シナプス前神経末端の情報伝達機構とその可塑性の機構

シナプスとは神経細胞同士あるいは神経と他の細胞(感 覚細胞や筋肉細胞)との接続部のことである。化学シナプ スにおける情報伝達は、神経伝達物質の拡散を介して行 われる。神経軸索を伝播してきたパルス状の活動電位(デ ジタル的信号)は、シナプス前神経末端の細胞膜を脱分極 させ、そこに存在する電位依存性Ca2+チャネルを開ける。 開いたチャネルからのCa²⁺流入がトリガーとなって、Ca²⁺ チャネル近傍のシナプス小胞が細胞膜と膜融合し、小胞内 に蓄積されていた神経伝達物質が、シナプス間隙と呼ば れる細胞間の隙間に放出される。放出された伝達物質は、 間隙を拡散してシナプス後細胞膜に存在するレセプター チャネルに結合してチャネルを開く。開いたチャネルをNa+ イオンが流れ、後細胞側にシナプス後電位(アナログ的信 号)が生ずる。このようにシナプスを介してデジタル的活動 電位をアナログ的シナプス後電位に変換することで時々 刻々入力される情報の統合を可能にしている。 また、細 胞内に流入するCa²⁺は、シナプスにおける伝達効率の変 化であるシナプス可塑性に対しても重要な役割を担ってい る。シナプス可塑性は記憶・学習等の基礎となる。

私たちは、カエル神経筋接合部シナプスを用いて、神経伝達物質の放出機構そのものや、刺激依存的に引き起こされるシナプス前由来の伝達物質放出増大の短期可塑性等の放出量の調節機構の解明を目指して研究している。Ca²⁺等の二価陽イオンがこれらの機構にどのように関与しているのかを、シナプス前末端内イオン動態イメージング法(イオン結合性蛍光色素を用いて、細胞内イオン濃度変化を可視化する方法)や伝達物質放出量をモニターするための電気生理学的測定を通じて明らかにしてゆく。

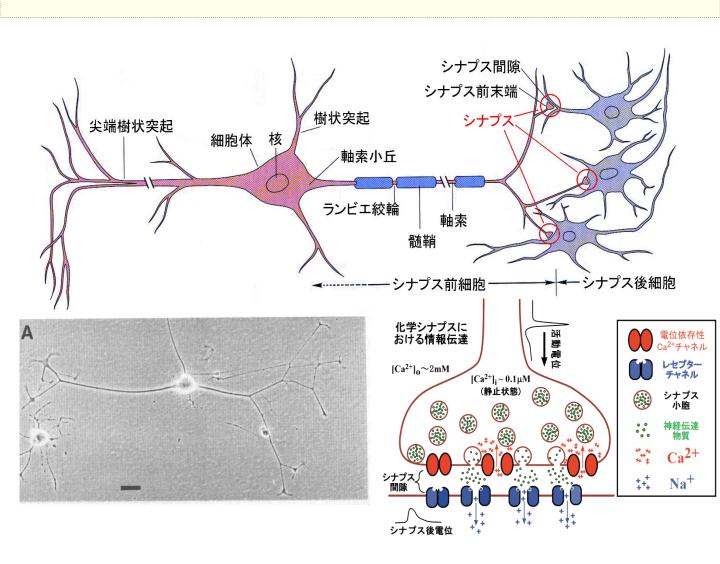
Q:神経同士はどうつながって、どのように情報を伝えるの?

A: 樹状突起で入力、軸索で出力、つなぎ目はシナプス

・神経細胞の細胞体から多数の樹状突起と一本の軸索が伸びている。軸索の末端は他の神経細胞の細胞体や樹状突起上にシナプスと呼ばれる構造でつながっている

A:シナプスでは神経伝達物質の開口放出で伝えます

- 活動電位により電位依存性のカルシウムチャネルが開く
- チャネルを通ってカルシウムイオンが神経末端に流入
- 神経伝達物質を内包したシナプス小胞が細胞膜と融合
- 開口放出により神経伝達物質をシナプス間隙に放出

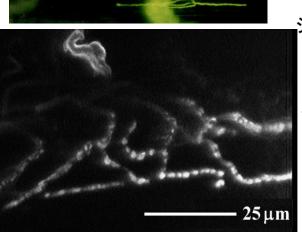


Q: 実際のシナプスはどんな構造をしているの?

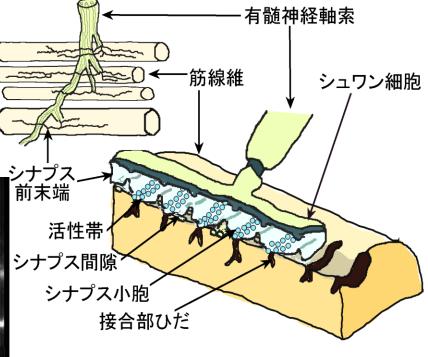
A:神経筋接合部シナプスは太さ2 μ m、長さ100 μ m

- ・シナプス間のシナプス間隙は30nmの隙間(電気的絶縁)
- ・シナプス小胞は直径50nmのちっちゃい小胞膜
- ・一つのシナプス小胞内に約10,000個の神経伝達物質
- ・シナプス小胞は活性帯とよばれる領域に局在
- •活性帯は約2 µ m毎に規則正しく並んでいる
- ・カルシウムチャネルも活性帯とよばれる領域に局在
- ・シナプス小胞の開口放出は活性帯領域で起こります

神経とシナプスを蛍光色素で染色



シナプス小胞を蛍光色素で染色

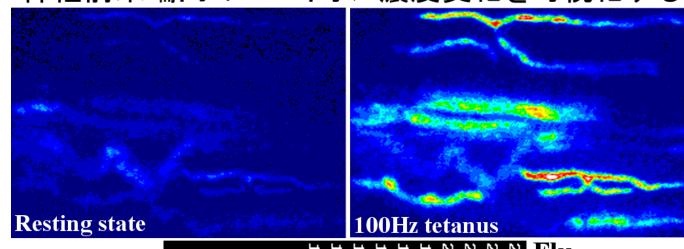


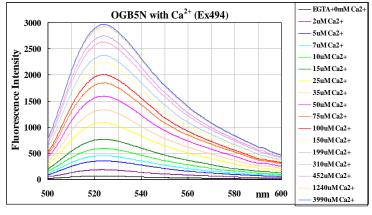
Q:シナプス小胞の開口放出は何で制御させているの?

A: カルシウムイオン濃度上昇が開口放出のトリガー

- ・細胞外液のカルシウムイオン濃度はおよそ2mM
- 神経細胞内のカルシウムイオン濃度は0.1 μ M
- 一つのカルシウムチャネルから約1,000個のイオンが流入
- ・シナプス小胞はカルシウムチャネルのすぐ近くに存在
- ・放出をトリガーするカルシウムイオン濃度は数十 µ M
- カルシウムイオン濃度変化は蛍光色素で測定可能
- その色素はカルシウムを結合すると色や明るさが変化

神経前末端内のCa²⁺イオン濃度変化を可視化する

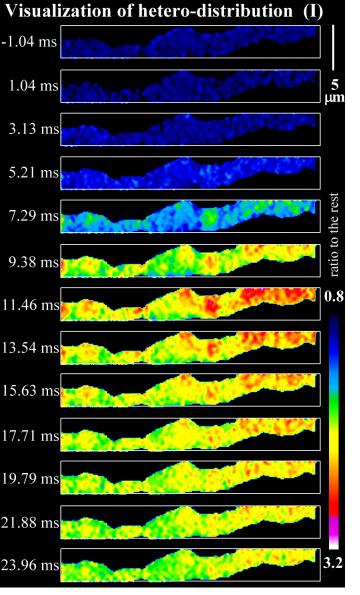


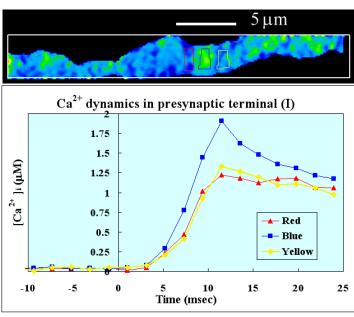


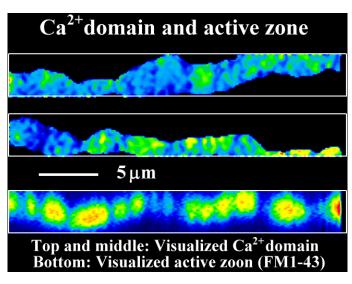
Q: 放出をトリガーする高濃度カルシウム領域は見えるの ?

A: 高速の共焦点顕微鏡で可視化できます

- ・共焦点顕微鏡は像のにじみがなく高空間分解能
- ・高速イメージング(2ミリ秒の時間分解能)で可視化
- ・末端全体として見た時のカルシウム濃度は刺激後7~11ミリ 砂でピークに達する。ピークに達する前からピーク辺りの時 間帯(刺激後5~15ミリ秒)に特に顕著に空間的にヘテロな力 ルシウム濃度分布(カルシウムドメイン)が存在した。そして 25ミリ秒程度たつとカルシウム濃度分布はほぼ一様になっ た。



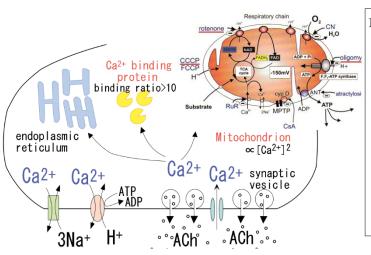


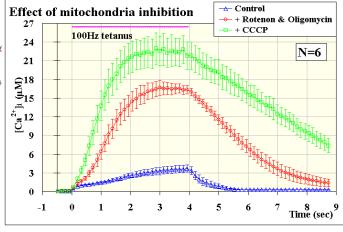


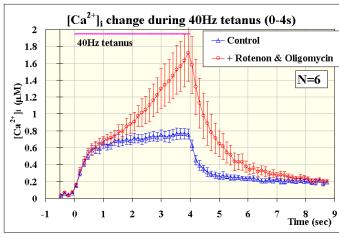
Q:入ってきたカルシウムイオンはその後どうなるの?

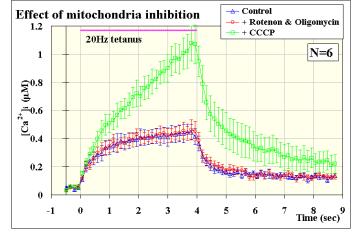
A:細胞外に排出されたり、細胞内小器官に取り込まれます

- ・細胞外への排出機構としては カルシウムポンプ と ナトリウム/カルシウム交換体
- ・細胞内小器官への取り込み機構としては 小胞体への取り込み と ミトコンドリアへの取り込み
- ・カルシウム濃度が低い時は細胞外への排出の寄与が 濃度が高い時はミトコンドリアへの取り込みの寄与が大きい
- -カルシウム濃度が0.6 μ M以上でミトコンドリアへの取り込み ON





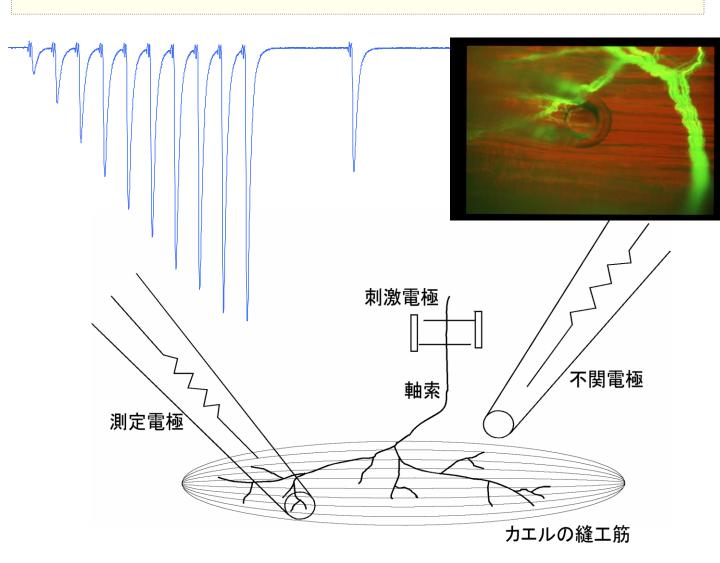




Q: 伝達物質の放出量はどの様に測定するの?

A: ガラス微小電極を用いて電気生理学的に測定

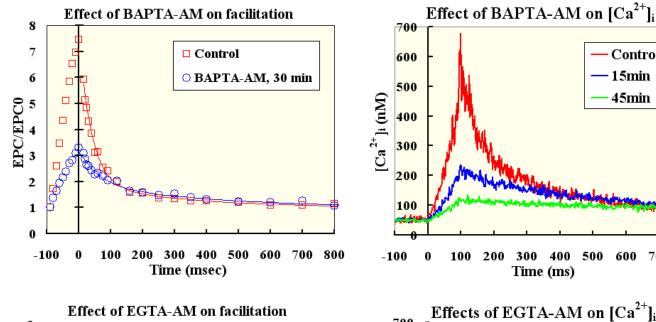
- ・口径1μmのガラス管を細胞に刺入する細胞内記録法
 - 一つの小胞の開口放出で約1mVの応答が記録される
- ・口径200μmのガラス管を細胞に押し当てる細胞外記録法
 - 一つの小胞の開口放出で約1nAの応答が記録される
- ・伝達物質放出量と電気的応答は比例する
- ・放出量は神経刺激依存的に変化する
 - これがシナプス可塑性で記憶・学習の初期過程

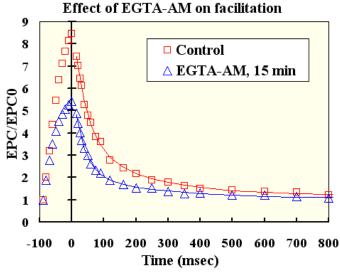


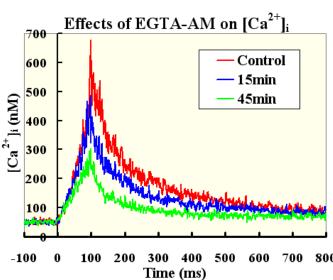
Q:シナプス可塑性を起こす要因は何

A : 速い可塑性はカルシウムイオンが主要因

- •100Hz 10回刺激で生ずる可塑性は促通と呼ばれる。速い促 通は50ms、遅い促通は200msの時定数を持つ
- ・カルシウムイオンの結合・解離の速度の速いBAPTAは、前 末端内カルシウムの速い変化・速い促通に対してまず抑制 効果を示す。これに対し、結合・解離の速度の遅いEGTAは、 まずは、前末端内カルシウムの速い変化を残したまま遅い 変化を抑制し、速い促通を残したまま遅い促通を抑制する。







Control

15min

45min

Q:カルシウムイオンに依存しない可塑性はないの?

A: 刺激依存的でカルシウムイオンとは無関係な可塑性も有り

- 標本全体は無カルシウムリンガーで還流
- ・ 測定シナプスに局所的にカルシウムリンガーを吹きかける
- ・コントロールの放出量測定後、吹きかけをやめて充分カルシウム無し状態にした後に100HZの連続刺激を50秒、直後からカルシウムを吹きかけ始めて、放出量を再び測定
- 連続刺激中のカルシウム上昇は測定で検出されなかったが、 連続刺激後の放出量は5倍程度に増加し、この可塑性は1 30秒程度の時定数でゆっくりと元に戻った。この可塑性は 連続刺激中に流入するマグネシウムにも無関係だった。

