

資料提供

月日(曜日)	担当部署	電話	担当者
10月8日(木)	香川薬学部・薬学科	087-899-7472	山田 麻紀

報道関係者各位

## 記憶を目で観る新手法 脳の可塑的変化の検出方法を開発

### ～記憶障害への創薬応用にも期待～

神経細胞間の通信の場であるシナプス・スパインの接合強度の強弱変化（可塑的変化）は、脳が記憶を作り、その維持を行う基盤的な現象です。これを調節する分子やそのメカニズムの理解は進んできましたが、時空間にどのシナプス・スパインでいつおきるか観察する方法は乏しく、記憶形成という現象の理解への大きな壁となっていました。そこで、徳島文理大学香川薬学部研究グループ<sup>\*1</sup>は、脳内で可塑的強化が起きたスパインがどれなのか、わかりやすい目印をつけることを目指して、新しいマウス（AiCE-Tg、図1）を、遺伝子工学的手法を用いて作成し、解析の結果、実際に脳での入力依存的な変化を観察することに成功しました。

本研究成果は、Nature Research Journals のオンライン誌「Scientific Reports」2020年9月17日付に掲載されました。

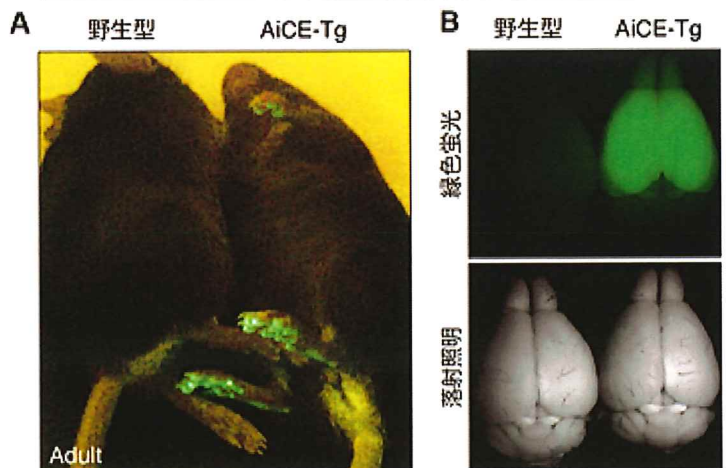
AiCE-Tg マウスでは、強化されたスパインを緑色蛍光で観て追いかけることができると考えられ、記憶の基礎研究はもちろん、創薬研究へも応用が期待されます。

<sup>\*1</sup>徳島文理大学香川薬学部の山田麻紀教授と久保山元助教、7人の学部学生を含む薬理学講座のメンバーを主体とし、早稲田大学大学院先進理工学研究科、東京大学大学院医学研究科からなる共同研究グループ。

問い合わせ先

徳島文理大学 香川薬学部 薬理学講座 山田麻紀  
Phone: 087-899-7472  
Fax: 087-894-0181  
E-mail address: makiky@kph.bunri-u.ac.jp

図1: AiCE-Tg マウスの強い蛍光。(A) AiCE-Tg マウスを麻酔して寝かせ、青色LEDライトで照らし蛍光フィルター越しに見ると、足の肉球の神経細胞が透けて緑に光る。野生型は普通のマウス。(B) 野生型とAiCE-Tgの脳をAと同様に観察した写真(上)と通常の照明で観察した写真(下)。



原著論文：英国 Nature Research Journals オンライン誌 Scientific Reports 10: 15266 (2020)

掲載日：米国時間 2020年9月17日

論文タイトル：Traceable stimulus-dependent rapid molecular changes in dendritic spines in the brain

著者：Kazuya Kuboyama, Takafumi Inoue, Yuki Hashimotodani, Takuya Itoh, Tohsuke Suzuki, Aya Tetsuzawa, Yosuke Ohtsuka, Ryo Kinoshita, Ren Takara, Tohru Miyazawa, Pooja Gusain, Masanobu Kano, Maki K Yamada

DOI： <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72248-4>

詳細：

山田教授の率いた前身の研究グループは、認知症の病態モデル<sup>\*2</sup>ラットで発現量が変化するタンパク質として CapZ<sup>\*3</sup>を同定し、さらに、CapZ は、人為的にシナプスに可塑的強化を起こした<sup>\*4</sup>部位のスパインで増加していることを突き止めていました (Gens to Cells 15: 737-747, 2010)。この知見に着目し、EGFP-CapZ<sup>\*5</sup>の集積により生体内でスパインが緑色に光るようにした AiCE-Tg マウス作成に成功しました。

<sup>\*2</sup>記憶の中枢とされる海馬体へのアセチルコリン入力束（脳弓）を切断し記憶形成を阻害する古くからの認知症モデル動物です。なお認知症では現在効果が認められている薬物 4 つのうち 3 つは脳内アセチルコリンを増やす薬理作用を持ちます。

<sup>\*3</sup>スパインは、シナプス後部をひとつひとつ分離する膨らみでありその形態を決定する骨格はアクチン繊維。CapZ はアクチン繊維断端に結合し安定化・球状化する分子であり、可塑的強化にいたる強いシナプス入力によってアクチン繊維の切断・枝分かれが起きた部分に結合してスパインの形態変化を制御している、と考えられます。

<sup>\*4</sup>シナプス伝達長期増強 (Long-term potentiation, LTP in MPP-DGML) と呼ばれる代表的な実験的シナプス可塑性です。

<sup>\*5</sup>EGFP は下村脩先生がオワンクラゲから同定した緑色蛍光タンパク質の一種であり、AiCE-Tg では、CapZ に EGFP を結合させた状態にしてマウスの脳に戻し AiCE-Tg マウスを作製しています。

解析結果：

AiCE-Tg の脳内を観察してみると、スパインの一部に緑色の蛍光 (EGFP-CapZ) が観察されました。予想とは異なり、特別な学習タスクをしなくても、初めから緑色のスパインは3割ほど存在しており、マウスの脳では日常的に可塑的強化が起きている可能性が考えられました。

次に、脳への刺激入力に依存したスパイン強化を EGFP-CapZ 蛍光の変化として記述することが可能か、検討を行いました。変化はわずかと予想され、元々の個体差や実験での個体間の差に埋もれないように検出する方法を工夫することが重要でした。そこで、マウスの脳への刺激入力に左右差

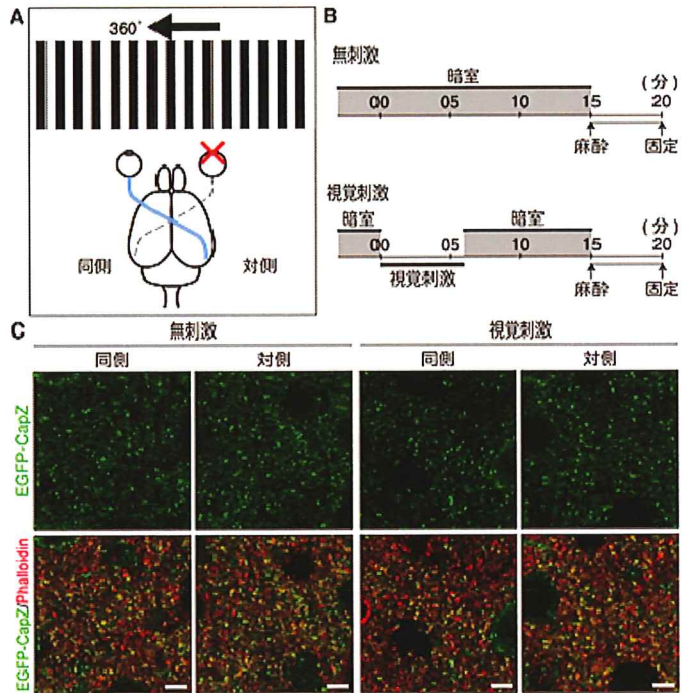


図2：視覚刺激入力依存的な EGFP-CapZ 蛍光強度の左右差。(A) 実験方法。遮光布を顔に貼り片眼遮蔽を施した AiCE-Tg に視覚刺激を与える。(B) 実験のタイムスケジュール。視覚刺激の開始から20分後の脳内を観察する。(C) AiCE-Tg 脳内の観察写真。片眼遮蔽 AiCE-Tg に視覚刺激を与えなかった群 (無刺激、左) または視覚刺激を与えた群 (視覚刺激、右) の一次視覚野第 IV 層拡大像。緑色は EGFP-CapZ・赤色は (スパインを染色する) ファロイジン染色。刺激の入力の弱い同側と比べて入力の強い対側で視覚刺激群では、EGFP-CapZ を強く発現するスパインがわずかに多く観察される。無刺激群ではこの左右差は検出されない。白バーは 0.005mm

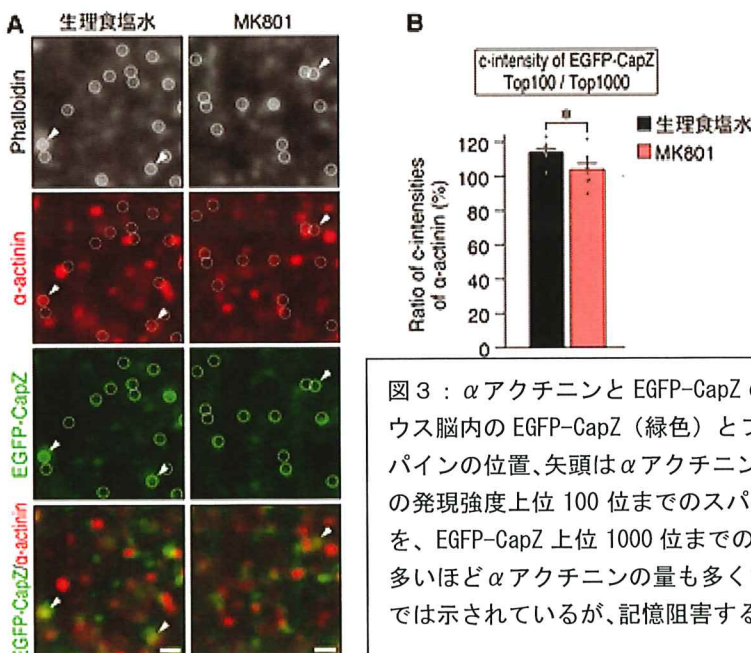


図3：αアクチニンと EGFP-CapZ の共局在。(A) 生理食塩水もしくは MK801 を前投与したマウス脳内の EGFP-CapZ (緑色) とファロイジン (赤色)。白丸はファロイジンをもとにしたスパインの位置、矢頭はαアクチニンを発現する EGFP-CapZ 陽性スパインを示す。(B) EGFP-CapZ の発現強度上位 100 位までのスパインでのαアクチニンの (蛍光免疫染色法による) 存在量を、EGFP-CapZ 上位 1000 位までのスパインのそれで割った値を比較した。EGFP-CapZ の量が多いほどαアクチニンの量も多くなっていることが、通常状態 (と同じ生理食塩水投与群) では示されているが、記憶阻害する薬物 MK801 投与群ではその傾向が抑制される。\*p < 0.05。

をつけることによって、同一個体内の左右脳での比較が可能となることに、研究グループは、着目しました。マウスの目や足の片側に対して視覚や感覚刺激を遮断したうえで新規な刺激を与えてみました。そして、刺激が最初に到達する高次脳部位 (大脳皮質第 IV 層) での EGFP-CapZ 蛍光を比較した結果、刺激の約 20 分後にごく一部のスパインで相対的左右差が観察されました (図2他)。

また、免疫組織染色を行った結果、EGFP-CapZ の

多いスパインほど $\alpha$ アクチニンが多いという関係性も明らかになりました。 $\alpha$ アクチニンは、シナプスの情報伝達を担う受容体 (GluR) の増加を誘導することが知られている分子です。加えて、実験的記憶障害を起こす薬物 (MK801) の前投与によって、前述の EGFP-CapZ 左右差や $\alpha$ アクチニンとの関係が消失することも確認されました (図3他)。

以上の結果を総合すると、刺激入力をより強く受けた側の脳で、可塑的強化を起こしたスパインに EGFP-CapZ によって目印をつけることができていると考えられました。また、特定の刺激によって新しく EGFP-CapZ 蛍光が強化されるスパインは、数パーセント程度のごく少数であろうことも示唆されました。つまり、AiCE-Tg で緑色に光るスパインは最近の日常的な刺激で可塑的な強化を起こした部位と考えられました。今後の解析で光るスパインに着目して研究をすすめれば、記憶のメカニズムの解明が、大きく加速すると考えられます。

一方、統合失調症患者や薬物中毒患者の社会復帰を阻害する記憶障害や、認知症へ向けて、効果的な創薬は喫緊の課題です。既存の記憶障害の解析方法の多くでは時間がかかるため、異なった原理の AiCE-Tg を応用して組み合わせられれば、より効率的な創薬も可能になると期待できます。

なお、本研究は、JST さきがけ「脳情報の解読と制御」の研究支援をはじめ、関係諸氏のご理解によって達成できました。