

高次脳神経機能、特に学習・記憶における シナプス可塑性の分子機構

高宮 考悟

要約：学習や記憶で代表される高次脳神経機能は、高等生物であるわたくしたちが、より人間らしく生きていく上で基本となるものであり、この脳機能なしにはわたくしたちは生きていくためのさまざまな判断や問題を解決することができない。この学習や記憶の形成と維持には、その基盤となるシナプス可塑性とよばれる現象が大きな役割を担っている。このシナプス可塑性の詳細な分子機構が近年の神経科学（脳科学）の急速な進歩により、かなり明らかとなってきた。この総説において、学習・記憶に関する学問的考え方とこれらを解明しようとする科学的アプローチを、わたくしのこれまでの研究を中心に解説した。

[平成22年3月26日入稿，平成22年4月13日受理]

はじめに

学習や記憶といった高次脳神経機能は、我々人間が人として存在するための根本的なものであり、それをより良く理解するため長年にわたって膨大な努力がなされてきた。これまでこの学習・記憶形成の基本的なメカニズムとして神経の可塑性が提唱され、最小の神経機能単位であるシナプスの学習・記憶における重要性が注目された。つづいて、これを裏付けるシナプス長期増強・長期抑圧現象が発見されると、これらが学習・記憶の*in vitro*モデルとして長く用いられ、特にその分子機構の解明に向けてさかんに研究がなされてきた。この分野の研究は、過去10年程の間、遺伝子・タンパク質レベルにおいて著しい進歩をとげ、シナプス可塑性において中心的役割を果たすグルタミン酸受容体の機能を修飾するさまざまな分子が発見されるとともに、その分子メカニズムの全貌が急激に明らかとなってきた。また、脳のさまざまな部位で異なったメカニズムによるシナプス可塑性も発見され、その多様性・複雑性が生物の高度な神経機能をもたらしていることもわ

かってきた。しかし、尚このシナプス可塑性の分子メカニズムの完全な理解には、多くの不明な部分も多く、また脳全体の中の神経ネットワークにおける働きと関連づけて明らかとすることが高次脳神経機能としての学習・記憶の形成メカニズムを理解する上で必須である。

本総説では、近年急激に明らかとなってきたシナプス可塑性の分子メカニズムをグルタミン酸受容体を中心に概説する。

記憶・学習とは

私達は、日々新しい情報や知識を獲得する。これを学習といい、その学習により獲得した情報を保持することは記憶と呼ばれる。この記憶の分類には、さまざまな見地から分類法が分かれているが、ここではまず大きく短期記憶と長期記憶とに分ける。短期記憶とは、文字通り短期間に形成されるが、容易に失われる記憶のことであり、まだ記憶として固定されていないために頭部の外傷や電気ショック等で消すことが可能である。この短期記憶のひとつとして、作業記憶といわれるものもここに分類される。この作業記憶とは、一時的に貯蔵された記憶のうち復唱を可能としている記憶のことである。典型的な

ものとして電話番号の復唱などがある。この場合通常の人の場合だいたい7ケタの数字の記憶が限界とされている。これが、電話番号を短時間でであればなんとか記憶し、その電話番号を使って即座に電話をかけることができる所以である。これら、短期記憶は、一度記憶したのち、知らず知らず短時間のうちにその記憶を失ってしまう。それに対し長期記憶は、完全に脳内に固定された記憶であり、私達が大人になっても脳裏に焼き付いている子供時代の記憶や学生時代に習った歴史の年号や地名などで、今でも思い出せるものなどは、その一例である。長期記憶の形成に関しては、短期記憶が固定されて長期記憶に移行する場合と、当初より長期記憶として脳内に貯蔵される場合の二通りが考えられている。この長期記憶は、完全に脳内に固定されているため頭部に外傷を受けた場合でも保たれ、受傷までに時間が経過していない記憶は、まだ完全に固定されていないため消去され、逆行性健忘症といった解離現象が発生してしまう。

この長期記憶は、さらに陳述記憶と非陳述記憶に分けられ、陳述記憶とは、勉強して得た教科書の知識や、過去の出来事（エピソード）の記憶などをいう。これらは、思い出そうとして思い出すことができる記憶のことであり、それら記憶の固定されている部位は、広く大脳半球に及ぶ。それに対し、非陳述記憶は、いわゆる身に付いた記憶のことであり、例えば一度覚えた自転車ののり方は、意識せずとも一生なかなか忘れることはない。また、潜在的な経験に基づく記憶もこれに含まれる。例えば、深刻な恐怖体験などにもとづく精神的・肉体的反応などである。これら非陳述記憶は、その記憶の種類により、様々な脳の部位が関与しており、運動に関係した記憶は小脳であるとか、恐怖体験にもとづくものは扁桃体などが関与しているとされている。これらも、最終的には長期記憶として広く大脳皮質に貯蔵されるとされている。

それでは、このような記憶はどのように形成され貯蔵されているのかを、もっとも研究のすすんでいる陳述記憶に関して説明する。

その前にヒトの症例であるH.M.について説明しておきたい。このH.M.は、重症のてんかん患者で、

両側内側側頭葉の切除手術を受けた。その除去された部位には、側頭葉皮質、扁桃体、海馬の一部などが含まれていた。この患者は、手術後に、その知能や人格にほとんど変化は見られなかったが重症の前方性健忘症を示した。つまり、つい先程会った人物を覚えることができなかつたり、朝に食事をしたことを忘れてしまっていた。このように、陳述記憶の形成が極端に障害されていた。このことから、側頭葉内側部の記憶形成における重要性が注目され、その後ラットによる海馬の破壊実験などで、この海馬が陳述記憶の形成に大変重要な役割をしている証拠が次々と示された。特に海馬では、迷路においてエサを探すような探索行動に必要な作業記憶に深く関与している他、場所や空間の記憶においても重要であるという実験結果なども示された。これは、虚血やアルツハイマー病などの際、海馬が最も弱く最初におかされやすい場所であり、そのような患者において周囲における自分の位置がわからなくなったり、周囲の景色を覚えられず道に迷ったりといった症状の説明となろう。現在海馬は、陳述記憶のためのさまざまな情報が一時貯留され取捨選択された後、大脳皮質に固定されるまでのふるい分けを行う記憶の入り口として考えられている。また、最近になりfunctional MRIを用いることにより生きた人間の脳活動を可視化することができるようになり、その結果からも、ものを覚えようとしている際に海馬が活性化されていることが示され、これまでの結果を支持している。

以上のような理由から、学習や記憶の研究をする上で、現在まで海馬にその研究対象が集中している。

記憶・学習と神経の可塑性

可塑性とは、物が刺激を受けるとそれに反応して変形し、その形態が保持されることをいう。研究者たちは、記憶の本質を調べて行くうちに、脳にはこの可塑性があり、これにより記憶が形成・保持されると考えた。つまり非常に抽象的であるが、ある情報が脳に入ってきて、神経がそれに対して反応性を変化させ、その情報を維持することが記憶の本体であると考えられてきた。そして、その基盤が、神経における可塑性であるとされている。具体的に神経

の可塑性は、以下の2つに分けられる。①発達期において視覚などの外部からの刺激に応じて、主に神経突起を張り巡らすことによりさまざまな神経回路の構築を行い、より効率的な神経ネットワークを作り上げて行くもので、同時に神経間の結合のための多数のシナプス形成を伴うもの（発達期における神経回路構築を伴う神経の可塑性）。この時期は、ヒトの場合乳幼児から小学校低学年ほどまでであり、この時期にある特定のトレーニングを行うと、常人では想像もつかない程の能力を発揮できるようになる。②これを過ぎてしまうと、もはや神経には、刺激に対応して神経突起を伸ばすことによる大きな神経回路の再編をすることがなくなり、学習にともなって神経間の既存のシナプス形成の強化や、局所における新たなシナプス形成が優位になってくる（成熟した神経組織におけるシナプス可塑性）。このように、ヒトを含む動物の多くで、ある時期を境に、学習や経験に応じて神経突起伸長を伴う神経回路網が発達することがほとんど停止する。この時期を臨界期といい、各神経機能によってこの臨界期の時期は異なる。例えば、視覚刺激による臨界期は、比較的早期におとずれる。乳児は、両方の眼からの刺激を常に受けて学習し、大脳皮質の視覚領域において、神経突起を伸ばして神経回路を張り巡らすことにより、その視覚機能を発達させる。もしその時期に、片方の眼を遮蔽して見えなくした場合、その対応する視覚領域の神経細胞は、全く発達できず遮蔽した側の眼は一生視覚を持つことができない。これと対照的に、いったん完成した脳において刺激の入力に対して、神経細胞間のシナプスの伝達効率が変化したり、伝達にかかわる局所のシナプスの数そのものが増減することによって、神経の反応性が変化し、それが維持されるようになる。これをシナプス可塑性といい、通常の成人における学習や記憶を形成するための主要なメカニズムの本体とされている。

ここでシナプスについて簡単に説明しておく。シナプスは、神経において神経細胞どうしをつなぐ構造であり最小の機能単位である。シナプスは、シナプス前部と後部よりなり、その間には20-50nmほどのシナプス間隙が存在する。刺激は、神経細胞内をシナプス前部に到達し、そこより神経伝達物質を放

出する。そして神経伝達物質は、シナプス間隙に拡散し、シナプス後部表面のシナプス後膜に存在する受容体に結合することにより刺激をつぎの神経細胞に伝える。中枢神経において、この神経伝達物質としてグルタミン酸が、興奮性神経伝達物質としてもっとも使われており、上記のシナプス可塑性においても主要な役割を果たしている。シナプス後部の膜上に存在するこのグルタミン酸に結合するグルタミン酸受容体は、大きくイオンチャンネル型と代謝調節型の2つに分類される。特に、このイオンチャンネル型グルタミン酸受容体は、その薬物反応性の違いからさらにNMDA型、AMPA型、カイニン酸型に分類される。これらは、いくつかのサブユニットのさまざまな組み合わせからなる4量体を形成し、その中心には、膜を貫通するチャンネル孔が存在する。リガンドであるグルタミン酸が、その細胞外領域に結合すると、受容体の立体構造の変化をおこし、このチャンネル孔が開き、イオンの流入がおこり、早い神経伝達に関与する。流入するイオンはナトリウムイオンが細胞外より内へ、カリウムイオンが細胞外へと移動する。これらイオンの流れは、興奮性シナプス後電流（Excitatory postsynaptic current: EPSC）として記録される。またある種の受容体ではカルシウムを細胞内に透過することができ、これが神経機能において重要な役割を担っている。このように、これらグルタミン酸受容体はイオンを透過することができるためイオンチャンネル型として分類される。これに対し、グルタミン酸が結合することにより、Gタンパク質を介して下流に信号を伝えるタイプのグルタミン酸受容体もあり、代謝調節型と分類され、ゆっくりとした神経伝達に関与する。イオンチャンネル型グルタミン酸受容体のうち、上記のシナプス可塑性で重要な働きをしているものは、前2者のNMDA型とAMPA型のグルタミン酸受容体である。NMDA型は、ある種のシナプス可塑性の誘導に必須であるのに対し、AMPA型のグルタミン酸受容体はほとんどすべてのシナプス可塑性を発現・維持する役割を持つ。このAMPA型グルタミン酸受容体には、4種類のサブユニットが存在し、それぞれGluR1,R2,R3,R4と呼ばれる。これらは、海馬においては、GluR1/2や

GluR2/3という組み合わせで4量体を形成している。また一部、GluR1のみで4量体を形成しているものも存在する。一般的にNMDA型のグルタミン酸受容体はカルシウムイオンを透過するが、AMPA型の場合、その4量体の中に、GluR2を含むものはカルシウムイオンを透過せず、サブユニットの組成で個々のAMPA型グルタミン酸受容体のカルシウム透過性を決定して、これらがダイナミックに変化することにより神経機能に重要な役割を演じている。またカルシウム透過性は神経毒性にも重要で、脳虚血やALSにおける関与が報告されている^{1,2)}。

グルタミン酸受容体とシナプス可塑性

ここで、またシナプス可塑性の話にもどるとする。学習や記憶の神経機能の基盤は、シナプス可塑性であるということを述べたが、実際このシナプス可塑性とは、具体的にどういったものなのであろうか。1944年にHebbという心理学者が記憶の基本原則としてシナプス可塑性を以下のように説明した、たかさんの神経回路の中である特定の2つの神経がシナプスを介して結合しており、上流の神経が興奮しそれと結合した下流の神経が興奮する。これが繰り返しおこると、たかさんあるシナプスのうち、その特定のシナプス結合が強化され、伝達効率が増すという仮説を唱えた。簡単にいうと、使われないシナプス結合は、退化していき、頻繁に使用している神経回路だけが生き残り、強化されていくといったものである。そしてこの現象こそが記憶のメカニズムではないかと考えられてきた。前述のH.M.の症例によって、海馬の記憶における重要な役割が注目されてきたころ、Bliss, Lomoによって海馬における長期増強現象 (Long term potentiation: LTP) が発見された。彼らは、生きたウサギを用いて海馬の歯状回に記録電極を留置し、そこに入力する線維にテタスと呼ばれる高頻度の強い電気刺激を加えた。そうすると歯状回の神経細胞の反応が大きく増強し、それが何日も持続するという現象を見出し、これをLTPと名付けて報告した³⁾。この現象は、まさにHebbが唱えたシナプス可塑性に合致するものであったため、このLTPこそが記憶や学習のモデルであろうと考えられた。その後、このLTPの分子メカ

ニズムを研究するために、より神経回路が明瞭でわかりやすい海馬のCA1領域におけるLTPが、脳より切り出した新鮮な切片 (急性スライス) を用いることにより研究されはじめた。この海馬の急性スライスをを用いたLTP測定とは、海馬のCA3からCA1に入力するShaffer側枝を刺激することによって得られる、CA1の錐体細胞の興奮性シナプス後電位 (Excitatory postsynaptic potential: EPSP) を測定し、その立ち上がり部分の傾きを連続的に計測したものである。まず基準となる反応を計測した後、LTPを起こす刺激である100Hzの高頻度刺激を加えると刺激に対する神経細胞の反応性が増大し、EPSPの立ち上がりの傾きが大きくなる。これを経時的に記録すると、この反応の増大が長時間に及んで増大していることがわかる。これがLTPである。逆に、Shaffer側枝へ1Hzの低頻度刺激を加えるとEPSPの低下をおこし、これが持続する。これが長期抑制現象 (Long term depression: LTD) と呼ばれる。以降、このようなLTPやLTDの計測をすることでシナプス可塑性の研究をすることが広く行われるようになった (図1)。

このころより、この海馬CA1におけるLTPは、学習や記憶のin vitroモデルとして、あまたの研究者の研究対象として注目されてきた。この海馬におけるLTPは、NMDA受容体の活性化がその誘導には必須であり、NMDA型依存性LTPと言われた。このLTPの本体である高頻度刺激後の増大したEPSPは、AMPA型グルタミン酸受容体とNMDA型グルタミン酸受容体の反応の和となっている。しかも、AMPA型グルタミン酸受容体の反応は、このEPSPの前半を形成するのに対し、NMDA型グルタミン酸受容体の反応は、前者よりやや遅れて出現しEPSPの後半部分を形成する。前述のように、LTPを記録する際、EPSPの立ち上がりの傾きを計測し、またAMPA型受容体の反応がNMDA型受容体の反応に比べ大きいことから、これらLTPやLTDの際のEPSP本体大部分はAMPA型受容体そのものの発現を見ていると言える。

その後、小脳のプルキンエ細胞において伊藤らがLTDを発見し、同様に海馬CA1においてもNMDA型依存性LTDが見つかるなど、脳の様々な部位に

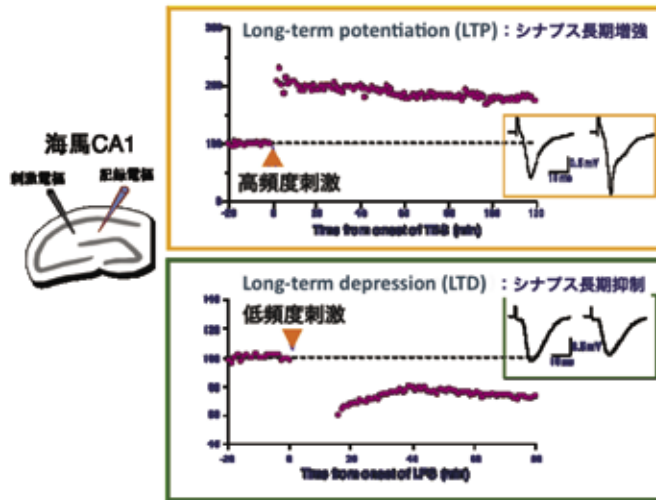


図1. 海馬CA1におけるLTPとLTD・刺激前後の個々の代表的なEPSPの変化を右側に示す。

においてLTPやLTDが報告され、またそれらはNMDA型依存性や代謝調節型グルタミン酸受容体依存性などであった。これらのことより、脳のあらゆる部位で、さまざまな調節機構によるシナプス可塑性が関与し神経機能が発現していることが示唆された。これらの中でも特に、海馬のCA1領域におけるNMDA型依存性LTPと小脳プルキンエ細胞におけるLTDに研究が集中した。これには、海馬と小脳という解剖学的に神経回路が比較的単純で、よくわかっていた部位であったことと、前者において空間記憶への関与と後者における運動学習における重要性といったことが研究者の興味を強く惹きつけたと考えられる。本稿においては、さらにこれら2つのシナプス可塑性に焦点をしばってこれらの分子機構を詳述していきたい。

シナプス可塑性の分子機構の研究

前述のLTPやLTDは、どのような分子メカニズムで発現しているのだろうか。現象としては、ある一定の入力刺激に対するシナプス反応性の持続する増大 (LTP) もしくは減少 (LTD) である。これらLTPやLTDの発現メカニズムを解明するために、大変多くの研究者が多大の労力をはらってきた。当初の議論の中心は、これらLTPやLTDの発現は、シナプス前部由来かシナプス後部由来かということ

であった。一部の報告でNO (一酸化窒素) などシナプス後部より産生されシナプス前部に働くことによってLTPの発現に関与しているとの報告もあるが、これらLTP誘導の前後において神経伝達物質の放出などの大きな変化はなく、少なくとも海馬CA1の錐体細胞におけるLTP発現は、シナプス後部由来であるということ意見がおおむね一致している。これに対し、海馬歯状回からの苔状線維とCA3との間のシナプスにおけるLTPは、神経伝達物質の放出増大によるシナプス前部由来であることがよく知られている。

さて、このシナプス後部由来でLTPを発現する際に、LTP誘導後、その刺激反応性を増大させる要因としてもっとも考えられていたことは、シナプス後膜表面に存在する受容体のリン酸化による感受性の増加であった。このことは、神経活動を観察する際にリン酸化酵素の活性化剤や阻害剤を用いた研究より明らかにされた。さらにこの考えを発展させて、LTDの際は、逆に脱リン酸化がおこっていると推測された。そしてこのリン酸化の基質として、LTPの際に増大したEPSPそのものを発現するAMPA型受容体が強く疑われた。つまりAMPA型受容体がリン酸化を受け、これによって刺激後のEPSPを増大させるという考えであった。その後、研究者達は、神経細胞においてAMPA型受容体の

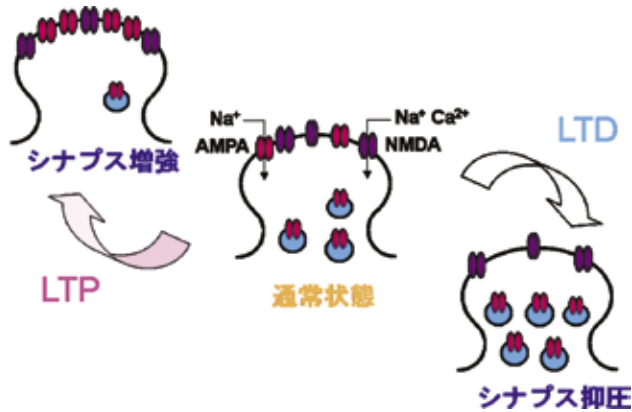


図2. シナプス可塑性 (LTPとLTD) におけるAMPA型グルタミン酸受容体のシナプス内外の動き
LTP刺激により、シナプス表面のAMPA型受容体の数が増加し、LTD刺激で減少する。

うちGluR1サブユニットが、よくリン酸化を受けており、そのリン酸化レベルがLTPやLTDといったシナプス可塑性の状態に変化することを見出した⁴⁾。つづいて、GluR1の細胞内ドメインにおけるこれらリン酸化部位を同定し、これらのリン酸化によってGluR1のチャンネル活性を上昇させることも示された。これら一連の実験結果にもとづいて、このGluR1のリン酸化部位を欠損した遺伝子変異マウスで、そのシナプス可塑性における影響と学習・記憶への役割が調べられた。そのマウスでは、海馬CA1においてなおLTPの初期相は正常に保たれていたが、その後の時間経過のうちに低下し、LTPの維持ができなくなることがわかった。さらにこのマウスにおいてLTDは、誘導後すぐに消失し、LTDにおけるGluR1のリン酸化の関与がより大きいことがわかった。また行動実験では、水迷路を用いた観察で、GluR1のリン酸化は新たな場所の記憶形成には関与しないが、その記憶の保持に重要であることがわかった⁵⁾。

その後、引き続きシナプス可塑性の分子機構の解明への努力が続けられ、最近になって新たな方向性が見出され、その解明に向け大きく前進した。

その内容を説明する前にサイレントシナプス (Silent synapse) の発見についてまず触れなくてはならない。サイレントシナプスとは、神経細胞の電気生理学的測定の際、測定に失敗することがあり当初、技術的なミスと考えられていた。ところがその

原因は、シナプスのうちNMDA受容体は存在するがAMPA受容体の存在しないシナプスが多数存在するためであることがわかった⁶⁻⁸⁾。このようなシナプスの場合、興奮した状態では膜電位が上昇し、NMDA受容体は反応する。しかし通常の状態では、シナプスの膜電位は低く、NMDA受容体はマグネシウムによりブロックされているため、見かけ上活動しないシナプスとなる。これがサイレントシナプスと呼ばれる所以である。このような現象をさらに調べていくうちに、NMDA受容体は、早期にシナプスに固定されるのに比べAMPA受容体は神経の活動状態によってシナプスの内外を移動するということがわかってきた。このようなことは、生体内で受容体分子をGFP (緑色蛍光タンパク質) で印をつけて、経時的にその動きを見ることができるようになった技術の進歩のおかげである⁹⁻¹¹⁾。

強い刺激、いわゆるLTPを起すような刺激を加えると、AMPA受容体がシナプス表面に多数挿入されて、シナプス間隙に面したシナプス後膜に局在するAMPA受容体の数が増え、神経伝達物質であるグルタミン酸に対して非常に大きくに反応する。この状態が長時間持続することから初期のLTPの発現がもたらされる。逆にLTDは、誘導刺激に対してAMPA受容体の数がシナプス後膜表面において減少することによって神経伝達の効率が低下することから引き起こされるということがわかってきた (図2)。シナプス間隙に面したシナプス後膜上に存

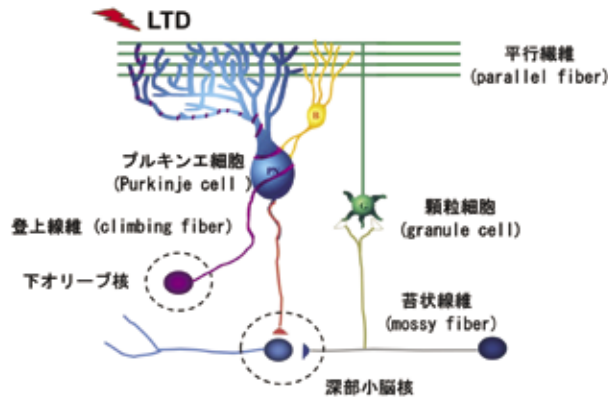


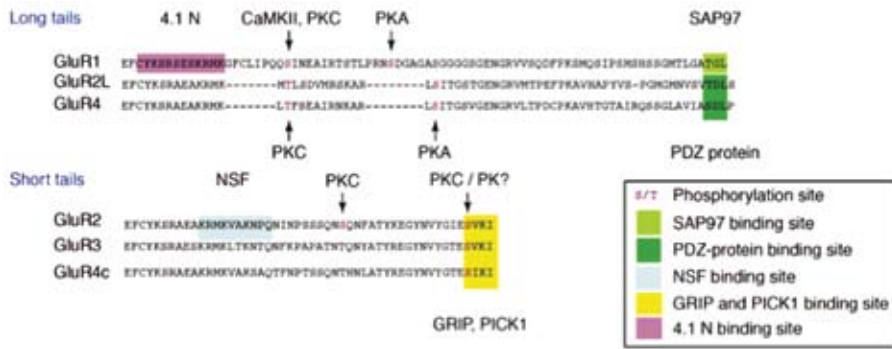
図3. 小脳における神経回路.

在するAMPA型受容体がどこから挿入されるのか。また、それらはシナプス外のどこに移動されるのかについては、はっきり結論はまだでていないが、主に、シナプス直下の小胞中に一時的に貯留され、シナプス表面と細胞内とを循環していると考えられている。またシナプス後部のシナプス前部に面した部分、いわゆるアクティブゾーンといわれるところから、側方に移動することにより、神経伝達の関与から外れる経路も報告されている¹²⁾。

いずれにせよ、シナプス可塑性の初期に、神経活動に応じてAMPA型受容体がシナプス表面を内外に移動することにより、その制御をおこなっていることがほぼ確実視されている。しかしながら、現時点でLTPやLTDの際、どのような詳細な分子機構でAMPA型グルタミン酸受容体がシナプスの内外へ輸送されるかの答えはまだ解明されていない。だが、かなり近い将来に海馬CA1におけるLTP発現の詳細がすべて明らかとされるものと思われる。これにより海馬依存性の学習・記憶の形成メカニズムの解明が大きく進むものと考えられる。

これに対し小脳プルキンエ細胞のLTDのメカニズムは、多くの部分が明らかとなっている。このLTDの発現に関与する分子は多数報告されており、それに関しては他の総説にゆずるとして、本稿では、その発現に直接関与するAMPA受容体等を中心とした発現メカニズムを中心に説明する¹³⁾。小脳の神経回路は、比較的単純で古くからよく知られている。小脳プルキンエ細胞には、基本的に二つの興奮性刺

激の入力がある。ひとつは、苔状線維が顆粒細胞に入力し、それから出た平行線維がプルキンエ細胞に入力する。二つ目は、登上線維が入力する。その他プルキンエ細胞には分子層に存在するバスケット細胞や星状細胞からの入力もあるがこれらはすべてGABAを介する抑制性の信号でありプルキンエ細胞の活動を調節しているものと考えられる(図3)。プルキンエ細胞自身も抑制性の神経細胞であり、この抑制性の信号を小脳外に送る。これが小脳からの唯一の外部出力線維で、多くの神経活動を調節する。例として運動学習や体のバランスを保つ機能が知られている。このプルキンエ細胞においてみられるシナプス可塑性はいくつかあるが、もっとも知られているものがLTDである。このLTDを発現するためには、平行線維と登上線維からの2つの興奮性の同時刺激を必要とする。この時使用される神経伝達物質がグルタミン酸である。このグルタミン酸は、プルキンエ細胞膜上に存在するAMPA型グルタミン酸受容体と結合し、細胞膜を興奮させ電位依存性カルシウムチャンネルを開き、プルキンエ細胞内へカルシウムを流入させる。また同時に、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、同じくプルキンエ細胞上に存在する代謝型グルタミン酸受容体に結合し、これを活性化させジアシルグリセロールを産生する。これら、細胞内に流入したカルシウムとジアシルグリセロールによりプロテインキナーゼCを活性化させる。活性化されたプロテインキナーゼCは、その後シナプス膜の直下に移動すると考えられ



Song and Huganir, 25, 578-588, *Trends Neurosci*, 2001

図4. AMPA型グルタミン酸受容体の細胞内のドメインのアミノ酸配列と結合タンパク質
アミノ酸配列には、結合タンパク質との結合部位とリン酸化部位を示す。

る。前述したようにプルキンエ細胞におけるLTDでは、AMPA型受容体が細胞表面から細胞内に取り込まれ、シナプスにおけるAMPA型受容体の数が減少してLTDが発現すると考えられる（図5）。それでは、どのような分子メカニズムでAMPA型受容体は細胞内に取り込まれるのであろうか？このAMPA型受容体の4つのサブユニットのうちプルキンエ細胞にはGluR1以外のGluR2, R3, R4が発現している。まず、GluR2の遺伝子を欠損したGluR2ノックアウトマウスではプルキンエ細胞におけるLTDが欠損していた。このことよりプルキンエ細胞におけるLTD発現にGluR2が必須であることがわかった¹⁴⁾。

ここで、この10年程の間にAMPA受容体の細胞内ドメインに結合する結合たんぱく質がいくつか発見されており、これらについて触れなければならない。AMPA受容体の細胞内ドメインに注目してみると、長い細胞内ドメインをもつGluR1, GluR4と、短い細胞内ドメインを持つGluR2, R3, R4に分類される¹⁵⁾。とくに後者では、そのC末端にSVKI（セリン-バリン-リジン-イソロイシン）と全く同一のアミノ酸配列を持ち、この部位に結合するたんぱく質としてGRIP (Glutamate Receptor Interacting Protein) 1/2, PICK (Protein Interacting C Kinase) 1が報告された（図4）。これらは、ともにPDZドメインをもつたんぱく質であり、GluR2のC末端にあるSVKIの配列は、このPDZドメインが結合するコンセンサス配列である。GRIP1とGRIP2は同系列のたんぱく質であり7つのPDZドメインを持ち、5番目

のPDZドメインでGluR2のC末端と結合する。それに対しPICK1は、一つのPDZドメインを持ち、ここでGluR2のC末端と結合する。これらGRIP1, GRIP2とPICK1の生体内での機能を検討するために、これら遺伝子を破壊したノックアウトマウスを用いて、小脳プルキンエ細胞におけるLTDを調べてみた。そうすると、GRIP1, GRIP2の単独のノックアウトマウスでは正常のLTDを発現するが両者をともに欠損したマウスではプルキンエ細胞のLTDを消失したことから、GRIP1とGRIP2は相補的な役割をもってLTD発現に関与していると考えられた。さらに、PICK1を欠損したマウスにおいてもLTDは消失していた。さてそれではGRIP1, GRIP2とPICK1はどのようにしてLTD発現に関与しているのであろうか。これら結合たんぱく質とGluR2のC末端との結合において、大事な制御機構がみつかった。それは、プロテインキナーゼCによってGluR2のC末端のSVKIのS（セリン）がリン酸化されることが明らかとなった。さらにこのリン酸化したGluR2のC末端にGRIP1/2は、結合できないが、PICK1はこのリン酸化されたGluR2のC末端に結合できる^{16,17)}。つまり、通常の状態ではGluR2のC末端とGRIP1, GRIP2が結合しているが、LTDの刺激が入りプロテインキナーゼCによりGluR2のC末端のセリンがリン酸化されるとGRIP1, GRIP2はGluR2のC末端からはなれ、かわりにPICK1がリン酸化されたGluR2のC末端に結合する。さらに、GRIP1, GRIP2はこれらAMPA受容体を細胞膜に輸送し、膜表面に局在するのに関与

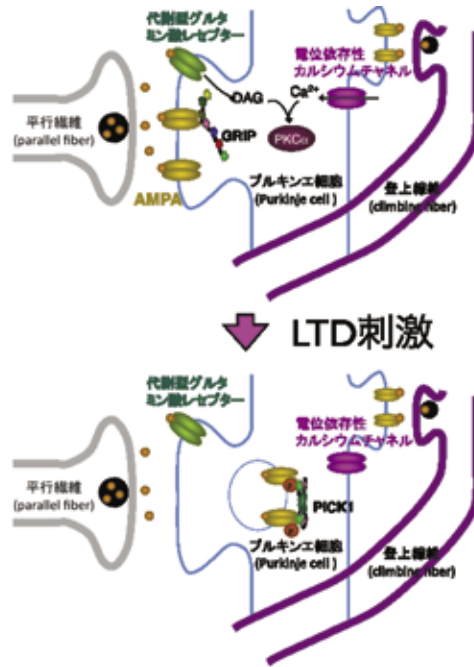


図5. 小脳プルキンエ細胞におけるLTD発現のメカニズム。

しており、PICK1に結合した受容体は、細胞内に貯留されることがわかり、小脳プルキンエ細胞のLTDにおけるAMPA受容体とその結合タンパク質の挙動が明らかとなった¹¹⁾。以上をまとめると、平行線維と登状線維から同時に刺激を受けたプルキンエ細胞ではAMPA型グルタミン酸受容体が興奮し、電位依存性カルシウムチャンネルが開口し、プルキンエ細胞内へカルシウムを流入させる。また同時に、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、同じくプルキンエ細胞上に存在する代謝型グルタミン酸受容体に結合し、これを活性化させジアシルグリセロールを産生する。これら、細胞内のカルシウムとジアシルグリセロールは、プロテインキナーゼCを活性化させる。活性化されたプロテインキナーゼCは、シナプス膜の直下に移動し、細胞膜にあるGluR2のC末端のセリンがリン酸化され、GRIP1/2と結合することによりシナプス表面に存在したAMPA受容体は、もはやGRIP1/2と結合できず、かわりにPICK1と結合して細胞内に取り込まれ、細胞内の小胞にAMPA受容体が貯留されることによ

り、細胞表面のAMPA受容体の数が減少する。そしてその結果としてLTDが発現すると考えられた(図5)。

このように、GluR2のC末端のセリンのリン酸化が、その結合たんぱく質との結合を制御することによって、小脳プルキンエ細胞におけるLTDの際の、AMPA受容体の細胞内への取り込みに重要な役割を担っていることがわかった。興味深いことに、LTPやLTDといったシナプス可塑性はAMPA受容体のシナプス内外における輸送の結果、AMPA受容体のシナプス表面に数の変化が生じることで発現されるが、その引き金として、当初シナプス可塑性の分子機構として疑われていた受容体のリン酸化がAMPA受容体の輸送の制御機構のひとつであることが明らかとなった。このようにして、現象としてはAMPA受容体のシナプス表面における数の変化によってシナプス可塑性が制御されているが、さらにその分子基盤となる受容体のたんぱく質修飾といった詳細な分子メカニズムが、今後どんどん明らかになっていくと期待される。

お わ り

これまで、学習や記憶におけるシナプス可塑性の重要性とその分子機構をAMPA型グルタミン酸受容体を中心として概説した。本稿では、*in vitro*におけるシナプス可塑性のなかでもっともその分子機構が明らかとなっている海馬CA1におけるLTPと小脳プルキンエ細胞におけるLTDを紹介した。脳には、その他おおくの異なる部位で異なるメカニズムのシナプス可塑性が存在すると考えられるが、これら二者の解明が、その他の分子機構解明の大きな足掛かりとなるであろう。このように、さまざまなシナプス可塑性が、いろんな脳部位で働くことにより、多くの神経機能の基礎となつて、わたくしたちの高次脳神経機能を生み出していると考えられる。これらの解明のためには、このシナプス可塑性のメカニズムだけでなく、さらに神経回路の理解やその後起こってくる回路の再編などを明らかとする必要もあるだろう。しかし、まずこの中でシナプス可塑性の分子メカニズムの解明が、その他の複雑な脳神経機能を解明するモデルとなり突破口がひらけるのではないかと思われる。学習や記憶は、高次脳神経機能のなかで、もっとも基本的で研究の進んでいる分野である。今後、これら分野の研究は、分子レベルから神経回路を考慮にいたした神経システムの解明、さらには個体レベルの神経機能解析を、総合的に推し進めていくことが必要である。

最後に、今回わたくしにこのような総説を書く機会を与えてくださった、宮崎県医師会に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Kawahara Y, Ito K, Sun H, et al.: Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature* 2004; 427:801.
- 2) Liu B, Liao M, Mielke JG, et al.: Ischemic insults direct glutamate receptor subunit 2-lacking AMPA receptors to synaptic sites. *J Neurosci* 2006; 26:5309-19.
- 3) Bliss TV, Collingridge GL: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361:31-9.
- 4) Lee HK, Barbarosie M, Kameyama K, et al.:

- Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 2000; 405:955-9.
- 5) Lee HK, Takamiya K, Han JS, et al.: Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* 2003; 112:631-3.
- 6) Liao D, Hessler NA, Malinow R: Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 1995; 375:400-4.
- 7) Malenka RC: Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003:1-11.
- 8) Malinow R, Malenka RC: AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2002; 25:103-6.
- 9) Shi S, Hayashi Y, Esteban JA, et al.: Subunit-specific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons. *Cell* 2001; 105:331-43.
- 10) Shi SH, Hayashi Y, Petralia RS, et al.: Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science* 1999; 284:1811-6.
- 11) Steinberg JP, Takamiya K, Shen Y, et al.: Targeted *in vivo* mutations of the AMPA receptor subunit GluR2 and its interacting protein PICK1 eliminate cerebellar long-term depression. *Neuron* 2006; 49:845-60.
- 12) Heine M, Groc L, Frischknecht R, et al.: Surface mobility of postsynaptic AMPARs tunes synaptic transmission. *Science* 2008; 320:201-05.
- 13) Ito M: Control of mental activities by internal models in the cerebellum. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9:304-13.
- 14) Chung HJ, Steinberg JP, Hugarir RL, et al.: Requirement of AMPA Receptor GluR2 Phosphorylation for Cerebellar Long-Term Depression. *Science* 2003; 300:1751-5.
- 15) Song I, Hugarir RL: Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25:578-88.
- 16) Chung HJ, Xia J, Scannevin RH, et al.: Phosphorylation of the AMPA receptor subunit GluR2 differentially regulates its interaction with PDZ domain-containing proteins. *J Neurosci* 2000; 20:7258-67.
- 17) Matsuda S, Launey T, Mikawa S, et al.: Disruption of AMPA receptor GluR2 clusters following long-term depression induction in cerebellar Purkinje neurons. *Embo J* 2000; 19:2765-74.