

186. 不要神経回路の選択的除去を担う分子細胞基盤

榎本 和生

東京大学 理学部 生物科学専攻 分子生理学分野

Key words : 神経突起の区画化, 局所性エンドサイトーシス, RabGTPase ファミリー

緒 言

私たちの脳では、軸索と樹状突起という機能的、構造的に異なる2種類の神経突起を介して、1,000億個ものニューロンがネットワークを形成している。ヒトの脳神経回路の大まかなネットワークは胎児期に形成されるが、この発生初期の幼弱な回路は、いわゆる「混線状態」にあり、その後の発達段階において、不要な回路の切断や除去を含むネットワークの再編が起こることにより、機能的な情報処理回路へと成熟する。この不要な回路の除去過程では、不要な突起のみが変性、あるいは除去される一方で、必要な回路は維持されることが重要である。しかし、ニューロンが自らの突起群の中から「要」「不要」を選択する機構は長らく謎のままだった。その理由として、従来のネコやマウスなど哺乳動物を用いた研究では、不要な回路の除去過程をリアルタイムで追跡することが技術的に不可能であり、また分子生物学的手法により分子基盤を同定することも困難であったことが挙げられる。

ショウジョウバエは完全変態動物であり、5日間のうちに幼虫から蛹を経て成虫へと変態を遂げるが、この間に様々な行動レベルの変化が起きる¹⁾。たとえば、幼虫は可視光に対して明確な忌避行動を示すが、成虫になると可視光に強く誘引されるようになる。同様に、幼虫が好む嗅覚物質に対して成虫が忌避性を示す例もある。このような同一外部刺激に対する反応性の変化は、変態に伴う脳神経系の構造的・機能的改変に依存すると考えられている。

ショウジョウバエ幼虫の表皮感覚ニューロン（以下 C4da ニューロンと表記）では、変態期前期にすべての樹状突起が刈り込まれるが、細胞体と軸索は維持される（図1）。その後、変態期後期になると、残存した細胞体から樹状突起の再伸張が起こり、最終的に成虫型の樹状突起を再構築する。私たちは、このユニークな性質を利用して、樹状突起特異的な刈り込みを駆動する分子細胞メカニズムの解明を目指した。

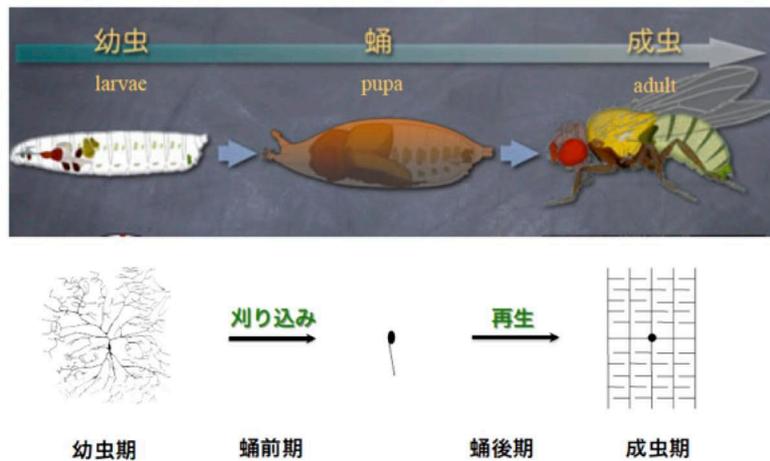


図1. 変態期における C4da ニューロン樹状突起の再編

変態期 15 時間までに樹状突起が刈り込まれる。その後、変態期 30 時間くらいから再び樹状突起の伸張が始まり変態期 100 時間までに成虫型の樹状突起を再生する。

方法および結果

これまでに私たちは、局所性カルシウムシグナルが不要な神経回路の選択的除去を担うことを明らかにしている²⁾。言い換えると、樹状突起局所におけるカルシウム振動の開始は、その突起が3時間後に刈り込まれることを意味する。従来の研究では、刈り込みが実際に起きてはじめて「これが刈り込まれる突起だ」と認識できたが、経時的カルシウムイメージングを行うことにより、刈り込みが始まる3時間前に、将来的に刈り込まれる突起を特定できる。したがって、刈り込みが始まるまでの数時間の過程において、どのような構造的・機能的変化が生じているのかを経時的に解析することが可能になった。

まず、細胞骨格、細胞膜、細胞内小器官など樹状突起の主要構造体の経時変化を追跡したところ、カルシウム振動に先行して、その樹状突起の基部に狭窄が起こることを見いだした(図2)。光活性化型蛍光タンパク質(photo-activatable protein)を感覚ニューロンに発現させて、細胞体だけに光照射を行い、細胞体から樹状突起への拡散速度を計測したところ、カルシウム振動を起こした突起領域では、他の領域と比較して、蛍光タンパク質の流入が顕著に遅いことがわかった。従って、境界領域には分子拡散を制限する何らかの物理的バリアが形成される可能性が示唆された³⁾。

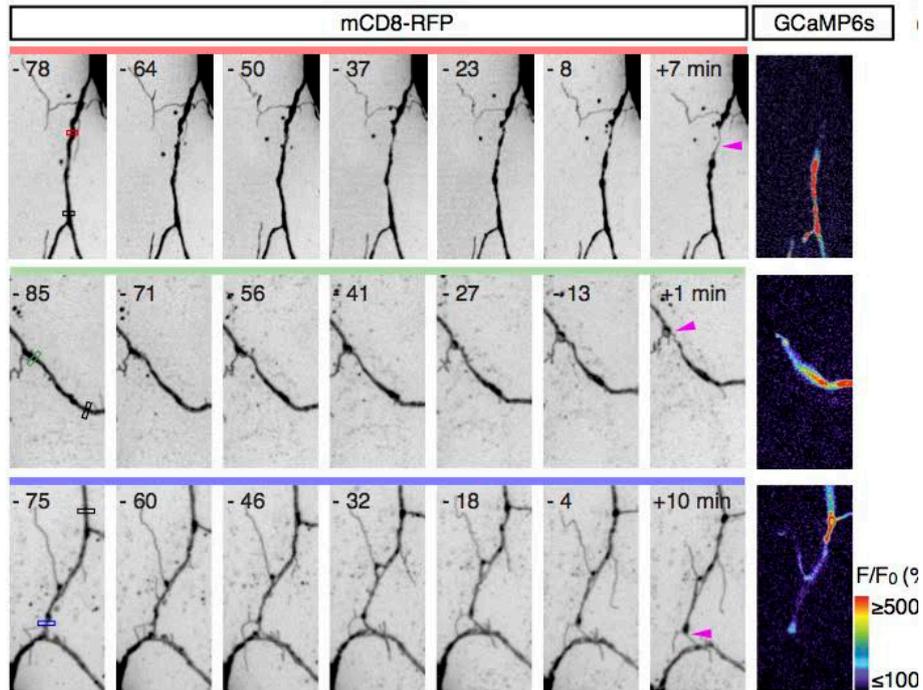


図2. 樹状突起基部の狭窄

単一ニューロンの樹状突起における樹状突起形態変化を可視化した。起始部に着目すると、いずれの突起においても、変態が開始して1 - 2時間後から突起の狭窄が観察される (mCD8-RFP)。突起直径が約20%まで狭窄されたときに、区画化された突起においてカルシウム振動が開始する (GCaMP6s)。

続いて樹状突起の区画化を誘導する因子群の網羅的遺伝子スクリーニングを行い、膜小胞輸送の制御に関わる2つの低分子GTPaseであるRab5とダイナミンを同定した。膜動態の可視化プローブを作製し、それを用いて刈り込み時の膜動態を解析したところ、樹状突起の基部周辺において膜取り込み活性の顕著な上昇を観察した。Rab5もしくはダイナミンの活性を抑制すると、膜取り込みは完全にブロックされ、さらには突起の区画化および刈り込みが顕著に抑制された。以上の結果から、一過的かつ局所的に誘導されるエンドサイトーシスが、樹状突起の構造的な区画化を引き起こす要因の1つであることが示唆された。

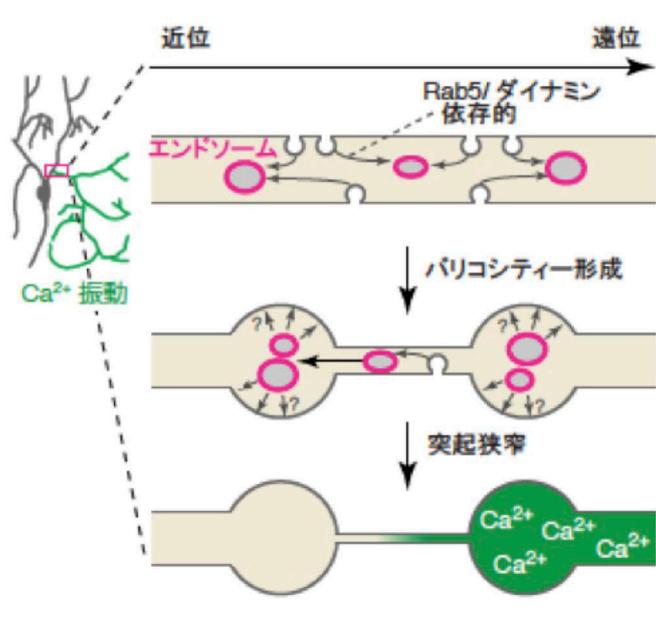


図3. 膜構造の局所的な変化が不要な神経突起の区画化と除去を誘導する
 神経突起の刈り込みが起きるときには、不要な突起の近くでエンドサイトーシスが誘導されることにより突起の根元が急激に細くなります（狭窄）。この突起構造の急激かつ局所的な変化が、ニューロンの細胞体とは反対側（遠位側）の神経突起と細胞体との物質の往来を遮断することにより、カルシウム振動が遠位側の神経突起において発生し、最終的にカルシウム依存的分解酵素カルパインを介して突起が分解されると説明できる。

考 察

ヒト脳の構造基盤は1,000億のニューロンからなるネットワークであり、その可塑的能力を支えるのはネットワークの動的構造変化である。脳機能は、このようなネットワークの組織化と脱組織化の平衡状態の上に成立しており、外部から与えられる情報が摂動として働くことで、平衡点を動かす役割をしていると考えられる。今後ネットワーク動態の全貌をとらえる為には、多ニューロン間ネットワーク動態を長時間トレースできる実験システムの構築が不可欠だろう。並行して、ニューロンが生まれながらもつ遺伝情報と、環境から与えられる外部情報がどのようなクロストークを介して定型的な組織化を実現しているのかという問題に取り組むことが必要となる。

文 献

- 1) Kanamori T, Togashi K, Koizumi H and Emoto K: Dendrite remodeling: lessons from invertebrate models. *Int Rev Cell Mol Biol* 318: 1-38 (2015). doi: 10.1016/bs.ircmb.2015.05.001.
- 2) Kanamori T, Kanai M, Dairyo Y, Yasunaga K, Morikawa R and Emoto K: Compartmentalized calcium transients trigger dendrite pruning in *Drosophila* sensory neurons. *Science* 340: 1475-1478 (2013). doi: 10.1126/science.1234879.
- 3) Kanamori T, Yoshino J, Yasunaga K, Dairyo Y and Emoto K: Local endocytosis triggers dendrite thinning and pruning in *Drosophila* sensory neurons. *Nature Communications* 6: 6515 (2015). doi: 10.1038/ncomms7515.