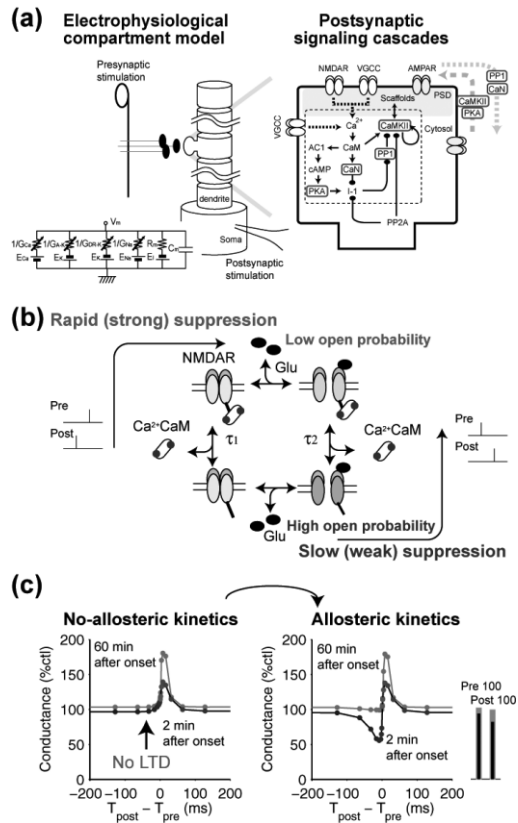


図 1 : STDP を説明する NMDA 受容体のアロステリック効果。(a) 作成した膜電位モデル (左) とシグナル伝達モデル (右)。(b) 提案する新規アロステリック効果。NMDA 受容体 (NMDAR) はグルタミン酸 (Glu) によって活性化され、その活性は  $\text{Ca}^{2+}$  が結合したカルモジュリン ( $\text{Ca}^{2+}\text{CaM}$ ) によって抑圧されるが、 $\text{Ca}^{2+}\text{CaM}$  の結合時定数 ( $\tau_1, \tau_2$ ) は、Glu 酸の有無により変化すると考えた。(c) プレ→ポスト刺激を行った際のシナプス強度変化。横軸はプレ発火 ( $T_{\text{pre}}$ ) とポスト発火 ( $T_{\text{post}}$ ) の相対時刻。左図はアロステリック効果なし。右図はアロステリック効果あり。

ている。網膜神経節細胞は、局所範囲内で光の明暗と動く方向を検知して発火する (図 2b, c)。網膜神経節細胞の発火は、2つの経路を通して視蓋ニューロンへ入力する。一つは STDP の生ずる興奮性シナプスを介する直接経路、もう一つは介在ニューロンを経由し、抑制性シナプスを介して視蓋ニューロンへ入力する間接経路である (図 2a)。さらに、視蓋ニューロン同士はお互いに興奮性の相互結合をもつ (図 2a)。つまり、視蓋ニューロンは、網膜神経節細胞からの興奮性入力と近傍の視蓋ニューロンからの興奮性入力、介在ニューロンからの抑制性入力の三つの入力を受ける。このように複雑なアフリカツメガエルの視覚系を、1) 光刺激に対する網膜神経節細胞の発火の確率モデル (図 2b, c)、2) 介在ニューロンと視蓋ニューロンの Hodgkin-Huxley 様モデル (図 2d, e)、3) 単純 STDP モデルの3つを組み合わせること

で、コンピュータ内に仮想視覚系神経ネットワークとして再現した。

続いて、視蓋ニューロンが方向選択性を獲得するプロセスを明らかにすることを試みた。アフリカツメガエルのオタマジヤクシを用いて実験を行なった先行研究によると、特定方向 (Training 方向) に移動するバーを繰り返し提示すると (図 2a, 3a)、その後、Training 方向に動く視覚刺激に対してのみ視蓋ニューロンへの入力が増大する (方向選択性、図 3b)。作成した視覚系神経ネットワークモデルに Training 方向に移動するバーを繰り返し提示すると、実験同様、Training 方向に動く視覚刺激に対して視蓋ニューロンへの入力が増大する「方向選択性」の獲得を再現することができた。図 3b, c に示すように、実験・モデル共に Training 方向に対するシナプス入力量は増えるが、それ以外の方向へ動く視覚刺激を提示した時に入力量が増えることはない。モデルにおいて可塑的な変化を与えるものは網膜神経節細胞-視蓋ニューロン間の STDP のみであるため、この方向選択性は STDP により獲得されたものである。

では、方向選択性はどのようなプロセスにより獲得されたのであろうか？ 視蓋ニューロンに対する三つの入力をそれぞれ独立に観測していくことで、視蓋ニューロンが方向選択性を獲得する機構として、下記に述べる一連のプロセスを提案した。

- ① STDP により、網膜神経節細胞から視蓋ニューロンへのシナプス群のうち、一回のバー刺激のうち最初に入力を与えるシナプス群が増強し、遅れて入力を与えるシナプス群が減弱する。つまり、視蓋ニューロンへの興奮性入力のタイミングが早くなる。

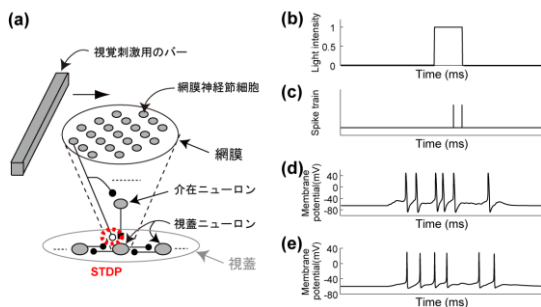


図 2：アフリカツメガエル視覚系神経ネットワークモデルの構築。(a) モデルの概要。(b-e) 光のバーを一方に一回動かした際の各ニューロンの応答。(a) 中の矢印で示した網膜神経節細胞が (b) 受容する光の強度変化と、(c) スパイクを発生する時刻。(d) 介在ニューロンの膜電位の時間変化。(e) 視蓋ニューロンの膜電位の時間変化。STDPは赤点線内のシナプスで生じる。

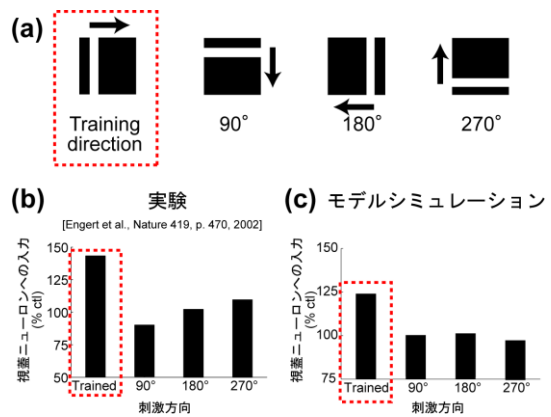


図 3：仮想視覚系神経ネットワークにおける方向選択性の獲得。(a) 提示する視覚刺激。一定方向に動く光のバーを 1 秒ごとに 60 回提示して Training を行い (赤点線内)、その後、各方向に動く光のバーを提示した時の、視蓋ニューロンへの入力を観測した。(b) 実験結果 (Engert et al., Nature 419, p. 470, 2002) と、(c) モデルシミュレーションの結果。いずれも Training を行った方向 (Training 方向) の視覚刺激を提示した場合のみ、視蓋ニューロンへの入力量の増加が観測された (赤点線内)。

- ② 介在ニューロンを介する抑制性入力に可塑性は生じない。
- ③ 結果として生じる興奮性入力と抑制性入力のタイミングのズレにより、バー刺激中、視蓋ニューロンは早期に発火し、視蓋ニューロン同士の発火タイミングは同期する。
- ④ 多数の視蓋ニューロンの発火が早いタイミングで同期すると、相互結合により、同期バースト発火が起きる。
- ⑤ 他の視蓋ニューロンから観測視蓋ニューロンへのシナプス入力量が増加する。

すなわち、方向選択性の獲得は、網膜からのシナプス入力量が増大するためではなく、視蓋ニューロン同士の同期発火に伴う、側方からのシナプス入力量の増大によって達成される。このシナリオに沿うことで、他のあらゆる実験と矛盾することなく、アフリカツメガエルの視覚系神経ネットワークにおける方向選択性の獲得を説明することができた。

## 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 10 件)

- ① Honda, M., Urakubo, H., Tanaka, K. and Kuroda, S.: Analysis of Development of Direction Selectivity in Retinotectum by a Neural Circuit Model with Spike Timing-Dependent

- Plasticity, *J. Neurosci.*, 査読有, 31 (4), 1516-1527 (2011)
- ② 0905071618  
Urakubo, H., Honda, M., Tanaka, K., and Kuroda, S.: Experimental and computational aspects of signaling mechanisms of spike-timing-dependent plasticity, *HFSP Journal*, 査読有, 3, 240-254 (2009)
- ③ 0804021633  
Urakubo, H., Honda, M., Froemke, R.C. and Kuroda, S.: Requirement of an allosteric kinetics of NMDA receptors for spike-timing-dependent plasticity, *J. Neurosci.*, 査読有, 28, 3310-3323 (2008)
- ④ 0709281803  
Ogasawara, H., Doi, T., Doya, K., and Kawato, M.: Nitric oxide regulates input specificity of long-term depression and context dependence of cerebellar learning, *PLoS. Computat. Biol.*, 査読有, 3, e179, (2007)
- ⑤ 0709281800  
Tanaka, K., Khiroug, L., Santamaria, F., Doi, T., Ogasawara, H., Ellis-Davies, G.C., Kawato, M., and Augustine, G.J.: Ca<sup>2+</sup> requirements for cerebellar long-term synaptic depression: role for a postsynaptic leaky integrator, *Neuron*, 査読有, 54, 787-800, (2007)
- ⑥ 0704221627  
Otsuji, M., Ishihara, S., Co C., Kaibuchi, K., Mochizuki, A., and Kuroda, S.: A Mass Conserved Reaction--Diffusion System Captures Properties of Cell Polarity, *PLoS. Comput. Biol.*, 査読有, 3, e108, (2007)
- ⑦ 0607231636  
Maeda, A., Ozaki, Y., Sivakumaran, S., Akiyama, T., Urakubo, H., Usami, A., Sato, M., Kaibuchi, K. and Kuroda, S.: Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub>-dependent sustained Rho-kinase activation exhibits all-or-none response, *Genes Cells*, 査読有, 11, 1071-1083 (2006)
- ⑧ 0507251307  
Doi, T., Kuroda, S., Michikawa, T., and Kawato, M.: Inositol 1, 4, 5-trisphosphate-dependent Ca<sup>2+</sup> threshold dynamics detect spike timing in cerebellar Purkinje cells, *J. Neurosci.*, 査読有, 25 (4), 950-961, (2005)
- ⑨ 0507251258  
Ozaki, Y., Sasagawa, S. and Kuroda, S.: Dynamic characteristics of transient responses, *J. Biochem.*, 査読有, 137, 659-663, (2005)
- ⑩ 0507251254  
Sasagawa, S., Ozaki, Y., Fujita, K. and Kuroda, S.: Prediction and validation of the distinct dynamics of transient and sustained ERK activation, *Nat. Cell Biol.*, 査読有, 7, 365-373, (2005)
- [学会発表] (計 9 件)
- ① Honda, M., Urakubo, H. and Kuroda, S., Acquisition of direction selectivity through STDP in retinotectum, 第 32 回日本神経科学大会, 2009 年 9 月, 名古屋
- ② Honda, M., Urakubo, H. and Kuroda, S., Simulation Analysis of Spike-Timing Dependent Synaptic Plasticity from Signal Transduction Pathway to Visual Neuronal Network, The 2nd Taiwan-Japan Young Researchers Conference on Computational and System Biology, November 2008, Tokyo
- ③ 黒田真也、浦久保秀俊、本田稔、Robert C. Froemke、Systems biology of Spike-Timing Dependent synaptic Plasticity、第 85 回日本生理学会大会、2008 年 3 月、東京
- ④ Honda, M., Urakubo, H. and Kuroda, S., Encoding of Visual Information into Neuronal Networks by Spike-Timing Dependent Synaptic plasticity, The Japan-Taiwan Young Researchers Conference on Computational and Systems Biology, March 2008, Taiwan
- ⑤ Urakubo, H., Honda, M., Robert C. Froemke. and Kuroda, S., An allosteric kinetics of NMDA receptors required for spike timing-dependent plasticity, The 37th annual meeting of the Society for Neuroscience, November 2007, San Diego, USA
- ⑥ 藤田一広、黒田真也、細胞成長を制御するシグナル伝達機構の定量的解析、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会、2007 年 12 月、横浜
- ⑦ 浦久保秀俊、スパイクタイミングシナプス可塑性のタイミング検知メカニズム、シナプス研究会「シナプスの形成と成熟の分子機序」、2007 年 12 月、岡崎
- ⑧ 浦久保秀俊、本田稔、Robert C. Froemke、黒田真也、スパイクタイミング依存シナプス可塑性のタイミング検知メカニズム、生命科学研究所ネットワークシンポジウム 2007、2007 年 9 月、東京

- ⑨ Kuroda, S., Urakubo, H. and Robert C. Froemke, Prediction and validation of a novel allosteric kinetics of NMDARs as a spike-timing detector, Cosyne 2007 meeting, February 2007, Salt Lake, USA

〔図書〕（計 1 件）

- ① 望月敦史, 石原秀至, 杉村薫, 柴田達夫, 黒澤元, 齋藤大助, 津元国親, 小林徹也, 上田昌宏, 澤井哲, 大浪修一, 本田稔, 黒田真也, 小林亮, 中垣俊之, 三浦岳, 本多久夫, 森下喜弘, 共立出版、生命科学の新しい潮流理論生物学、2010、3-4

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）  
該当なし

〔その他〕

ホームページ等

- ① STDP の電気生理・生化学モデル  
<http://www.kurodalab.org/info/STDP/index.html>  
② 0708071208（データベース）  
ミオシンリン酸化反応の生化学反応モデル  
<http://www.kurodalab.org/info/myosin.g>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

黒田 真也 (KURODA SHINYA)  
東京大学大学院理学系研究科・教授  
研究者番号：50273850

### (2) 研究分担者

川人 光男 (KAWATO MITSUO)  
株式会社国際電気通信基礎技術研究所・脳情報通信総合研究所・所長  
研究者番号：10144445  
(H19-H20: 連携研究者)