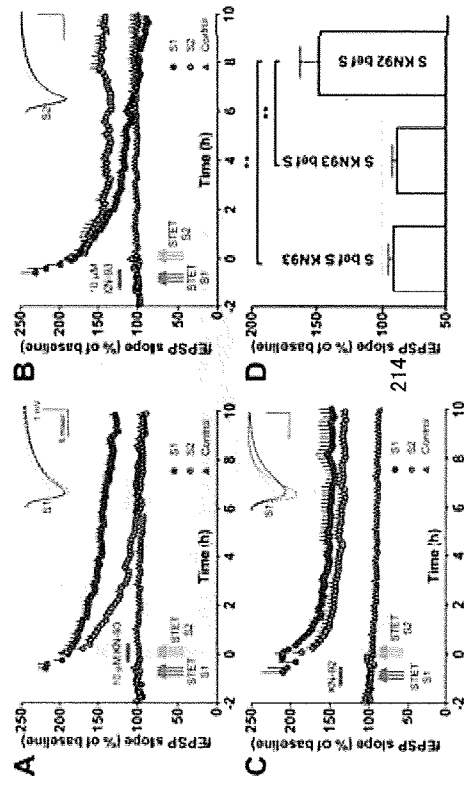


Figure S5



∴特集 **いまシナプスで何が起きているか？**：  
記憶・学習そして精神・神経疾患の場としての新しいシナプス像

---

## シナプスから核へのシグナリング： シナプス可塑性を長期化する分子機構

奥野浩行, 川島尚之, 野中美応, 尾藤晴彦

別刷

CELL SCIENCE  
**細胞科学**

秀潤社

Vol.28 No.9 2009

# シナプスから核へのシグナリング： シナプス可塑性を長期化する分子機構

Signaling from the Synapses to the Nucleus: A Molecular Mechanism Underlying the Persistence of Long-term Synaptic Plasticity

奥野浩行, 川島尚之, 野中美応, 尾藤晴彦

Hiroyuki Okuno, Takashi Kawashima, Mio Nonaka, Haruhiko Bito

新たな記憶の形成にはシナプス可塑性が不可欠であると考えられている。しかし、新たな記憶や可塑性の維持固定化にはさらに新規タンパク質合成が必要である。ではどのような「シナプスから核へのシグナリング」により、シナプス刺激に応答して必要な遺伝子の転写活性化が核で引き起こされるのであろうか。長期記憶に必須である転写因子 CREB をめぐる研究を通じ、1つの具体的な情報伝達経路として、NMDA 受容体-CaMKK-CaMKIV-CREB-SARE-Arc というシグナルの流れが明らかになってきた。本稿ではこの話題をめぐる最新の知見を紹介する。



key words

CREB, Arc, 前初期遺伝子, 転写制御

## はじめに

神経回路には、遺伝子プログラムによって決定論的に固定接続される回路 (hardwired circuit) に加えて、外界情報によって、ニューロン間の連結性が特異的に高まった (あるいは弱まった) 状態が維持される、いわば「可塑的」な回路 ("plastic" circuit) の存在が想定されている。このような連結性の変化の実体については、単にシナプス伝達効率のみが上昇するのか、ポストシナプスの容積変化が伴うのか、新たにシナプスが生成されたり、逆に消退したりするのか、などについて現在数多くの研究グループが検討を加えているところである (本特集の河西氏、林氏、柚崎氏らの稿を参照)。本稿では、シナプス入力によって可塑性がいったん誘導され、発現した後に、この可塑性がいかに長期化・持続化されるか、という点について検討を加え、特にシナプス活動が転写活性化を引き起こす過程で活性化されるシグナルカスケードに焦点を絞り、現在の知見を紹介したい。

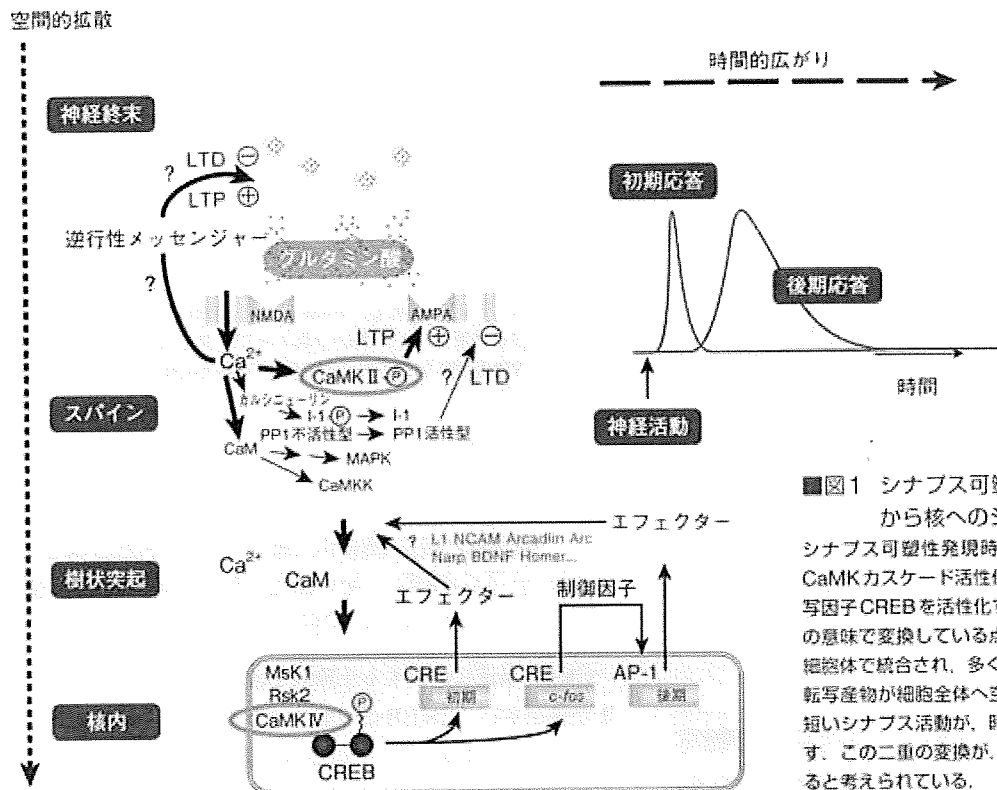
## I 海馬シナプス可塑性とその長期化における神経タンパク質合成の重要性

我々の脳は、外界からの入力情報に対して、いかなる場合にも適切な出力を演算し続けることにより、高次機能の発現・維持を可能にしている。この入出力関係の最適化のため

には、刻一刻と過ぎていく入力・出力の対応関係を逐一記録し加工したうえで、何らかの形で神経ネットワーク上の「経験」として参照可能な形で長期的に保存する機構の存在が必要と考えられる。ヒト記憶障害の症例研究やマウス・ラットにおける脳の特異的部位障害に伴う行動異常観察により、新たな記憶形成には、海馬ならびに周辺領域の神経回路が不可欠であると現在考えられている。

海馬で記憶がまさに発生する際に、シナプス入力特異的な長期増強 (long-term potentiation: LTP) 様の長期的なシナプス可塑性が引き起こされると考えられている<sup>1)2)</sup>。記憶は、場合によっては数十年保持されるわけであるから、記憶の情報はずなずシナプスに一時的に貯蔵されるとしても、その後は、何らかの長期化・固定のメカニズムを必要とすることは容易に理解できよう。その分子機構については、新規タンパク質合成の重要性が提唱されていた<sup>3)</sup>が、その実体は長らく不明であった。

海馬興奮性シナプスは、高頻度刺激 (例えば 100Hz, 1 秒間というテタヌス刺激) を受容すると神経伝達効率を長期間にわたり増加 (あるいは減弱) できる可塑的な特徴を備えている<sup>1)2)</sup>。シナプス伝達効率が長時間上昇する LTP 誘導においては、入力特異的に起こるシナプス刺激により引き起こされた NMDA 受容体の開口とその下流の  $Ca^{2+}$  シグナルが最も重要である。では、この  $Ca^{2+}$  シグナルは、①いかにして海馬神経回路に情報を書き込み、②さらに書き込まれた情報をどのようにしてタンパク質合成依存的に固定するのであろうか。



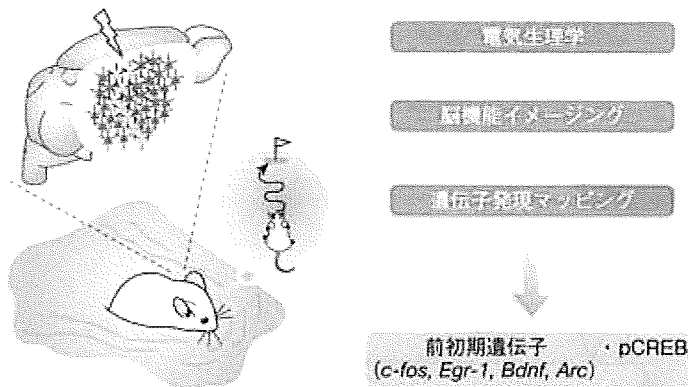
■ 図1 シナプス可塑性の長期化におけるシナプスから核へのシグナリングの意義  
 シナプス可塑性発現時に発生したカルシウムシグナルは、CaMKカスケード活性化などにより、長期記憶に関与する転写因子CREBを活性化する。このことはシナプス情報を二重の意味で変換している点で重要である。まずシナプス情報が細胞内で結合され、多くの遺伝子の転写活性化の効果により、転写産物が細胞全体へ空間的に拡散していく。さらに、本来短いシナプス活動が、時間的に広がりを持った応答をもたらす。この二重の変換が、可塑性の長期化・固定に不可欠であると考えられている。

II シナプス入力はどうに神経細胞の転写を活性化するか：神経活動依存的CREB活性制御を活性化するCaMKK-CaMK IVカスケード

先の2つの問いに対して、数多くの研究成果がこれまでに報告されている。前者については、数多くの実験によりカルシウム・カルモジュリン依存性リン酸化酵素II (CaMK II) の関与が強く示唆され、ほぼコンセンサスとなっている<sup>13, 14, 15</sup>。後者に関しては、新規に神経活動依存的遺伝子発現の亢進が必要となることから、脳神経系でシナプス活動によって発現上昇を伴う遺伝子のプロモーター領域に多く認められる転写調節エレメントCRE (Ca<sup>2+</sup>/cAMP-responsive element) の重要性が早くから認識され、CREB (CRE-binding protein; CRE結合因子) が長期記憶および長期可塑性に関与するかという点が、数多くの研究室で調べられた。その結果、転写因子CREBは、種を超え、長期記憶、神経細胞生存、神経回路形成に深く関与することが明らかとなっている<sup>16, 17</sup>。さらにCREB依存性転写は、海馬長期記憶の固定・再固定以外にも、

長期的な恐怖記憶、視覚野可塑性、パレル野可塑性、条件的味覚回避などにおいても中核的役割を果たしている可能性が示唆されている<sup>18, 19</sup>。

CREBの長期可塑性・長期記憶における役割を解明するためには、神経活動下で、どのような分子機構によりCREBの活性化が直接的に制御されているのかをまず明らかにする必要がある。筆者らは、神経可塑性を誘導するパターン刺激によって海馬の長期記憶を担う興奮性錐体細胞のCREB Ser133リン酸化が亢進することを示し、さらにこの反応がCaMKK-CaMK IV依存的に起こることを示した<sup>10a, 11</sup>。そして、こうした一連の仕事の結果、リン酸化制御機構の重要な役割の1つは、一過性でなく、「持続的なCREBリン酸化状態」を神経細胞の核内で引き起こすことにあることを明らかにした<sup>10a, 12</sup>。海馬錐体細胞における電気活動依存的、カルシウム流入依存的な遺伝子発現には、CaMKK-CaMK IVの経路の関与に加えて、PKA (protein kinase A) やErk-Msk経路の寄与も示唆されており、生理的条件下でカルシウムの下流の複数のシグナルが核内でどのように統合されるのかを解き明かしていくことが1つの大きな課題と考えられた(図1)。



■図2 神経回路の活動マッピング

認知活動に関与する神経回路の脳局在を明らかにするための手法としては、電気生理学(シングルユニット記録)、機能的イメージング(fMRI, PET)に加えて、c-fos, Egr-1, BDNF, Arcなどの前初期遺伝子の発現マッピング(*in situ*ハイブリダイゼーション)や転写因子活性化の検出(pCREB免疫染色)がきわめて有効である。

さらに、個別的な遺伝子産物について、発現上昇したタンパク質が発現誘導を引き起こしたシナプス自体と空間的に相互作用するのか、またそれぞれのタイムコースはどのような時間的遅延を伴うのか、という大きな問題も提起された(図1)。

### III タギングとキャプチャー：細胞全体で転写産物を上昇させ、シナプス入力特異性を長期的に持続させるための巧妙な分子機構

活動依存的転写誘導とタンパク質合成を経た遺伝子産物は、どのようにして、LTPなどが発現している入力依存的可塑性と相互作用して、これを強化できるのであろうか、これを柔軟に説明する考え方のフレームワークとして、「シナプスタギングとキャプチャー」という仮説が提唱されている<sup>2)</sup><sup>12)</sup>。すなわち、①神経可塑性発現と並行して、入力特異的に活性化されたシナプス局所で発生するシナプスタグが存在し、②ほぼ同時期に転写活性化されてほぼ細胞全域に行き渡る新規合成タンパク質と相互作用することにより、③タグが初めて長期的に安定化されるというものである。

このようなタグの分子の実体についてはまだ謎が多いが、最近Homer-1a/Ves1-1sがこのような条件を満たす可能性のある分子であることが報告されている<sup>14)</sup>。また、シナプスタグの脆弱性がプロテアソームによるタンパク質分解により制御されていることが明らかとなっている<sup>15)</sup>。

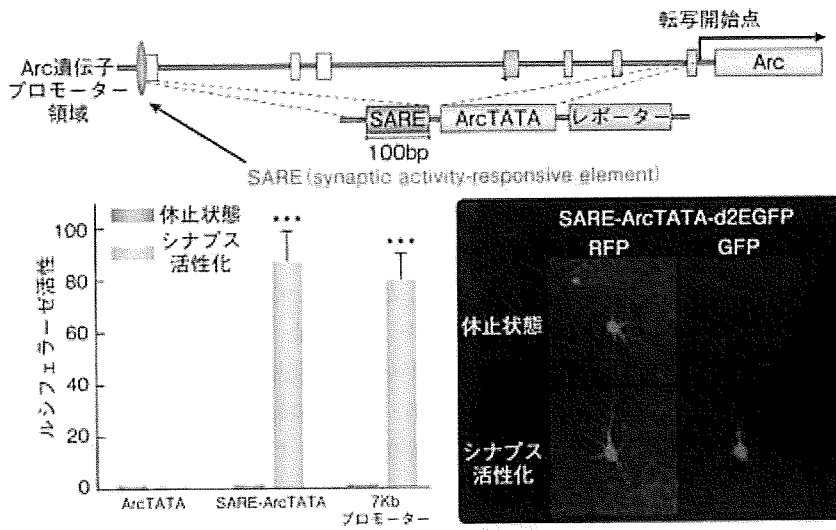
タグの発生と神経可塑性そのものを誘導するCaMK IIの関係については、いまだ確定的なデータは発表されていない。さらに、タグと相互作用すべき転写・翻訳産物の発現上昇にCREB依存的転写が関与することが推定されるが、その真否を今後明らかにしていくことが必要となろう。

### IV 長期記憶の調節に関与するCREB標的遺伝子の探索：Arc遺伝子の神経活動応答性エレメント(SARE)の発見

CREB下流に位置する生理的な標的遺伝子については、いまだ謎が多い。CREB標的配列であるCREエレメントを有する転写調節領域を持つ神経発現遺伝子は2000個を超えと言われ、その中のどの程度が真に神経活動依存的に誘導されるかはまだ不明である。しかしその一方で、認知活動により、個体脳の様々な神経核にて、前初期遺伝子と呼ばれる神経活動応答性がきわめて高い遺伝子群の発現が亢進することが報告されている<sup>16)</sup>。すなわち、動物個体レベルで強い神経活動により活性化された神経細胞集団を同定・マッピングするためには、抗リン酸化CREB抗体による免疫染色や、*in situ*ハイブリダイゼーションによるc-Fos, Egr-1 (Zif268), BDNF (brain-derived neurotrophic factor) やArc (activity-regulated cytoskeleton-associated protein) の遺伝子発現マッピングが優れていることが明らかになっている(図2)。

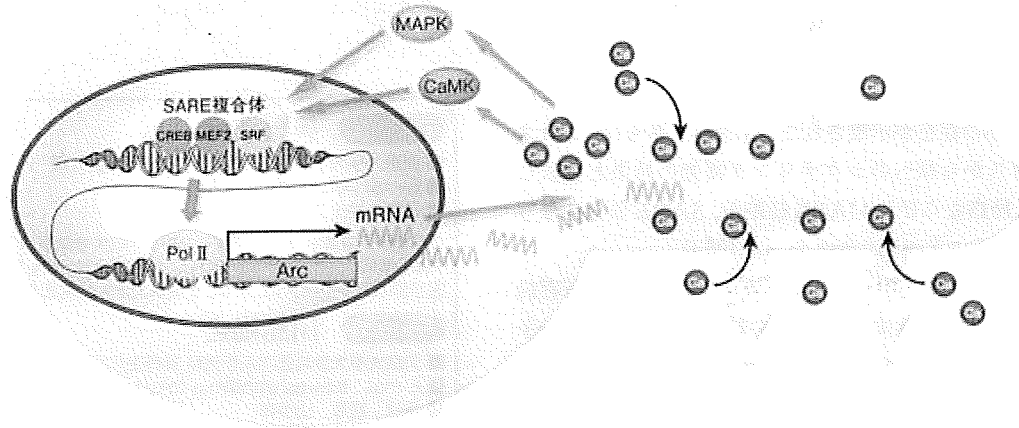
c-FosやEgr-1, BDNF遺伝子のプロモーターには、典型的CRE配列が存在することが長らく知られていたが、Arc遺伝子には単純な配列検索ではそのような配列が見いだされなかったことから、まったく異なる発現誘導制御機構があると考えられていた。しかし、Arc遺伝子産物がシナプス可塑性調節に直接的に関与することが証明されたため<sup>17)</sup>、Arc転写・翻訳産物のシナプス局在化機構<sup>18)</sup>に加え、Arc遺伝子発現誘導機構そのものについてもより詳細な検討が急務となった。

筆者らは転写調節領域を用いたレポーターアッセイを改良し、この課題に取り組んだところ、Arcの遠位エンハンサー



■図3 Arc遺伝子の新規転写活性制御領域の発見：神経活動応答性エレメント SARE

Arcプロモーター領域には進化的に保存された領域が散在する。ルシフェラーゼやGFPをリポーターとして計測すると、転写開始点からほぼ7kb上流に位置する新規エレメントSAREにより、Arc遺伝子の神経活動応答性のほとんどが再現される。



■図4 SARE活性化の分子機構

強いシナプス活動により、NMDA受容体が活性化すると顕著なカルシウム流入が起こり、CaMK経路ならびにMAPK経路が活性化される。この結果、SARE上の隣接する結合部位へ活性化したCREB、MEF2ならびにSRFの3つの転写因子が結合し、Arc遺伝子の転写活性化を引き起こす。CREB、MEF2、およびSRFは、最も研究が進んでいる3つの神経活動依存的転写因子であるが、この三者の結合配列が直接隣接している転写調節領域の発見としては、SAREの報告が初めてである。通常のバイオインフォマティクス検索では同様のエレメントは他に検出されていない。

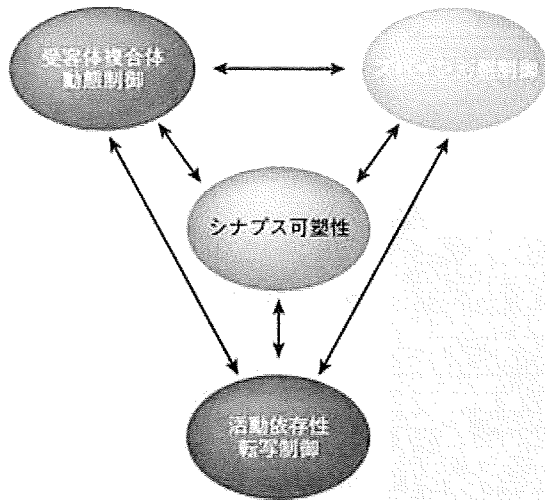
領域に非典型的なCREを含む、ほぼ100bp程度からなる新たな神経活動応答性領域を見だし、これをSARE (synaptic activity-responsive element) と名づけた<sup>19)</sup>(図3)。SAREを minimal promoter<sup>21)</sup>につないだところ、シナプス活動依存性が *in vitro*ならびに *in vivo*で見事に再現できた<sup>19)</sup>(図3)。

SAREには、非典型的なCREB結合配列に加え、コンセンサスから若干外れたMEF2結合配列、および典型的な

SRF-TCF結合配列が隣接している。また、これらいずれの結合配列の点変異によっても著しいエンハンサー活性の低下が見られることから、CREB、MEF2、SRFを含む仮想的な

注1 minimal promoter

TATAボックスを含む、それ自体では転写活性化能がきわめて低いプロモーター配列。



■図5 神経可塑性の総合的理解を目指して

シナプス可塑性の持続は、グルタミン酸性シナプス伝達の効率を直接規定する受容体複合体の動態制御だけによって決まるのではない。活動依存的転写活性化に伴う新規タンパク質合成、さらにはシナプスが局在する樹状突起スパインの形態制御などが、受容体制御と協調的に実現することがシナプス可塑性の長期化・固定化のために肝要である。

SARE 複合体の存在が示唆された<sup>19)</sup>(図4)。さらに、これまでのシナプスから核へのシグナリング研究の結果と合致して、CaMK 経路ならびにMAPK 経路が、SARE 依存的転写を制御していることが明らかとなった(図4)。

これまで個別に研究が盛んであった3つの神経活動依存的転写因子がそろって近接して、1つの神経可塑性調節遺伝子の発現誘導を直接制御するという例はこれまでになく、この複合体の全貌解明、ならびにシナプスから核へのシグナリング機構によりこの複合体がどのように機能制御されるかを明らかにしていくことが大きな課題である。

## おわりに

神経情報は、膜電位の上昇下降と神経伝達物質放出によって発生する。そして、神経伝達物質受容体に引き続くシナプス電位の変化は、神経細胞内で電気的シグナルと化学的シグナルの両者を生成する。特に、神経可塑性はこの両者の絡み合いから成り立っていると考えられるが、化学的シグナルの全貌は、変化するシグナルごとに別個の定量技術を開発する必

要があるため、これまで解明が遅れてきた。シナプス応答は経験がもたらす情報に基づき刻一刻と変化対応し、しかも過去の経験の記憶に基づき細胞全体の出入力関係を柔軟に修飾していく、このことが神経回路の高い適応能力の源であると考えられている。シナプス可塑性機構や、シナプスから核へのシグナリングの分子機構を解き明かすことは、記憶障害を含む脳高次機能障害の克服を図るうえできわめて重要な示唆を与えてくれることは間違いない。本稿で紹介したように、シナプス局所でのシグナルは、神経細胞体で引き起こされる細胞全体のシグナル応答とも密接に相互作用して、生成した情報の安定性制御・長期化に寄与している。今後は、神経活動応答性遺伝子群の産物がシナプス局所の分子複合体とどのように相互作用して、シナプス形態やシナプス可塑性そのものの安定性や脆弱性を制御していくか、ということをもつと具体的に解明していくことが重要になると考えられる(図5)。

### PROFILE 奥野浩行

- 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野
- E-mail: okuno@m.u-tokyo.ac.jp
- 趣味: サイクリング, 料理

1990年東京大学理学部卒業。1995年同大学院医学系研究科中途修了。1995年同大学院医学系研究科助手。2000年ジョンスホプキンス大学医学部ポスドク研究員。2003年東京大学大学院医学系研究科助手、助教。

### PROFILE 川島尚之

- 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野
- E-mail: tkawashima@m.u-tokyo.ac.jp
- 趣味: 読書, 山歩き

2009年東京大学医学部卒業。2009年同大学院医学系研究科博士課程入学。

### PROFILE 野中美応

- 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野
- E-mail: nonaka@m.u-tokyo.ac.jp
- 趣味: 旅行, バイオリン

2002年京都大学理学部卒業。2007年同大学院修了((博士)理学)。2007年より日本学術振興会特別研究員PD

### PROFILE 尾藤晴彦

- 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野
- E-mail: hbito@m.u-tokyo.ac.jp
- 趣味: 読書, 音楽鑑賞

1990年東京大学医学部卒業。1993年同大学院修了((博士)医学)。1993年～スタンフォード大医学研究科常勤研究員。1997年京都大学医学研究科助手、講師。2003年東京大学医学系研究科助教授、准教授(教室主任)。

## 文献

- 1) Malenka RC: Nat Rev Neurosci (2003) 4: 923-926
- 2) Morris RG: Eur J Neurosci (2006) 23: 2829-2846
- 3) Davis HP, et al: Psychol Bull (1984) 96: 518-559
- 4) Lisman J, et al: Nat Rev Neurosci (2002) 3: 175-190
- 5) Wayman GA, et al: Neuron (2008) 59: 914-931
- 6) Bito H, et al: Cell Calcium (2003) 34: 425-430
- 7) Nonaka M: J Neurosci (2009) 29: 6389-6391
- 8) Silva AJ, et al: Annu Rev Neurosci (1998) 21: 127-148
- 9) Alberini CM: Physiol Rev (2009) 89: 121-145
- 10) Bito H, et al: Cell (1996) 87: 1203-1214
- 11) Deisseroth K, et al: Neuron (1996) 16: 89-101
- 12) Bito H: Cell Calcium (1998) 23: 143-150
- 13) Frey U, et al: Trends Neurosci (1998) 21: 181-188
- 14) Okada D, et al: Science (2009) 324: 904-909
- 15) Fonseca R, et al: Neuron (2004) 44: 1011-1020
- 16) Tokuyama W, et al: Nat Neurosci (2000) 3: 1134-1142
- 17) Bramham CR, et al: J Neurosci (2008) 28: 11760-11767
- 18) Steward O, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2001) 98: 7062-7068
- 19) Kawashima T, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2009) 106: 316-321

## 細胞工学別冊 “実験プロトコールシリーズ”

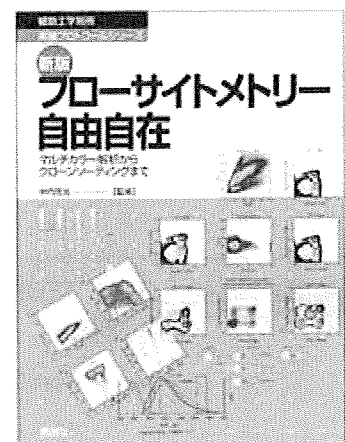
新版

5年ぶりの全面改訂。フローサイトメトリーの基本原理, 各社最新機器の操作法から, マルチカラー解析, 高速ソーティング, 実際の実験例までをプロトコール形式でわかりやすく解説。フローサイトメトリーを“自由自在”に操るために必読の一冊。

# フローサイトメトリー 自由自在

マルチカラー解析から  
クローンソーティングまで

■ 定価5,040円(5%税込) ■ A4変型判  
■ オールカラー, 192頁



監修/中内啓光(東京大学医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター 幹細胞治療研究分野)

秀潤社



細胞互学

CELL TECHNOLOGY  
別刷

Printed in Japan © SHUJUNSHA Co., Ltd. 2009

発行人  
発行所

須摩春樹  
株式会社 秀潤社

〒141-8510 東京都品川区西五反田2-11-8  
TEL : 03-6431-1200 (大代表) FAX : 03-6431-1214  
03-6431-1210 (営業部直通) 03-6431-1211 (編集部直通)  
E-mail : info@shujunsha.co.jp  
URL : <http://www.shujunsha.co.jp/>

本書の内容の一部あるいは全部を無断で複写複製（コピー）することは、法律で定められた場合を除き、著作権および出版者の権利の侵害となります。複写複製する場合には予め小社まで許諾を求めてください。

印刷・製本

株式会社 廣済堂

別刷

# Cognition and Dementia

---

Vol. **8** No. **3**

---

2009. 7

メディカルレビュー社

# シナプス長期可塑性の分子基盤

## The molecular basis of long-term synaptic plasticity

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野

Masatoshi Inoue 井上 昌俊

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野

Takashi Kawashima 川島 尚之

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野

Mio Nonaka 野中 美応

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野

Sayaka Takemoto-Kimura 竹本-木村 さやか

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野

Hiroyuki Okuno 奥野 浩行

東京大学大学院医学系研究科  
神経生化学分野准教授

Haruhiko Bito 尾藤 晴彦

### Summary

長期記憶や長期増強の発現には、カルシウム依存的リン酸化過程が重要であることが明らかになっている。CaMK II は最も古くから解析が進み、自己リン酸化による活性化機構が、神経可塑性や記憶学習の成立において不可欠であることが解明されている。さらに近年、CaMKK-CaMKIV-CREB 経路による制御が長期記憶・長期神経可塑性の発現に不可欠であることを裏づける報告が相次いでいる。今後、CaMK II 経路と CREB 経路のクロストークの実体を明らかにし、さらに現実の記憶障害の病態におけるこれらの分子シグナリングの破綻の実態解明が急務である。

### Key words

- カルシウム
- 長期記憶
- 長期増強(LTP)
- CaMK II
- CREB
- CaMKK-CaMKIVカスケード

### Ⅰ はじめに

カルシウム(Ca<sup>2+</sup>)シグナルは、シナプス小胞の放出、神経細胞興奮性制御のみならず、神経細胞の分化・突起形成、シナプス形成・成熟、神経細胞の生存や細胞死誘導、活動依存的転写・翻訳、そしてシナプス伝達・シナプス可塑性などの制御を司り、神経機能の実現にはなくてはならないシグナル伝達経路である<sup>1)2)</sup>。Ca<sup>2+</sup>シグナルの多彩な役割は、神経細胞内に多く存在するCa<sup>2+</sup>結合蛋白質によって媒介され、機能発現すると考えられている。なかでもカルモジュリン(calmodulin; CaM)はCa<sup>2+</sup>情報伝達における多機能性情報変換スイッチとして注目される分子である。

細胞内で上昇したCa<sup>2+</sup>はCaMと結合し、Ca<sup>2+</sup>/CaM複合体を形成する。この複合体がさまざまなCaM結合蛋白質に結合し、その活性を上昇させる。神経系において中心的な役割を担うと考えられているCaM結合蛋白質は多数あるが、特に多機能性リン酸化酵素であるCa<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ(calcium-calmodulin-dependent protein kinase; CaMK)の重要性が示唆されている。CaMKは複数の遺伝子からなるファミリーを形成している。具体的にはCaMK I, CaMK II お

よび CaMKIV と、CaMK I と CaMKIV の上位キナーゼである CaMK kinase (CaMKK) から構成される<sup>31-33)</sup>。

CaMK II は最も古くから解析が進み、自己リン酸化による活性化機構が、神経可塑性や記憶学習の成立において不可欠であることが解明されている。さらに近年、CaMK I/IV をリン酸化して活性化する 2 つのアイソフォームをもつ CaMKK の長期記憶・長期神経可塑性における重要性が如実に示されるようになってきている。本稿では、従来より記憶学習における役割が明らかになっていた CaMK II 経路を、新たに注目されている CaMKK-CaMK I/IV カスケード (CaMK カスケード) と対比させながら、シナプス長期可塑性の分子基盤について概説したい。

## III 外界刺激によるシナプス入力の NMDA 受容体 Ca<sup>2+</sup> 流入を介した情報変換

外界からの入力情報に対して、いかなる場合にも適切な出力を常に演算し続けることにより、脳が高次機能を遂行できることが脳機能の大きな特色である (図 1)。この入出力関係の最適化のためには、刻一刻と過ぎていく入力・出力の対応関係を逐一記録し、加工したうえで、なんらかのかたちで神経ネットワーク上の「経験」として保存する機構の存在が必要と考えられる。このようなオンライン記録の機能は、海馬ならびに周辺領域の神経回路が担っているとされている。しかしこのオンライン記録は比較的短期間しか持続せず、脳神経系全体で長期間情報を維持するためには、記録データベースの中から記憶しつづけるべき「有用な経験」をさらに抽出加工し、長期的な記憶へと固定する分子機構の存在が推定されているが、その実体は明らかになっていない。

海馬神経回路網では、意識下の「経験」が活発に記憶されていると考えられている。すなわち、海馬興奮性シナプスには、一定の興奮パターンを受容すると神経伝達効率を長期間にわたり増加 (あるいは減弱) できる可塑的な特徴を備えていることが広く知られている。海馬における主細胞である錐体細胞はグルタミン酸性興奮性神経細胞である。その興奮性シナプスでは、さまざまな高頻度刺激などによってシナプス伝達効率が長時間上昇する長期増強 (long-term potentiation; LTP) という神経可塑性が起こることが知られている。高頻度刺激時の細胞内 Ca<sup>2+</sup> 上昇、あるいは NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型グルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) 活性を阻害すると、LTP 誘導が消失する。また、NMDA 受容体機能を薬理的に、あるいはマウス遺伝工学的に障害させると、個体レベルでの空間記憶や、海馬の place cell (場所細胞) における place field (場所受容野) にも著しい異常が認められた。このため、強く活性化されたシナプスの NMDA 受容体チャンネルの活性化・開口により引き起こされる Ca<sup>2+</sup> 流入が、細胞レベルの神経可塑性のみならず、細胞集団レベルの place field 形成や個体レベルの空間記憶のメカニズムにとって必須な引き金であることが明白となっている<sup>34)</sup>。

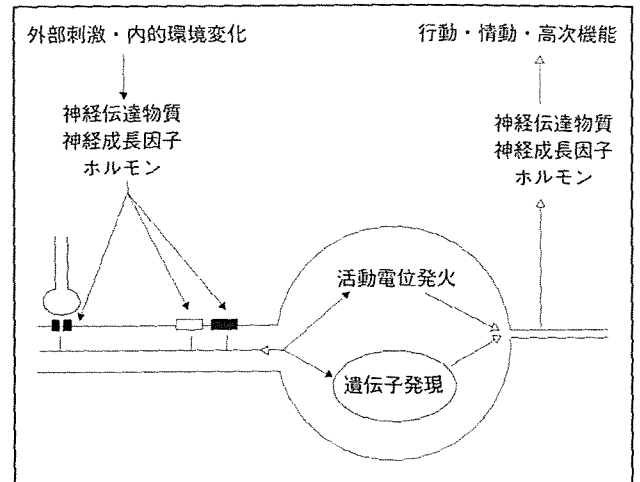


図 1 神経細胞による情報統合と演算処理  
外界刺激によって引き起こされる神経活動により、電気的シグナル (活動電位発火) や化学的シグナル (たとえば遺伝子発現) が各々活性化され、その総和として、適切な出力が演算される。

そこで、強いシナプス刺激をきっかけに引き起こされた NMDA 受容体の下流の Ca<sup>2+</sup> シグナルが、どのように海馬神経回路に情報を書き込み、さらに最終的には海馬回路外へと情報を転送しうのかを分子レベルで解明す

ることが記憶の形成と固定の機序を紐解く鍵となる。

### III CaMK II — シナプス入力特異的な局所的分子スイッチ

CaMKファミリーの中で、最も研究が進められているのがCaMK IIである。CaMK IIは細胞内Ca<sup>2+</sup>上昇に伴うCa<sup>2+</sup>/CaMにより活性化され、自己抑制領域内にあるThr-286が自己リン酸化されると、Ca<sup>2+</sup>非依存的な活性を維持できるようになる(図2)。そのCa<sup>2+</sup>非依存的活性は、*in vitro*の実験により、Ca<sup>2+</sup>パルスの周波数に依存することが示されており、CaMK IIが後シナプス両方に多く存在することから、シナプスへの入力刺激が異なるパターンで入ったときにそれを読み解く解読装置として働くのではないかと考えられている<sup>81,82</sup>。遺伝子改変マウスの解析から、海馬におけるLTP、記憶、学習といった脳の高次機能における関与が示されている<sup>100,101</sup>。これまでCaMK IIのシナプス内基質としては、CaMK II自身のThr-286の自己リン酸化部位以外に、シナプス伝達における主要なグルタミン酸受容体であるAMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid)型受容体のサブユニットGluR1のC末端のSer-831残基<sup>123</sup>やAMPA型受容体のシナプス移行を制御するサブユニットと目されるTARP(transmembrane AMPA receptor regulatory protein)<sup>124</sup>が報告されているが、これらの意義については、まだ確定していない。さらに、シナプス可塑性が誘導発現している間にCaMK II活性の持続や分子動態などについて不明確な点が多い。

### IV CaMKK-CaMKIVカスケード — 細胞全体の長期活性化スイッチ

CaMKKは、CaMK IIの類似分子として同定されたCaMK IV、CaMK Iの上流のリン酸化酵素として単離された。CaMKKは、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が低い基底状態では、CaMKKのキナーゼ領域が自己抑制領域と結合しているため、下流標的キナーゼ(CaMK IやCaMK IV)を活性化できない低活性状態にある。細胞内でのCa<sup>2+</sup>上昇

に伴い、Ca<sup>2+</sup>/CaMがCaMKKのC末側にあるCaM結合領域と結合すると、CaM結合領域に隣接する自己抑制領域の構造が変化する。そして自己抑制領域による抑制解除に伴いキナーゼ領域が露出し、活性化状態になる(図2)。CaMKK $\alpha$ 、CaMKK $\beta$ の2遺伝子が存在するが、後者には低レベルながらCa<sup>2+</sup>非依存的な活性を示すことが知られている<sup>114,115</sup>。しかし、その機能的意義は明らかにされていない。

CaMKIVはCa<sup>2+</sup>/CaMと結合すると、いわゆるキナーゼ活性化ループのThr-196を露出させCaMKKによるリン酸化が強く促進される。またこの後、CaMKIVのN末端に対する自己リン酸化によって自己抑制領域が解除され、最大活性を示す状態になると考えられている。CaMKKによるリン酸化とそれに引き続く自己リン酸化によって一度活性化されると、Ca<sup>2+</sup>/CaMが解離したあとも通常の構造に戻らず、しばらく活性化状態に近い構造をとると考えられている。

CaMKK-CaMKIVカスケードの重要な生理的基質の1つは、長期記憶を制御する転写因子CREB(cyclic AMP response element-binding protein)である。われわれは、CaMKK-CaMKIVカスケード活性化によりCREBの持続的なリン酸化が促進し、記憶・学習の際に発生する長期可塑性の発現を大きく促進することを最初に提唱した<sup>51,61</sup>。その後、CaMKIV活性やCaMKK活性を改変させた数多くの遺伝子改変マウス実験により空間記憶や文脈依存的恐怖記憶などの長期相が、実際に本経路により選択的に制御されていることが実証されている<sup>171-173</sup>。

### V タギングとキャプチャー — シナプス入力特異的長期増強を持続させる新たな分子機構

転写因子CREBは、種を超え、長期記憶に深く関与していることが明らかになっている。CREB依存性転写活性化と、海馬長期記憶の固定・再固定や、さらに扁桃体での恐怖条件づけ、視覚野可塑性、パレル野可塑性、条件的味覚忌避などの脳高次機能制御との間にも強い相関があることが個体レベルで裏づけられている。CREB

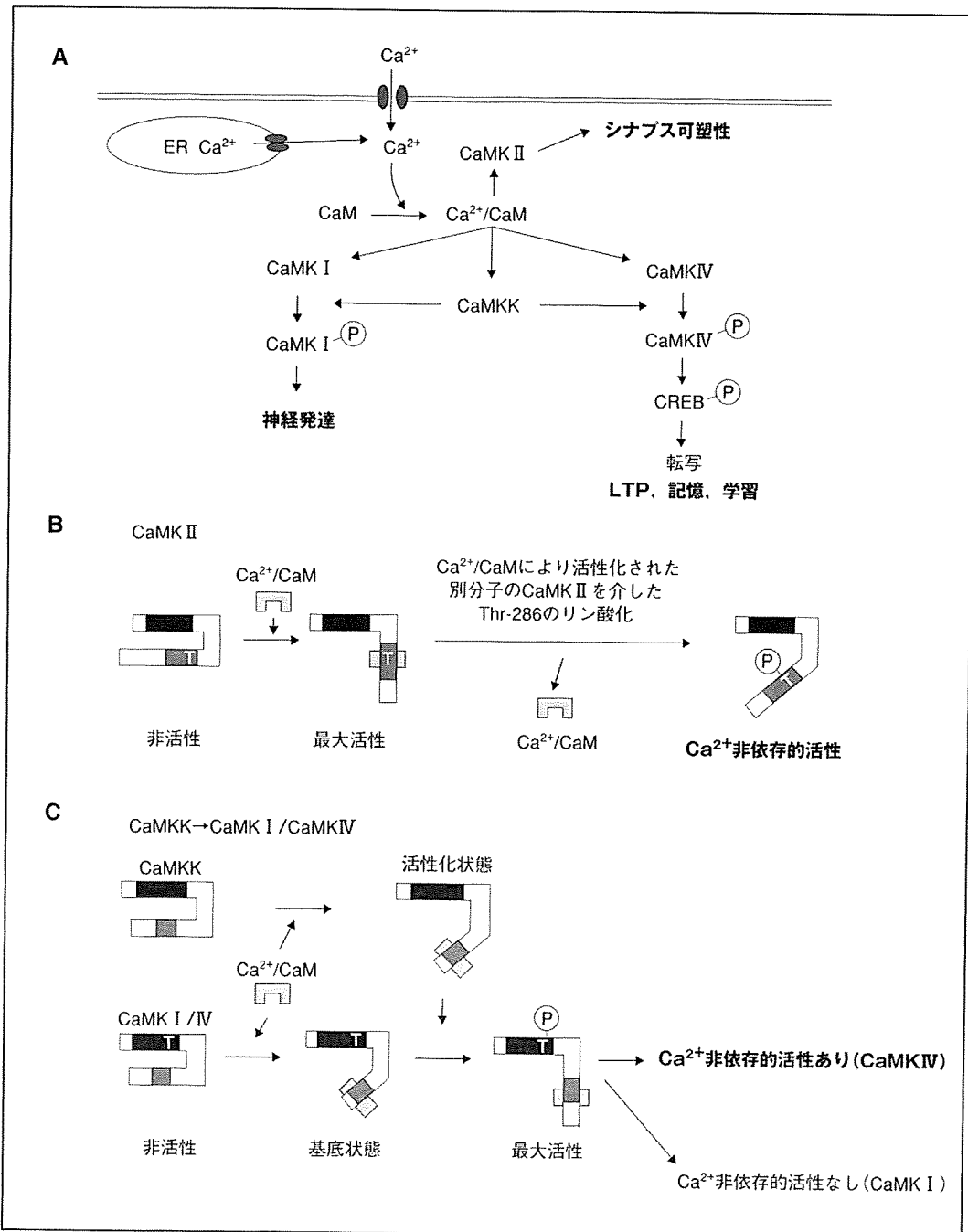


図2 複数のCaMK経路による神経機能制御

A: 神経細胞におけるCaMK経路の多様性, B: CaMKIIの活性化機構, C: CaMKカスケードの活性化機構  
 ER: endoplasmic reticulum, CaMK: calcium-calmodulin-dependent protein kinase, CaM: calmodulin,  
 CaMKK: CaMK kinase, CREB: cyclic AMP response element-binding protein, LTP: long-term potentiation

の上流に位置する活性化経路の1つが前述のCaMKK-CaMKIVカスケードであり、加えてPKA (protein kinase A)やMAPK (mitogen-activated protein kinase)経路の重要性も示唆されている。

CREB下流の標的遺伝子については、まだ謎が多い。CREB標的配列であるCREエレメントを有する転写調節領域をもつ神経発現遺伝子は2,000個を超えといわれ、その中のどの程度が真に神経活動依存的に誘導されるかはまだ不明である。しかし最近、長期可塑性を制御する前初期遺伝子Arcの遠位エンハンサー領域に、非典型的なCREを含む、神経活動応答性エレメントSARE (synaptic activity-responsive element)が発見されている<sup>24</sup>。したがって、CREBの長期記憶促進活性の一部はArcを介しているのかもしれない。

それではArcのように、活動依存的転写誘導・蛋白合成を経た遺伝子産物は、どのようにして、LTPなどが発現している入力依存的可塑性と相互作用してこれを強化できるのでしょうか。これを柔軟に説明する考え方のフレームワークとして、「シナプスタギングとキャプチャー」という仮説が提唱されている<sup>7</sup>。すなわち、①神経可塑性発現と並行して、入力特異的に活性化されたシナプス局所で発生するシナプスタグが存在し、②ほぼ同時期に転写活性化されてほぼ細胞全域に行きわたる新規合成蛋白と相互作用することにより、③タグがはじめて長期的に安定化されるというものである<sup>7</sup>。このようなタグの発生や安定化に、実際にCaMKIIやCaMKKカスケードが関与しているか否かを今後明らかにしていくことが必要となるであろう。さらに、CaMKII活性化異常やCREB転写破綻により、神経回路構築や興奮性異常がもたらされるという表現型解析<sup>25</sup>のみならず、記憶障害を伴う脳高次機能疾患において、実際にCaMKII経路やCREB経路の意義を検証していくという作業が重要と考えられる<sup>26,27</sup>。現に、Angelman症候群やポリグルタミン病末期のモデル動物では、CaMKII経路やCREB転写への介入による症状の回復が確認されており、新たな創薬の分子標的としての期待が高まっている<sup>26</sup>。

## VI おわりに

神経細胞におけるCa<sup>2+</sup>動態とCaMK活性の制御は、神経細胞内のキナーゼ局在部位によって、それぞれ異なる様相を呈している。樹状突起スパインでのCaMKIIの自己リン酸化、核のCaMKK-CaMKIV経路に加え、細胞質や樹状突起ラフト内でのCaMKK-CaMKI経路の活性化<sup>28</sup>が、神経活動などによって引き起こされるCa<sup>2+</sup>シグナルの下流で、同時並行的にもたらされることが明らかになりつつある(図2)。したがって、Ca<sup>2+</sup>流入に引き続くシナプス局所でのシグナル伝達以外にも、多彩なCaMK経路が神経細胞内で広く活性化を受け、これらとシナプス近傍のCaMKIIシグナルもクロストークしていると推測される。この結果として種々の可塑性現象、すなわちシナプス伝達特性変化やシナプス形態再編成がもたらされる可能性が大きいのではないかと考えられるが、その研究は、まだ端緒にすぎないばかりである。

スパイン内蛋白動態、スパイン形態制御、活動依存性転写といった全く別個の現象として捉えられていた情報伝達機構が、どのような相互連関をもつのか。さまざまなシナプス長期可塑性において、これらの相関関係の実態を解き明かすことこそが今後の大きな課題であろう。このようなシグナル伝達基盤の長期的変化の実態が精緻に解明され、シナプス可塑性の結果として短期的・長期的に引き起こされる個体レベルでの高次機能修飾や神経ネットワークレベルでの機能的再構築の解析が今後ますます進展することが望まれる。

## 文献

- 1) Berridge MJ: Neuronal calcium signaling, *Neuron* 21: 13-26, 1998
- 2) Iino M: Regulation of cell functions by Ca<sup>2+</sup> oscillation. *Adv Exp Med Biol* 592: 305-312, 2007
- 3) Soderling TR: The Ca-calmodulin-dependent protein kinase cascade. *Trends Biochem Sci* 24: 232-236, 1999
- 4) Kennedy MB: Signal-processing machines at the post-synaptic density. *Science* 290: 750-754, 2000
- 5) Bitto H, Takemoto-Kimura S: Ca<sup>2+</sup>/CREB/CBP-dependent gene regulation; A shared mechanism critical in

- long-term synaptic plasticity and neuronal survival. *Cell Calcium* **34** : 425-430, 2003
- 6) Malinow R, Malenka RC : AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* **25** : 103-126, 2002
  - 7) Morris RG : Elements of a neurobiological theory of hippocampal function ; The role of synaptic plasticity, synaptic tagging and schemas. *Eur J Neurosci* **23** : 2829-2846, 2006
  - 8) De Koninck P, Schulman H : Sensitivity of CaM kinase II to the frequency of Ca<sup>2+</sup> oscillations. *Science* **279** : 227-230, 1998
  - 9) Hudmon A, Schulman H : Neuronal Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II ; The role of structure and autoregulation in cellular function. *Annu Rev Biochem* **71** : 473-510, 2002
  - 10) Silva AJ, Paylor R, Wehner JM, et al : Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* **257** : 206-211, 1992
  - 11) Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, et al : Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* **279** : 870-873, 1998
  - 12) Barria A, Muller D, Derkach V, et al : Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-K II during long-term potentiation. *Science* **276** : 2042-2045, 1997
  - 13) Tomita S, Stein V, Stocker TJ, et al : Bidirectional synaptic plasticity regulated by phosphorylation of star-gazin-like TARPs. *Neuron* **45** : 269-277, 2005
  - 14) Anderson KA, Means RL, Huang QH, et al : Components of a calmodulin-dependent protein kinase cascade. Molecular cloning, functional characterization and cellular localization of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase kinase beta. *J Biol Chem* **273** : 31880-31889, 1998
  - 15) Tokumitsu H, Iwabu M, Ishikawa Y, et al : Differential regulatory mechanism of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase kinase isoforms. *Biochemistry* **40** : 13925-13932, 2001
  - 16) Bito H, Deisseroth K, Tsien RW : CREB phosphorylation and dephosphorylation ; A Ca<sup>2+</sup>-and stimulus duration-dependent switch for hippocampal gene expression. *Cell* **87** : 1203-1214, 1996
  - 17) Ho N, Liauw JA, Blaeser F, et al : Impaired synaptic plasticity and cAMP response element-binding protein activation in Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase type IV/Gr-deficient mice. *J Neurosci* **20** : 6459-6472, 2000
  - 18) Kang H, Sun LD, Atkins CM, et al : An important role of neural activity-dependent CaMKIV signaling in the consolidation of long-term memory. *Cell* **106** : 771-783, 2001
  - 19) Wei F, Qiu CS, Liauw J, et al : Calcium calmodulin-dependent protein kinase IV is required for fear memory. *Nat Neurosci* **5** : 573-579, 2002
  - 20) Peters M, Mizuno K, Ris L, et al : Loss of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin kinase kinase beta affects the formation of some, but not all, types of hippocampus-dependent long-term memory. *J Neurosci* **23** : 9752-9760, 2003
  - 21) Blaeser F, Sanders MJ, Truong N, et al : Long-term memory deficits in Pavlovian fear conditioning in Ca<sup>2+</sup>/calmodulin kinase kinase alpha-deficient mice. *Mol Cell Biol* **26** : 9105-9115, 2006
  - 22) Mizuno K, Ris L, Sánchez-Capelo A, et al : Ca<sup>2+</sup>/calmodulin kinase kinase alpha is dispensable for brain development but is required for distinct memories in male, though not in female, mice. *Mol Cell Biol* **26** : 9094-9104, 2006
  - 23) Fukushima H, Maeda R, Suzuki R, et al : Upregulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV improves memory formation and rescues memory loss with aging. *J Neurosci* **28** : 9910-9919, 2008
  - 24) Kawashima T, Okuno H, Nonaka M, et al : Synaptic activity-responsive element in the Arc/Arg3.1 promoter essential for synapse-to-nucleus signaling in activated neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106** : 316-321, 2009
  - 25) Nonaka M : A Janus-like role of CREB protein ; Enhancement of synaptic property in mature neurons and suppression of synaptogenesis and reduced network synchrony in early development. *J Neurosci* **29** : 6389-6391, 2009
  - 26) van Woerden GM, Harris KD, Hojjati MR, et al : Rescue of neurological deficits in a mouse model for Angelman syndrome by reduction of alphaCaMK II inhibitory phosphorylation. *Nat Neurosci* **10** : 280-282, 2007
  - 27) Sato T, Miura M, Yamada M, et al : Severe neurological phenotypes of Q129 DRPLA transgenic mice serendipitously created by en masse expansion of CAG repeats in Q76 DRPLA mice. *Hum Mol Genet* **18** : 723-736, 2009
  - 28) Takemoto-Kimura S, Ageta-Ishihara N, Nonaka M, et al : Regulation of dendritogenesis via a lipid-raft-associated Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase CLICK-III/CaMK I gamma. *Neuron* **54** : 755-770, 2007



