

機関番号：14603

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21700405

研究課題名 (和文) シナプス・タグ形成機構の生理学的解析

研究課題名 (英文) Physiological analysis of synaptic tagging

研究代表者

石川 保幸 (ISHIKAWA YASUYUKI)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号：90346320

研究成果の概要 (和文)：

活動依存的シナプス可塑性は学習・記憶に重要である。これらの記憶などの情報は個々のシナプスに書き込まれると考えられている。しかしながら、特定のシナプスに如何にしてその活動が記されている『シナプスにタグ付けされている (シナプス・タグ)』かがよくわかっていなかった。わたしは、シナプス・タグに神経可塑性関連ニューロプシンが関わる事を電気生理学的に明らかにした。また、そのシグナルにはCaMKII, integrin b1 が深く関わる事も明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：

Activity-dependent synaptic plasticity is widely accepted to provide a cellular basis for learning and memory. Synaptic tagging and capture could be involved in activity-dependent synaptic plasticity, because it distinguishes between local mechanisms of synaptic tags and cell-wide mechanisms that are responsible for the synthesis of plasticity-related proteins. I found that a plasticity related serine protease, neuropsin, is involved in the tag-setting process during LTP at basal and apical dendritic inputs. Neuropsin is involved in synaptic tagging and cross-tagging during LTP at apical dendritic inputs via integrin beta-1 and CaMKII signaling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：神経化学 分子神経生理学

科研費の分科・細目：神経化学・神経薬理学

キーワード：シナプス可塑性, 連合記憶, ニューロプシン, シナプス・タグ

## 1. 研究開始当初の背景

1997年FreyとMorrisは関連記憶・学習(後期連関可塑性)のモデルであるシナプスタグ仮

説を提唱した。かれらは2つの独立したシナプス入力に強刺激と弱刺激を与え、互いに影響し合うかどうかを検討している。ここでの

強刺激はタンパク質合成を必要とする長期にわたりシナプス伝達効率が持続する late-LTPを誘導し、弱刺激はタンパク質合成に依存しない短期的なシナプス伝達効率の変化 (early-LTP) を誘導する。この、刺激強度の異なる刺激を独立したシナプスに入力すると、本来、短期間で伝達効率が減衰する弱刺激を入力したシナプスが、長期間シナプス伝達効率を維持するようになる事、つまり early-LTPから late-LTPに変換される事を見いだした。この変換された長期にわたる伝達効率の維持は驚くべき事にタンパク質合成に依存せず、強刺激によって誘導される既に合成された可塑性タンパク質に依存している事が明らかとなった。つまり強刺激によって誘導された可塑性タンパク質と弱刺激によって形成されたシナプス活動の目印である“シナプス・タグ”との機能的相互作用が長期伝達効率の維持を引き起こすと考えられる。

この仮説が提唱された後、複数の研究によってシナプス・タグ分子の性質が予測され始めた。シナプス・タグ分子は (1) ある一定の時間内でのみ機能する、(2) 一つだけでなく複数存在する可能性がある、といったことが報告されている。現在複数の研究グループでその詳細なメカニズムを調べているが、いまだシナプス・タグの実体は不明であるという状況であった。そうした中、わたしは、そのシナプス・タグの存在を示唆するデータを得ることができた。

これまで、私は神経可塑性関連セリンプロテアーゼ・ニューロプシンが如何にして神経可塑性を制御しているかを研究していた。そうしたなか、後期連関可塑性にニューロプシンが関与している事を見だし、ニューロプシン依存的・非依存的シナプス・タグ形成機構があることを明らかにした。

ニューロプシン依存的シナプス・タグの形成にはインテグリンの活性化、アクチン重合が関与し、ニューロプシン非依存的シナプス・タグの形成にはそれらは関与しない事、また、それぞれのシナプス・タグ形成機構がL型カルシウムチャネルに収束することを明らかにした。しかしながら、シナプス・タグ分子そのものの証明には至ってはいない。また、シナプス・タグ分子は新たに合成された可塑性タンパク質と相互作用する事でその機能

を発揮すると考えられる。これらシナプス・タグ仮説に関与する分子機構の全体像を明らかにすることが急務であり、本研究によりシナプス・タグが存在することを証明しようとの着想に至った。

## 2. 研究の目的

ニューロンは長い軸索と樹状突起をもち、突起にあるタンパク質はその合成の場である細胞体から供給される。こうした他の細胞には見られないニューロンだけの特徴が、様々な現象とこれまでの知識の間においてパラドックスを生じさせる。例えば、記憶のモデルとされている長期増強(LTP)には、新規タンパク質合成が働くと長期間増強効果が持続し (late-LTP)、新規タンパク質合成が働かないと短期のLTP(early-LTP)として 60-90 min程度で増強現象はなくなる。新規に合成されたタンパク質は、どのようにしてもたらされるのかが、大きな焦点となってきた。特に、late-association(後期連関)という現象がこれまで既存のモデルでは説明出来なかった。そうしたなかFreyとMorrisは海馬スライスを用いた実験により後期連関可塑性を説明出来るモデルを提唱致した。シナプスタグ仮説である。活動依存的にシナプスレベルで活動履歴の目印として『シナプス・タグ』が形成されるのではないかと提唱した。しかしながら、そのシナプス・タグの実体は不明であり、そこで、本研究は、シナプス・タグが存在することの証明を目的とした。

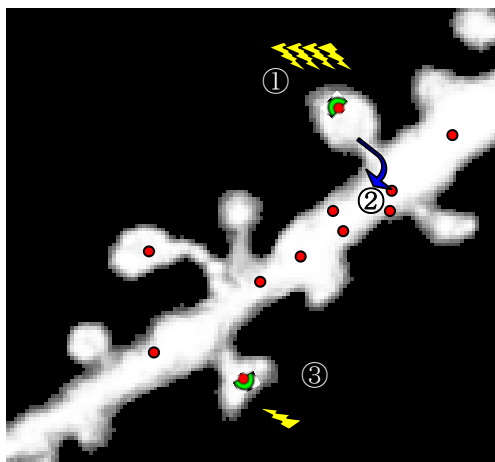
## 3. 研究の方法

シナプス・タグ証明方法の確立: 証明方法には二経路刺激による後期連関可塑性実験において強刺激、弱刺激それぞれにおける薬理実験によるスクリーニングを行った。特に弱刺激時に阻害効果があるものを探索した。まず、シナプス・タグ関連候補分子として既知の可塑性制御分子について検討した。このときタグ分子の関連性を調べる為に late-associativityの成立・不成立によって判別した。さらに、ニューロプシン欠損マウスと組み換えニューロプシン蛋白質を用いる事でニューロプシン依存的・非依存的シナプス・タグ形成機構の分離解析方法を既に開

発しているのです、どのような性質のシナプス・タグ分子か解析した。

#### 4. 研究成果

様々な記憶などの情報は活動依存的に個々のシナプスに書き込まれると考えられている。しかしながら、特定のシナプスに如何にしてその活動が記されている『シナプスにタグ付けされている（シナプス・タグ）』かがよくわかっていなかった。わたしは、シナプス・タグに神経可塑性関連ニューロプシンが関わる事を電気生理学的に明らかにした。ニューロプシン欠損マウスではシナプス・タグの形成が観察されなかった。しかしながらこの異常は弱い刺激によりE-LTPを誘導の前にニューロプシンを添加することにより回復させる事ができた。この事から、ニューロプシンがシナプス・タグ形成に関わる事が示唆された。また、そのシグナルにはCaMKII, integrin  $\beta 1$  が深く関わる事も明らかにした。一方ERKやSrcは関与しない事が明らかとなった。これらの研究成果は Journal of Physiologyに投稿し受理された (in press)。強い刺激、弱い刺激によるシナプス可塑性が連合する事が明らかとなった。これらの知見は、連合記憶が如何にして成り立つか？を明らかにする事ができる可能性を示唆している。また、連合記憶の障害でおきると考えられているPTSDのメカニズムの解明することが可能になるが期待される。今後はより詳細なメカニズムを解明し、実際に動物個体でも起きうるのかどうか明らかにしたい。



シナプス・タグ仮説の概略図

- ①強刺激によるL-LTP誘導.
- ②可塑性タンパク質合成後、各領域に充填される.

③弱刺激によってシナプスタグが形成、可塑性タンパク質を捕捉(capture)し後期連関可塑性が成立する. このときシナプスタグ形成にニューロプシンが関わる事を明らかにした。

#### 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2件)

(1) Ishikawa Y, Tamura H, Shiosaka S  
Diversity of Neuropsin (KLK8)-dependent Synaptic Associativity in the Hippocampal Pyramidal Neuron. Journal of Physiology, (査読あり) 2011 (in press)

(2) Baba Y, Yasuda O, Takemura Y, Ishikawa Y, Ohishi M, Iwanami J, Mogi M, Doe N, Horiuchi M, Maeda N, Fukuo K, Rakugi H. Timp-3 deficiency impairs cognitive function in mice. Lab Invest. (査読あり) 2009;89:1340-7.

[学会発表] (計5件)

(1) Yasuyuki ISHIKAWA, Hideki TAMURA and Sadao SHIOSAKA Neuropsin dependent synaptic tagging in mouse hippocampus. The Society for Neuroscience 2010, 11/13-17 San Diego,

(2) 石川 保幸、田村 英紀、塩坂 貞夫. ニューロプシン依存的シナプスタグの解析 Neuro2010 日本神経科学会日本神経学会合同大会 2010, 9/4 神戸

(3) Yasuyuki ISHIKAWA, Hideki TAMURA and Sadao SHIOSAKA. Neuropsin dependent compartment specific and process specific

synaptic tagging. The Society for Neuroscience 2009, 10/17-21 Chicago

(4) 石川 保幸、田村 英紀、塩坂 貞夫  
Neurotrophin dependent compartment specific and process specific synaptic tagging. 第 32 回日本神経科学会 2009, 9/17 名古屋

(5) 石川 保幸、田村 英紀、塩坂 貞夫  
Neurotrophinによる領域特異的・プロセス特異的シナプスタグ形成 第 52 回日本神経化学会大会 2009, 6/22-24 伊香保

[図書] (計 1 件)  
石川保幸, 塩坂貞夫  
シナプスタグリング関連分子としてのプロテアーゼ:脳 21, 2010;13-1, p15-21 (査読なし)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石川 保幸 (ISHIKAWA YASUYUKI)  
奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教  
研究者番号: 90346320

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: