

学習・記憶におけるシナプス可塑性の分子機構

高宮 考 悟

学習や記憶を形成するための基本的神経機能であるシナプス可塑性は、長年その分子メカニズムに関し多くの精力的な研究がなされ、その解明が大きく進んだ。特に海馬 CA1 における長期増強現象と小脳プルキンエ細胞における長期抑圧現象に関しては、それらの発現における細胞・分子メカニズムがかなり詳細に明らかとされている。これら進んだ領域の研究が、脳の他の分野で報告されているシナプス可塑性のメカニズムの解明やシナプス可塑性が関与しているとされる疾患の理解、創薬への有用な情報をもたらすと考えられる。本稿においては、これまでのシナプス可塑性の分子機構の解明にむけての長年の取り組みと、その結果現在までにわかったこと、さらに今後の問題点も含め、シナプス可塑性発現の中心として働く AMPA 型グルタミン酸受容体を中心に概説する。

1. 神経可塑性とシナプス可塑性

可塑性とは、物が外力を受けるとそれに反応して変形し、その形状が保持されることを意味する。中枢神経における可塑性といった場合、外界から入ってきた刺激に対して神経系が構造的あるいは、機能的に変化する性質を神経可塑性と呼ぶ。もともとは基本的な神経現象を呼ぶ言葉であったが、現在、神経の可塑性という行動などの表現型までも広く含まれることがある。本総説では、本来の可塑性の詳細な分子機構に関する最新の知見を自身のこれまでの研究とともに述べてみたい。

神経可塑性には、1) 発達期にさかんに軸索が伸長することにより神経細胞の樹状突起とシナプスを形成することで、神経回路の新たな結合やつなぎかえが起り、複雑なネットワークが完成される時期である、いわゆる臨界期 (critical period) における可塑性と、2) これら神経回路が完成し主に既存のシナプス結合強度の変化によって形成されるシナプス可塑性 (synaptic plasticity) が存在する。後

者のシナプス可塑性は、臨界期においてもさかに行われており、この時期には必要な神経機能を獲得し完成させるために、さかんに神経回路の再編と共にシナプス可塑性も同時に行われている。一例としては、この臨界期に片眼を塞ぐと、視機能を司る後頭葉有線皮質における神経細胞群への閉眼側からの入力遮断され、両眼からの入力刺激によるバランスが起らなくなるために正常な眼優位円柱 (ocular dominance column) の形成が生じなくなる。そのため臨界期を経過した後の場合、閉眼を解除後もこのような異常な神経回路網は修正されず、閉眼側からの情報は正常に神経細胞に伝達されず、両眼視などの機能が一生損なわれる^{1,2)}。この時期は、ヒトの場合乳幼児から小学校低学年ほどまでにあたり、この時期にある特定のトレーニングを行うと、その機能に特化した脳領域が劇的に発達し常人では想像もつかないほどの能力を発揮できるようになる。それに対して、臨界期を過ぎた脳においては、近接した神経細胞の間での新たなシナプス形成や、既存のシナプスの形態変化によるシナプス伝達の変化も起りうるが、完成された神経細胞同士の結合、つまりシナプス強度の変化が主体となる。この時期には、前述の大きな神経回路の再編はもはや行われず、基本的にすでに完成されたシナプス間の神経伝達効率が各種の刺激に応じて持続的に変化することになる。これがシナプス可塑性と呼ばれ、成人における学習や記憶の基盤となる神経機能とされている。また、3) 脳梗塞や出血などにより神経機能が損なわれた場合、

宮崎大学医学部機能制御学講座統合生理学分野 (〒889-1692 宮崎市清武町木原 5200 番地)

Molecular mechanisms of synaptic plasticity underlying learning and memory

Kogo Takamiya (Department of Integrative Physiology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, 5200 Kihara, Kiyotake, Miyazaki 889-1692, Japan)

それを代償するように他の脳領域が、失われた機能を補償する場合も可塑的な変化が重要な役割を果たしている。その際も、若年者の場合には軸索伸長と新たなシナプス形成を伴う神経回路の改変が行われるのに対し、成熟期には既存の神経回路のもとで新たな機能ネットワークを構築することによって、損傷した周囲の神経細胞がその機能を代償する。このような例は、特に運動機能においてよく知られており、神経損傷による運動機能障害後に、他の大脳皮質領域が運動領域機能を代償する。同様の現象として腕が切断された場合に大脳皮質感覚野で顔面の運動を支配している領域が隣に配置しているため、顔を触るとすでに失われた腕に痛みを感じることがあり、幻視痛としてよく知られている³⁾。これらは、誤った神経の可塑性によって生じる現象である。本稿では特にシナプス可塑性に焦点を絞ってその分子メカニズムについて説明してゆく。

2. シナプスとグルタミン酸受容体

中枢神経においてはグルタミン酸が興奮性神経伝達物質としてもっとも使用されており、上記のシナプス可塑性においても主要な役割を果たしている。シナプス後部の膜上に存在するこのグルタミン酸に結合するグルタミン酸受容体は、大きくイオンチャンネル型と代謝調節型の二つに分類される⁴⁾。イオンチャンネル型では、リガンドであるグルタミン酸が受容体の細胞外ドメインに結合すると四個のサブユニットが会合した中央に位置するチャンネル孔が開き、内外のイオン勾配にしたがって、特定のイオンを通すことにより受容体を発現する神経細胞に刺激をもたらす。したがって、数 msec という早い速度でチャンネルが開き、また素早く閉じることで、その刺激を伝えることから、広く中枢神経系の速い興奮性神経伝達に関与している。それに対し、代謝調節型は七回膜貫通型のタンパク質で homodimer を形成しているとされている。代謝調節型受容体には、八個のサブタイプが知られており、この細胞外ドメインへのグルタミン酸の結合により、細胞内に存在する G タンパク質が活性化され細胞内のセカンドメッセンジャーを介して神経細胞を制御する。この過程では、その興奮に数秒単位を要するが、その後その活性は数秒から数分に及ぶ。この八個の代謝調節型のグルタミン酸受容体サブユニットは、リンクした細胞内の G タンパク質の種類により三つのグループに分けられており、その発現部位も異なり、各々多くの細胞内シグナル活性を誘導することでさまざまな神経機能に関与している。

イオンチャンネル型グルタミン酸受容体は、すべてが細胞外ドメインにグルタミン酸が結合することによりチャンネルの反応を示すが、その薬物への詳細な反応性の違いからさらに NMDA 型、AMPA 型、カイニン酸型に分類される。流入するイオンは膜電位によってナトリウムイオンが

細胞外より内へ、カリウムイオンが細胞外へと移動する。これらイオンの流れは、興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current : EPSC) として記録される。この中でも NMDA 型受容体は、NR1 と NR2 サブユニットからなる四量体であり、この複合体に NR1 は必須である。この NR1 にはグリシンが結合し co-agonist として働き、グルタミン酸と共に受容体活性化に関与する。もう一つの複合体の構成成分である NR2 には NR2A-2D の四つのサブタイプが存在する。NR2C は小脳に発現しているが、大脳では主に NR2A や NR2B が発現している。これら二つのサブユニットは発生段階でスイッチングが起こり NR2B から NR2A に構成が移行する。NR2B を含む NMDA 型受容体複合体が NR2A を含むものに比べカルシウムの透過性が高いことに注目し、NR2B を成体脳で過剰発現させるトランスジェニックマウスを作製してみると、このマウスは野生型に比べ高い記憶力を呈したため、天才マウスとして新聞等に多く取り上げられた⁵⁾。このことは、ヒトにおいても幼児が高い記憶力を示す根拠として、若年者において細胞内へカルシウムを多く流入させる NR2B を含む NMDA 型受容体が多く発現しているためであるという説明が真実味を帯びている。このようにグルタミン酸受容体のなかでも特に NMDA 型受容体は、記憶において重要な役割を果たしていることがわかっており、古くより詳細に研究がなされてきた。また NMDA 型受容体は、そのチャンネル活性でも特徴的であることがよく知られている。膜電位が静止膜電位である -70 mV 程度から -30 mV の状態では、 Mg^{2+} イオンがチャンネル孔をふさいでイオンの流入をブロックしている。この膜電位が 0 mV に近づくと Mg^{2+} イオンがはずれ Na^+ 、 K^+ の他、 Ca^{2+} を通すようになる。この NMDA 型受容体は、多くのアゴニストやアンタゴニストを用いてその機能が詳細に調べられており、さらに個々のサブユニットの遺伝子欠損マウスも作成され、特に記憶や学習における NMDA 型受容体の重要性が示されている⁶⁾。

それに対し、AMPA 型のグルタミン酸受容体は中枢神経系の多くの部位に発現しており、主要な速い興奮性シナプス伝達を担っているイオンチャンネルである⁷⁾。この AMPA 型グルタミン酸受容体には、四種類のサブユニットが存在し、それぞれ GluA1, A2, A3, A4 (Glu A1-4) と呼ばれる⁸⁾。これらは、海馬においては、GluA1/2 や GluA2/3 という組み合わせで四量体を形成し、これらがほぼ 90% を占める。また一部に、GluA1 のみで四量体を形成しているものも存在する⁹⁾。いずれの AMPA 型グルタミン酸受容体も類似した構造を持ち、四つの膜貫通ドメインと考えられる疎水性部位がありこのうち二つ目は膜を貫通することなく膜内で折り返して、再度細胞質にはいる。この二つ目の部分がチャンネル孔の内側壁を形成し、チャンネル機能に重要な役割を果たす。

一般的に NMDA 型のグルタミン酸受容体はカルシウムを透過するが、AMPA 型の場合その四量体の中に GluA2 を含むものはカルシウムを透過しない。このようにサブユニットの構成で個々の AMPA 型グルタミン酸受容体複合体のカルシウム透過性が決定されるため、これらサブユニットの組み合わせがダイナミックに変化すると神経機能に重要な役割を演じる。このようなカルシウム透過性に関するメカニズムは、GluA2 の二つ目の膜を通過する部分で Q (グルタミン) が R (アルギニン) に RNA エディティングという現象により置換され、このアルギニンがチャンネル孔においてカルシウム透過に対し反発することによる¹⁰⁾。この GluA2 によるカルシウム透過性の調節は、チャンネル機能のみならず神経毒性にも重要で、脳虚血や ALS における関与が報告されている^{11,12)}。AMPA 型グルタミン酸受容体の各サブユニットの発現は、発達段階や脳の部位、細胞の種類によって異なり、海馬の錐体細胞では GluA1 が多く発現するのに対し、小脳のプルキンエ細胞ではこの GluA1 が発現しておらず、これらが後で述べるシナプスの可塑性の制御に大きな違いを生じる一因となる。

3. シナプス可塑性とグルタミン酸受容体

学習や記憶の神経機能の基盤はシナプス可塑性であると述べたが、実際このシナプス可塑性とは、具体的にどういったものなのであろうか。1944年に Hebb という心理学者が記憶の基本原則としてシナプス可塑性を以下のように説明した。“たくさんの神経回路の中である特定の二つの神経がシナプスを介して結合しており、上流の神経が興奮しそれと結合した下流の神経が同期して興奮する。これが繰り返し起こると、たくさんあるシナプスのうち、その特定のシナプス結合が強化され、伝達効率が増す”という仮

説である。そしてこの現象こそが記憶のメカニズムではないかと考えられてきた。難知性てんかんの治療として両側の海馬を含む両側側頭葉内側の切除手術をうけた H.M. (イニシャル) の症例によって、海馬の記憶における重要な役割が注目されてきたころ、Bliss, Lomo によって生きたウサギを用いて海馬歯状回における長期増強現象 (long term potentiation : LTP) が発見された¹³⁾。この現象は、まさに Hebb が唱えたシナプス可塑性に合致するものであったため、この LTP が記憶や学習のモデルであろうと考えられた。その後、この LTP の分子メカニズムを研究するために、より神経回路が明瞭でわかりやすい海馬の CA1 領域における LTP が、脳から切り出した新鮮な切片 (急性スライス) を用いてさかんに研究された。この海馬の急性スライスを用いた LTP 測定とは、海馬の CA3 から CA1 に入力する Shaffer 側枝を刺激することによって得られる CA1 の錐体細胞の興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potential : EPSP) を測定し、その立ち上がり部分の傾きを連続的に計測したものである。まず基準となる反応を計測した後、LTP を起こす刺激である 100 Hz や theta burst stimulation (TBS) の短い高頻度刺激を加えると刺激に対する神経細胞の反応性が増大し、EPSP の立ち上がりの傾きが大きくなる。これを経時的に記録すると、この反応の増大が長時間に及んで継続していることがわかる。これが LTP である (図 1)。逆に、Shaffer 側枝へ 1 Hz の低頻度刺激を加えると EPSP の低下を起こし、これが持続する。これが長期抑圧現象 (long term depression : LTD) と呼ばれる。以降、このような LTP や LTD を計測することでシナプス可塑性の研究が広く行われるようになった。このころより、この海馬 CA1 における LTP は、学習や記憶の *in vitro* モデルとして、あまたの研究者の研究対象とし

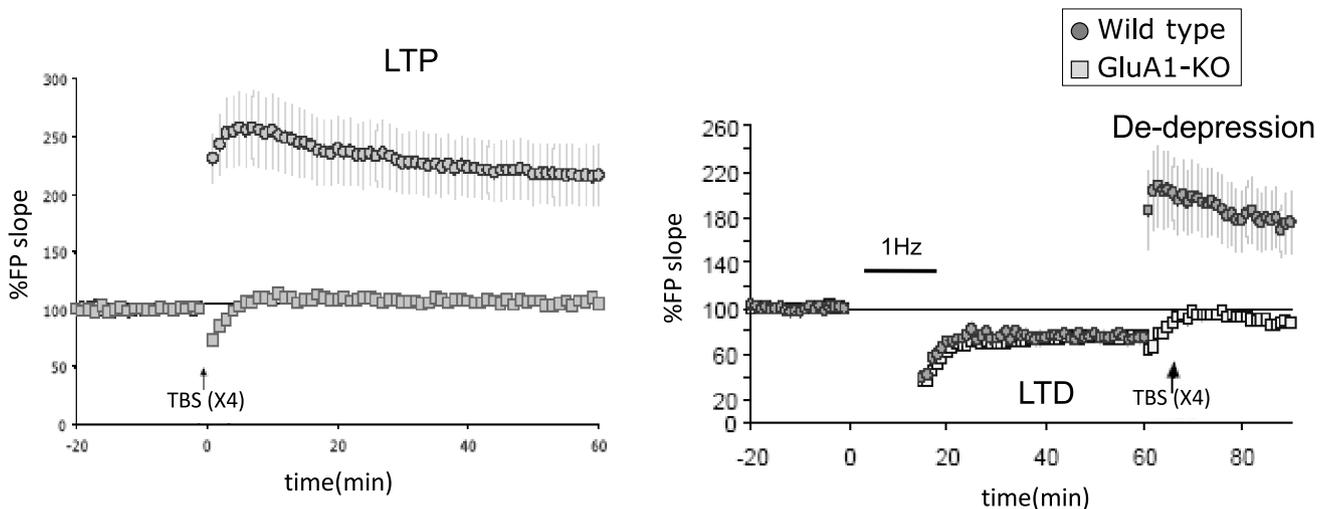


図 1 GluA1 欠損マウスにおける LTP, LTD, De-depression

野生型マウスと GluA1 ノックアウトの海馬 CA1 における TBS (theta burst stimulation) により誘導された LTP (左)。LTD 誘発後に TBS で De-depression が誘導される (左)。GluA1 ノックアウトマウスでは、De-depression の誘導が障害される。

て注目されてきた。この海馬における LTP の誘導には、NMDA 型受容体の活性化が必須であり、NMDA 依存性 LTP と呼ばれた。この LTP の本体である高頻度刺激後の増大した EPSP は、主に AMPA 型グルタミン酸受容体の発現により生み出されている。その後、小脳のプルキンエ細胞における LTD が発見され、同様に海馬 CA1 においても NMDA 依存性 LTD が見つかるなど、脳の様々な部位において LTP や LTD が報告され、またそれらは NMDA 依存性や代謝調節型グルタミン酸受容体依存性などさまざまであった。これらのことより、脳のあらゆる部位で、異なった調節機構によるシナプス可塑性が関与することにより複雑な神経機能が生み出されていることが示唆された。また、シナプスそのものの形態変化や数の変化など構造的な変化、いわゆる structural plasticity も長期的な変化として観察されている。これらシナプスの可塑的变化は、微小興奮性シナプス後電流 (miniature excitatory post synaptic current: miniEPSC) として観察され、シナプス部位の自発放電の振幅や頻度を各種チャンネルの阻害剤やテトロドトキシンによる活動電位の阻害を行うことにより AMPA 型グルタミン酸受容体の反応を薬理的に抽出し解析することで、そのシナプス伝達の個々のイベントを検出することができる。さらにシナプス前の機能解析や細胞生物学的解析と組み合わせて、細胞・分子メカニズムの解明が行われている。また、近年になって、シナプス可塑性の可塑性 (the plasticity of synaptic plasticity) と呼ばれる metaplasticity が報告されている¹⁴⁾(図 1)。これは例えば、低頻度刺激を与えシナプス伝達が抑制され、次に高頻度刺激を与えると、抑制された状態から増強されるという、いわばシナプスの伝達効率がその履歴に基づいて変化してゆくという現象である。また、培養細胞などで、テトロドトキシンによる活動電位の阻害により神経細胞の活動を抑制すると、シナプス後膜のチャンネルの数が増加し、神経の活性を一定に維持するように働く homeostatic plasticity など報告され、その研究対象は多様化している¹⁵⁾。しかしながら、最近の研究で明らかとなってきたことは、このような多くの可塑性の現象の裏には、細胞生物学的・分子メカニズム的観点から解析していくと、多くの場合でシナプス後膜における AMPA 型受容体の凝集による数の変化があることがわかってきた¹⁶⁾。

また、AMPA 型受容体のなかで GluA2 はカルシウムを透過せず、このサブユニットが AMPA 型受容体の複合体に存在することで、その AMPA 型受容体複合体がカルシウム非透過性となる。この AMPA 型受容体複合体は、小胞体においてさまざまな組み合わせが形成されるが、そのサブユニットの構成にある程度の組み合わせがあることは、前述の通りである¹⁷⁾。その際、GluA2 を含む複合体と GluA2 を含まない複合体で AMPA 電流の流れ方がかわり、

静止膜電位である -70 mV と $+40$ mV 付近の膜電位において電流の流れ方を測定するとその整流性 (rectification) が変化することにより、GluA2 の存在の有無が検出される。このように、ある特定の神経細胞を刺激すると観察される AMPA 型受容体複合体におけるサブユニット構成の変化が起こることがあり、特殊なシナプス可塑性のひとつとして報告されている。その際、刺激前後でカルシウムの透過性が変化するため細胞機能に与える影響も大きく、注目されている^{18,19)}。またこのようなサブユニットの変化は、後述する海馬 CA1 における LTP の経過中や、虚血の際の変化としても報告されており、これらサブユニットのスイッチに GluA2 結合タンパク質である後述する PICK1 がその制御に深く関わっているという報告は、興味深い²⁰⁾。

4. シナプス可塑性の分子メカニズム

シナプス可塑性の研究の中でも特に、海馬の CA1 領域における NMDA 依存性 LTP と、小脳プルキンエ細胞における LTD に研究が集中した。これには、海馬と小脳という部位が解剖学的に神経回路が比較的単純で、よくわかっていた部位であったことに加え、前者の空間記憶への関与と、後者の運動学習における重要性が研究者の興味を強く惹きつけたためと考えられる。シナプス可塑性の分子機構のモデルである LTP や LTD は、どのような分子メカニズムで発現しているのだろうか。現象としては、ある一定の入力刺激に対するシナプス反応性の持続的な増大 (LTP) もしくは減少 (LTD) である。当初の議論の中心は、これら LTP や LTD の発現は、シナプス前部由来かシナプス後部由来かということであった²¹⁾。一部の報告で NO (一酸化窒素) などシナプス後部より産生されシナプス前部に働くことによって LTP の発現に関与しているとの報告もあるが、これら LTP 誘導の前後で神経伝達物質の放出の大きな変化はなく、少なくとも海馬 CA1 の錐体細胞における LTP 発現は、シナプス後部由来であるということ意見がおおむね一致している。これに対し、海馬歯状回からの苔状線維と CA3 との間のシナプスにおける LTP は、シナプス前部からの神経伝達物質の放出増大によることがよく知られている²²⁾。

上記のように、シナプス可塑性と呼ばれるものは、多種多様でその発生機序が不明なものも多い。後述するように、海馬や小脳における LTP や LTD といった現象は、誘導刺激に応じてシナプス後膜における AMPA 型受容体の数が増加 (LTP)、または減少 (LTD) する結果発現するものであるという考え方が主流となってきている (図 2)。本稿では、シナプス可塑性のメカニズムがもっとも研究され、その解明が進んでいるこれら海馬 CA1 における LTP と小脳プルキンエ細胞における LTD の二つのシナプス可塑性モデルに焦点をしばってこれらの分子機構を詳述して

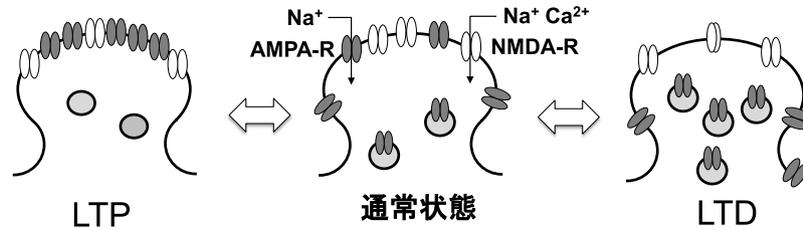


図2 海馬 CA1 における LTP, LTD 発現に関する細胞表面 AMPA 受容体の数による制御

LTP が誘発されるとシナプス外や、細胞内の AMPA 受容体がシナプス表面に凝集し、その数が増加する。LTD では AMPA 受容体が細胞内に取り込まれ、シナプスにおける数が減少する。

いきたい。

a) 海馬 CA1 におけるシナプス可塑性の分子機構

海馬 CA1 においては、刺激頻度を変えることにより LTP と LTD が誘導されることが知られており、これらいずれの誘導刺激においても NMDA 型受容体の活性化が必須である。この際、活性化された NMDA 型受容体を介して細胞外から細胞内へカルシウムが流入することが重要である。LTP 誘導後に、その刺激反応性が増大する要因として当初もっとも考えられていたことは、シナプス後膜表面に存在する受容体のリン酸化による神経伝達物質に対する感受性の増加であった。このことは、神経活動を観察する際にリン酸化酵素の活性化剤や阻害剤を用いることで明らかにされた。さらにこの考えを発展させて、LTD の際は、逆に脱リン酸化が生じていると推測された。つまり、細胞内に流入したカルシウムの濃度が急速に上昇した場合、リン酸化酵素が活性化されシナプスタンパク質がリン酸化を受け、これにより LTP が発生する。またカルシウムの濃度が緩徐に上昇した際には、脱リン酸化酵素が活性化を受け上記のシナプスタンパク質が脱リン酸化を受け、LTD が発生するのではないかとこの考え方である²³⁾。そしてこの際のリン酸化の基質として、LTP の際に増大する EPSP そのものに関与する AMPA 型受容体が強く疑われた。つまり AMPA 型受容体がリン酸化を受け、これによって刺激後の EPSP を増大させるという考えであった。その後、AMPA 型受容体のうち GluA1 サブユニットが、神経刺激においてよくリン酸化を受けており、そのリン酸化レベルが LTP や LTD といったシナプス可塑性の状態に変化することが見出された。次に、GluA1 の細胞内ドメイン内のリン酸化部位が同定された。それらは、831 番目と 845 番目の Serine であり、この両者がシナプス可塑性に伴って、よくリン酸化されることがわかった。またその後、同じ GluA1 の 818 番目の Serine が PKC によってリン酸化されることで LTP が生じるとも報告された²⁴⁾。シナプス可塑性におけるリン酸化による制御が明らかになった 831 番目と 845 番目の Serine に関しては詳しく解析されており、

それぞれ 831 番目の Serine が Calcium-Calmodulin kinase II (CaMKII) や Protein kinase C (PKC) により、845 番目の Serine が Protein kinase A (PKA) によりリン酸化を受けることが明らかとなった^{25, 26)}。さらに詳細なチャンネルの解析により、831 番目の Serine がリン酸化されるとチャンネルコンダクタンスを上げ、845 番目の Serine がリン酸化されると GluA1 のチャンネル開口確率が上昇することがわかった²⁶⁾。このように、GluA1 の細胞内ドメインのリン酸化によって GluA1 のチャンネル活性が上昇し LTP 発現に関与していると考えられた。さらに、これらリン酸化された Serine を選択的に認識する特異抗体が作成され、これを用いてシナプス可塑性の各状態における二つのアミノ酸のリン酸化の程度が定量的に観察された。その結果、通常の状態では 845 番目の Serine が恒常的にリン酸化されており、LTP を誘導する高頻度刺激を加えると、新たに 831 番目の Serine がリン酸化された。また LTD を誘導する低頻度刺激を行うと、通常の状態でもリン酸化されていた 845 番目の Serine が脱リン酸化されることがわかった。これにより、二カ所の Serine のリン酸化状態により LTP, LTD が制御されていることが強く示唆された²⁷⁾。以上のような一連の実験結果にもとづいて、次にこの GluA1 のリン酸化部位に変異を加えた遺伝子変異マウスが作成され、そのシナプス可塑性における影響と学習・記憶への役割が調べられた。そのマウスは、リン酸化される二カ所の Serine が人工的に Alanine に置換されたノックインマウスであった。この遺伝子変異マウスでは、海馬 CA1 においてなお LTP の初期相は誘導されたがその大きさは、野生型のマウスと比較し明らかに小さく、その後の時間経過のうちに低下し、長時間の LTP が維持されることがわかった。さらにこのマウスにおいて、LTD は誘導後早期に消失し、LTD における GluA1 のリン酸化の関与がより大きいことがわかった。Morris の水迷路を用いた空間記憶の行動実験観察において、GluA1 のリン酸化を起こらなくしたマウスは、野生型と同様に空間記憶が形成されたことから、GluA1 のリン酸化は、LTP や LTD の障害にもかかわらず記憶の獲得にはさほど関与しないということが示された。

しかしながら、一度形成された空間記憶の維持をテストしたところ、野生型では一度形成された記憶が24時間維持されるのに対し、GluA1のリン酸化を起こらなくしたマウスでは、8時間後より記憶が曖昧となってゆき、その記憶の維持ができないことが示された。このようにGluA1の細胞内ドメインにおける二つのリン酸化部位(831S, 845S)は、記憶の獲得にはさほど関与しないが、その維持に重要であることがわかった²⁸⁾。さらに、このGluA1リン酸化によるシナプス可塑性を介した神経機能は、レセプターのトラフィッキングの他、薬物依存や恐怖記憶などさまざまな行動に関与していることがこの遺伝子変異マウスを使用して示され、GluA1リン酸化の幅広い神経機能への関与が示されている²⁹⁻³²⁾。また、GluA1のリン酸化を介したLTP発現に関連して、その上流のシグナルの解析も精力的に行われている。神経刺激によるNMDA型受容体からのカルシウム流入によりRas/MAPKシグナルが活性化することにより、リン酸化を介したAMPA型受容体のトラフィッキング制御が行われシナプス可塑性を制御するとの報告もなされている^{33,34)}。しかしながら、GluA1のリン酸化ができないマウスにおいても、サイズは減少しているが海馬CA1におけるLTPは誘導されている。したがって、その他のメカニズムでこのLTPの初期誘導相が発現されると考えられる。現在までに、GluA1結合タンパク質としてSAP97や4.1、細胞内ドメインのリン酸化の他、palmitoylationなどのタンパク質修飾などのLTP発現への関与が検討されているが、いずれもLTPの維持には一定に関与しているものの、初期のLTPの誘導に決定的な役割をもつメカニズムは、いまだに不明である^{35,36)}。

GluA1を欠損したマウスにおいて海馬CA1におけるLTPが消失することや、またこれにGluA1をtransgeneを用いて再度発現させてやることでLTP発現が回復することが知られている^{37,38)}。またこのGluA1欠損マウスでは、LTDを正常に発現するが、その後高頻度刺激を加え再度EPSPの上昇を誘発すると(de-depression)、それが著しく障害されている(metaplasticityの障害)。これらのことから海馬CA1のLTP発現の際、後述するようにLTPの発現の本体がAMPA型受容体のシナプス後膜への凝集であるとする、GluA1を介した制御機構がその主たる駆動力となっていると予想される(図1)。しかしながら、GluA1欠損マウスにおいて見られる海馬CA1におけるLTPの消失は、成熟した動物でみとめられるものであり、幼若期にはなお小型のLTP発現が見られ、これはGluA2の幼若タイプであるGluA2 long formに由来すると考えられている³⁹⁾。また、前述のGluA1欠損マウスでは、予想に反し、海馬依存性の空間記憶の形成が正常に保たれているなど、これまでの予想と大きくはずれず報告がある一方、恐怖記憶におけるLTP発現との密接な関係が知られているなど、

すべてを一つのメカニズムで説明することは困難だと思われる⁴⁰⁾。しかし、一つでも明快なメカニズムを明らかとすることができれば、他の種類のシナプス可塑性のメカニズムを解明していく大きな足がかりとなるであろう。

b) サイレントシナプスとAMPA型受容体トラフィッキング

その後もさらなるシナプス可塑性の分子機構の解明への努力が続けられた結果、大きな方向性が見出され、その解明に向け大きく前進した。その内容を説明する前にサイレントシナプス(silent synapse)の発見について触れなくてはならない。神経細胞の電気生理学的測定の際、しばしば測定に失敗することがあり、当初は技術的なミスと考えられていた。ところがその原因としてNMDA型受容体は存在するがAMPA型受容体が存在しないシナプスが多数存在するためであることがわかった。このようなシナプスの場合、通常の状態ではシナプスの静止膜電位は低く、NMDA型受容体がマグネシウムによりブロックされているため、見かけ上刺激に反応しないシナプスとなる。これがサイレントシナプスと呼ばれる所以である⁴¹⁾。このような現象をさらに調べていくうちに、NMDA型受容体は早期にシナプスに固定されるのに比べ、AMPA型受容体が神経の活動状態によってシナプスの内外を移動するということがわかってきた。このようなことは、これら受容体に対する特異的な抗体を用いた初代神経細胞の染色技術の向上と、共焦点顕微鏡や多光子顕微鏡を用いて生きた神経細胞で受容体分子をGFP(緑色蛍光タンパク質)で印をつけ、経時的にその動きを見ることができるようになった技術の進歩の恩恵である。さらに、海馬のスライス培養とウイルスベクターを用いて、GFPで標識したAMPA型受容体を遺伝子導入するシステムとの組み合わせで、LTPやLTDなど神経活動に依存したAMPA型受容体の挙動をリアルタイムで観察することで、ある説得力のあるシナプス可塑性のメカニズムが提唱された(図2)。それによると、強い刺激、いわゆるLTPを起こすような刺激を加えると、AMPA型受容体がシナプス表面に多数挿入されて、シナプス間隙に面したシナプス後膜に局在するAMPA型受容体の数が増え、神経伝達物質であるグルタミン酸に対して非常に大きく反応する。この状態が刺激後長時間持続することで初期のLTPの発現がもたらされる。逆にLTDは、誘導刺激に対してAMPA型受容体の数がシナプス後膜表面において減少することによって神経伝達の効率が低下し引き起こされるという仮説が提唱された⁴²⁻⁴⁴⁾。シナプス間隙に面したシナプス後膜上に存在するAMPA型受容体がどこから挿入されるのか。また、それらはシナプス外のどこに移動するのかについては、はっきりとした結論はまだでていないが、主にシナプス直下の小胞中に一時的に貯留

され、シナプス表面と細胞内とを循環していると考えられた。現在、LTPの際のAMPA型受容体の供給源として、一部細胞内の小胞からシナプス後膜に挿入されるものもあるが、シナプス外の細胞表面にあるものが、刺激後にシナプス部へ側方移動するものが大部分であると考えられている⁴⁵⁻⁴⁷。このようなシナプス可塑性におけるAMPA型受容体の輸送メカニズムとして、まず注目されたのが結合タンパク質の関与であった。これらは主に、AMPA型受容体の細胞内ドメインに結合するタンパク質であった。AMPA型受容体の細胞内ドメインに注目すると、長い細胞内ドメインをもつGluA1、GluA4と、短い細胞内ドメインを持つGluA2、A3、A4に分類される⁴⁸。これらAMPA型受容体の細胞内ドメインに結合するタンパク質は、ほとんどがPDZドメインをもつものであった。PDZドメインとは、PSD95、Dlg、ZO-1に共通なドメイン構造であり、AMPA型受容体のC末端に存在するPDZ結合配列と特異的に結合する。このPDZ結合配列には、ClassI~IIIがありそれぞれClassIがX-S/T-X-V(L)、ClassIIがX-φ-X-φ(φは疎水性アミノ酸)であり、GluA2、3、4のC末にあるSVKI(セリン-バリリン-リジン-イソロイシン)という配列は、ClassII PDZ結合配列に属する。このGluA2、3、4のC末端に結合するタンパク質としてGRIP(Glutamate Receptor Interacting Protein) 1/2、PICK(Protein Interacting C Kinase) 1が報告された^{49,50}。これらは、ともにPDZドメインをもつタンパク質である。GRIP1とGRIP2は同じファミリーに属するタンパク質であり七つのPDZドメインを持ち、5番目のPDZドメインでGluA2、3、4のC末端と結合する。それに対しPICK1は、一つのPDZドメインを持ち、ここでGluA2、3、4のC末端と結合する。こ

れらGRIPやPICK1は、後に詳述するように小脳プルキンエ細胞のLTD発現において重要な役割を果たしている。しかし、海馬CA1におけるLTPには関与はしているが、なおその詳細な役割が明確ではない⁵¹。さらに、PSD-95を代表とするSAP familyと呼ばれるタンパク質群もAMPA型受容体のC末と結合するタンパク質として注目された。これらはmembrane-associated guanylate kinase(MAGUK)ファミリーとも呼ばれるタンパク質群であり、N末から三つのPDZ domainとそれにひきつづくSH3 domain, Guanylate kinase domainからなる(図3)。もともとPSD95は、NMDA型受容体のNR2A、NR2BサブユニットのC末に存在するPDZ結合配列とPDZ domainを介して結合し、そのNMDA型受容体の機能制御を担っている。さらに同じファミリーに属するタンパク質にSAP97、SAP102が知られている。SAP102はPSD95同様、NMDA型受容体と結合し、その機能に影響を与えることが知られており、またSAP97はAMPA型受容体GluA1に結合することが報告されたが、これらSAPファミリータンパク質群がAMPA型受容体と直接結合し何らかの機能制御を行うという報告に関しては、なお疑問の余地がある⁵²。またPSD95に関しては、後述するTARP(transmembrane AMPA receptor regulatory protein)を介した間接的な結合が報告され、これによりAMPA型受容体をシナプスに凝集させるとの報告がある。

近年、細胞膜周辺でAMPA型受容体に結合して膜上に複合体として局在するTARP⁵³が報告された。これはもともとてんかん発作を起こす自然発生突然変異マウスであるstargazerマウスの解析より見つかったものである。このマウスを解析すると、小脳の顆粒細胞表面にAMPA型受容

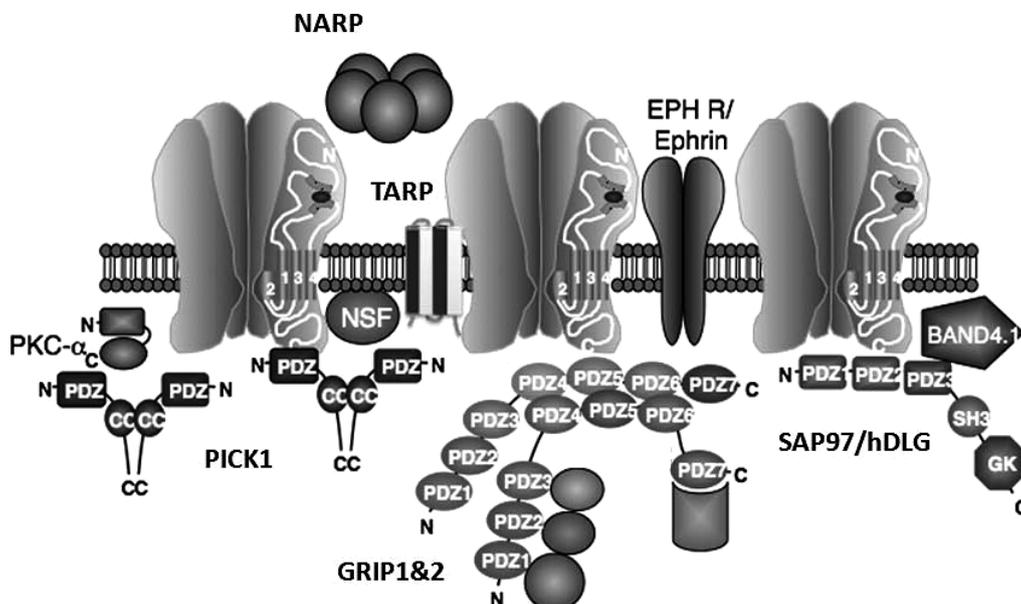


図3 これまでに報告されたAMPA型グルタミン酸受容体結合タンパク質の全体像

体が発現していなかった。このマウスでは *stargazin* という遺伝子に変異が存在していることが明らかとなり、この *stargazin* は、いずれの AMPA サブユニットとも細胞膜の周囲で結合し、AMPA 型受容体の細胞膜上への局在に重要な役割を果たしていた⁵⁴⁾。この *stargazin* は、八つのファミリーを形成しそれぞれ、脳における発現部位が異なる。これらは $\gamma 1 \sim \gamma 8$ からなり C 末において PSD-95 と結合することで AMPA 型受容体のシナプスへの局在に関与していると考えられ TARP と呼ばれている^{53, 55)}。また、近年 TARP と同様に AMPA 型受容体と膜部位で結合し複合体を形成する分子が報告され、TARP と相補的な関係にある Cornichon2 という分子が報告された^{56, 57)}。膜上で AMPA 型受容体と複合体を形成するこれらの分子は、AMPA 型受容体の細胞膜へ輸送や、シナプスへの局在に重要であり、また AMPA 型受容体のチャンネル特性の調節にも関与している^{58, 59)}。

c) 小脳プルキンエ細胞における LTD の分子メカニズム

小脳プルキンエ細胞の LTD のメカニズムは、日本を含め多数の研究者による長年の精力的な結果、多くの部分が明らかとなっている。この LTD の発現に関与する分子は多数報告されており、それに関しては他の総説にゆずりたい。本稿では、その発現に直接関与する AMPA 型受容体等を中心とした発現メカニズムを私達の報告を中心に説明する。小脳の神経回路は、比較的単純で古くからよく知られている。大型の小脳プルキンエ細胞には、基本的に二つの興奮性刺激の入力がある。一つは、苔状線維が顆粒細胞に入力し、それから出た平行線維がプルキンエ細胞に入力する。二つ目は、登上線維が直接プルキンエ細胞へ入力する経路である。その他プルキンエ細胞には分子層に存在するバスケット細胞や星状細胞からの入力もあるが、これらはすべて GABA を介する抑制性の信号を送ることによりプルキンエ細胞の活動を調節しているものと考えられる。プルキンエ細胞自身も抑制性の神経細胞であり、この抑制性の信号を小脳外に送る。これが小脳からの唯一の外部出力線維で、多くの神経活動を調節する。このプルキンエ細胞においてみられるシナプス可塑性にはいくつかあるが、もっとも良く知られているものが LTD である。そしてこの小脳プルキンエ細胞における LTD は、小脳の学習行動の基礎とされている。登上線維からの強力な入力刺激を LTD がキャンセルすることにより運動学習の誤作動を修正する役割を担っているとされている。つまりプルキンエ細胞におけるシナプス可塑性によって生じた LTD によって、運動時の間違いが矯正され適応することにより、運動学習記憶が形成される。例として、このプルキンエ細胞における LTD は、前庭動眼反射などといった反射性眼球運動の適応に重要な機能とされている。

さて、また小脳プルキンエ細胞の LTD 発現の分子メカニズムに話をもどす。この LTD を発現するためには、平行線維と登上線維からの二つの興奮性同時刺激を必要とする。この時使用される神経伝達物質がグルタミン酸である。このグルタミン酸は、プルキンエ細胞膜上に存在する AMPA 型グルタミン酸受容体と結合し、細胞膜を興奮させ電位依存性カルシウムチャンネルを開口させることにより、プルキンエ細胞内へカルシウムを流入させる。また同時に、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、同じくプルキンエ細胞上に存在する代謝型グルタミン酸受容体に結合し、これを活性化させジアシルグリセロールを産生する。細胞内に流入したカルシウムとジアシルグリセロールによりプロテインキナーゼ C を活性化させる。活性化されたプロテインキナーゼ C は、その後シナプス膜の直下に移動すると考えられる。前述したようにプルキンエ細胞における LTD では、AMPA 型受容体が細胞表面から細胞内に取り込まれ、シナプスにおける AMPA 型受容体の数が減少して LTD が発現すると考えられる。それでは、AMPA 型受容体はどのような分子メカニズムで細胞内に取り込まれるのであろうか？ この AMPA 型受容体の四つのサブユニットのうちプルキンエ細胞には GluA1 以外の GluA2, A3, A4 が発現している。まず、GluA2 の遺伝子を欠損した GluA2 欠損マウスで、プルキンエ細胞における LTD が消失していたことから、プルキンエ細胞における LTD 発現に GluA2 が必須であることが示された^{60, 61)}。また、AMPA 型受容体の機能解析において、前述した GluA2, 3, 4 の C 末との結合タンパク質である GRIP1, GRIP2 と PICK1 の生体内での機能を検討するために、これら遺伝子を破壊した遺伝子欠損マウスを用いて、小脳プルキンエ細胞における LTD を調べてみた。GRIP1, GRIP2 の単独の欠損マウスでは正常の LTD が発現するが、両者をともに欠損したマウスではプルキンエ細胞の LTD を消失したことから、GRIP1 と GRIP2 は相補的な役割をもって LTD 発現に必須な役割を持つと考えられた。さらに、PICK1 を欠損したマウスにおいても LTD が消失していた。それでは GRIP1, GRIP2 と PICK1 はどのようにして LTD 発現に関与しているのであろうか。これらの結合タンパク質と GluA2 の C 末端との結合における重要な制御機構が見出された。それは、GluA2 の C 末端の SVKI という PDZ 結合配列の S (セリン) が PKC によってリン酸化されることである。さらにこのリン酸化された GluA2 の C 末端に GRIP1/2 は結合できないが、PICK1 はこのリン酸化された GluA2 の C 末端に結合できる^{62, 63)}。PICK1 は、分子内に PDZ ドメインの他に BAR ドメインと呼ばれる凹形をしたバナナ状のドメインをもち、この部位で PICK1 は二量体を形成する。BAR とは Bin-Amphiphysin-Rvs の略称で一般的な細胞におけるエンドサイトーシスに関連した構

造である。N末に存在するPDZドメインにより、BARドメインは通常マスクされているが、PKC α と結合することで、露出されたBARドメインを介して膜脂質へ結合する。このような複合体が、LTD誘導時のPICK1の膜表面へのtargetingとGluA2のC末のリン酸化、さらにその後のGluA2とPICK1の結合によるリサイクリングエンドソームへの貯留といった一連の分子メカニズムを誘導すると考えられる。またGluA2の細胞内ドメインに結合する分子としてNSF (*N*-ethylmaleimide-sensitive fusion protein)が知られている^{64,65}。このNSFもGRIPやPICK1などとともAMPA型受容体複合体の細胞表面と小胞体のトラフィッキングに密接に関連していると考えられているが、LTDにおけるこれら分子との相互作用の詳細は、いまだに不明である⁶⁶。近年GRIP1は、AMPA型受容体が細胞表面に輸送される際に働くエクソシストと呼ばれる膜融合に必要な複合体を形成するSec8と結合することが明らかとなり、このエクソシストにおいて重要な役割をはたすことによりAMPA型受容体の細胞膜への局在に関与していると予想されている⁶⁷。

以上のことより、通常の状態ではGluA2のC末端とGRIP1、GRIP2が結合することにより、AMPA型受容体を細胞膜に輸送し、膜表面に局在させるのに関与している。LTDの刺激が加わると、平行線維と登状線維から同時に

刺激を受けたプルキンエ細胞ではAMPA型グルタミン酸受容体が興奮し、電位依存性カルシウムチャンネルが開口し、プルキンエ細胞内へカルシウムを流入させる。また同時に、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、同じくプルキンエ細胞上に存在する代謝型グルタミン酸受容体に結合し、これを活性化させジアシルグリセロールを産生する。これら、細胞内のカルシウムとジアシルグリセロールは、プロテインキナーゼCを活性化させる。活性化されたプロテインキナーゼCは膜直下に移動しGluA2のC末端のセリンをリン酸化する。するとGRIP1、GRIP2とGluA2のC末端の結合が解除される。そして代わりにPICK1がリン酸化されたGluA2のC末端に結合する。さらに、PICK1に結合した受容体は、小胞体内に貯留すると考えられ、その結果、細胞表面のAMPA型受容体の数が減少することによって、LTDが発現すると考えられた⁶⁸ (図4)。以上のように、小脳プルキンエ細胞LTDにおいて、GRIP、PICK1、GluA2のC末のリン酸化が重要な役割を果たしていることは明らかとなった。現在、タンパク質としてのGluA2を含むAMPA型受容体の生合成から膜への局在、シナプスへの輸送とLTD誘導時のリサイクリングエンドソームへの取り込み、その後の膜への再利用や分解と、個々にその詳細に関する研究が進められている。興味深いことに、LTPやLTDといったシナプス可塑

LTD発現

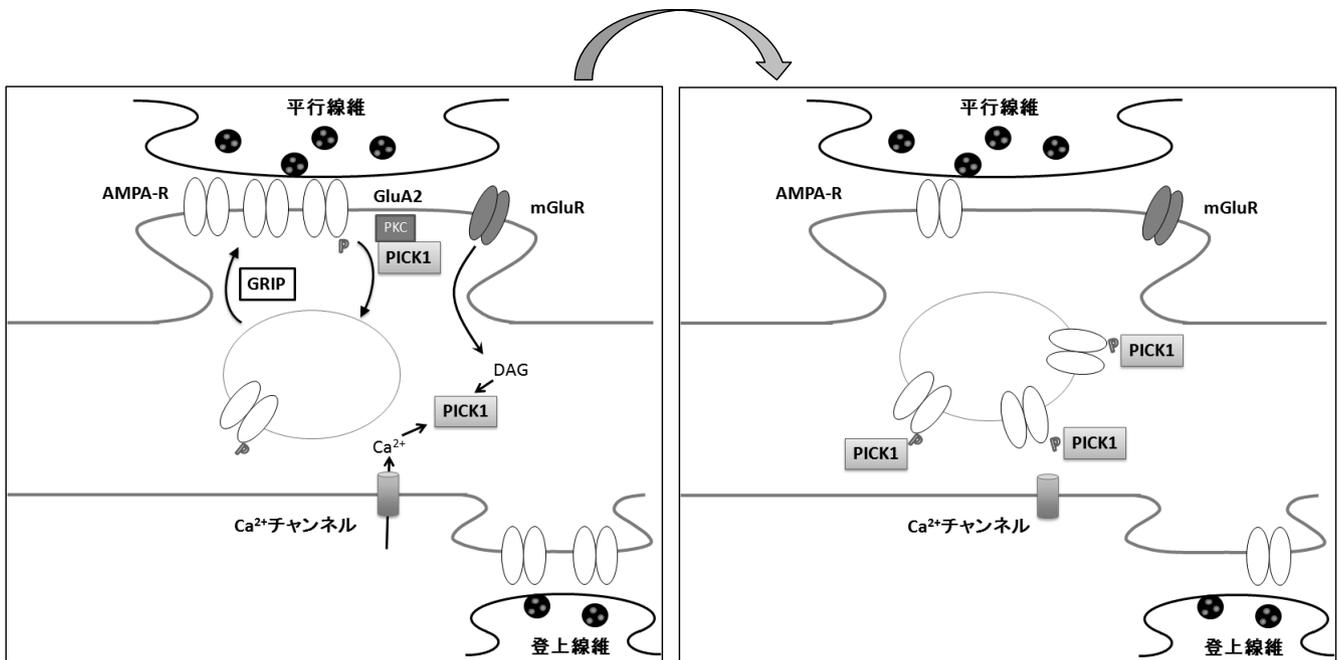


図4 小脳プルキンエ細胞LTDの発現機構

1) 平行線維と登状線維の同時刺激→2) 電位依存性カルシウムチャンネルからのカルシウム流入→3) 代謝型グルタミン酸受容体活性化によるDAG産生→4) PKC活性化→5) 膜に移動したPKCによるGluA2 C末端のリン酸化→6) GluA2 C末端とPICK1の結合によるGluA2の細胞内への取り込み→7) GluA2の小胞体内貯留によるシナプス表面におけるAMPA型受容体の減少

性は、主に AMPA 型受容体のシナプス内外における輸送の結果、AMPA 型受容体のシナプス表面における数の変化が生じることで発現されるのであるが、その引き金として、当初シナプス可塑性の分子機構として考えられていた受容体のリン酸化が AMPA 型受容体の輸送の制御メカニズムの一つであることが明らかとなった。このようにして、現象としては AMPA 型受容体のシナプス表面における数の変化によってシナプス可塑性が制御されているが、さらにその分子基盤となる受容体のタンパク質修飾といった詳細な分子メカニズムが、今後次々と明らかとなっていくと期待される。しかしながら、最近報告された論文では、このプルキンエ細胞の LTD が消失した遺伝子変異マウスにおいて、前庭動眼反射への適応学習が正常であるとの報告があり、尚混沌とした状況である⁶⁹⁾。海馬 CA1 における LTP と空間記憶獲得との関係が疑問視されているのと同様に、これら LTP と LTD のメカニズムを解明する意義をもう一度考え直さなければならないと思われる。

5. おわりに

本稿では、学習や記憶におけるシナプス可塑性の重要性とその分子機構を AMPA 型グルタミン酸受容体を中心として概説した。脳には、多くの異なる部位で異なるメカニズムでのシナプス可塑性が存在すると考えられ、このようなさまざまなシナプス可塑性が、さまざまな脳部位で働くことにより、多くの神経機能の基礎となり、わたくしたちの高次脳神経機能を生み出されていると考えられる。本稿では、学習や記憶におけるシナプス可塑性の重要性とそれに対する研究の経緯、また *in vitro* におけるシナプス可塑性のなかでもっともその分子機構が明らかとなっている海馬 CA1 における LTP と小脳プルキンエ細胞における LTD の分子メカニズムの解明への取り組みを紹介した。これら二者の解明が、その他のシナプス可塑性の分子機構解明の大きな足がかりとなるであろう。このように LTP や LTD の細胞・分子メカニズムを明らかにすることは、AMPA 型受容体のシナプス膜への挿入や除去、さらに細胞内における生合成やトラフィックなどを明らかとすることであり、同時に LTP や LTD がさまざまなタイプの学習や記憶にどのように関与しているかを詳細に再検討することが今後必要であると考えられる。さらにこれが、AMPA 型受容体を介したシナプス可塑性が関与する疾患の病因解明や創薬にも貢献すると思われる。

謝辞

本稿において紹介した筆者の仕事は、米国 Johns Hopkins 大学 Richard L. Huganir 博士の研究室で行われたものであり、同博士とその研究室メンバーに感謝いたします。また本稿に関連したプロジェクトは、筆者の研究室で現在

進行中であり、研究助成を受けている科学研究費補助金ならびに内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、武田科学振興財団、鈴木謙三記念医科学応用研究財団に感謝いたします。

文 献

- 1) Wiesel, T.N. & Hubel, D.H. (1963) *J. Neurophysiol.*, **26**, 1003-1017.
- 2) Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1970) *J. Physiol.*, **206**, 419-436.
- 3) Giummarra, M.J., Gibson, S.J., Georgiou-Karistianis, N., & Bradshaw, J.L. (2007) *Brain Res. Rev.*, **54**, 219-232.
- 4) Palmada, M. & Centelles, J.J. (1998) *Front. Biosci.*, **3**, d701-718.
- 5) Tang, Y.P., Shimizu, E., Dube, G.R., Rampon, C., Kerchner, G.A., Zhuo, M., Liu, G., & Tsien, J.Z. (1999) *Nature*, **401**, 63-69.
- 6) Tsien, J.Z., Huerta, P.T., & Tonegawa, S. (1996) *Cell*, **87**, 1327-1338.
- 7) Hollmann, M. & Heinemann, S. (1994) *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 31-108.
- 8) Collingridge, G.L., Olsen, R.W., Peters, J., & Spedding, M. (2009) *Neuropharmacology*, **56**, 2-5.
- 9) Wenthold, R.J., Petralia, R.S., Blahos, J., II, & Niedzielski, A. S. (1996) *J. Neurosci.*, **16**, 1982-1989.
- 10) Seeburg, P.H. (2002) *Neuron*, **35**, 17-20.
- 11) Liu, S., Lau, L., Wei, J., Zhu, D., Zou, S., Sun, H.-S., Fu, Y., Liu, F., & Lu, Y. (2004) *Neuron*, **43**, 43-55.
- 12) Kawahara, Y., Ito, K., Sun, H., Aizawa, H., Kanazawa, I., & Kwak, S. (2004) *Nature*, **427**, 801.
- 13) Bliss, T.V. & Lomo, T. (1973) *J. Physiol.*, **232**, 331-356.
- 14) Abraham, W.C. & Bear, M.F. (1996) *Trends Neurosci.*, **19**, 126-130.
- 15) Turrigiano, G.G., Leslie, K.R., Desai, N.S., Rutherford, L.C., & Nelson, S.B. (1998) *Nature*, **391**, 892-896.
- 16) Malinow, R. & Malenka, R.C. (2002) *Annu. Rev. Neurosci.*, **25**, 103-126.
- 17) Greger, I.H., Ziff, E.B., & Penn, A.C. (2007) *Trends in Neurosciences*, **30**, 407-416.
- 18) Gardner, S.M., Takamiya, K., Xia, J., Suh, J.-G., Johnson, R., Yu, S., & Huganir, R.L. (2005) *Neuron*, **45**, 903-915.
- 19) Liu, S.Q. & Cull-Candy, S.G. (2000) *Nature*, **405**, 454-458.
- 20) Plant, K., Pelkey, K.A., Bortolotto, Z.A., Morita, D., Terashima, A., McBain, C.J., Collingridge, G.L., & Isaac, J.T. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 602-604.
- 21) Bliss, T.V. & Collingridge, G.L. (1993) *Nature*, **361**, 31-39.
- 22) Scoville, W.B. & Milner, B. (1957) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **20**, 11-21.
- 23) Roche, K.W., Tingley, W.G., & Huganir, R.L. (1994) *Curr. Opin. Neurobiol.*, **4**, 383-388.
- 24) Boehm, J., Kang, M.G., Johnson, R.C., Esteban, J., Huganir, R. L., & Malinow, R. (2006) *Neuron*, **51**, 213-225.
- 25) Barria, A., Derkach, V., & Soderling, T. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 32727-32730.
- 26) Mammen, A.L., Kameyama, K., Roche, K.W., & Huganir, R.L. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 32528-32533.
- 27) Lee, H.K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M.F., & Huganir, R.L. (2000) *Nature*, **405**, 955-959.
- 28) Lee, H.K., Takamiya, K., Han, J.S., Man, H., Kim, C.H., Rumbaugh, G., Yu, S., Ding, L., He, C., Petralia, R.S., Wenthold,

- R.J., Gallagher, M., & Haganir, R.L. (2003) *Cell*, **112**, 631–643.
- 29) Hu, H., Real, E., Takamiya, K., Kang, M.G., Ledoux, J., Haganir, R.L., & Malinow, R. (2007) *Cell*, **131**, 160–173.
- 30) Crombag, H.S., Sutton, J.M., Takamiya, K., Lee, H.K., Holland, P.C., Gallagher, M., & Haganir, R.L. (2008) *Behav. Brain Res.*, **191**, 178–183.
- 31) Crombag, H.S., Sutton, J.M., Takamiya, K., Holland, P.C., Gallagher, M., & Haganir, R.L. (2008) *Eur. J. Neurosci.*, **27**, 3284–3291.
- 32) Man, H.Y., Sekine-Aizawa, Y., & Haganir, R.L. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 3579–3584.
- 33) Zhu, Y., Pak, D., Qin, Y., McCormack, S.G., Kim, M.J., Baumgart, J.P., Velamoor, V., Auberson, Y.P., Osten, P., van Aelst, L., Sheng, M., & Zhu, J.J. (2005) *Neuron*, **46**, 905–916.
- 34) Zhu, J.J., Qin, Y., Zhao, M., Van Aelst, L., & Malinow, R. (2002) *Cell*, **110**, 443–455.
- 35) Kim, C.H., Takamiya, K., Petralia, R.S., Sattler, R., Yu, S., Zhou, W., Kalb, R., Wenthold, R., & Haganir, R. (2005) *Nat. Neurosci.*, **8**, 985–987.
- 36) Lin, D.T., Makino, Y., Sharma, K., Hayashi, T., Neve, R., Takamiya, K., & Haganir, R.L. (2009) *Nat. Neurosci.*, **12**, 879–887.
- 37) Zamanillo, D., Sprengel, R., Hvalby, O., Jensen, V., Burnashev, N., Rozov, A., Kaiser, K.M., Koster, H.J., Borchardt, T., Worley, P., Lubke, J., Frotscher, M., Kelly, P.H., Sommer, B., Andersen, P., Seeburg, P.H., & Sakmann, B. (1999) *Science*, **284**, 1805–1811.
- 38) Mack, V., Burnashev, N., Kaiser, K.M., Rozov, A., Jensen, V., Hvalby, O., Seeburg, P.H., Sakmann, B., & Sprengel, R. (2001) *Science*, **292**, 2501–2504.
- 39) Kollekter, A., Zhu, J.J., Schupp, B.J., Qin, Y., Mack, V., Borchardt, T., Kohr, G., Malinow, R., Seeburg, P.H., & Osten, P. (2003) *Neuron*, **40**, 1199–1212.
- 40) Humeau, Y., Reisel, D., Johnson, A.W., Borchardt, T., Jensen, V., Gebhardt, C., Bosch, V., Gass, P., Bannerman, D.M., Good, M.A., Hvalby, O., Sprengel, R., & Luthi, A. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 10947–10956.
- 41) Liao, D., Hessler, N.A., & Malinow, R. (1995) *Nature*, **375**, 400–404.
- 42) Shi, S., Hayashi, Y., Esteban, J.A., & Malinow, R. (2001) *Cell*, **105**, 331–343.
- 43) Hayashi, Y., Shi, S.H., Esteban, J.A., Piccini, A., Poncer, J.C., & Malinow, R. (2000) *Science*, **287**, 2262–2267.
- 44) Shi, S.H., Hayashi, Y., Petralia, R.S., Zaman, S.H., Wenthold, R.J., Svoboda, K., & Malinow, R. (1999) *Science*, **284**, 1811–1816.
- 45) Borgdorff, A.J. & Choquet, D. (2002) *Nature*, **417**, 649–653.
- 46) Heine, M., Groc, L., Frischknecht, R., Beique, J.C., Lounis, B., Rumbaugh, G., Haganir, R.L., Cognet, L., & Choquet, D. (2008) *Science*, **320**, 201–205.
- 47) Kennedy, M.J., Davison, I.G., Robinson, C.G., & Ehlers, M.D. (2010) *Cell*, **141**, 524–535.
- 48) Song, I. & Haganir, R.L. (2002) *Trends Neurosci.*, **25**, 578–588.
- 49) Dong, H., O'Brien, R.J., Fung, E.T., Lanahan, A.A., Worley, P. F., & Haganir, R.L. (1997) *Nature*, **386**, 279–284.
- 50) Xia, J., Zhang, X., Staudinger, J., & Haganir, R.L. (1999) *Neuron*, **22**, 179–187.
- 51) Volk, L., Kim, C.H., Takamiya, K., Yu, Y., & Haganir, R.L. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 21784–21789.
- 52) Cai, C., Coleman, S.K., Niemi, K., & Keinänen, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 31484–31490.
- 53) Tomita, S., Fukata, M., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2004) *Science*, **303**, 1508–1511.
- 54) Chen, L., Chetkovich, D.M., Petralia, R.S., Sweeney, N.T., Kawasaki, Y., Wenthold, R.J., Brecht, D.S., & Nicoll, R.A. (2000) *Nature*, **408**, 936–943.
- 55) El-Husseini Ael, D., Schnell, E., Dakoji, S., Sweeney, N., Zhou, Q., Prange, O., Gauthier-Campbell, C., Aguilera-Moreno, A., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2002) *Cell*, **108**, 849–863.
- 56) Schwenk, J., Harmel, N., Zolles, G., Bildl, W., Kulik, A., Heimrich, B., Chisaka, O., Jonas, P., Schulte, U., Fakler, B., & Klocker, N. (2009) *Science*, **323**, 1313–1319.
- 57) Jackson, A.C. & Nicoll, R.A. (2011) *Neuron*, **70**, 178–199.
- 58) Kato, A.S., Gill, M.B., Ho, M.T., Yu, H., Tu, Y., Siuda, E.R., Wang, H., Qian, Y.W., Nisenbaum, E.S., Tomita, S., & Brecht, D.S. (2010) *Neuron*, **68**, 1082–1096.
- 59) Jackson, A.C. & Nicoll, R.A. (2011) *Neuron*, **70**, 178–199.
- 60) Chung, H.J., Steinberg, J.P., Haganir, R.L., & Linden, D.J. (2003) *Science*, **300**, 1751–1755.
- 61) Xia, J., Chung, H.J., Wihler, C., Haganir, R.L., & Linden, D.J. (2000) *Neuron*, **28**, 499–510.
- 62) Chung, H.J., Xia, J., Scannevin, R.H., Zhang, X., & Haganir, R.L. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, 7258–7267.
- 63) Matsuda, S., Launey, T., Mikawa, S., & Hirai, H. (2000) *Embo J.*, **19**, 2765–2774.
- 64) Hanley, J.G., Khatri, L., Hanson, P.I., & Ziff, E.B. (2002) *Neuron*, **34**, 53–67.
- 65) Song, I., Kamboj, S., Xia, J., Dong, H., Liao, D., & Haganir, R.L. (1998) *Neuron*, **21**, 393–400.
- 66) Lee, S.H., Liu, L., Wang, Y.T., & Sheng, M. (2002) *Neuron*, **36**, 661–674.
- 67) Mao, L., Takamiya, K., Thomas, G., Lin, D.T., & Haganir, R. L. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 19038–19043.
- 68) Steinberg, J.P., Takamiya, K., Shen, Y., Xia, J., Rubio, M.E., Yu, S., Jin, W., Thomas, G.M., Linden, D.J., & Haganir, R.L. (2006) *Neuron*, **49**, 845–860.
- 69) Schonewille, M., Gao, Z., Boele, H.J., Vinueza Veloz, M.F., Amerika, W.E., Simek, A.A., De Jeu, M.T., Steinberg, J.P., Takamiya, K., Hoebeek, F.E., Linden, D.J., Haganir, R.L., & De Zeeuw, C.I. (2011) *Neuron*, **70**, 43–50.