シナプスの可塑性

生物科学総合研究機構 村上 富士夫
生 理 学 研 究 所

はじめに

ヒトや高等動物の脳の中には数十億から百億個以上もの神経細胞があり、これらが複雑にからみ合いながら神経回路を形成している。それにもかかわらず、同じ種類の成熟した動物の脳の神経回路は同じであり、一度できあがった神経回路網はその動物の生涯を通して基本的には変わらない。

この様に神経結合は基本的には遺伝的に決定されており堅固なものであるが、場合によっては動物のおかれた環境や脳の一部に生じた傷害などによって、その結合の一部に変化が生ずることがわかってきた。この神経結合の変化は、一般に成熟した動物よりも未熟な動物の方が起こり易いが、未熟な動物での変化は神経系の rigid な構造が形成される前の未完全な状態で、外乱に対する反応であり、成熟した動物での変化が、完成した rigid な構造の改変であると考えられるならば、この二者は区別して考えられる。本稿では主に後者について述べることにする。

発芽とシナプス形成

哺乳動物のような高等動物の中枢神経系では、一度損傷を受けた軸索は再生することはない。しかし損傷によって支配神経の全部又は一部が失われた神経細胞では、損傷を受けなかった部位から支配の増強が起こり、脱支配された部位をも支配するということが比較的古くから知られていた。例えば Liu と Chambers らは¹¹⁾猫の脊髄の半切によって下行路をこわして約 300 日後に調べたところ、切断側で後根からの線維が増加していることを後根からの変性線維を追うことによって見出した。また、Goodman と Horel は⁸⁾ラットの大脳視覚領を片側破壊し、約 1 年後に網膜からの投射をやはり変性線維を追う Nauta 法で調べたところ、破壊をおこなった側の腹外側膝状体、視索外側核、視蓋前域の一部でやはり網膜からの投射の増加が認められた。その後 Katzman らは組織蛍光法⁷⁾を用いて、ラットの黒質の破壊後 7 日から 19 日後に、中脳でカテコ-

ルアミンを含む線維の増加を見出した⁹⁾。

しかしいずれの方法を用いた場合でも、単に軸索側枝が増加しただけなのかそれとも発芽した側枝からシナプス形成が起こったのかという問題に答えることはできなかった。これに対して Raisman ら^{24, 25)}は電子顕微鏡を用いてラットの中隔内側核で実際に新しいシナプスが形成されることを示した。ラットの中隔内側核に海馬から海馬糸を経由してくる線維の大部分は中核内側核細胞の樹状突起にシナプスをつくるのに対し、視床下部から内側前脳束を経由してくる線維は樹状突起部と細胞体部の両方にシナプスをつくる。海馬糸を破壊してしばらくして調べると内側前脳束経由の線維からのシナプスが樹状突起部付近で増え、内側前脳束を破壊すると海馬糸経由の線維からのシナプスが細胞体部付近にも形成されるという。この他同じく電子顕微鏡を用いた研究で外側膝状体¹⁴⁾や海馬の歯状回^{15, 16)}脊髄²⁾などでも入力の一部の破壊によって、脱支配されたニューロンで新しいシナプスが形成されることが示される様になった。

可塑性シナプスの機能

以上述べてきた様に形態学的には、脳の一部に損傷を与えると側枝発芽、シナプス形成が起こることが次第に明らかになってきた。しかしこの新しいシナプスが正常なシナプスと同じ様に機能するものかどうかは明らかでなかった。我々はこの問題を調べるために成熟した猫の赤核細胞を材料として、以下に述べる様な実験をおこなった。

猫の中脳にある赤核大細胞は、大脳感覚運動領と小脳の中位核からそれぞれ興奮性の単シナプス性結合を受けており、その軸索を脊髄へ送っている。大脳からのシナプスは赤核胞樹状突起部へ投射しており³⁰⁾一方中位核からのシナプスは細胞体部に結合している。このことは次のような電気生理学的実験事実によって示された^{30, 33)}。その主なものは 1) 大脳感覚運動領の電気刺激によって赤核に発生する興奮性シナプス電位 (E

PSP)は時間経過が緩慢(立上りからピークまでの時間の平均が3.6ミリ秒)であるのに対して、小脳中位核の刺激によるものは時間経過が早い(立上り時間の平均0.7ミリ秒)。2)細胞内に刺入した微小電極から通電をおこなって膜電位を変化させた時、EPSPの振幅の変化が脳脚刺激によるものより小脳核刺激によるものの方がはるかに大きい。更に我々はRallのコンパートメントモデル²⁶⁾を用いて赤核細胞のケーブル性の定量化をおこなうことによって、大脳皮質由来のシナプスが赤核細胞樹状突起の最も末端の部分に終結しているとの結論を得た³³⁾。

上述の形態学的研究の結果を考えると、赤核細胞でもその入力の一部を破壊すると残存の線維から側枝発芽が起こる可能性があるのではないかと考えられる。そこで入力の一つである中位核を破壊して2週間以上経過した猫を用い、破壊された中位核から投射を受けていた対側の赤核細胞から細胞内記録をおこなった。その結果大脳感覚運動領もしくは大脳皮質から赤核に到る経路にある大脳脚の刺激によって赤核細胞で記録されるEPSPは正常なものに較べて立上り時間(立上りからピーク迄の時間)が大幅に短かった^{31,32)}(図1)。また大脳皮質の微弱電流刺激によって悉無的に発

図1 中位核破壊による立上り時間の変化。

A: 正常猫で大脳脚刺激で赤核に発生したEPSP. B: 正常猫で中位核刺激によるEPSP. C~G: 中位核を破壊した猫の大脳脚を刺激して赤核に発生したEPSP. DからGには同じ細胞で刺激強度を上げていった時の応答を示してある。A~Gの下側のトレースは細胞外電位。H, I: 大脳脚刺激によるEPSPの立上り時間の分布ヒストグラム。Hは中位核を破壊した猫、Iは正常猫のもの。(文献32)より)

図2 ユニタリーEPSPの立上り時間と振幅の分布。

A: 中位核を破壊した猫の大脳感覚運動領又は大脳脚を刺激することによって赤核細胞に発生したユニタリーEPSPの立上り時間の分布。C: 同じく振幅の分布。B: 正常猫でのユニタリーEPSPの立上り時間の分布。D: 同じく振幅の分布。(文献19)より改変)

生するユニタリーEPSPを比較すると、正常猫で立上り時間2.68ミリ秒、振幅0.33ミリボルトであったのが中位核を破壊した猫では立上り時間1.36ミリ秒、振幅0.48ミリボルト(いずれも平均値)に変化した¹⁹⁾(図2)。これらの電気生理学的実験事実を説明するものとして以下の様な可能性が考えられる。中位核の破壊によって①大脳からのEPSPの発生に關与する興奮性コンダクタンスの時間経過が早くなり、その大きさが増加した。②赤核細胞のケーブル長が短縮された。③大脳から赤核への投射線維から発芽が起こり、赤核細胞の細胞体近傍に新しいシナプスが形成された。

赤核細胞の電気緊張の長さは、細胞内に矩形波状の電流を通電し、それに対する膜電位の応答から測定することができる^{32,33)}。実際に測定をおこなった結果は、正常猫1.1に対し中位核を破壊した猫では1.05であり、この差から生ずるEPSPの立上り時間の変化はおよそ0.1ミリ秒に過ぎない。また中位核を破壊した猫では、同じ細胞で立上り時間の短いユニタリーEPSPと長いユニタリーEPSPが記録できる(図3参照)。従ってEPSPの立上り時間短縮の原因は②ではないと考えられる。

次に中位核を破壊した猫で感覚運動領上の異なる部位を刺激すると、図3に示す様に同一の赤核細胞で立

図3 ユニタリーEPSPの振幅の過分極に対する変化。

A: SM1. 大脳感覚運動領刺激によって生じた立上り時間の短いEPSP. SM2. 同じく立上り時間の長いEPSP. B: Aと同じであるが過分極電流を流したときの記録. C: 過分極通電によるEPSPの振幅の変化を通電電流の大きさに対してプロットしたもの. ○, 立上り時間の短いEPSPの振幅, ●, 立上り時間の長いEPSPの振幅. +, 立上り時間の短いEPSPの振幅の非通電時の振幅に対する増加率. (文献20)より改変)

立上り時間の短いユニタリーEPSPと同時に、正常猫で見られるEPSPのように立上り時間の長いユニタリーEPSPも記録されることがある。そこで細胞内通電によって膜電位を過分極させると、立上り時間の短いE

PSPの振幅は顕著な増大を見せるが、立上り時間の長い方のEPSPの振幅は僅かにしか増加しない¹⁹⁾。このことから立上り時間の短いユニタリーEPSPの発生部位は立上り時間の長いユニタリーEPSPの発生部位よりも記録部位、即ち細胞体部に近い樹状突起上にあるのではないかと考えられる。

4図は縦軸にユニタリーEPSPの立上り時間、横軸に振幅をとってプロットしたものである。黒丸は正常猫、白丸は中位核を破壊した猫からとったデータである。黒丸に比べて白丸はより振幅が大きく立上り時間が短い領域へも分布の広がりが見られる。1から5迄の番号をつけた点は、Rallのコンパートメントモデル²⁶⁾を用い、赤核細胞が5コのコンパートメントから成る場合について、各番号に対応するコンパートメントで同一の時間経過、大きさの興奮性コンダクタンスの増加が起こった時、細胞体部に対応する第1コンパートメントで起こる電位変化をプロットしたものである。実験で得られた点群は、コンパートメントモデルによる計算値とよく一致している。このことは、発生するコンダクタンスの大きさ、時間経過は一定であっても、赤核細胞上のコンダクタンス発生部位の変化によってユニタリーEPSPの波形及び振幅の変化を説明できる

図4 ユニタリーEPSPの立上り時間と振幅の関係を示す図。

○: 中位核を破壊した猫のユニタリーEPSP. ●: 正常猫のもの. ①~⑤: コンパートメントモデルでの計算値. 詳しくは本文参照. 挿入図に各コンパートメントで興奮性コンダクタンスが発生した時のコンパートメント①での電位変化を示してある. (文献19)より)

ことを示している。

以上のようなことから中位核を破壊した猫で観察される立上り時間の短い EPSP は、大脳から発芽が生じて、新しいシナプスが赤核細胞の細胞体近傍に生じたことによって発生するようになったと考えると最も容易に説明できる。この考えは後に形態学的研究によって支持された²¹⁾。

変性を伴わない側枝発芽

成熟した哺乳動物でも側枝発芽が起こり、機能を有するシナプスが形成されることが明らかになったが、次に問題となることは何が発芽、シナプス形成の原因なのかということである。上述の赤核細胞の例を含む多くの報告では脳の一部分を破壊しており、破壊によって生じた変性物質が発芽の誘因となっている可能性がある。

筋神経接合部では Edds が最初に側枝発芽が起こることを見出して以来⁶⁾多くの研究がなされてきたが、最近 Brown らは、ラットの筋肉を支配する神経にテトロドトキシンを与えて活動電位の伝播を阻害すると運動神経から発芽が生ずることを見出した³⁾。このことは Snider ら²⁸⁾によって電気生理学的方法によって確かめられた。すなわちテトロドトキシンで 8~9 日間その支配神経の伝導をブロックされた筋肉線維から細胞

内記録をとると量子数 (quantal content)⁵⁾が増加しているのが確認されたという。これらの研究では実験操作によって生ずるであろうと考えられる神経の変性の影響は除外されており、変性以外の因子が発芽を引き起こしているのではないかと考えられる。Brown と Ironson は⁴⁾、テトロドトキシンでブロックされた神経によって支配されている筋肉を電氣的に刺激すると、運動神経からの発芽が抑制されると報告している。もしそうならば、筋肉の活動度に関係する何らかの因子が発芽を制御していると考えられる。筋肉の脱支配によって生ずる接合部以外へのアセチルコリン感受性の拮抗 (denervation hypersensitivity)¹⁾は、筋肉の活動度によって制御されることが報告されている^{12,13)}。最近接合部以外のアセチルコリンレセプターが発芽形成に関与している可能性を示唆する興味深い実験が報告されている²³⁾。変性を伴わない発芽は中枢神経系でも起こる。塚原らは^{29,34)}成猫の前肢の屈筋を支配する運動神経と伸筋を支配する運動神経を切断して交差縫合をおこなった。(5 図)そして術後 2 ヶ月から 6 ヶ月後に赤核細胞から細胞内記録をおこなった。赤核細胞には前肢の支配のみに関与しているものと、前後肢の両方又は後肢の支配のみに関与しているものがあるが、そのうち前肢の支配のみに関与している赤核細胞から細胞内記録をおこなうと、中位核を破壊した

図5 交差縫合をおこなった猫での大脳脚刺激による EPSP, 左上, 術後 133 日目に前肢のみを支配する赤核細胞からとった細胞内記録(下側は細胞外記録)。右上, 術後 87 日目に後肢を支配する赤核細胞からおこなった細胞内記録(下側は細胞外記録)。左下, 交差縫合をした前肢と赤核細胞を中心とした神経回路を示す模式図。右下, 後肢と赤核細胞に関する神経回路の模式図。PT; 錐体細胞, CP; 大脳脚, RN; 赤核細胞, RST; 赤核脊髄路, FLX MN; 屈筋運動ニューロン, EXT MN; 伸筋運動ニューロン, (文献 29)より)

場合と同様に大脳由来の EPSP の立上り時間が短くなる。(図 6) のとき、後肢のみ又は前後肢を支配す

図 6 前肢屈伸筋交差縫合による EPSP の立上り時間の変化。A：前肢を支配する赤核細胞の大脳性 EPSP の立上り時間の分布。B：後肢に接続する赤核細胞の同様の分布。斜線のヒストグラムは正常猫のもので、これには右側の縦軸が対応する。(文献 34) より)

る赤核細胞から細胞内記録をとると、その立上り時間の分布は正常猫のものと変わらない。細胞内に矩形波状電流の通電をおこない電気緊張の長さを測定したところ、神経の交差縫合をおこなった場合でも変化は認められないという。したがってこの場合も、観測された EPSP の立上り時間の変化は大脳からの投射に側枝発芽が起こり、正常投射部位より細胞体部に近い樹状突起上に新しいシナプスが形成されたことによると考えられる。この実験結果から赤核での発芽のメカニズムを推定することは困難ではあるが、少なくとも変性なしに発芽が起こりうることを示唆されたことになる。

可塑的シナプスの伝達特性

中枢神経系で新たに発芽によって形成されたシナプスはどのような機能的性質を有しているであろうか。我々は中位核を破壊した猫の赤核の大脳からのシナプスでこの問題を調べることにした。図 2 からわかる様に大脳からの線維によるユニタリー EPSP の振幅は正常の場合よりも大きくなっているが、この変化は赤核細胞上の位置の違いで説明できる範囲にあり、終末の一度の興奮で放出される伝達物質の量が増えたと考

える理由は特に見当たらない。一方正常猫の大脳から赤核へのシナプスでは促進現象があることが報告されているが³⁰⁾、中位核を破壊した猫でもやはりシナプスの促進現象があることが明らかとなった。図 7 にその促

図 7 促進の大きさと刺激の時間間隔の関係。A は中位核を破壊した猫、B は正常猫でのもの。促進の大きさが 1 ということは 2 番目の刺激に対して発生する EPSP の振幅が 1 番目のその 2 倍になったことを意味する。(文献 20) より)

通の大きさ(縦軸)と刺激間隔(横軸)の関係を示してあるが、正常猫(B)と、中位核を破壊した猫(A)とでその大きさ、時間経過に特に差は認められなかった。

また大脳脚をテタヌス刺激すると、その後数分間にわたって EPSP の振幅の増加がみられた(テタヌス後増強)。テタヌス後増強は正常猫でも中位核を破壊した猫でも見られ、共にテタヌス刺激直後に EPSP の振幅は刺激開始前のおよそ 2 倍に達し、増強は数分間持続したが、両者の間に特に違いは認められなかった。

この様に、中位核を破壊された猫で新たに形成された大脳から赤核に到るシナプスは、少なくとも促進やテタヌス後増強で見られる限りは、正常猫の大脳から赤核へのシナプスと同様の機能的性質をもっていることが明らかとなった。

シナプス後要素の可塑性

シナプス伝達の変化はシナプス前要素のみでなく後要素の変化によっても当然起こりうることである。幼若動物では脱支配などの結果樹状突起棘 (spine) の数や樹状突起の枝分れが減少^{36,37)}, あるいは細胞体の収縮することが³⁸⁾比較的古くから知られていたが, 成熟動物でもやはり類似した変化が起こることが最近明らかにされてきた。Parnavalasら²²⁾によると, 成熟ラットの海馬への入力を取り除くと被支配細胞の spine の数が減少し, のちに減少した spine の数はまた回復するという。

Rutledge は²⁷⁾成熟猫の parietal cortex に刺激電極を埋め込んで数週間刺激をおこなった。刺激は前肢にも与え, これを条件刺激として皮質刺激と組合せて約 50 日間刺激すると条件付けがおこなわれる。すなわち前肢の屈曲が皮質のみの刺激で起こる様になり, これにともない刺激をおこなった皮質の対側での皮質で記録される電位が増加した。このとき対側の皮質の細胞の樹状突起の長さ, 枝分れ, 樹状突起棘, 軸索側枝の数が増加していたという。前肢と皮質との刺激間隔を 30 秒にすると全く条件付されないが, この場合条件付された猫で見られた様な電位や形態の変化は見出されなかったという。しかし電位の変化と形態の変化, 及びそれらと条件付との対応関係についてはさらに仔細な研究が必要であらうと思われる。

現在の可塑性の研究は 2 つの流れに大別できるのではないかと思われる。その一つは発芽形成のメカニズムに関する研究で本稿でもその一部に触れたが, 筋神経接合部を用いた研究で着実な進歩が遂げられつつある。もう一方は, 可塑性と学習や記憶との対応に関する研究で, Rutledge の研究はそれを目ざしたものと思われるが, 目的達成のためには学習や記憶に關与する神経回路の決定及び細胞レベルでの可塑的变化と行動レベルでの変化の明確な対応関係を示さねばならず, 将来多くの研究の積み重ねが必要である。

文 献

- 1) Axelsson, J., Thesleff, S. (1959) *J. Physiol., Lond.* 147, 178-193.
- 2) Bernstein, J. J., Bernstein, M.E. (1973) *Int. J. Neurosci.* 5, 15-26.
- 3) Brown, M. C., Ironton, R. (1977) *Nature, Lond.* 265, 459-461.
- 4) Brown, M. C., Ironton, R. (1977) *J. Physiol., Lond.* 277, 709.
- 5) Del Castillo, J., Katz, B. (1954) *J. Physiol., Lond.* 124, 560-573.
- 6) Edds, M. V., Jr. (1953) *Quart. Rev. Biol.* 28, 260-276.
- 7) Falck, B., Owman, CH. (1965) *Acta Univ. Lund II*, 7, 1-23.
- 8) Goodman, C.D., Horel, J.A. (1967) *J. Comp. Neurol.* 127, 71-88.
- 9) Katzman, R., Björklund, A., Owman, CH., Stenevi, U., West, K. A. (1971) *Brain Res.* 25, 579-596.
- 10) King, J. S., Martin, G. F., Conner, J. B. (1972) *Brain Res.* 38, 251-265.
- 11) Liu, C. M., Chambers, W. W. (1958) *Arch. Neurol.* 79, 46-61.
- 12) Lømo, T., Rosenthal, L. (1972) *J. Physiol., Lond.* 221, 493-513.
- 13) Lømo, T., Westgaard, R. H. (1975) *J. Physiol., Lond.* 252, 603-626.
- 14) Lund, R. D., Lund, J. S. (1971) *Science*, 171, 804-807.
- 15) Mathews, D. A., Cotman, C. W., Lynch, G. S. (1976) *Brain Res.* 115, 1-22.
- 16) Mathews, D. A., Cotman, C. W., Lynch, G. S. (1976) *Brain Res.* 115, 23-41.
- 17) Murakami, F. (1979) (Otuka, M., Hall, Z. W., eds) 295-305, John-Wiley and Sons, New York.
- 18) Murakami, F., Fujito, Y., Tsukahara, N. (1976) *Brain Res.* 103, 147-151.
- 19) Murakami, F., Tsukahara, N., Fujito, Y. (1977) *Exp. Brain Res.* 30, 233-243.
- 20) Murakami, F., Tsukahara, N., Fujito, Y. (1977) *Exp. Brain Res.* 30, 245-258.
- 21) Nakamura, Y., Mizuno, N., Konishi, A. (1974) *Brain Res.* 82, 298-301.
- 22) Parnavalas, J., Lynch, G. S., Brecha, N. Cotman, C. W., Globus, A. (1974) *Nature*, 248, 71-73.
- 23) Pestronk, A., Drachman, D. B., (1978) *Science*, 199, 1223-1225.
- 24) Raisman, G. (1969) *Brain Res.* 14, 25-48.
- 25) Raisman, G., Field, P. M. (1973) *Brain Res.* 50, 241-264.
- 26) Rall, W. (1964) (Reiss, R. ed.) 73-97 Stanford Univ. Press, Stanford.
- 27) Rutledge, L.T. (1976) (Rosenwig, M. R., Bennett, E. L., eds.) 329-340, The MIT Press.
- 28) Snider, W. D., Haris, G. L. (1979) *Nature*, 281, 69-71.

- 29) Tsukahara, N. (1978) (Cotman, C. W. ed.) 113–130, Raven Press, New York.
- 30) Tsukahara, N., Kosaka, K. (1968) *Exp. Brain Res.*, **5**, 102–117.
- 31) Tsukahara, N., Hultborn, H., Murakami, F. (1974) *Experientia*, **30**, 57–58.
- 32) Tsukahara, N., Hultborn, H., Murakami, F., Fujito, Y. (1975) *J. Neurophysiol.*, **38**, 1359–1372.
- 33) Tsukahara, N., Murakami, F., Hultborn, H. (1975) *Exp. Brain Res.*, **23**, 49–64.
- 34) Tsukahara, N., Fujito, Y. (1976) *Brain Res.*, **106**, 184–188.
- 35) Valverde, F. (1967) *Exp. Brain Res.*, **3**, 337–352.
- 36) Varverde, F. (1968) *Exp. Brain Res.*, **5**, 274–292.
- 37) Wiesel, T. N., Hubel, D. H. (1963) *J. Neurophysiol.*, **26**, 978–993.

ABSTRACT

Plasticity of Synapses

Fujio Murakami

National Institute for Physiological Sciences

Recent morphological and histochemical studies showed that the neuronal connections in the central nervous system of adult mammals show more flexibility than has been considered before. Partial denervation, for example, often causes sprouting from the remaining intact axons.

Our electrophysiological studies on the neurons of red nucleus (RN) of adult cats revealed that elimination of interposito-rubral input which impinge upon somatic portion induces collateral sprouting and synapse-formation of fibers from sensori-motor cortex of the cerebellum. The neurons in the sensori-motor cortex, which normally make connections on the distal dendrite of the RN cell, made new connections on the proximal dendrite after lesion of interpositus nucleus. The newly-formed synapses were functionally effective and had similar properties of synaptic transmission.

Collateral sprouting from cortico-rubral fibers also occurs after cross-union of the nerves innervating the forelimb flexor and extensor nerves of adult cats. This sprouting was restricted to the RN neurons innervating the forelimb and was considered to be a consequence of the operation of cross-union.

Causes that induces sprouting was discussed in relation to above results and other experiments on neuromuscular synapse-formation.