

氏 名	たか お けい ぞう 高 雄 啓 三
学位(専攻分野)	博 士 (情 報 学)
学 位 記 番 号	情 博 第 187 号
学位授与の日付	平 成 18 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	情 報 学 研 究 科 知 能 情 報 学 専 攻
学位論文題目	Visualization of synaptic Ca^{2+} /Calmodulin dependent protein kinaseII activity in living neurons (生標本神経細胞における CaM キナーゼ II 活性の可視化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 林 茂 夫 教 授 後 藤 修 教 授 阿 久 津 達 也

論 文 内 容 の 要 旨

マッカローとピッツは、1943年、生体の神経細胞（ニューロン）を、人工のニューロンでモデル化した。すなわち、人工ニューロンを、多数の入力と1つの出力をもつアナログ加算器と捉えた。入力のそれぞれに重みをつけ、重みつき入力の和が閾^{しきい}を越すとニューロンはインパルスを出す。シナプス伝達には興奮性と抑制性がある。そこで、重みはプラス（興奮）とマイナス（抑制）の数値をとる。ニューロンの出力が他のニューロンの入力にさまざまな重みでつながる時、ニューラルネットワークができる。入力ごとの重みの変化がニューラルネットワークのふるまいを変化させる基礎過程である。

一方、生体のニューロンでも、条件が整えば興奮性シナプスの伝達効率（重み）の変化が継続する長期増強（LTP）が生じる。LTPのしくみはおおよそ次のようだ。シナプス前部のシナプス小胞から放出されるグルタミン酸がシナプス後部の細胞膜にある AMPA 型グルタミン酸受容体を活性化することで、興奮性のシナプス伝達が行われる。入力線維を高頻度で刺激してシナプス後部ニューロンを脱分極させると、 Mg^{2+} イオンによる抑制がとれ NMDA 型グルタミン酸受容体が活動可能になる。その時、グルタミン酸で NMDA 受容体が活動すると細胞内へ Ca^{2+} イオンが流入し、カルシウム・カルモジュリン (Ca^{2+} /CaM) 複合体が形成される。この複合体が、タンパク質をリン酸化する酵素 CaMKII を活性化すると、シナプス後部の細胞内にあった AMPA 型受容体がシナプス後部膜に挿入される。その結果、AMPA 型受容体の数がふえ、シナプス伝達効率（重み）が増す。CaMKII の活性化は自己をもリン酸化し、刺激がなくなっても活性が維持される。これは、単一のトリガーパルスで出力 (1, 0) 状態が変化する人工のメモリと似ている。つまり、CaMKIIこそが LTP の原因物質である。

CaMKII の活性が検出できれば、LTP と行動の対応がわかり、神経系を解析する強力な方法となる。しかし、CaMKII はタンパク質をリン酸化する酵素であり、生きた組織でこの活性を測る方法はなかった。この研究では、CaMKII の活性を可視化する方法を開発した。

CaMKII が活性化すると構造が変化することに着目し、CaMKII の両端に蛍光タンパク質 YFP と CFP を融合させた Camui を作った。CaMKII の構造変化を、蛍光タンパク質間の距離の変化で生じる蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) の効率変化として検出し、その画像化を行った。

生細胞の CaMKII 活性の変化がリアルタイムで可視化できた。これは CaMKII の活性化で、その構造が実際に変化することを確認したのは初めての仕事である。

海馬は記憶に関わる脳の場所とされている。そこで、海馬から摘出して初代培養したニューロンに Camui の遺伝子を発現させた。この標本を電気刺激、試薬刺激し、シナプス活動に伴う CaMKII 活性の変化を、シナプスがある棘突起が見える解像度で可視化することができた。すなわち、いきっているニューロンでの CaMKII 活性の時間的・空間的变化の記録が可能となった。こうして、海馬のシナプスのうち、どのシナプスで LTP がおきているかを定めることが可能となった。

この研究は、「LTP が記憶のしくみ」だとの仮説の妥当性を検証する新しい方法を提供する。また、この研究は人工のニ

ニューラルネットに貢献する知見を提供するもので、情報学において重要な意義を持つ。

論文審査の結果の要旨

人工のニューラルネットワークでは、シナプス部での伝達効率の変化がネットワークの行動変化の基礎過程である。現実の神経系においても、条件が整えばシナプスの伝達効率が長期的に変化する長期増強（LTP）が生じる。これはシナプス可塑性と呼ばれる現象で、脳科学の分野で注目されている。

本論文は、シナプス後部にあり、LTPの原因であるカルシウム・カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼⅡ（CaMKII）の活性を可視化する方法を開発した報告である。CaMKIIはタンパク質をリン酸化する酵素であり、生きたままの組織でこの活性を測る方法はなかった。CaMKIIの活性変化が生きたまま検出できれば、LTPが生じたシナプスと行動変化との対応がわかり、神経系を解析する強力な道具となる。

ここでは、CaMKIIが活性化すると構造が変化することに着目し、CaMKIIの両端に蛍光タンパク質YFPとCFPを融合させたCamuiを作った。CaMKIIの構造変化を、蛍光タンパク質間の距離の変化で生じる蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の効率変化として検出し、それを画像化した。その結果、生細胞のCaMKII活性の変化がリアルタイムで可視化された。これはCaMKIIの活性化で、その構造が実際に変化することを確認したはじめての仕事である。さらに、Camuiの遺伝子を海馬の培養神経細胞に発現させ、シナプス活動に伴うCaMKII活性の変化を、シナプスがある棘突起が見える解像度で可視化することに成功した。すなわち、生きているニューロンでのCaMKII活性の時間的・空間的变化の記録が可能となった。この方法で、多数のシナプスのうち、どのシナプスでLTPがおきているかを定めることができる。

本論文の主要部分は、神経科学分野でインパクトのある国際学術誌The Journal of Neuroscienceに掲載され、その号の表紙写真にも採用されている。ほかに国際誌に掲載された3篇の副論文がある。

本論文の結果はニューラルネットのモデル作りにも貢献するもので、情報学において重要な意義を持つ。よって、本論文は博士（情報学）の学位論文として価値あるものと認める。

また、平成17年12月9日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。