

樹状突起による神経情報の選定

氏 名 小林 千晃

【序論】

ニューロンは細胞体から樹状突起という線維構造を伸ばしている。樹状突起は上流の細胞からの情報を興奮性シナプス入力として受け取り、脱分極応答として細胞体に伝えている。複数の細胞からのシナプス入力は細胞体へ伝わる過程で統合される。この際、ニューロンが脱分極し発火閾値に達すると活動電位が発生し、情報は下流の細胞へと出力される。

従来、樹状突起は周囲の細胞から受け取った情報を細胞体へ伝える以外の機能を有していないと考えられてきた。しかし近年、樹状突起はシナプス入力を非線形に加算し、ニューロンの活動動態を多様化している可能性が示唆された。これは樹状突起が積極的に情報演算を行っていることを意味している。

ただし、こうした樹状突起に関する知見は、シナプスを人工的に活性化させることで得られたものである。そのため、脳内で生じる自然なシナプス入力に対し、樹状突起がどのような情報処理を行っているのかについて不明な点が多い。そこで本研究は、樹状突起が自然なシナプス入力に対して行う情報処理機構に迫った。

【結果・考察】

1. 一部のシナプス入力は細胞体に伝わらない

本研究では自然なシナプス入力に注目するため、多数の自発的な神経活動が観察されるラット海馬切片培養を用いた。シナプスの後部構造であるスパインがシナプス入力を受け取ると、スパイン内へ Ca^{2+} が流入する。そこで、 Ca^{2+} イメージング法を用いて CA3 錐体細胞樹状突起へのシナプス入力を蛍光強度変化として捉えた (図 1a 上)。同時に、細胞体よりパッチクランプ法を用いて興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録した (図 1a 下)。

シナプス入力と EPSC のタイミングを比較したところ、一部のシナプス入力は EPSC と同時に記録されなかった (図 1b)。つまり、一部のシナプス入力は細胞体に伝わらず、EPSC を発生させていないと推察される。また、各スパインへのシナプ

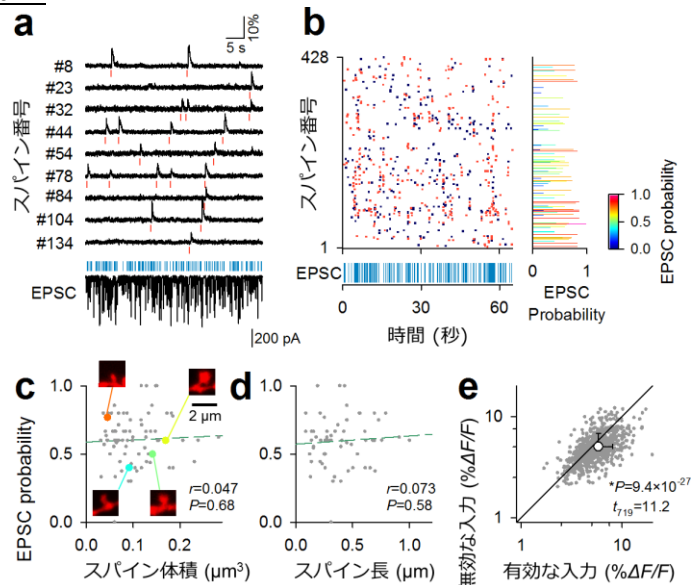


図 1. 一部のシナプス入力は EPSC を発生させない

a, スパインの蛍光トレース (上) と EPSC (下)。シナプス入力と EPSC が発生した時間を灰線で示した。撮影速度: 333 frames per second b, シナプス入力 (上) と EPSC (下) のラスタプロット。EPSC が記録されるシナプス入力 (黒) と記録されない入力 (灰) があった。各スパインの EPSC probability (右)。c, d, EPSC probability はスパインの体積や長さとは相関しなかった ($n = 61-79$ spines from 8 neurons)。e, 有効なシナプス入力は無効なシナプス入力より蛍光強度変化率が大きかった (Mean \pm SD, $n = 720$ spines from 15 neurons, paired t -test)。

ス入力 EPSC と同時に記録された確率 (EPSC probability) を算出したところ、EPSC probability はスパインごとに異なっていた (図 1b)。

次に、スパインの形態と EPSC probability との関係を調べた。スパインは形態によって電気的性質や受容体の発現量が異なる。そこで、Ca²⁺イメージングを行った後、超解像顕微鏡を用いてスパイン形態を観察した。しかし、スパインの体積や長さ EPSC probability との相関はなかった (図 1c,d)。このことは、スパインの電気特性や受容体の発現量ではシナプス入力細胞体へ到達することの成否を説明できないことを意味している。

最後に、EPSC が記録されるシナプス入力 (有効なシナプス入力) と EPSC が記録されないシナプス入力 (無効なシナプス入力) で Ca²⁺蛍光強度変化率 (% $\Delta F/F$) を比較したところ、有効なシナプス入力の方が大きかった (図 1e)。これまでに、抑制性シナプス入力個々のスパインへの Ca²⁺流入を調節していることが示唆されている。そのため、本現象が抑制性シナプス入力によって引き起こされていると考えた。

2. 抑制性シナプス入力興奮性シナプス入力を無効化している

本現象への抑制性シナプス入力関与の可能性を検証するために、GABA_A 受容体阻害薬 picrotoxin を細胞内適用した。その結果、EPSC probability の分布は高確率側にシフトした (図 2a,b)。また、抑制性シナプス入力によって一部の興奮性シナプス入力細胞体へ到達できていないとすれば、picrotoxin の細胞内適用により EPSC 頻度が増加することが予想された。そこで、2細胞から同時パッチクランプ記録を行い、一方のみ picrotoxin を細胞内適用したところ、picrotoxin を適用した細胞は EPSC 頻度が高かった (図 2c,d)。これらの結果から、抑制性シナプス入力により、一部の興奮性シナプス入力は細胞体へ伝わらず、無効化されていると推察される。

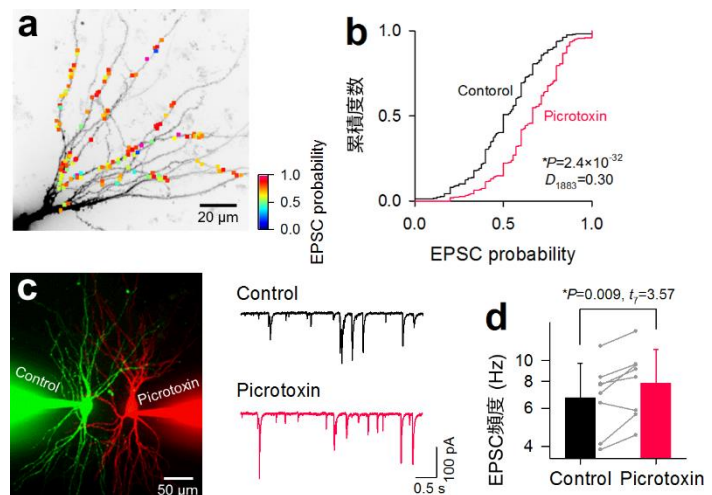


図 2. 抑制性シナプス入力スパインと細胞体の連絡を遮断している
a, picrotoxin 細胞内適用時の EPSC probability の分布。 **b**, EPSC probability の累積度数分布。 Picrotoxin 細胞内適用下で Ca²⁺イメージングを行った。 Picrotoxin 適用により、コントロールに比べ、分布は高確率側にシフトした (Control: $n = 1282$ spines from 15 neurons, Picrotoxin: $n = 602$ spines from 9 neurons, Kolmogorov-Smirnov test)。 **c**, 2細胞同時パッチクランプ記録時の蛍光画像 (左) と EPSC (右)。 **d**, EPSC 頻度は picrotoxin 適用によって増加した (Mean \pm SD, $n = 8$ neurons, paired t -test)。

3. 樹状突起は一部のシナプス集団の情報のみを細胞体へ伝えている

同期シナプス入力数の増加に伴い EPSC probability は高くなる一方で、80%付近で一定に達した (図 3a)。この結果から、同期シナプス入力には細胞体で EPSC が発生しやすい組み合わせと、発生しにくい組み合わせがあると考えた。この可能性を検証するために、まずスパインを同期シナプス入力数に基づいて分類した。そして、logistic regression を用いて、シナプス入力の EPSC 発生

確率に対する線形項の係数 β を各スパイン集団に推定した。推定された β は一方が0付近にある二峰性の分布を示していた (図 3b)。 β が0であるシナプス集団への同期シナプス入力 EPSC の発生確率に寄与しない。すなわち、一部のスパイン集団への情報だけが細胞体に伝わると考えられる。

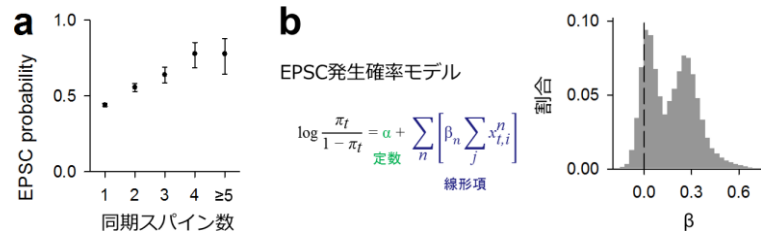


図 3. 特定のスパイン集団の情報が細胞体へ伝わる

a, 同期シナプス入力数に対する EPSC probability。エラーバーは 95%信頼区間を示している。**b**, EPSC probability (π_t) の Logistic regression に用いたモデル (左)。スパインを同期シナプス入力数に基づいて、affinity propagation で 3-5 つのスパイン集団に分類した。 $x_{t,i}^n$ は、時間 t において n 番目のスパイン集団に属する spine# i へのシナプス入力の有無を binary で示している (シナプス入力有 = 1、シナプス入力無し = 0)。 β_n は、シナプス入力の EPSC probability に対する線形項の係数。各データに対し、affinity propagation を 1000 回繰り返して算出した。算出された β の分布 (右、#1 ピーク: 0.02 ± 0.05 , #2 ピーク: 0.24 ± 0.13)。

【総括】

本研究により、樹状突起は抑制性シナプス入力によって一部の興奮性シナプス入力のみを細胞体に伝えていることがわかった。また、抑制性シナプス入力の効果は、特定の同期シナプス入力だけを細胞体へ伝えるために働いていることも示唆された。ニューロンは複数の情報を受け取る一方で、その出力応答は選択的である。樹状突起は、受け取った情報を抑制性シナプス入力によってフィルタリングすることで、ニューロンの選択的な発火活動を実現していると考えられる。さらに、こうした樹状突起の情報選定機構の破綻が ASD などの疾患の原因である可能性がある。

過去の研究では、シナプス入力を人工的に惹起し、また、GABA 受容体などの多くの受容体を阻害した状態で行われてきた。本現象はそうした人為的な操作を施さず、自然なシナプス入力に注目することで初めて発見されたものである。

【参考文献】

- ① Szymanska A. F., [Kobayashi C.](#), Norimoto H, Ishikawa T, Ikegaya Y, Nenadic Z, Accurate detection of low signal-to-noise ratio neuronal calcium transient waves using a matched filter. *J Neurosci Methods*, *in press*
- ② [Kobayashi C.](#), Ohkura M, Nakai J, Matsuki N, Ikegaya Y, Sasaki T. Large-scale imaging of subcellular calcium dynamics of cortical neurons with G-CaMP6-actin. *Neuroreport*, 25(7):501-6, 2014
- ③ Okamoto K, Ishikawa T, Abe R, Ishikawa D, [Kobayashi C.](#), Mizunuma M, Norimoto H, Matsuki N, Ikegaya Y, Ex vivo cultured neuronal networks emit in vivo-like spontaneous activity. *J Physiol Sci*, 64(6):421-31, 2014
- ④ Egawa T, Hirabayashi K, Koide Y, [Kobayashi C.](#), Takahashi N, Mineno T, Terai T, Ueno T, Komatsu T, Ikegaya Y, Matsuki N, Nagano T, Hanaoka K, Red fluorescent probe for monitoring the dynamics of cytoplasmic calcium ions. *Angew Chem Int Ed Engl*, 52(14):3874-7, 2013
- ⑤ Namiki S, Norimoto H, [Kobayashi C.](#), Nakatani K, Matsuki N, Ikegaya Y, Layer III neurons control synchronized waves in the immature cerebral cortex. *J Neurosci*, 33(3):987-1001, 2013
- ⑥ Ohkura M, Sasaki T, Sadakari J, Gengyo-Ando K, Kagawa-Nagamura Y, [Kobayashi C.](#), Ikegaya Y, Nakai J, Genetically encoded green fluorescent Ca^{2+} indicators with improved detectability for neuronal Ca^{2+} signals. *PLoS One*, 7(12):e51286, 2012
- ⑦ Ohkura M, Sasaki T, [Kobayashi C.](#), Ikegaya Y, Nakai J. An improved genetically encoded red fluorescent Ca^{2+} indicator for detecting optically evoked action potentials. *PLoS One*, 7(7):e39933, 2012
- ⑧ Seki M*, [Kobayashi C.*](#), Takahashi N, Matsuki N, Ikegaya Y. Synchronized spike waves in immature dentate gyrus networks. *Eur J Neurosci*, 35(5):673-81, 2012, *equal contribution