

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」
平成26年度採択研究代表者

H29年度
実績報告書

岡部 繁男

東京大学大学院医学系研究科
教授

ナノ形態解析によるシナプス動態制御システムの解明

§ 1. 研究実施体制

(1)「岡部」グループ

- ① 研究代表者: 岡部 繁男 (東京大学大学院医学系研究科 教授)
- ② 研究項目 ナノ形態イメージングによるシナプス動態解析
 - ・In vivo 二光子イメージングによる脳内シナプスの寿命測定と電子顕微鏡観察
 - ・培養神経細胞でのナノスケール分子動態イメージングと形態測定

(2)「楠見」グループ

- ① 主たる共同研究者: 楠見 明弘 (沖縄科学技術大学院大学 教授)
- ② 研究項目 一分子追跡法によるシナプス分子動態解析
 - ・一分子追跡法によるスパイン内での膜分子の動態
 - ・膜分子の PSD 領域への出入りと領域内での挙動の解析

(3)「井上」グループ

- ① 主たる共同研究者: 井上 康博 (京都大学再生医科学研究所 准教授)
- ② 研究項目 数理モデリングによるシナプス動態解析
 - ・ブラウン動力学法に基づくシナプスでの分子拡散シミュレーション
 - ・シナプスに特徴的な幾何学的変数の抽出のためのクラスター分析

§ 2. 研究実施の概要

平成 29 年度はナノ形態解析技術をシナプス・スパインの動態に適用し、高精度のデータを取得してシナプス・スパインの動的制御についてのモデルの検討を更に推進した。ナノ形態解析技術をシナプス可塑性の誘導や分子阻害実験と結び付ける実験も開始した。シナプス安定化に関与する分子機構の解明を進め、個体レベルでの解析につなげるための新しい技術の開発も実施した。分子動態のモデル化に関しては、分子間結合のモデル化を含めた拡散抑制の解析を導入し、スパイン表面上の分子拡散動態の解析にも着手した。

岡部グループ

(1) In vivo 二光子イメージングによる脳内シナプスの寿命測定と電子顕微鏡観察

前年度までの研究で光顕・電顕相関解析の成功率を向上させることが出来た。平成 29 年度は実際にこの手法を適用して、in vivo でのスパイン動態のデータと電子顕微鏡での立体再構築データを取得した。13例について動態データと電子顕微鏡データの対応付けを行い、新規に形成されたスパインが長期安定スパインに比較して体積・表面積が小さい傾向にあることが示唆された。

(2) 培養神経細胞でのナノスケール分子動態イメージングと形態測定

構造化照明顕微鏡(SIM)によるスパイン動態の解析を継続した。生細胞での時系列データを利用したスパイン形態の客観的分類を検討し、三つのグループに大別する方法を提案した。スパインシナプスの形成と除去の分子機構について研究を進め、制御メカニズムを明らかにした。個体レベルで神経回路を操作する新しい方法論についても実験を実施した。更に井上グループと共にスパイン内分子動態の光学顕微鏡による測定技術を検討した。

楠見グループ

ラット培養海馬神経細胞を用い、樹状突起のシャフト部分とスパインにおけるAMPA受容体サブユニットGluA1, GluA2の動態、および、それら2つの部位の間での出入りを、他の細胞膜分子も含めて、1分子レベルで検討した。これに必要な、1分子追跡と解析の技術開発、プローブ開発も行った。培養海馬神経細胞の樹状突起シャフト部(DS)では、内在性分子の存在のため、GluA1, GluA2の単量体と多量体を区別して観察することは出来なかったが、1個の蛍光輝点が2個に分解したり、2個の蛍光輝点が共局在し、1個の輝点として拡散運動する様子が観察された。共局在時間は200ミリ秒程度であった。すなわち、安定なテトラマーばかりが神経細胞DS部の細胞膜に存在するという既成概念は、否定された。また、GluA1, GluA2がスパインに出入りする際には、主にモノマーとして出入ることが推定された。

井上グループ

本年度は、昨年度に引き続きスパイン内の分子拡散動態の解析を行うとともに、新たに、スパイン表面上の分子拡散動態の解析に着手し、スパイン形状の影響について検討を行った。スパイン内の分子拡散動態のシミュレーションについては、分子間結合のモデル化を完成させ、これを用いて物理障壁による拡散抑制について、多量体化の過程を考慮した解析を開始した。一方で曲面上

の分子拡散に関しては、ガウス曲率の符号の正負に応じて、実効的な分子拡散が遅延・促進されることが予想された。本年度は曲面上の分子拡散動態の数理モデルを構築し、岡部グループが取得しているスパイン形状データを用いた分子拡散動態シミュレーションに適用した。その結果、複雑な曲面形状の影響で、拡散の原点から等距離にある各地点への分子到達時間が、曲面上では拡散経路に依存して遅延(または短縮)する事が明らかになった。

代表的論文

1. Higashi T, Tanaka S, Iida T, and S. Okabe

Synapse elimination triggered by BMP4 exocytosis and presynaptic BMP receptor activation.

Cell Reports 22(4):919-929, 2018. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.101

2. Morimoto, M. Tanaka, S., Mizutani, S., Urata, S., Kobayashi, K. and S. Okabe

In vivo observation of structural changes in neocortical catecholaminergic projections in response to drugs of abuse

eNeuro 6:5(1),2018. doi: 10.1523/ENEURO.0071-17.2018.

3. Koeberle, S. C., Tanaka, S., Kuriu, T., Iwasaki, H., Koeberle, A., Schulz, A., Helbing, D., Yamagata, Y., Morrison, H., and S. Okabe

Developmental stage-dependent regulation of spine formation by calcium-calmodulin dependent protein kinase II α and Rap1

Scientific Reports 7, 13409, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-13728-y