

「動くシナプス」を見る

河西春郎

総合研究大学院大学教授生理科学専攻／岡崎国立共同利用研究機構生理学研究所教授

大脳の神経回路を構成する膨大な数の神経細胞とそれらをつなぐシナプス。生きた脳でシナプスの動きを観察することにより、神経細胞のダイナミックな動きが解析できるようになった。

大脳のシナプスは分刻みで形を変えているということをご存知だろうか。シナプスのこうした動きが、脳の働きにとって非常に重要である可能性を最近のわれわれの研究は示している。シナプスとは、神経細胞どうしの接合部のことで、大脳の神経回路の特性を決める重要なポイントの1つだ。

脳科学では、観察法の革新がさまざまなレベルで進行中だが、われわれは超短パルスレーザーという光を使って、動くシナプスを解析し、神経細胞の「機能の可視化」に挑んでいる。

シナプスは神経回路網の動作のかなめ

ちょっとおさらいをしよう。脳の中に

は500億個もの神経細胞（ニューロン）が存在する。それらを接続しあうシナプスは、神経細胞の細胞体から長くのびた軸索と、他の神経細胞との間で形成される。軸索が接続する相手細胞の部位は、主に樹状突起と細胞体。細胞体とは、樹状突起の中心部で、細胞核があるところである。

神経の電気信号は、シナプスでは神経伝達物質（化学物質）に媒介されて伝わる。信号の流れる向きは、軸索から次の細胞へと常に一定だが、信号の種類には興奮性のものと抑制性のものがある。どちらの信号を伝えるかは、シナプスごとに決まっている。そして、1つの神経細胞に入力される何百ものシナプスからの信号は、合計された1つの信号となってその

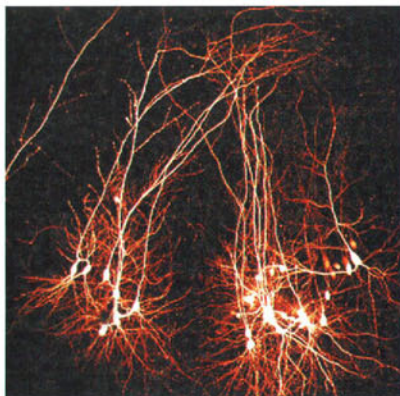
細胞から出力されていく。神経細胞ごとに、興奮性の信号を伝える細胞か、抑制性の信号を伝える細胞かはほぼ決まっている。

さて、大脳皮質を構成する神経細胞を観察すると、その約80%は、細胞体が三角形の大きい細胞で、錐体細胞と呼ばれる。代表的な興奮性の細胞で、その信号は、皮質内や脳の他の領域に出力される。錐体細胞の樹状突起をよく見ると、棘のような小さなでっぱりがぎっしりとはいえている。「スパイン」という名のこの棘が、本記事の主役である。ここにはシナプスが形成され、興奮性の信号入力を受けている。脳の興奮性シナプスの大部分が、このスパインの先に作られているの

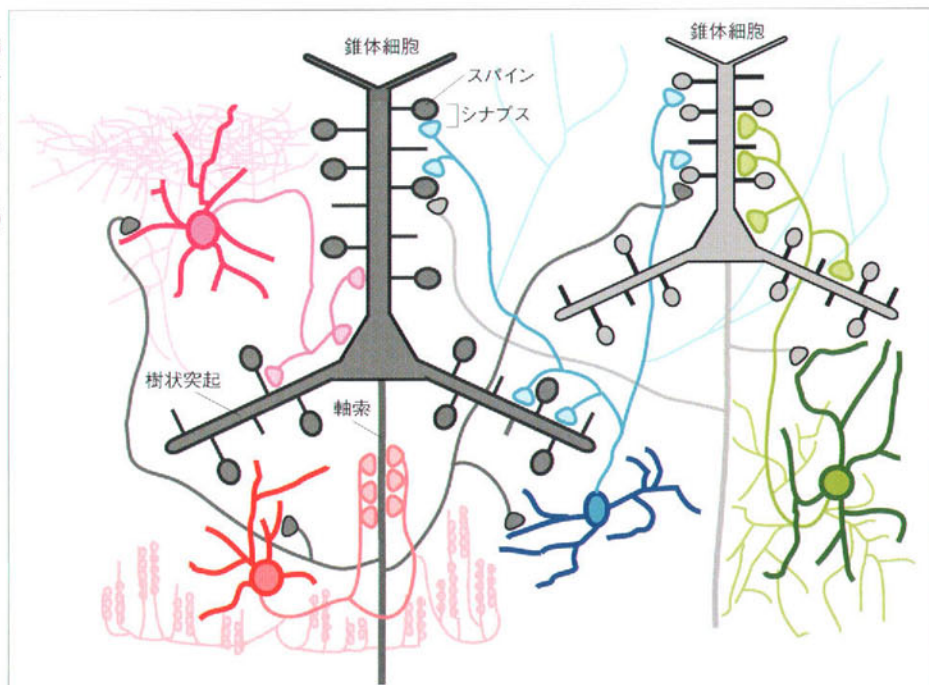
大脳皮質の神経細胞

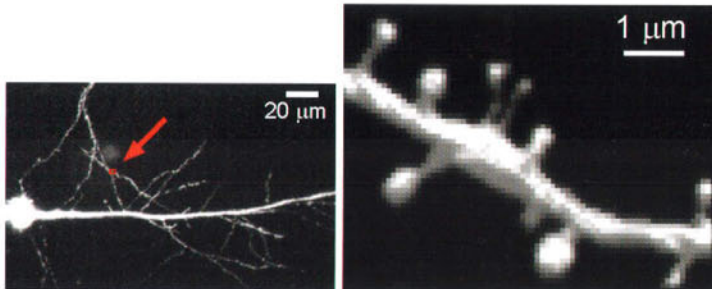
脳のなかで神経細胞（ニューロン）どうしがどのように結びついているかは、実は詳しくわかっていない。右は、生理学研究所の川口泰雄教授によって最近描かれたたいへん貴重な模式図。錐体細胞の種類や、それらの結びつき（シナプス結合）のようすがわかる。錐体細胞の樹状突起はスパインをもち、そこでシナプス結合する。

灰色：錐体細胞、赤、桃色、青、緑：いろいろな非錐体細胞。
出典：Journal of Neurocytology 31, 277-287 (2003)
Kluwer Academic Publishers, Fig.2を改変

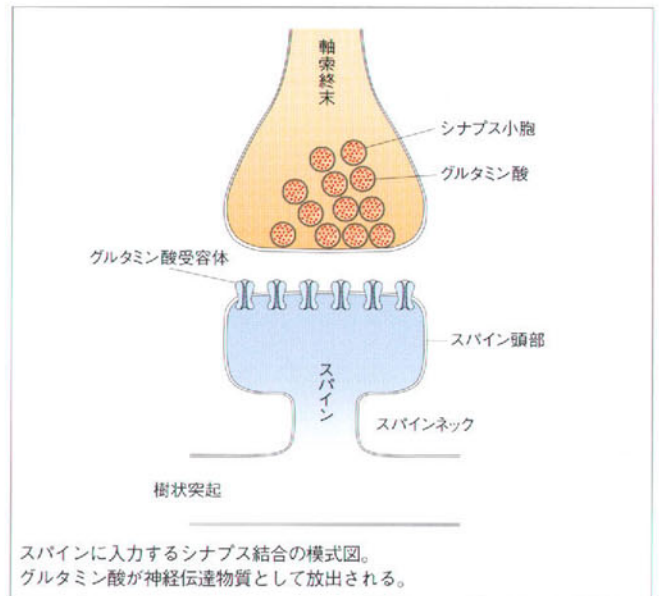


錐体細胞





錐体細胞の樹状突起(左)と、矢印部分のスパインが見えるように拡大した写真(右)。出っばっている部分がスパイン。



である。

皮質に存在する残りの神経細胞は、いろいろな形をした抑制性細胞で、皮質内の他の細胞に抑制性信号を出力する。大脳皮質の高次の機能は、この興奮と抑制の信号の巧妙なバランスにより成り立っているといえる。ちなみに、抑制性シナプスではGABA (γ-アミノ酸) が放出される。また、抑制性の神経細胞には、スパインがない。

脳の領域間で神経細胞が結合していく大枠は、遺伝的に決まっている。しかし、領域の内部で、個々の神経細胞どうしが具体的にどのように結合していくかは生後、経験依存的に獲得されるものである。そして、その結合・再編成が、個体の学習、発達、記憶に対応すると考えられている。したがって、個々のシナプスのふるまいを解析することは、脳を理解するうえで非常に重要なのである。

多様な形のスパインの存在は昔から知られていた

おもしろいことにスパインの形は1つ1つ異なっていて、実に多様である。スパインが最初に発見されたのは19世紀末。当初よりその意味についてはいろいろな推測がなされてきた。だが、大きさは0.1~0.5ミクロンと非常に小さく、機能測定が困難だった。

脳に病気があると、スパインの形は特徴的になる。たとえば、精神遅滞者では異様に細く、かつ数も減る。遺伝性疾患の脆弱性X症候群では、スパインの密度は下がることなく、細く曲がりくねったスパインが増えている。

こうしたスパイン構造の多様さはどうして起こるのだろうか。そもそも、スパインは錐体細胞の興奮性シナプスにしかみられない。興奮性シナプスにおいて軸索から放出される神経伝達物質はグルタミン酸で、スパインがそれを受け取る。感受性が高いほど、シナプスの結合が強いということになる。われわれがものを覚えるときには、シナプス結合強度が変化していると推測される。それではスパインの形とシナプス結合強度とは関係があるのだろうか。

スパインが動くという驚くべき発見

生きた脳内でスパインが観察可能になったのは最近のことだ。2光子励起顕微鏡という新世代のレーザー走査型顕微鏡の登場による。この顕微鏡は、光源として、近赤外光を出す超短パルスレーザーを用いる。連続光ではなく、100フェムト秒(フェムトは 10^{-15})という非常に短いパルス幅の光が、100MHzで出ている。つまり、光はパルス内に10万分の1に圧縮されているのである。

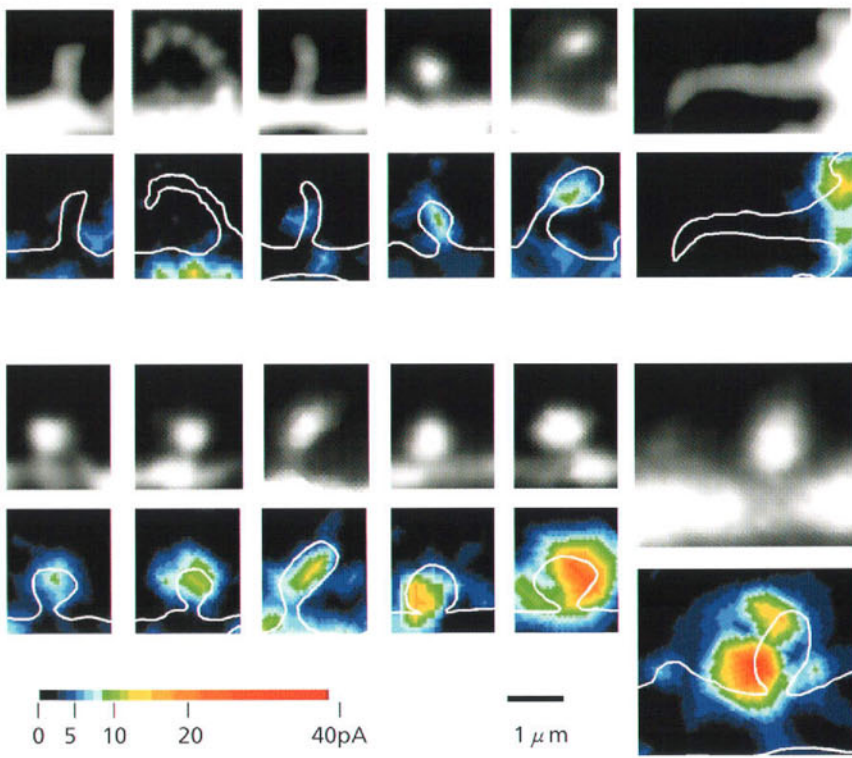
このようなレーザー光を集光すると、焦点では1つの分子に2個の光子が同時に入る、2光子励起現象が起きるようになる。こうした特殊な(非線形な)励起は、光の密度の異常に高い焦点でしか起きない。すなわち励起が断層的に生じる。

したがって、観察している面以外の無駄な励起による光の侵襲がなくなる。また、近赤外領域の光は、脳のような組織内の透過性がよいというメリットもあり、2光子励起顕微鏡は、臓器内の微細構造を生きたまま観察するのに絶好の方法なのである。

これを用いて、生きた脳標本内で蛍光染色した神経のスパインが見えるようになったのは1996年頃のことだ。そして驚いたことに、スパインは形が多様なだけでなく、自発的に形を変えながら動いていることがわかったのである。学習刺激にともなって出現したり、形を変えることも観察された。また、スパインのなかでも、とくに大きいものは1年以上安定して持続するらしいこともわかった。スパインは、いかにも脳の学習や記憶を担う構造のように思えた。

スパインの形とシナプス結合の強さの関係を調べる

そこで、スパインの形とシナプスの結合強度との関係を測定することにした。



スパインにグルタミン酸をかけると電流が発生する。それを測定して、スパインの形と電流（つまり、グルタミン酸感受性）の関係が調べられた。それぞれの上段はスパインの写真。下段は、発生した電流を色で表した図。

シナプスを刺激するのに電極を使うと、小さなスパインを1つ1つ刺激することはできないので、別な方法が必要だった。そこでわれわれが考えたのが、光を当てるとグルタミン酸を放出する光化学現象を利用する方法だった。グルタミン酸で刺激を与え、それに対する感受性を測定し、シナプスの結合強度を測るのだ。われわれ（筆者、松崎、根本、Ellis-Davies）は、この技術の開発に6年を費やした。

まず、グルタミン酸に光感受性の側鎖をつけた物質を作り出した。これは不活性で、光を当てると側鎖がはずれ、初めてグルタミン酸が活性をもつようになる。

光は脳を傷つけることなく刺激部位を自由に変えられる。光の刺激を2光子励起で加えれば、小さな一点のみを刺激でき、ちょうど軸索のシナプス前終末からの生理的なグルタミン酸放出と同様に、サブミクロン単位でグルタミン酸を放出させ、単一スパインを刺激することができる。

実験では、樹状突起表面の一点を狙って2光子励起によりグルタミン酸を放出

させ、その時この部位を流れる速いグルタミン酸電流を細胞体で記録した。この電流の大きさがグルタミン酸感受性、つまり、シナプス結合の強さを表す。このような記録を樹状突起表面の約1000点で次々に行った。その結果、シナプスの結合強度は、ほとんどゼロのものから非常に強いものまであり、結合強度の多様性が最大限に利用されているのがわかった。統計的解析から、スパインのグルタミン酸感受性はそれぞれ独立に調節可能であることも判明した。

さらに、多くの樹状突起で解析を進めると、スパインの形とグルタミン酸感受性に強い相関関係があることがわかってきた。スパインの頭部が大きいほどグルタミン酸感受性が強いのである。このグルタミン酸応答は時間的に早い反応で、AMPA型受容体（グルタミン酸受容体のサブタイプの1つ）が関与する。このAMPA受容体は1つのスパインのなかでも、シナプス後部の小さな部位に局在しているので、スパインの面積に単純に比例しているわけではない。

スパインの構造は、アクチン（細胞骨格をなすタンパク質）によって作られる。スパインの形とAMPA受容体について解明するには、アクチン分子によるスパインの構造形成機構について調べていく必要がある。

スパインの形と記憶との関係は？

シナプス結合の強さがスパインの形態で決まることが示唆された。もしそうならば、「ものを学習するときには、スパインの形が変わるのではないか」、「記憶というものは、結局、スパインの形態として保持されるのではないか」といった推測が可能となる。

スパインの形態によって受容体の種類と数が決まり、シナプスの性質も決まるのかもしれない。このように記憶が構造的なものであれば、分子が全部入れ替わってしまうような長期間にわたる記憶の保持も説明可能だ。現在、われわれはこの可能性を検証している。スパインの存在は、シナプス結合の独立可変性、その長期的保持、そして自発的運動に寄与し

ているのではないかと考えている。

「動くシナプス」がもたらす新たな研究の展開

シナプスは大腦皮質では1ミクロンに1~3個ある。たとえば、写真フィルムの銀粒子の間隔は最小1ミクロン、高容量ハードディスクでは1ミクロンに10ビット、3次元記憶媒体ホログラフィックメモリーでも1ミクロンに3ビットの密度である。つまり、脳のシナプスは現代的な記憶媒体とほぼ同じレベルの集積度をもつ。しかし、われわれが意識体験する記憶は、脳の複数の領域にまたがる神経やシナプスに分散しているので、脳機能の解明には記憶の分散状態(あるいはア

ルゴリズム)を、高い集積度で明らかにすることが必要である。結合強度が形態として保持されることが、こうした解析の手がかりとなるかもしれない。今後、脳機能の分散状態の解明と、シナプスの性質の解明が両輪となって、脳機能の理解が進んでいくと考えられる。

動くシナプスは、高次脳機能の研究と、遺伝子の働きや薬の作用の研究との重要な接点となるだろう。また、基礎研究や医療にも、多くの示唆を与える。たとえば、精神疾患で細いスパインが増大するのは、強いシナプス結合が少ないことを示唆している。その原因は形態の可塑性すなわちアクチンの調節の異常であろう。

また、自発的なスパインの動きは、無意識下、たとえば睡眠中でも考えが変化し、時として整理されることと対応するように思える。さらに、活動依存的な細いシナプスの生成や変形は、発達、機能回復、創造性、老化、薬物作用と関係しそうだ。個性や脳の病気がシナプスの運動の観点から説明される日も遠くないかもしれない。新しい光は、大脳シナプスの動きを可視化し、さらに、シナプスの動きを人工的に誘発して解析することを可能としている。神経回路に直接接触することのできるこの新しい手法で、動くシナプスの実像を解明していきたい。



河西春郎(かさいはるお)

脳の中で何が起きているかを知りたくて研究を始めた。すでによく研究されている電気活動以外に、未知の重要な現象があるはずだと追いつめられているうちに、動くシナプスに出会った。この新しい現象で、脳機能がどこまで説明されるか楽しみだ。

電顕をのぞく日々

萩原 明

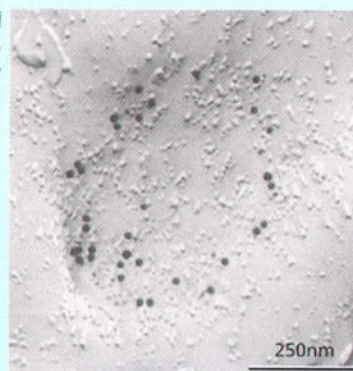
総合研究大学院大学生理学専攻3年



暗室特有の赤い光が灯る薄暗い部屋。電子顕微鏡のスイッチを入れると、試料を通過してきた電子線が、蛍光板の上にnm(10⁻⁹m)オーダーの未知なる世界を映し出す。初めてこの光景を見たとき、宇宙や深海のような、「異次元の物」を観察している感覚と、極小の不思議な世界に少しの感動を覚えた。この極小の世界から、記憶や学習などの脳がもつ機能につながる発見がしたい…。博士課程では電顕観察をしようと思った。

研究は、観察試料の作製に1~2週間、観察と解析に1週間のペースで進める。最初のころは、試料の良し悪しの判断がつかないまま実験を進めてしまった。胸をどきどきさせながら電顕をのぞくが、「これはだめだね」の一言で、実験を一からやり直し。失敗を重ねるうちに、試料作りや電顕像観察のコツがつかめてきたが、「まあこれ

シナプス前終末の膜面の凹凸と膜内粒子(白い点)、および開口放出に関わるタンパク質の金標識(黒い点)が伝達物質放出部位を取り囲むようすを示す。



ならなんとか」の域からなかなか出られない。

私の観察対象は、脳内の神経細胞が次の神経細胞へ情報を伝達する場、シナプス。情報の伝達や制御は、シナプスとその周辺に存在する数多くのタンパク質の相互作用によって行われる。これらのタンパク質の分布を、超薄切片法と凍結割断レプリカ法による免疫電子顕微鏡法で解析する。

レプリカを用いた方法では、急速凍結した脳切片を低温下で割断し、露出面の鋳型(レプリカ)をプラチナとカーボンで作製。そして、レプリカ上の分子を金粒子で標識する。この方法は膜面上の分子の2次元分布を観察する際に有効である。このような方法を用い、シナプス伝達に関連するタンパク質の分布を解析し、伝達機構の解明につながる重要事項の発見を目指している。