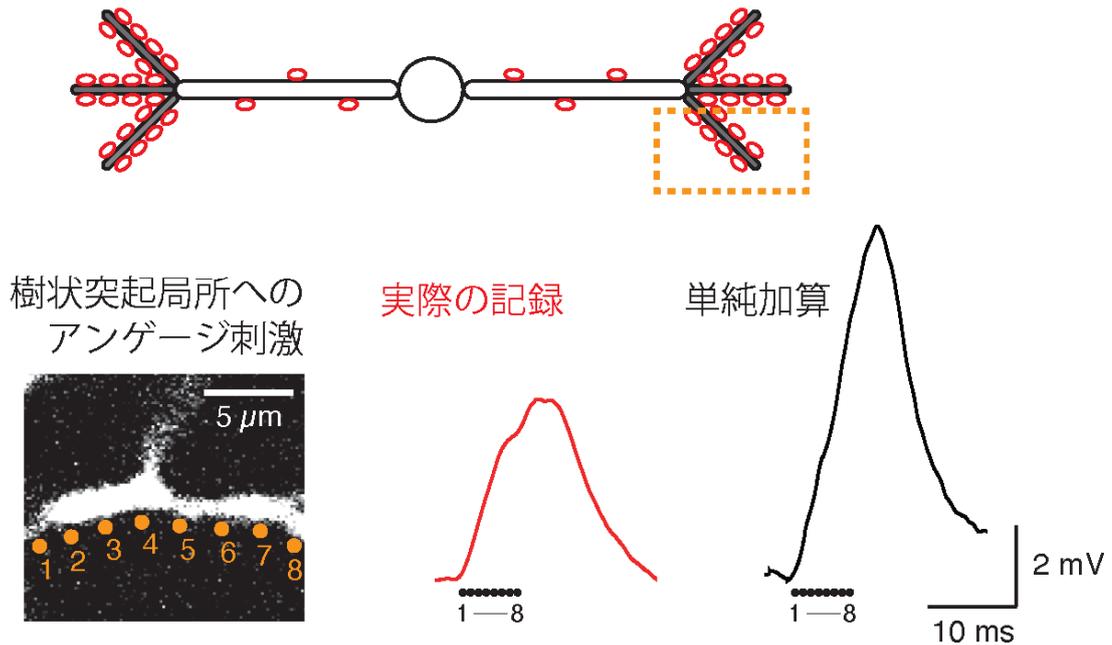


LCF 細胞における興奮性シナプスの分布様式



樹状突起におけるシナプス集積の新たな役割

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学・医学系研究科・細胞生理学の山田 玲助教、久場博司教授の研究グループは、樹状突起におけるシナプス集積の新たな役割を解明しました。

樹状突起にシナプスを集積させることは、入力の加算を増強することで情報を増幅する役割を持つと従来考えられていました。今回本研究グループは、樹状突起におけるシナプスの集積が、逆に加算を抑制し入力の飽和を防ぐことにより、出力のダイナミックレンジを広げる役割を持つことを、音源定位行動に関わる聴覚神経細胞を用いて明らかにしました。

音源定位を行う手がかりとなる両耳間時差 (ITD) は、左右の耳からの入力 that 合流する脳幹の神経核で最初に検出されます。この細胞は担当する音の周波数に応じて樹状突起の長さを変えることが知られており、低い周波数に応答する細胞ほど長い樹状突起を持ちます。しかしながらその機能的意義は分かっていませんでした。

本研究では、二光子レーザー顕微鏡を用いたグルタミン酸局所刺激によって、樹状突起におけるシナプス分布を解析しました。その結果、低周波数細胞 (LCF 細胞) の長い樹状突起においては、シナプス入力 that 遠位部に集中していることが分かりました。この構造により遠位樹状突起で生じる大きな脱分極が、入力サイズ依存的にシナプス電位を減衰させることによって、幅広い入力強度に対して正確な ITD 検出を実現していることが分かりました。

本研究成果は、2021 年 11 月 24 日付「Science Advances」(日本時間 25 日午前 4:00) にオンライン公開されました。

ポイント

○長い樹状突起の遠位にシナプス入力を集中させることで、効率的な入力サイズ調節が可能となり、幅広い強さの音入力に対しての ITD 検出を実現している。

○この作用は入力周波数に依存しており、低周波数においてうまく機能する。

○同じ低周波数を使う哺乳類においても同様の樹状突起形態を持つことから、生物全般に共通する仕組みである可能性が示唆された。

1. 背景

人間も含めた動物は音情報を使って対象物の位置を特定することができ、この能力は音源定位と呼ばれます。その手がかりの一つとして、両耳に到達する音の僅かな時間差が使われます。この両耳間時差 (ITD) は、鳥では層状核 (NL) と呼ばれる、左右の耳からの信号が合流する神経核で最初に検出されます。NL の神経細胞は左右からの信号が同時に到達した時にだけ活動電位を発生する同時検出器として働くことで、ITD の情報を検出します (図 1)。ITD の検出は音の周波数ごとに別々の細胞を使って行われていますが、面白いことに NL においては担当する周波数に応じて細胞の形が異なり、低い周波数を担当する細胞 (LCF 細胞) ほど長い樹状突起を持つことが分かっています。しかしながらこのような樹状突起長の違いが ITD の検出にどのような効果を持つのかについて、明確な回答は得られていませんでした。その一番の原因としてはこの樹状突起に入力するシナプスの分布様式が分かっていることが考えられたため、私たちは二光子顕微鏡を用いた局所刺激技術を活用することで、この課題に挑みました。

2. 研究成果

聴覚研究のモデル動物であるニワトリの脳幹スライス標本を用いて、NL 細胞からパッチクランプ記録を行いました。二光子レーザー顕微鏡^{*1}を用いたグルタミン酸のアンケージ刺激^{*2}を行うことで、樹状突起局所 (直径 1 μm 程度) のグルタミン酸受容体を活性化させ、この時に発生する電流を計測することで、その部位での受容体密度を評価しました。その結果、低い周波数を担当する細胞の長い樹状突起においては、細胞体から離れた遠位部の、細い分枝に受容体が集中していることが分かりました。シナプス小胞単位での電流サイズには違いが無いこと、さらには免疫染色法^{*3}を用いてシナプス前終末のマーカである VGluT2 の分布を調べたところ、LCF 細胞の樹状突起遠位部に発現が多く認められたことから、シナプス分布自体が遠位樹状突起に集中していると考えられました (図 2A)。

このシナプス分布の偏りが細胞体に届く信号にどのように影響するかを調べるため、細胞体での電位応答をモニターしながら、同様のグルタミン酸刺激を行ったところ、遠位部への入力は大きく減衰して細胞体に届くことが分かりました。二光子レーザーを用いて樹状突起局所の複数箇所を連続して刺激しても顕著な減衰が生じることから (図 2B)、この減衰にはシナプス入力が集中したときに局所で起こる大きな脱分極が関与していると考えられました。そこでコンピューターモデルを用いてシミュレーションを行ったところ、この脱分極はイオン駆動力の減少によるグルタミン酸受容体を介した電荷流入を減少させることに加えて、カリウムチャネルの活性化による電荷流出を増加させることで、細胞体に届くトータルの電荷を減少させ、電位変化を小さくすることが分かりま

した。さらにこのような局所脱分極による減衰は、入力するシナプス数が多くなるほど強くなる、非線形な減衰機構として振舞うことも分かりました。入力部位が細胞体から離れていることや入力部位の樹状突起が細いことなども、非線形減衰を効果的に機能させる要素となっていました。

さらにこの非線形減衰が ITD 検出にどのように影響するかを調べたところ、音圧が上昇してシナプス入力の数が増えた場合でも、細胞体に届く入力サイズを調整することで、左右入力の位相がずれたときの活動電位発生を抑え、幅広い音圧での ITD 検出を可能にする作用を持つことが分かりました（図3）。またこの効果は入力周波数に依存しており、低周波数音（1 kHz 以下）での ITD 検出においてのみ効果的に機能することも分かりました。つまり NL 細胞においては、細胞構造とシナプス分布が入力周波数に応じて最適化されており、特に LCF 細胞ではシナプス集積による非線形減衰を利用することで、ITD 検出のダイナミックレンジを広げていることを明らかにしました。

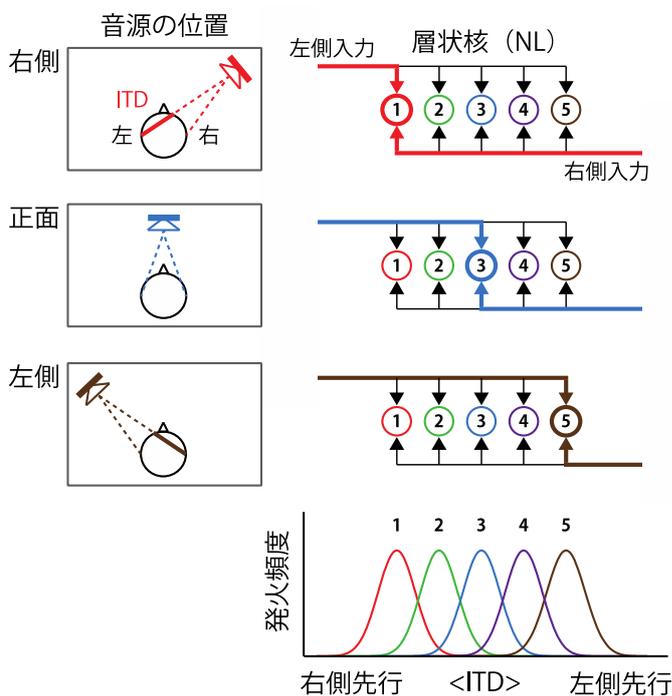
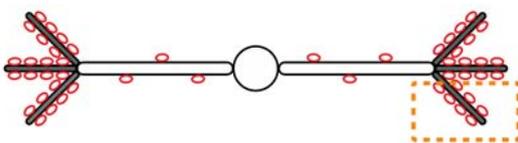


図1：同時検出器による ITD 検出回路

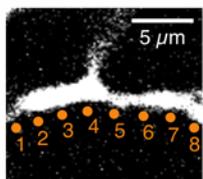
音源の位置によって、左右の耳に到達する音には時間差（両耳間時差：ITD）が生じる。

神経核内で一列に並んだ NL 細胞へ、蝸牛神経核から投射する軸索が遅延線回路を形成することで、左右からの入力が同時になる細胞の位置が、ITD に応じて変化する。個々の NL 細胞が、正確な同時検出器として働くことで、ITD の情報は神経核内で発火する細胞の位置として検出される。

A LCF 細胞における興奮性シナプスの分布様式



B 樹状突起局所へのアンゲージ刺激



実際の記録

単純加算

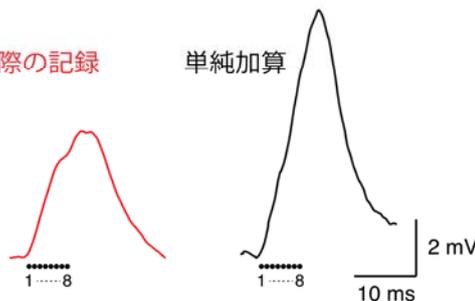


図2：樹状突起局所における減衰

A：LCF 細胞の長い樹状突起においては、遠位の分枝に入力が集中している。

B：樹状突起局所 (<15μm) に対して、1 番から 8 番まで 1.3 ミリ秒間隔で連続アンゲージ刺激を行った。連続刺激を行った際の実際の記録（赤色）は、別に記録した個々の応答を同じ間隔で単純加算した場合に比べて、大きく減衰することが分かった。

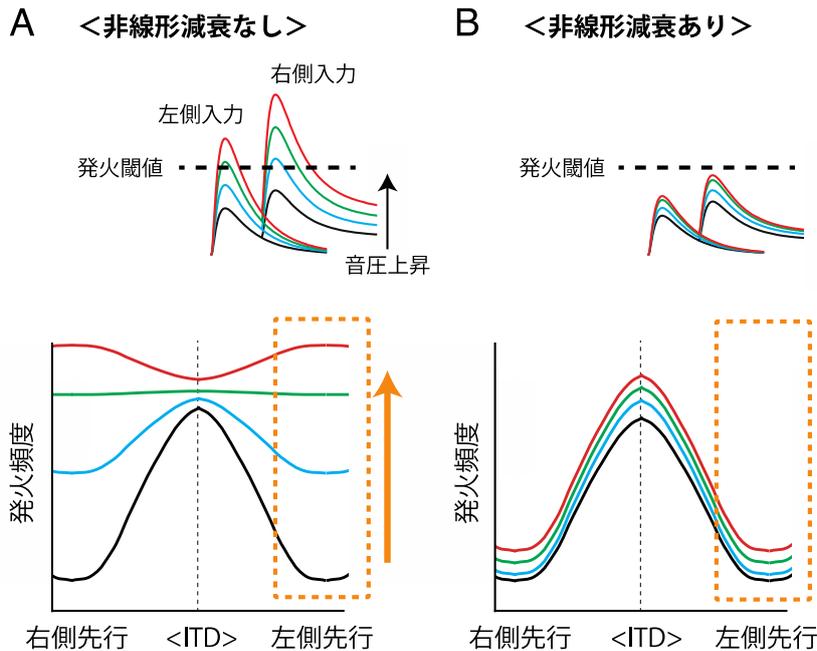


図3：シナプス集積による非線形減衰はITD検出精度を幅広い音圧に対して維持する

A：音圧が強くなりシナプス入力が増えると、位相がずれた時でも発火閾値を超えて発火頻度が上昇してしまう。

B：非線形減衰によって位相がずれた時の発火を抑えることができる。

3. 今後の展開

哺乳類においては内側オリブ核（MSO）がITD検出を最初に行う神経核であり、人と同じ低周波数帯域を使ってITD検出を行う動物（スナネズミ）を対象に研究が行われています。スナネズミのMSO細胞もNLの低周波数領域と同様の長い樹状突起を持つことが知られていますが、MSO細胞における樹状突起の役割については明らかになっていませんでした。本研究で明らかにした樹状突起構造とシナプス分布を利用した非線形減衰メカニズムは、低周波数音でよく機能することから、哺乳類MSOにおいても同様の役割を担っていることが予想されます。これまでの研究から、聴覚回路の形態と機能には周波数という音の物理特性に応じて動物種を超えた多くの共通性があることが明らかとなっており、今後も周波数に応じた解析を進めていくことで、人を含めた生物全般が共有する音源定位行動を実現するための仕組みを明らかにできるのではないかと考えています。

さらに本研究は樹状突起の演算素子としての新たな可能性を開いたものであり、他の脳領域における、樹状突起を介した情報処理の理解にもつながると考えています。

4. 謝辞

本研究は、武田科学振興財団研究助成・医学系研究奨励における研究課題「樹状突起による周波数依存的な情報処理機構の解明」（研究代表者：山田 玲）、日本学術振興会のサポートを受けて行われました。

5. 用語説明

※1 二光子顕微鏡

対象分子の励起波長より長波長の赤外線レーザーを用いる顕微鏡。対象分子が2つの光子を吸収したときに活性化される、二光子励起現象を利用するため、刺激範囲をより限局させることが可能で

ある。また赤外線レーザーであるため、組織浸透性も高く、深部での刺激や観察が可能である。

※2 アンケージ刺激

光照射によって外れる保護基を生理活性分子につけて不活化したケージド化合物を用いる。光照射によって目的の範囲に限局して対象分子を活性化させることができる。本研究ではケージドグルタミン酸を用いて、樹状突起局所のグルタミン酸受容体を選択的に刺激した。

※3 免疫染色法

検出したいタンパク質を抗原とした抗体を作成し、免疫反応（抗原抗体反応）を利用して目的タンパク質に標識をつけることで、サンプル中の目的タンパク質の分布を調べる手法。近年では蛍光標識を用いるのが一般的である。

6. 発表雑誌

掲雑誌名：Science Advances

論文タイトル：Dendritic synapse geometry optimizes binaural computation in a sound localization circuit.

著者：Rei Yamada and Hiroshi Kuba

所属：Department of Cell Physiology, Nagoya University Graduate School of Medicine

DOI：10.1126/sciadv.abh0024

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Sci_Adv_20211124en.pdf