

研 究 報 告 書

「脳細胞光制御を用いた神経グリア相互作用の解明」

研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：松井 広

1. 研究のねらい

脳には、神経細胞間を行き交う情報と並列して、グリア細胞の織り成す複雑なネットワークを伝える情報もあることが明らかになってきた。脳機能の多くは前者によって担われていると考えられがちであるが、グリアの状態は刻々と変化し、周囲の神経活動をモニターすると同時に、神経活動レベルを細かく遷移させていることが示唆されている。本研究の目的は、両細胞間にどのような信号の行き来があるのかを明らかにすることである。従来、神経およびグリアを選択的に刺激することは容易でなかったが、各細胞の活動を光で制御する方法を開発し、それを細胞間の相互作用のメカニズムを明らかにする足がかりとして、脳内で圧倒的な数を占めるグリアが脳機能においてどんな役割を持つのか、解明を目指した。

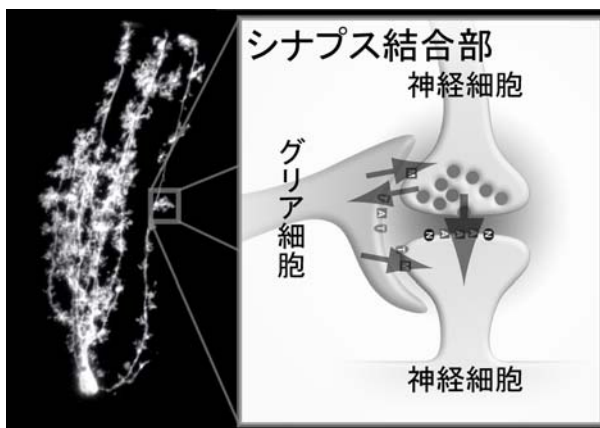
2. 研究成果

第一に注目したのは、神経組織内に張り巡らされたグリアの細い突起である。二光子イメージング法で、この突起の形態が刻々と変化する様が観察された。また、神経からグリアに向けてのグルタミン酸の放出があり、グリアの受容体が活性化されることが明らかになった。このグルタミン酸を介した神経-グリア間の信号伝達により、グリアの形態が制御されていることが、電気生理学的実験で示唆された。

グルタミン酸は、神経-グリア間の信号伝達だけでなく、神経細胞間の興奮性信号伝達に主要な役割を果たしている。グリアに発現するグルタミン酸トランスポーターは、細胞外に放出されたグルタミン酸を素早く回収することで、神経細胞間のシナプス伝達を修飾していると考えられる。グリアの伸ばす微細な突起がどの程度シナプスに接近しているのか、といった形態的特徴に従って、グリア細胞がシナプス伝達を修飾する程度も左右されている可能性が見えてきた。

神経細胞間のシナプス伝達は神経活動に伴って可塑的に変化を起し、これが学習や記憶の基盤となっていると考えられる。本研究では、神経細胞に光感受性分子を特異的に発現させ、神経細胞を光刺激することでシナプス伝達の長期可塑性を誘導することに成功した。シナプスにおける神経細胞間の信号伝達効率が変化してから数時間後には、グリアを含むシナプスの構造全体が変化することが分かり、記憶の定着化の過程が形態変化として観察できることが示唆された。

神経からグリアへの信号伝達だけでなく、グリアから神経への信号伝達も存在するはずであるが、これを精緻に調べる手段はこれまで存在しなかった。そこで本研究では、グリアを選択的に光感受性分子を発現させることで、神経細胞を刺激せずに直接グリア細胞を光刺激することに成功した。この手法は、グリアの活動が周囲の神経細胞に対して与える影響を直接検証することを可能にした。光刺激によるグリアの活性化に伴い、グリアから伝達物質や各種イオンが放出され、周囲の神経細胞の活動に影響を与えていることが明らかになりつつある。



【図】脳内のグリア細胞(左、二光子蛍光像)は、細かい突起を伸ばし、神経細胞間の信号の受け渡し過程(右)を修飾する。

3. 今後の展開

神経およびグリアを個別に光刺激できるという強力なツールができたので、今後は、生きたまの動物の脳内光刺激を行うことで、グリアの活動が脳機能において果たしている役割を明らかにしていきたい。神経光刺激に伴うシナプスの構造変化には数時間かかるため、構造変化へと至るまでの過程を解きほぐすのは容易ではなく、さきがけ期間を越えて追究する必要がある。またグリアの微細突起は、光学顕微鏡では解像できないほど細い箇所もある。そこで、連続超薄切片の電顕観察像から三次元再構築するにあたって、形態を定量的に解析するためのアルゴリズムを工夫している。グリアに光感受性分子を発現させることに成功し、神経細胞間の信号伝達に使われるのと同様の伝達物質が、グリア細胞から放出されるという新たな発見をしたが、次に、どのようにして放出が生じるのかを明らかにする必要がある。今後は、生きたまの動物の脳内光刺激を行うことで、グリアの活動が脳機能に及ぼす影響を明らかにすることを目指す。

4. 自己評価

脳内では、神経細胞より圧倒的に数の多いグリア細胞は、神経細胞ほど高速ではないが、様々な場面において活性化され、情報を伝え合っており、何らかの脳機能を担っていることが示唆されてから長らく経つ。しかしグリアを伝える情報の本質、情報伝達の手段、神経細胞を伝える情報との相互作用等は明らかにされていない点が多い。それは専ら、個々の細胞を効果的に刺激し分け、応答を記録する手法が成熟していなかったことに由来する。本研究では、各細胞を光で制御し、活動や形態変化を光で計測する手法を開発することに成功した。今後、光制御・光計測法は、電極を使って脳内ネットワークシステムの動作原理を解析する方法と並んで、広く用いられる手法に発展するに違いなく、そのための基盤技術を提供するのに貢献できたと自負している。グリア細胞は、情報を電氣的に表現しているのではなく、カルシウム等のイオン濃度変化で表現している可能性が高く、そういった点でも、光計測法の対象に適している。さきがけ研究員として採用された期間を通じて、こういった手法の開発のみならず、今後追求すべきテーマの糸口をつかむことができた。その内容は、グリアの自発的形態変化、シナプス可塑性に伴う形態変化、グリアに発現するトランスポーターの役割、グリアから神経へ伝わる信号の性質等、多岐に渡る。残念ながら、論文という形で成果を公表できるのは、多くはさきがけ期間後になってしまうが、今後の展開・発展のために、3年半を有意義に使うことができたと考えている。

5. 研究総括の見解

神経細胞とグリア細胞の interaction を形態の時間変化で追跡する系を開発し、それをを用い、その間の分子の動きを明らかにし、シナプスにおけるグリア細胞に光を当てた成果として評価できる。今後、これらのミクロな現象が、どのように高次の脳機能と関連しているのかを明らかにする研究へと発展することを期待する。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.Tarusawa E, <u>Matsui K*</u> , Budisantoso T, Molnar E, Watanabe M, Matsui M, Fukazawa Y, Shigemoto R (2009) Input-specific intrasynaptic arrangements of ionotropic glutamate receptors and their impact on postsynaptic responses. <i>J Neurosci</i> 29 :12896-12908. * Corresponding author.
2.Jiang Y, Nishizawa-Horimoto N, Imura K, Okamoto H, <u>Matsui K</u> , Shigemoto R (2009) Bioimaging with two-photon-induced luminescence from triangular nanoplates and nanoparticle aggregates of gold. <i>Adv Mater</i> 21 :1-5.

(2) 特許出願

なし。

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

学会発表

・ 松井広 「神経グリア細胞間相互作用機構の解明」第 85 回日本生理学会大会(東京)(2008.3)

・ 釜澤尚美、松井広、Timotheus Budisantoso、重本隆一 “Development and function of glutamate receptor clustering in the calyx of Held synapses” 第 36 回国際生理学会(IUPS、京都)(2009.7)

・ 釜澤尚美、松井広、Timotheus Budisantoso、重本隆一 “Developmental clustering of glutamate receptors in the calyx of Held synapses” 第 32 回日本神経科学学会大会(名古屋)(2009.9)

・ 松井広、Timotheus Budisantoso、釜澤尚美、深澤有吾、重本隆一 “Presynaptic, postsynaptic, and morphological determinants of signal transmission at the retinogeniculate synapse” 第 33 回日本神経科学学会大会(神戸)(2010.9)

著作物等

・ 深澤有吾、足澤悦子、松井広、重本隆一(2008)「グルタミン酸受容体のシナプス内分布とその生理的意義」*蛋白質核酸酵素*, 53(4):435-441.