

# 神経細胞におけるグルタミン酸受容体の一生： 数と位置はどのように制御されるか？

柚崎 通介

イオンチャネル型グルタミン酸受容体 (GluR) は、哺乳類中枢神経系の神経細胞樹状突起上に存在する棘突起の細胞膜表面において興奮性神経伝達に関与する。GluR の機能の制御は神経細胞の発生・分化・細胞移動などの正常な発達過程や、成熟脳における記憶学習、そして虚血性脳疾患や神経変性疾患などの病的な過程にも深く関わっている。GluR は粗面小胞体で合成されたのちに、ゴルジ器官やエンドソームにおいて軸索・樹状突起といった大まかな方向に沿って選別され、さらに局所においてエキソシストなどの膜融合装置の働きによって、細胞表面へ配達される。細胞膜に到達した GluR は、細胞膜上を側方移動し、一部は細胞内へ再び取り込まれた後に最終的には分解系に回る。このような GluR の小胞輸送過程は、神経系のあらゆる生理現象や病態に関与しており、その解明は非常に重要な課題である。

## 1. はじめに

哺乳類の中枢神経系での速い神経伝達は、グルタミン酸受容体 (GluR) により担われている。GluR は神経細胞の発生・分化・細胞移動などの正常な発達過程や、成熟脳における記憶学習、そして虚血性脳疾患や神経変性疾患などの病的な過程にも深く関わっている。したがって GluR を介した信号伝達経路の理解は、基礎医学的のみならず臨床医学的な観点からも非常に重要であり、創薬ターゲットとして注目を集めている。

これまで、GluR の翻訳後機能修飾過程としてはリン酸化などが主に研究されてきた。ところが、近年小胞輸送 (メンブレントラフィック) による GluR の位置と数の制御が、その活性調節において非常に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。本総説では、私たちの研究の成

果を含めつつ、この分野の近年の進歩を紹介したい。紙面の都合もあり、詳細や含まれなかった原著論文については他の総説も参照されたい<sup>1-4)</sup>。

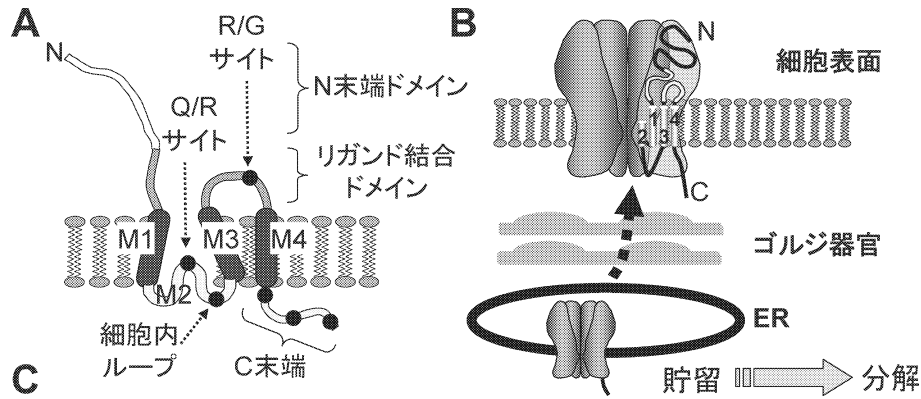
## 2. グルタミン酸受容体の種類と機能

イオンチャネル型 GluR ファミリーは、薬理的に *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体、 $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) 受容体、カニン酸受容体、そしてリガンドが不明な  $\delta$  受容体に分類される<sup>5)</sup>。イオンチャネル型 GluR は、細胞外に N 末端ドメインとリガンド結合ドメインを持ち、第 2 膜貫通ドメインがチャネルポアを形成し、細胞内に数 10 から 100 残基におよぶ C 末端部を持った構造を持つ (図 1A)。NMDA 受容体はグリシンに結合する NR1 とグルタミン酸に結合する NR2A-D のサブユニットからなるヘテロ四量体を形成する。さらに発達時期や神経細胞によっては NR3A, 3B といったサブユニットも関与する。AMPA 受容体は GluR1-4 からなるヘテロ四量体であり、カニン酸受容体は GluR5-7 と KA1, 2 から構成されるヘテロ四量体を形成し、いずれもグルタミン酸により活性化される。一方、 $\delta$  受容体は  $\delta 1$  あるいは  $\delta 2$  からなるホモ四量体を形成するが、GluR に分類されるもののグルタミン酸をリガンドとしない<sup>6)</sup>。

慶應義塾大学医学部神経生理学 (〒160-8582 新宿区信濃町 35)

A life of glutamate receptor—New mechanisms controlling its number and location in neurons

Michisuke Yuzaki (Department of Neurophysiology, School of Medicine, Keio University, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan)



ファミリー	サブユニット	ER貯留/脱出配列と位置	機能
NMDA受容体	NR1-1/1-3	RRR <sub>893-895</sub> (C末端)	ER貯留
	NR1-3/1-4	TVV <sub>920-922</sub> (C末端最末端)	ER脱出
	NR2	HLFY (C末端膜直下)	ER脱出
AMPA受容体	GluR1/GluR4	EFCYKSRSESKRMK (C末端膜直下)	ER脱出
	GluR2	R <sub>607</sub> (Q/Rサイト)	ER貯留
	GluR2	R <sub>743</sub> (リガンド結合ドメインR/Gサイト)	ER脱出
カイニン酸受容体	KA2	RRRRR <sub>862-866</sub> ... LL <sub>908-909</sub> (C末端) RAR <sub>580-582</sub> (細胞内ループ)	ER貯留 ER貯留
	GluR5-2b GluR5-2c GluR6/GluR7a	CHQRRRTQRK <sub>893-901</sub> (C末端) KSSRLRFYFRN <sub>872-882</sub> (C末端) CQRRLKHK <sub>872-879</sub> (C末端)	ER貯留 ER貯留 ER脱出
デルタ受容体	δ2	ETWWSRRKGSRVP (C末端膜直下)	ER脱出

図1 イオンチャネル型グルタミン酸受容体 (GluR) の構造と小胞体 (ER) における品質管理機構  
 (A)膜トポロジー. (B)ERにおける貯留. (C)GluRのER貯留と脱出に関するアミノ酸配列.

AMPA受容体は樹状突起に存在する神経棘突起表面において、通常の速い興奮性神経伝達を支える。NMDA受容体もシナプス後膜に存在するが、通常の神経伝達にはほとんど関与しない。しかし、神経活動が亢進した時に活性化し、Caイオンを細胞内に透過させることにより、Ca依存性カルモデュリンキナーゼII (CaMKII) などのさまざまな細胞内情報伝達系を駆動してシナプス可塑性に関与する。カイニン酸受容体は海馬CA3領域の錐体細胞においては苔状線維入力を受けるシナプス後部において遅い神経伝達に関与するが、他の神経細胞においては、シナプス以外の部位の細胞表面に発現していることが多い。また興奮性および抑制性シナプスのシナプス前終末にも発現し、グルタミン酸濃度に応じてシナプス前部を興奮ないし抑制させ、神経伝達物質放出量を調節することによってシナプス可塑性に関与する<sup>7)</sup>。

生後脳ではδ1受容体は内耳有毛細胞に、δ2受容体は小脳プルキンエ細胞にほぼ選択的に発現する。hoffootマウスはδ2受容体のnull変異によって起こる突然変異マウスで、これまでに少なくとも20種類の異なった変異が知られている。hoffootマウスでは、著明な小脳失調と小脳依存性の学習課題の障害をきたすことから、δ2受容体が正

常小脳機能の発現に必須であると考えられるが、その細胞内信号伝達経路については不明な点が多い<sup>3)</sup>。δ2受容体はイオンチャネル型GluRに属するものの、チャネルとしてではなく、細胞内情報伝達系を直接に駆動している可能性がある<sup>4)</sup>。AMPA受容体やカイニン酸受容体においても、イオンチャネルとしての機能とは独立して、小分子Gタンパク質などとカップルした「代謝型」機能があることが示唆されている。

### 3. ERからの旅立ち

GluRはERで合成されたのちに、小胞に乗って細胞内を運搬される。小胞はゴルジ器官やエンドソームにおいて軸索・樹状突起といった大まかな方向に沿って選別され、さらに局所においてエキソシストなどの膜融合装置の働きによって、細胞表面へ配達される。このような小胞輸送過程の律速段階はERにおける品質管理機構である。

#### 1) ER貯留—一次的品質管理

多量体から形成される膜タンパク質は、ERで合成され、糖鎖付加、ジスルフィド結合形成、折りたたみなどを経て成熟し、サブユニット同士が会合したのちに、ゴルジ装置に輸送され、さらに糖鎖修飾を受けて細胞表面に輸送

される。この過程に異常がある膜タンパク質は、ERに貯留、あるいは、ゴルジ装置から差し戻され、やがて分解系に回される。多くの細胞の細胞表面における膜タンパク質の量は、このようなERにおける品質管理機構により厳密に規定されている。GluRにおいても総量の40-50%はゴルジ装置において見られる複雑型糖鎖修飾を受けていないことから、大半はERに貯留されていると考えられる<sup>11)</sup>。

*hotfoot* 変異マウスの一つである *ho4J* マウスでは  $\delta 2$  受容体タンパク質のN末端ドメインが部分欠失している。この欠失のために、*ho4J* 変異  $\delta 2$  受容体間の互いの結合力が弱まって不安定なホモ多量体を形成し、ERにおける品質管理機構で捕捉されて分解されることを私たちは見出した(図1B)<sup>8)</sup>。その後、他の多くの *hotfoot* マウスにおいても、N末端ドメインにさまざまな部分欠失が存在し、そのために変異  $\delta 2$  受容体がERに捕捉され分解されて小脳失調が引き起こされることが判明した<sup>9)</sup>。これらの結果は *in vivo* においても GluR がERにおける品質管理を受けていることを示す初めての知見であった。

AMPA 受容体 GluR1 のN末端ドメインに存在する「IQ1」配列がER脱出シグナルを構成しているという報告がある<sup>10)</sup>。しかし、GluR1のN末端ドメインにさまざまな部分欠失を人工的に導入すると、*hotfoot* 変異  $\delta 2$  受容体と同様にサブユニット間の会合が低下し、ERに貯留されることを私たちは見出した。また、GluR1のN末端ドメインを、すべて人工的な四量体形成ペプチドと置換した変異 GluR1 は、効率よくERから細胞表面に移行することを見出した<sup>11)</sup>。つまり、GluR1の品質管理はN末端ドメインのIQ1配列のような特定の配列をチェックしているのではないと私たちは考えている。GluRのN末端ドメインは単独でも安定した二量体を形成することが知られているので、GluRがmRNAから翻訳されてER内腔に移行していく過程において、N末端ドメインは順次会合すると考えられる。一次的品質管理は、このようなN末端ドメインの会合コンフォメーションをチェックするBiPやcalnexinなどのER内腔に存在するシャペロンにより担われているのであろう。

## 2) ER貯留—二次的品質管理

一次的品質管理に合格したGluRは、さらに特定のアミノ酸配列を認識することによる二次的品質管理を受けている(図1C)。AMPA受容体ではチャンネルポア部分に、「Q/Rサイト」と呼ばれるCaイオン透過性を決定する部分があり、この部位にグルタミン酸(Q)があるときにはCaイオンを通過させるが、アルギニン(R)があるときには電気的反発力によりCaイオンをほとんど通さない(図1A)。AMPA受容体GluR2サブユニットでは、この部位はゲノム上ではQがコードされているものの、mRNAレベルでのRNA編集により、生体内ではほぼ全てRとなっ

ている。そのためにGluR2を含むAMPA受容体は、Caイオンをほとんど通さないチャンネルを形成する。ほとんどの神経細胞に発現しているAMPA受容体は、GluR2が含まれたヘテロ四量体であるが、これはQ/Rサイトを認識し、Rを持っているGluR2サブユニットを選択的にERに貯留させ、GluR2のERでの実効タンパク質濃度を高くする機構があるためらしい(図1C)<sup>12)</sup>。この分子機構は未だに不明であるが、Q/RサイトにRが存在すると、GluR2が二量体から四量体に成熟するための時間が遷延することが報告されている。

膜タンパク質のER貯留シグナルとしては、ATP感受性KチャンネルやGABA<sub>B</sub>受容体において「RXR(Xは酸性アミノ酸以外の何でもよい)モチーフがよく知られている。RXRモチーフは、GluRにおいてもNMDA受容体NR1-1やNR1-3サブユニットやカイニン酸受容体KA2サブユニットにも存在する(図1C)。NR2サブユニットと会合するか、あるいはPDZドメインを持つタンパク質と会合すると、このER貯留シグナルがマスクされ、その結果NR1-1やNR1-3は初めてERから出て細胞表面へ移行できる。KA2のER貯留シグナルもGluR5-7サブユニットとの会合によりマスクされることにより、KA2とGluR5-7からなるヘテロ多量体のみがERから脱出できる。

## 3) ER脱出シグナル

面白いことにアルギニン残基を含む配列は、ER貯留のみでなく、ERからの脱出を促進するシグナルとしても使われることがある。例えば、AMPA受容体GluR1やGluR4サブユニットのC末端の細胞膜直下部には、複数のアルギニン残基を含む強力なER脱出シグナルが存在する(図1C)。私たちも  $\delta 2$  受容体に同様のER脱出シグナルがあることを見出した<sup>13)</sup>。

NR1-3やNR1-4サブユニットでは、C末端の最末端部のTVV配列が、ER脱出シグナルとして働いている。神経細胞において神経活動を薬剤などにより一定期間抑制すると、TVV配列を持つNR1-3やNR1-4の選択的スプライシングが亢進し、その結果NMDA受容体のERからの脱出が促進する<sup>14)</sup>。NMDA受容体の活性は、後述するようにAMPA受容体のシナプス移行を促進するので、結果としてAMPA受容体を介したシナプス伝達を亢進させる。このように、神経活動レベルの長期的変化を感知して、シナプス伝達を一定に保つホメオスタシス制御の分子機構の一つとしてERでの品質管理が使われている。

## 4) ERにおける品質管理の分子機構

ER貯留シグナルはコートタンパク質複合体COPIと、ER脱出シグナルはコートタンパク質複合体COPIIと、それぞれ何らかの形で最終的に関与するものと予想される。しかしGluRの貯留シグナルや脱出シグナルが、どのような分子により直接認識されているのかは未だによく分か

ていない。面白いことに、GluRのリガンド結合ドメインにリガンド結合能を失わせるような変異を導入すると、変異GluRはほぼすべてERに貯留する<sup>15-17)</sup>。このことから、ER中に存在するグルタミン酸(約4-14mM)が、GluRと結合することによってシャペロン分子として働き、GluRの折りたたみとERからの脱出を促進する可能性がある。GluRはグルタミン酸と結合すると、数ミリ秒チャンネルが開いた後、リガンドが結合したままチャンネルが閉じた「脱感作状態」に速やかに移行する。最近、脱感作状態に変化を及ぼすようなさまざまな変異の導入により、GluRのERからの脱出し易さと、脱感作状態への移行し易さに相関関係があることが分かった<sup>18)</sup>。すなわち、ERにおいてグルタミン酸と結合した結果引き起こされるGluRの脱感作に伴うコンフォメーションの変化を認識する機構こそが、ERにおける機能的な品質管理機構の実体かもしれない。

興味深いことに、オピオイド受容体<sup>19)</sup>やV2バゾプレッシン受容体<sup>20)</sup>、 $K_{ATP}$ <sup>21)</sup>においても、リガンドがシャペロンとして働き、リガンド結合部位に対する薬剤を投与すると、ERにおける受容体の貯留状態を制御できる。このことは、GluRのERにおける品質管理機構も薬剤で制御できる可能性を示唆する。

ERは神経細胞においては主に細胞体に存在している。このことは*ho4J*変異マウスにおいて、変異 $\delta 2$ 受容体がプルキンエ細胞の細胞体にしか検出されないことから明らかである<sup>9)</sup>。一方、mRNAの翻訳・修飾に必要なすべての器官を含むRNA顆粒が、樹状突起に存在し、局所におけるタンパク質合成に関与していることが近年明らかになってきた。したがって、ERにおける品質管理機構も、細胞体のみならず、樹状突起やシナプス近傍にも存在する可能性がある。何れにせよ、総量の半分近くを備蓄しているERにおけるGluR貯留状態の制御機構の解明は、GluRが関与するさまざまな生理現象や病理現象を理解し、治療法を進展させるために必須であろう。

#### 4. 軸索と樹状突起への選別一極性輸送

神経細胞は樹状突起と軸索という、機能的にも構造的にも性質が異なった膜領域を持つ極性細胞である(図2A)。発達段階の初期において、神経突起の1本が軸索となり、残りが樹状突起となって極性が確立される分子機構については近年大幅に解明が進んだ<sup>22)</sup>。いったん形成された神経細胞の極性は、その後もさまざまな膜タンパク質を極性にしながら選択的に輸送することにより維持される<sup>2)</sup>。このような極性輸送は、発達段階における神経突起の伸展の

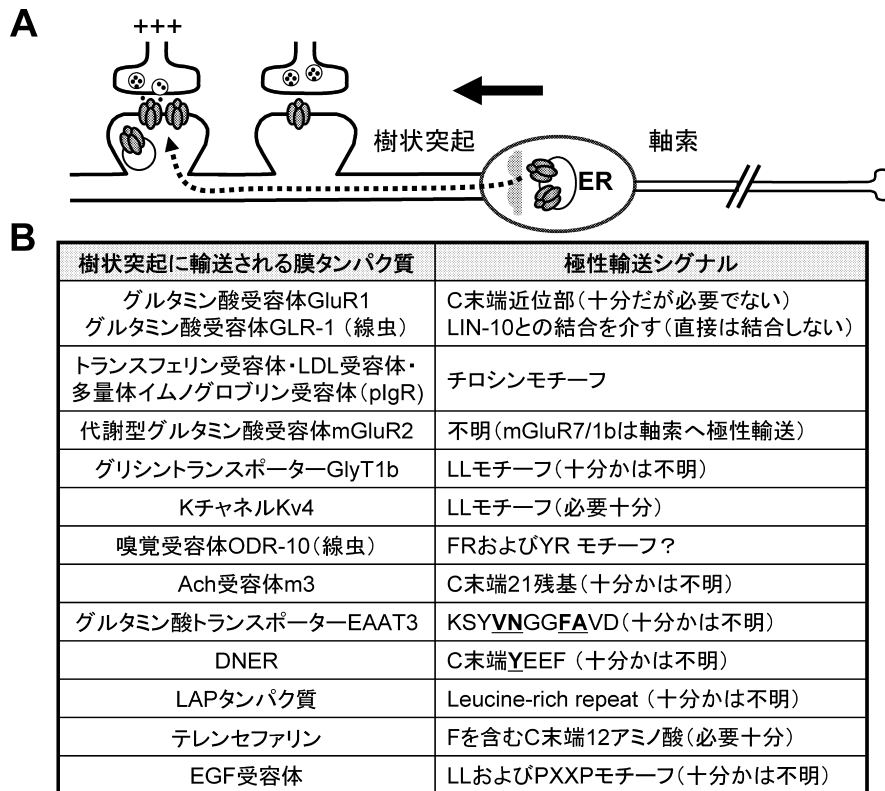


図2 神経細胞における樹状突起への極性輸送  
(A) 樹状突起への極性輸送の模式図。(B) 樹状突起に極性輸送される膜タンパク質とその認識されるアミノ酸配列。

みでなく、成熟後の神経細胞の機能維持に必須である。例えば、KチャンネルKv4は樹状突起に、Kv1は軸索に極性輸送され、それぞれ電気信号の受容と発信に重要な役割を果たす。しかし、神経細胞において極性輸送を支える分子機構についてはほとんど分かっていない。

### 1) 上皮細胞と神経細胞の極性輸送機構の比較

膜タンパク質の極性輸送については、上皮細胞において詳しく解明が進んでいる<sup>23)</sup>。例えば上皮細胞のbasolateral membrane (側底膜) への選択的輸送には、アダプタータンパク質ファミリーが関与している。アダプタータンパク質は、大きなサブユニット二つ、中ぐらいのサブユニット $\mu$ と小さなサブユニット $\sigma$ がそれぞれ一つずつからなるヘテロ四量体を形成し、小胞体輸送に重要な役割を果たす。アダプタータンパク質AP-1Bはゴルジ器官において側底膜へ輸送される膜タンパク質を選別するか、あるいはリサイクリングエンドソームにおいて側底膜の膜タンパク質の再循環に関与する。AP-1Bの $\mu$ サブユニットは膜タンパク質のチロシンモチーフYXX $\Phi$  ( $\Phi$ は大きな側鎖を持つ疎水性アミノ酸)やNPXYを認識する。ただし、チロシンモチーフを持っていても、AP-1Bに依存せずに側底膜へ輸送される膜タンパク質も存在する。

面白いことに、トランスフェリン受容体・LDL受容体・多量体イムノグロブリン受容体など、上皮細胞において側底膜に選択的輸送される膜タンパク質を神経細胞に強制発現させると、これらのタンパク質はチロシンモチーフ依存的に樹状突起に極性輸送される<sup>24)</sup> (図2B)。同様に、上皮細胞においてapical membrane (頂端膜)に輸送される膜タンパク質は神経細胞においては軸索に発現することが多い。このことから、上皮細胞における側底膜と頂端膜は、神経細胞における樹状突起と軸索に機能的に相同であると考えられ、神経細胞において極性輸送を支える分子機構は上皮細胞のそれと共通のものが多い可能性がある。しかし、CD44やFcR $\gamma$ 2は、上皮細胞では側底膜に極性輸送されるが、神経細胞では軸索にも樹状突起にも非選択的に輸送される<sup>25)</sup>。逆にテレンセフェリンは神経細胞では樹状突起に選択的に輸送されるが、上皮細胞では極性輸送されない<sup>26)</sup>。またそもそもAP-1Bは神経細胞には発現していない。このように神経細胞において樹状突起に極性輸送される膜タンパク質や、そのために必要なアミノ酸配列については、近年解明が進んだものの(図2B)、これらの積荷タンパク質を認識して極性輸送を支える分子機構については不明のままである。

### 2) AMPA受容体の樹状突起への極性輸送

AMPA受容体は成熟神経細胞においては、シナプス後部の存在する樹状突起に選択的に輸送される。無極性輸送される膜タンパク質のC末端にAMPA受容体GluR1のC末端近位部を付加すると、このキメラタンパク質は樹状突

起特異的に発現することから、GluR1のC末端は極性輸送に十分なシグナルを持つと考えられる(図2B)。しかし、この部分を欠失させたGluR1も樹状突起に極性輸送されることから、樹状突起選択輸送に必須なシグナルではない<sup>27)</sup>。GluR1は樹状突起においてエンドサイトーシスされた後に、C末端部のリン酸化の有無により再び細胞膜に輸送されて再利用されるか、あるいは分解されるかが決定される<sup>28)</sup>。つまり、GluR1のC末端部は、分解系に回るかどうかを規定することにより、見かけ上の樹状突起選択輸送に関与している可能性がある。しかし最近私たちは、AMPA受容体の樹状突起への極性輸送を直接制御する分子を同定することに成功した。この分子のノックアウトマウスの神経細胞では、AMPA受容体や $\delta$ 2受容体が無極性輸送され、その結果、軸索に輸送されたAMPA受容体が蓄積してオートファゴソーム様構造物を形成する(投稿中)。一方、幼若時の神経細胞軸索末端の成長円錐にはAMPA受容体が発現しており、その活性が成長円錐の運動性を制御していることが報告されている<sup>29)</sup>。また特定の神経細胞の軸索末端には成熟後でもAMPA受容体が発現している<sup>30)</sup>。したがって、AMPA受容体の樹状突起への選択的輸送は静的なものでなく、発達時期や神経細胞の種類や環境などにより動的に制御されている可能性がある。GluRの極性輸送を支える新しい分子機構の解明は、これらの現象を解明しさらに制御する可能性を開くことができるものと期待している。

### 3) 軸索への極性輸送

軸索へ極性輸送される膜タンパク質も多い。これらの膜タンパク質は、ゴルジ器官から直接軸索に選別輸送される場合のほか、いったん無極性輸送された後に樹状突起において選択的にエンドサイトーシスされるNaチャンネルNav1.2のような例や、細胞外基質との結合ドメインによって選択的に軸索領域に繫留されるNgCAMのような例があり、樹状突起への極性輸送よりも多彩である<sup>3)</sup>。GluRでは、前述したようにカニン酸受容体が特に海馬での苔状線維シナプス前部に局在して、伝達物質放出量制御に関与していることが知られている。シナプス前部のカニン酸受容体はシナプス後部のものと薬理的な性質が異なること、シナプス前部にはKA1サブユニットを含むカニン酸受容体が多いこと、一方GluR5やGluR6サブユニットは無極性に輸送されること、などが分かっている<sup>7)</sup>。

### 4) エキソシスト

小胞輸送の積荷として輸送された膜タンパク質は、目的地で自由に細胞膜と融合するわけではない。下等生物と同様に、神経細胞における局所での膜融合のためには細胞膜近傍にエキソシスト複合体の存在が必要と考えられている。エキソシストはSec3, Sec5, Sec6, Sec8, Sec10, Sec15, Exo70, Exo84の8種のタンパク質から構成され、哺

乳類細胞にもホモログが存在する。神経細胞においてエキソソシストは主に軸索終末の成長円錐に存在し、さらに細胞体や樹状突起にも点状に分布する。Sec5, Sec6 をノックアウトしたハエでは、シナプス伝達は正常であり<sup>31)</sup>、一方 Sec15 をノックアウトしたハエでは、さまざまな細胞接着因子の極性輸送が障害されることにより、視細胞の標的的特異的シナプス形成が阻害された<sup>32)</sup>。すなわちエキソソシストは積荷分子や標的的部位によって、さまざまなサブユニットの組み合わせで多彩な機能を発揮する可能性がある。

##### 5) SNARE 複合体の必要性

GluR を乗せた小胞が細胞膜と癒合する最終的な過程にはさらに syntaxin, VAMP, SNAP-25 の三つのグループのタンパク質からなる SNARE 複合体が必要であると考えられている<sup>2)</sup>。SNARE 複合体は、シナプス前部においてシナプス小胞がエキソサイトーシスされる過程の分子機構として詳しく研究されてきた。しかし、薬剤を用いて SNARE 複合体の各構成分子を阻害すると、シナプス小胞のエキソサイトーシス過程とは独立して、軸索や樹状突起の伸展がそれぞれ障害されることが分かった。すなわち、さまざまな SNARE 複合体が、小胞別に特異的に膜融合に関与しているらしい。これらのことから、小胞極性輸送のマスタープランは、微小管に沿って分子モーターで運搬される SNARE 複合体の極性輸送が制御している可能性もある。

##### 6) 膜タンパク質の細胞膜上における拡散

膜タンパク質が樹状突起や軸索特異的に極性輸送されるためには、膜タンパク質を局所に配達するのみでなく、それぞれの場所に留めて脂質二重膜の中を自由拡散させない機構が必要である。上皮細胞においては上皮細胞間に存在する閉鎖帯 (zonula occludens) が、頂端膜と側底膜との間の膜タンパク質と脂質の拡散を物理的に阻害する。神経細胞においては、閉鎖帯の代わりに、個々の神経細胞における軸索の初節が、膜タンパク質や<sup>33)</sup>、さらには脂質そのものの拡散障壁として働くことが分かってきた<sup>34)</sup>。初節において、細胞内骨格であるアクチンとアクチン結合タンパクであるアンキリン G, スペクトリンがフェンスの基本骨格を構成し、この骨格に膜電位依存性 Na チャネルが結合することによりピケットとして強力な拡散障壁を構成する、というモデルが提唱されている<sup>34)</sup>。すなわち軸索初節は活動電位を発生させるのみでなく、拡散障壁を形成し、細胞極性を確立するために重要な役割を果たす。面白いことに幼若神経細胞においては軸索と樹状突起が分化した後にも、しばらくの間は軸索初節における拡散障壁が完成しない。極性輸送過程を理解するためには、初節への Na チャネルの集積過程の分子機構をさらに解明することが必要であろう。

## 5. 神経棘での制御とシナプス可塑性

われわれの日常生活における記憶現象の神経回路レベルでのモデルとしては、長期増強 (long-term potentiation: LTP) と長期抑圧 (long-term depression: LTD) が精力的に研究されてきた。典型的には、学習に伴って神経活動が亢進すると、海馬では神経細胞間の連絡、すなわちシナプス伝達効率が向上して LTP が起き、逆に小脳ではシナプス伝達効率が低下して LTD が起きる (図 3)。学習原理として海馬では塑像の、小脳では彫像の原理を用いているといわれる所以である。

LTP の分子機構としては、神経活動亢進に伴って、シナプス後膜において AMPA 受容体のエキソサイトーシスが亢進し、神経棘の細胞膜表面に存在する AMPA 受容体の数が増加することが少なくとも主要な機構の一つと考えられている (図 3A)。逆にエンドサイトーシスの亢進によって神経棘表面における AMPA 受容体の数が減少することが LTD の実態であろう (図 3B)。一方、神経棘における NMDA 受容体の数は比較的安定である。

神経棘における AMPA 受容体の小胞輸送の制御機構としては、GluR のサブユニットに特異的な機構<sup>35, 36)</sup>と非特異的機構<sup>37)</sup>が分かってきた。さらに神経棘付近における GluR の拡散過程も制御されている<sup>38)</sup>。

##### 1) サブユニット特異的機構—GluR1 と LTP

海馬 CA1 野においては、以下のようなモデルが提唱されている。まず、神経活動の亢進に伴い、錐体細胞の NMDA 受容体が活性化し、棘突起内における Ca 濃度が上昇する。その結果シナプス後部の CaMKII が活性化されて、棘突起のシナプス後膜に移行する。CaMKII は自己リン酸化を通じて活性化状態を持続し、神経細胞内プールに存在する AMPA 受容体 GluR1 サブユニットのシナプス後膜表面へのエキソサイトーシスを誘導する (図 4)。その結果、シナプス後膜における AMPA 受容体の数が増加し、LTP が成立する。このような、神経活動亢進に伴った GluR1 サブユニットの選択的輸送が LTP を成立させていることが、多くの脳部位で示されている。

この過程には GluR1 の最 C 末端が必要であるが、CaMKII がこの部位を直接リン酸化するのではない。GluR1 の最 C 末端に結合する PDZ タンパク質の一つである SAP97 が CaMKII によりリン酸化されると神経棘に移動することや、SAP97 がモータータンパク質 myosin VI や GluR1 と複合体を形成することが分かっている。したがって、CaMKII は SAP97 をリン酸化することにより、GluR1 を ER からアクチン骨格に沿って細胞表面へ移行させるのかもしれない (図 4, (1))。しかし機能的ドメインを欠損した SAP97 を発現するマウスにおいても神経棘における GluR1 の分布が変化しないとの報告もある<sup>39)</sup>。SAP97 の役

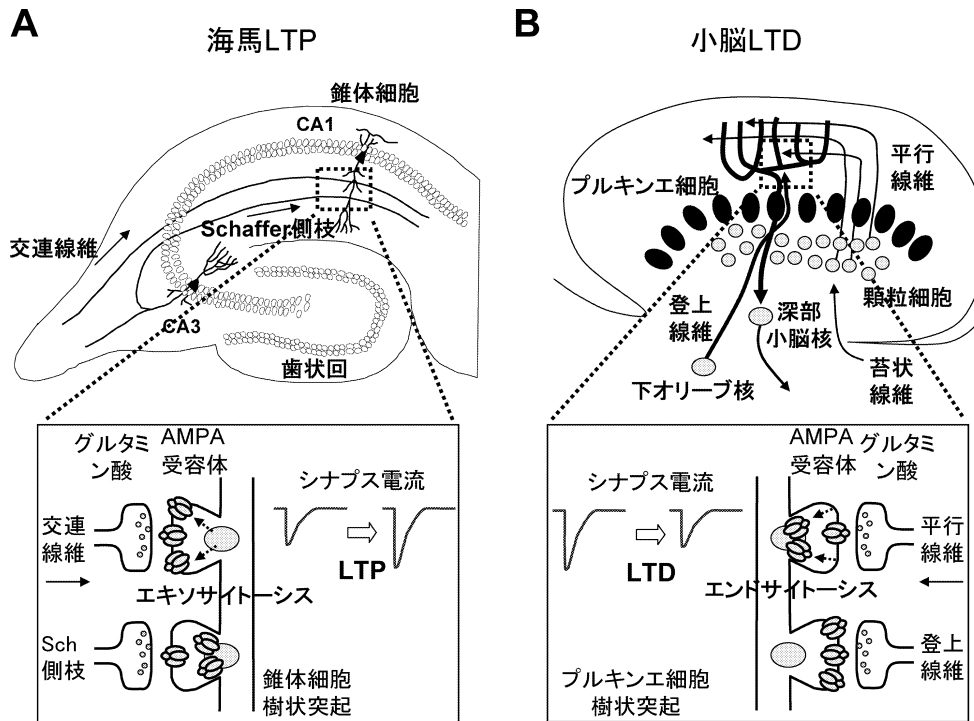


図3 記憶・学習の神経回路レベルでのモデル (A)海馬CA1領域における交連線維-錐体細胞シナプスにおける長期増強 (LTP). (B)小脳平行線維-プルキンエ細胞シナプスにおける長期抑圧 (LTD).

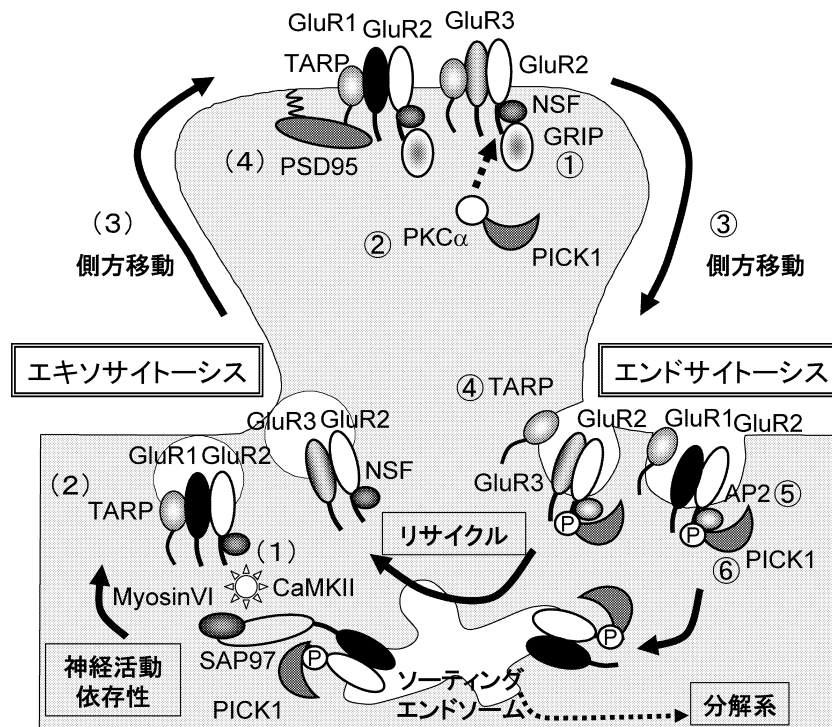


図4 LTPとLTDを支える神経棘におけるGluRの小胞輸送と側方移動 各分子については本文参照.

割についてはRNAiなどを用いた急性ノックダウン法などによる今後の更なる検討が必要であろう。

GluR1サブユニットの発現量が低い幼若期の脳においては、CaMKIIの代わりにプロテインキナーゼA (PKA)が



機能し、GluR1の代わりに、長いC末端を持ったGluR2スプライシングバリエーションやGluR4サブユニットを神経活動依存的に選択的輸送する機構が存在する<sup>40)</sup>。PKAがこれらのサブユニットのシナプス後膜移行を促進する機構についてもよく分かっていない。その他、PI3キナーゼ、プロテインキナーゼC (PKC)、ERK1/2キナーゼも、AMPA受容体のエンドサイトーシスとLTPに重要な役割を果たすことが示されている<sup>35)</sup>。最近PKCは、GluR1やGluR4のC末端膜直下部位をリン酸化することにより、LTPを制御することが示された<sup>41)</sup>。この部位はER脱出シグナルと考えられていた部位と重なる(図1C)。

## 2) サブユニット特異的機構—GluR2とLTD

神経活動に伴ったGluR2サブユニットの選択的エンドサイトーシスが、LTDの成因の一つであると考えられている。AMPA受容体GluR2サブユニットの最C末端にはGRIPとPICK1という2種類のPSDタンパク質が競合的に結合する。この部位にはLTDに伴いリン酸化されるセリン残基S880が存在し、リン酸化を受けるとGluR2とGRIPとの親和性が低下するが、PICK1との親和性は変わらない。したがってAMPA受容体中のGluR2には、通常GRIPが結合して神経棘表面に繫留しているが(図4, ①)、S880のリン酸化(図4, ②)によりGluR2はGRIPより解離し、PICK1が代わりに結合し、GluR2はPICK1の存在するエンドソームに移行する(図4, ⑥)。このようなPICK1-GluR2に主導されたエンドサイトーシスは小脳・海馬など多くの脳部位に共通していると考えられている。海馬においてはAMPA受容体の一部はGRIP-GluR2結合によってエンドソームに繫留されている。したがって、GluR2がGRIPから解離してPICK1へとパートナーを変える機構は、AMPA受容体がエンドソームとシナプス表面との間をリサイクルする過程にも関与している。

GluR2のリン酸化に伴いGRIPが解離した後にPICK1へパートナーをスイッチしていく過程については、最近解明が進みつつある<sup>42,43)</sup>。PICK1はN末端部より、酸性アミノ酸部位、PDZドメイン、BARドメインを持つタンパク質である。N末端の酸性アミノ酸部位にはCaイオンが直接結合し、その結果PDZドメインとGluR2との結合親和性が4-5倍亢進する<sup>44)</sup>。BARドメインは、エンドサイトーシス過程に関連したBin/Amphiphysin/Rvsなどのタンパク質に存在するドメインで、coiled-coil構造により陽性電荷のクラスター部分を持った半月型の二量体を形成する。BARドメインは自分自身のPDZドメインにより立体的にマスクされているが、陰性電荷を持った細胞膜の特に曲面部分に親和性を持つとともに、GRIPにも直接結合できる。まず、PICK1のPDZドメインにPKCが結合するとBARドメインが露出し、PICK1-PKC複合体がGluR2と結合しているGRIPに結合する。その結果GluR2がPKCで

リン酸化されてGRIPが解離すると、PICK1のPDZドメインはGluR2と、BARドメインは脂質と結合する。BARドメインと脂質との結合が、細胞膜の曲率を変化させてエンドサイトーシスを引き起こすか、あるいはすでに陥入している途上のエンドソーム部分の曲がった細胞膜に選択的に結合するというモデルが提唱されている。

GluR2がエンドサイトーシスされる機構の詳細は不明であるが、GluR2のC末端中部にアダプタータンパク質AP2の $\mu$ 2サブユニットが結合することが、クラスリン依存性エンドサイトーシス過程の誘導に関与すると考えられている(図4, ⑤)。しかしGluR2のS880リン酸化を伴うPICK1仮説と、AP2結合との関連は明らかではない<sup>36)</sup>。またGluR1サブユニットにもAP2結合部位が存在するが、この部位がAMPA受容体のエンドサイトーシス過程にどう寄与するかも分かっていない。

## 3) サブユニット特異的機構—NSFとGluR2

LTPにより、GluR1を含むAMPA受容体がシナプスに入り、LTDによりGluR2を含むAMPA受容体を選択的にエンドサイトーシスされるとすると、AMPA受容体サブユニット間に不均衡が生じることになる。実際にはGluR1を含むAMPA受容体は、恒常的再循環過程によって、GluR2や3を主体とするAMPA受容体に置換されていくと考えられている。細胞種によりその速度は異なるが、海馬培養神経細胞では10分間に10-20%のAMPA受容体が置換されている<sup>36)</sup>。恒常的再循環過程には、GluR2のC末端中腹部に結合する、細胞膜との融合に必要な因子であるN-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF)が重要な働きを果たす<sup>36,35)</sup>。GluR2とNSFとの結合を阻害すると、細胞表面全体におけるAMPA受容体の数は変化しないが、神経棘細胞膜表面におけるAMPA受容体の数が減少し、LTDを阻害する。

NSFは神経活動に依存したGluRの小胞輸送にも関与することが近年分かってきた。小脳顆粒細胞-星状細胞間シナプスの神経伝達は、GluR2を含まない、Ca透過性を持ったAMPA受容体によって通常担われている。神経活動が一定期間亢進すると、この部位のシナプスにGluR2が挿入されることによりCa非透過型のAMPA受容体に変化するが、この過程にはNSFが必須である<sup>45)</sup>。また、小脳顆粒細胞-プルキンエ細胞間シナプスにおけるLTDはシナプス後部での現象であるが、LTPがシナプス後部においてどのように起きるのかは長らく謎であった。最近、私たちは、プルキンエ細胞においては、前述のCaMKII-GluR1仮説とは異なり、NSF-GluR2に依存した、新しいLTP機構が存在することを明らかにした<sup>46)</sup>。神経活動が亢進することによって発生した一酸化窒素が、NSFそのものをニトロシル化して活性化することにより、GluR2の細胞表面への輸送が亢進すると考えている。GluR1ノックア



ウトマウスにおいても、海馬依存的学習や LTP が部分的に残っているが<sup>47)</sup>、この機構として、NSF-GluR2 経路を介した LTP が関与しているのかもしれない。NSF は *in vitro* 実験において PICK1-GluR2 結合を遊離させる働きがあることが分かっている。したがって NSF は、GluR2 から PICK1 を引き離すことにより、GluR2 を細胞内エンドソーム部位から遊離させるのであろう (図 4, (1))。また、前述の AP2 結合部位は、NSF 結合部位とオーバーラップしているので、AP2 が結合することにより、GluR2 から NSF が遊離し、PICK1 と結合しやすくするのかもしれない (図 4, (5))。

#### 4) サブユニット非特異的機構—TARP

Stargazer 突然変異マウスでは、小脳顆粒細胞において、神経棘表面の AMPA 受容体が全く存在しない。このマウスの解析を発端として、 $\gamma$ -2,  $\gamma$ -3,  $\gamma$ -4,  $\gamma$ -8 の四つのメンバーからなる、transmembrane AMPA receptor regulatory proteins (TARP) ファミリータンパク質が、AMPA 受容体の小胞輸送に非常に重要な役割を果たすことが解明された<sup>37)</sup>。TARP は、N 末端と C 末端を細胞内に向けた 4 回膜貫通ドメインを持つ膜タンパク質であり、進化系統樹的には Ca チャネル  $\gamma$  サブユニットファミリーに属する。TARP の主要な機能として、①ER からの AMPA 受容体の脱出と細胞表面移行、②神経棘における AMPA 受容体の集積、③AMPA 受容体の開口速度の促進<sup>48)</sup>、がある。これに加えて最近私たちは、④AMPA 受容体の樹状突起への極性輸送過程も TARP により制御されていることを発見した (投稿中)。これらの過程は TARP のそれぞれ異なったドメインにより制御されている。例えば、AMPA 受容体の開口制御には、膜貫通ドメイン 1 と 2 の間の細胞外ドメインが必須である。一方、AMPA 受容体の細胞表面への輸送には、TARP の C 末端部は必要でないが (図 4, (2))、この部位は PSD95 と結合して AMPA 受容体を神経棘に集積させるために必須である (図 4, (4))。TARP の C 末端部には陽性電荷を持った酸性アミノ酸が数多く存在しているので、細胞膜と静電的に引き合っている可能性がある。神経活動が亢進することにより、CaMKII や PKC が活性化されると、TARP の C 末端部に存在する幾つかのセリンやスレオニン残基が順次リン酸化され、そのために C 末端部の陽性電荷が中和され TARP が細胞膜から離れて、シナプス後膜肥厚に存在する PSD95 と会合する。そのために AMPA 受容体-TARP 複合体が神経棘部に集積して LTP が引き起こされるというモデルが想定されている<sup>49)</sup>。また、TARP は神経棘部においては極めて安定して存在するが、AMPA 受容体にグルタミン酸が結合することにより引き起こされる AMPA 受容体のコンフォメーションの変化により、TARP が AMPA 受容体より解離し、そのために AMPA 受容体がエンドサイトーシスされて

LTD が引き起こされるというモデルも提唱されている (図 4, (4))<sup>50)</sup>。ただし、TARP による AMPA 受容体の小胞輸送の制御はいずれも AMPA 受容体のサブユニットに対する特異性が存在しない。したがって海馬 LTP や LTD にみられる GluR1 や GluR2 サブユニットへの特異性を支える分子機構と、TARP に主導されるサブユニット非特異的機構との関係は明らかではない。サブユニット非特異的機構が成立した上で、初めてサブユニット特異的機構が働くのかも知れないし、あるいは神経活動パターンによってそれぞれの機構が使い分けられる可能性もある。

#### 5) 神経棘における GluR の側方拡散

樹状突起や軸索への極性輸送の項で述べたように、記憶・学習が神経棘 (シナプス) 単位で起きるためには、細胞膜表面に配達された GluR の自由拡散が制限される機構が必要である。近年、GluR2 サブユニットの細胞外ドメインに対する抗体を用いた単分子イメージング<sup>51)</sup>や、細胞外ドメインに pH 感受性緑色蛍光タンパク質 (GFP) 分子をつないだ GluR2 とのキメラ分子の挙動<sup>52)</sup>を調べることにより、AMPA 受容体はシナプス外部の細胞膜ではほぼ自由拡散し、神経棘部では拡散速度が約 5 分の 1 になること、GluR2 のうち約半分は 1 時間以上安定して存在すること、それにもかかわらず、シナプス部の GluR2 の残りの半分は 3 分間以内にシナプス外部の GluR2 と混合してしまうことが分かった。さらに、神経活動によって、シナプス部とシナプス外部における GluR2 の拡散速度は 2 倍近く亢進する。この速度は、ER やエンドソームから GluR が細胞表面に移行する速度よりもはるかに速いことから、LTP や LTD などのシナプス可塑性は、シナプス外部から側方拡散してくる GluR により引き起こされる可能性がある。実際に、海馬培養神経細胞においては、GluR1 サブユニットはまずシナプス外部にエキソサイトーシスされ、その後側方拡散によりシナプス部に移行することが示されている<sup>53)</sup>。

神経棘における拡散障害は、シナプス後膜肥厚に存在する GRIP などの足場タンパク質による物理的繫留によると考えられる。しかし、これらのタンパク質に結合しない膜親和型 GFP 分子も神経棘基部において拡散速度が低下する。したがって、軸索初節に存在するような、アクチン骨格が関与した拡散障壁が、神経棘基部にも存在する可能性がある<sup>52)</sup>。神経活動に伴う神経棘の形態変化は数分以内に起きることから<sup>54)</sup>、神経棘の形態変化に伴って、AMPA 受容体の側方拡散も制御される可能性がある。

#### 6) エンドサイトーシスとエキソサイトーシス部位

GluR のエンドサイトーシスやエキソサイトーシスが神経棘付近のどの部位において起きているのかは解決していない。GluR のエンドサイトーシスはクラスリン依存性であるので、神経棘のシナプス後膜肥厚の近傍に存在するク

ラスリン集積部位が恐らくエンドサイトーシス部位に相当すると考えられている<sup>55)</sup>。しかし、GluRのエンドサイトーシス像は形態的には捉えられていない。シナプス前部とは異なり、シナプス後部におけるエンドサイトーシスは頻度的に稀であるからであろう。

極性輸送の項で述べたように、GluRを含む小胞がエキソサイトーシスされ細胞膜と融合するためには、エキソシストやSNARE複合体が必要である。NMDA受容体NR2サブユニットに結合するPDZタンパク質であるSAP102やPSD95はエキソシストSec8と結合する。ラット神経細胞において、PSD95やSAP102とSec8との結合を阻害するとNMDA受容体は細胞表面には移行できるもののシナプス後部には到達できない<sup>56)</sup>。Sec8を阻害するとAMPA受容体もシナプス後部には到達できず、かつSec8が正常でも、exo70を阻害するとAMPA受容体はシナプス後部である神経棘内部には到達するものの細胞表面には輸送されない<sup>57)</sup>。これらのことから、AMPA受容体とNMDA受容体の細胞表面輸送は別々のエキソシストに依存していると考えられる。AMPA受容体の存在する小胞にSec8とexo70が結合することにより、すでにシナプス後部に存在するNMDA受容体-PSD95複合体と結合して、まず神経棘まで輸送され、さらにexo70の働きを受けることによりシナプス後膜に癒合する、というモデルが提唱されている<sup>57)</sup>。

一方、細胞表面に存在するAMPA受容体のみを紫外光照射により急速に阻害する薬剤ANQXを用いることにより、培養神経細胞においてはAMPA受容体のエキソサイトーシスは神経活動に依存せず、細胞体においてのみ起きるという驚くべき報告がなされた<sup>58)</sup>。すなわち、細胞体で細胞表面に移行したAMPA受容体は、主に樹状突起上を側方拡散により神経棘に到達すると考えられることから、側方拡散過程の制御こそがシナプス可塑性の実態となる。この報告は前述のエキソシストの報告とは全く相容れない。in vivoの神経細胞におけるGluR小胞のエキソサイトーシス部位と側方拡散過程の解明が必要であろう。

### 6. 小脳におけるシナプス可塑性とGluR小胞輸送

LTPやLTDはさまざまな脳部位で起きる普遍的な現象である。これまで圧倒的多数の研究は海馬神経細胞をモデルとして行われてきた。LTP・LTDの成立には神経細胞内Ca濃度の上昇が必要であり、細胞内Ca濃度上昇の大きさによりシナプス可塑性の方向が決定される。面白いことにCa濃度上昇が大きいときは海馬ではLTP、小脳ではLTDが起き、Ca濃度上昇が小さいときには海馬ではLTD、小脳ではLTPが起きる(図5A)。また、小脳でも海馬でもLTDはGluR2エンドサイトーシスによるが、関与しているMAPキナーゼやリン酸化酵素は大きく異なる<sup>59)</sup>。またLTPにおいては前述のように、小脳ではGluR2主導、海

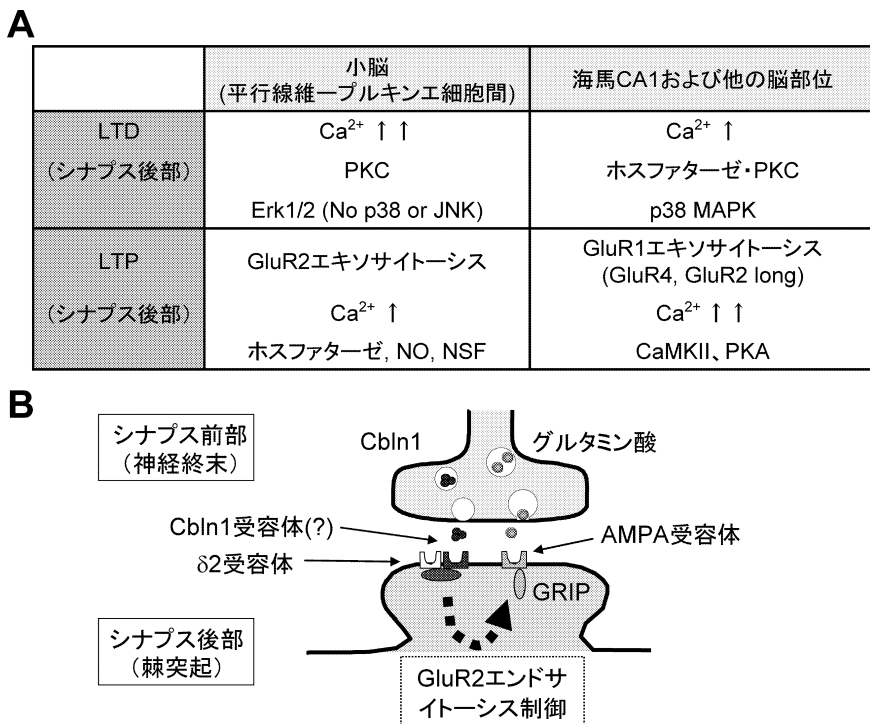


図5 小脳 LTD のユニークな特性

(A) 海馬 CA1 および小脳における LTD と LTP の分子機構の比較。(B) 小脳平行線維-プルキンエ細胞において GluR2 エンドサイトーシスを支える Cbln1 と δ2 受容体。

馬では GluR1 主導で起きる。これまで述べてきたような GluR 小胞輸送に関わる諸分子—GRIP, PICK1, CaMKII などは小脳にも海馬にも共通しているのにもかかわらず、このような違いは一体何が生んでいるのであろうか？

一つの鍵は、成熟したプルキンエ細胞には NR2A-D の何れのサブユニットも発現していないことであろう。活性化型 CaMKII は、シナプス後膜の NR2B サブユニットに結合することにより、シナプス後膜肥厚に集積することが知られているので、NR2 の発現していないプルキンエ細胞では CaMKII を介した GluR1 主導の LTP が起きない可能性がある。同様に、苔状線維—海馬 CA3 錐体細胞シナプス後部においても GluR1 主導の LTP が起きないが<sup>60)</sup>、このシナプスに NMDA 受容体が発現していないことが原因かもしれない。

もう一つの鍵は、プルキンエ細胞に特異的に発現している  $\delta 2$  受容体が握っていると考える<sup>4)</sup>。 $\delta 2$  受容体 null 変異マウスでは、前述のように著明な小脳失調と小脳依存性の学習課題の障害をきたす。これらのマウスでは小脳 LTD も誘導できず、GluR2 のエンドサイトーシスが障害されている。逆に、 $\delta 2$  受容体のリガンド結合予想部位に対する特異的抗体をプルキンエ細胞に投与すると、シナプス後膜の GluR2 サブユニットがエンドサイトーシスされ、シナプス応答が長期間減弱する。この状態は LTD と同じ状態である<sup>61)</sup>。すなわち、 $\delta 2$  受容体は、平行線維—小脳プルキンエ細胞シナプス後膜の GluR2 サブユニットのエンドサイトーシスを制御する (図 5B)。実際にエンドサイトーシスのどの過程に関与するのかわからないが、最近私たちは、 $\delta 2$  受容体の最 C 末端部が必要であり、この部位に結合する PDZ ドメインタンパク質<sup>3)</sup>の中で delphilin 以外のもの (PTPMEG, S-SCAM, PSD-93) が関与していることを見出した (投稿中)。

また、私たちは、Cbln1 遺伝子欠損マウスが  $\delta 2$  受容体 null 変異マウスと酷似した表現型を示すことを発見した (図 5B)<sup>62)</sup>。Cbln1 は腫瘍壊死因子や糖代謝に関与するアディポネクチンと類似したサイトカインであり、小脳顆粒細胞で特異的に合成された後、神経活動に依存して平行線維から放出され、プルキンエ細胞棘突起に結合する。Cbln1 遺伝子欠損マウスでは、平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおける LTD が欠損していることから、Cbln1 はシナプスを越えてシナプス後部における GluR2 のエンドサイトーシス過程を制御する。さらに Cbln1 遺伝子欠損マウスは、 $\delta 2$  受容体 null 変異マウスと同様に、平行線維—プルキンエ細胞シナプスの著明な低形成がみられる。 $\delta 2$  受容体と Cbln1 は神経活動に応じて、分布や放出パターンが変化することから、これらの二つの分子は、LTD のような機能的なシナプス可塑性と同時に、シナプスの構造的な可塑性も制御する可能性がある。

## 7. おわりに

神経細胞において、特に棘突起上における GluR の数と位置が、小胞輸送・側方拡散・分解などの過程によりどのように制御されるのかを解明することは、脳における記憶・学習現象を理解し、さらには認知症に対する治療の糸口を与える可能性がある。本総説で概説したような近年の進展にもかかわらず、この GluR の小胞輸送や側方拡散過程にはまだまだ分からないことが多い。私たちは、小脳をモデルとして、GluR の制御過程の違いを他の脳部位と比較し、また小胞輸送過程に障害を持つさまざまな遺伝子変異動物マウスの解析を通じて、この問題に取り組んでいきたいと考えている。最後に、本総説で紹介した私たちの研究室の仕事に関与した多くの人々や共同研究者の皆様へ厚く感謝の意を表したい。

## 文 献

- 1) Vandenberghe, W. & Brecht, D.S. (2004) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **16**, 134–139.
- 2) Horton, A.C. & Ehlers, M.D. (2003) *Neuron*, **40**, 277–295.
- 3) Yuzaki, M. (2003) *Neurosci. Res.*, **46**, 11–22.
- 4) Yuzaki, M. (2004) *Cerebellum*, **3**, 89–93.
- 5) Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S.F. (1999) *Pharmacol. Rev.*, **51**, 7–61.
- 6) Hirai, H., Miyazaki, T., Kakegawa, W., Matsuda, S., Mishina, M., Watanabe, M., & Yuzaki, M. (2005) *EMBO Rep.*, **6**, 90–95.
- 7) Jaskolski, F., Coussen, F., & Mulle, C. (2005) *Trends Pharmacol. Sci.*, **26**, 20–26.
- 8) Matsuda, S. & Yuzaki, M. (2002) *Eur. J. Neurosci.*, **16**, 1507–1516.
- 9) Wang, Y., Matsuda, S., Drews, V., Torashima, T., Meisler, M. H., & Yuzaki, M. (2003) *Eur. J. Neurosci.*, **17**, 1581–1590.
- 10) Xia, H., von Zastrow, M., & Malenka, R.C. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 47765–47769.
- 11) Matsuda, S., Kamiya, Y., & Yuzaki, M. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 20021–20029.
- 12) Greger, I.H., Khatri, L., & Ziff, E.B. (2002) *Neuron*, **34**, 759–772.
- 13) Matsuda, S., Hannen, R., Matsuda, K., Yamada, N., Tubbs, T., & Yuzaki, M. (2004) *Eur. J. Neurosci.*, **19**, 1683–1690.
- 14) Mu, Y., Otsuka, T., Horton, A.C., Scott, D.B., & Ehlers, M.D. (2003) *Neuron*, **40**, 581–594.
- 15) Mah, S.J., Cornell, E., Mitchell, N.A., & Fleck, M.W. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 2215–2225.
- 16) Grunwald, M.E. & Kaplan, J.M. (2003) *Neuropharmacology*, **45**, 768–776.
- 17) Valluru, L., Xu, J., Zhu, Y., Yan, S., Contractor, A., & Swanson, G.T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 6085–6093.
- 18) Greger, I.H., Akamine, P., Khatri, L., & Ziff, E.B. (2006) *Neuron*, **51**, 85–97.
- 19) Petaja-Repo, U.E., Hogue, M., Bhalla, S., Laperriere, A., Morrello, J.P., & Bouvier, M. (2002) *EMBO J.*, **21**, 1628–1637.
- 20) Morello, J.P., Salahpour, A., Laperriere, A., Bernier, V., Arthus, M.F., Lonergan, M., Petaja-Repo, U., Angers, S., Morin, D.,

- Bichet, D.G., & Bouvier, M. (2000) *J. Clin. Invest.*, **105**, 887–895.
- 21) Yan, F., Lin, C.W., Weisiger, E., Cartier, E.A., Taschenberger, G., & Shyng, S.L. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 11096–11105.
- 22) Arimura, N. & Kaibuchi, K. (2005) *Neuron*, **48**, 881–884.
- 23) Robinson, M.S. (2004) *Trends Cell Biol.*, **14**, 167–174.
- 24) Jareb, M. & Banker, G. (1998) *Neuron*, **20**, 855–867.
- 25) Silverman, M.A., Peck, R., Glover, G., He, C., Carlin, C., & Banker, G. (2005) *Mol. Cell. Neurosci.*, **29**, 173–180.
- 26) Mitsui, S., Saito, M., Hayashi, K., Mori, K., & Yoshihara, Y. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 1122–1131.
- 27) Ruberti, F. & Dotti, C.G. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, RC78.
- 28) Ehlers, M.D. (2000) *Neuron*, **28**, 511–525.
- 29) Chang, S. & De Camilli, P. (2001) *Nat. Neurosci.*, **4**, 787–793.
- 30) Takago, H., Nakamura, Y., & Takahashi, T. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 7368–7373.
- 31) Murthy, M., Garza, D., Scheller, R.H., & Schwarz, T.L. (2003) *Neuron*, **37**, 433–447.
- 32) Mehta, S.Q., Hiesinger, P.R., Beronja, S., Zhai, R.G., Schulze, K.L., Verstreken, P., Cao, Y., Zhou, Y., Tepass, U., Crair, M. C., & Bellen, H.J. (2005) *Neuron*, **46**, 219–232.
- 33) Winckler, B., Forscher, P., & Mellman, I. (1999) *Nature*, **397**, 698–701.
- 34) Nakada, C., Ritchie, K., Oba, Y., Nakamura, M., Hotta, Y., Iino, R., Kasai, R. S., Yamaguchi, K., Fujiwara, T., & Kusumi, A. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 626–632.
- 35) Collingridge, G.L., Isaac, J.T., & Wang, Y.T. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 952–962.
- 36) Sheng, M. & Hyoungh Lee, S. (2003) *Neurosci. Res.*, **46**, 127–134.
- 37) Nicoll, R.A., Tomita, S., & Brecht, D.S. (2006) *Science*, **311**, 1253–1256.
- 38) Groc, L. & Choquet, D. (2006) *Cell Tissue Res.*, **326**, 423–438.
- 39) Klocker, N., Bunn, R.C., Schnell, E., Caruana, G., Bernstein, A., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2002) *Eur. J. Neurosci.*, **16**, 1517–1522.
- 40) Jensen, V., Kaiser, K.M., Borchardt, T., Adelman, G., Rozov, A., Burnashev, N., Brix, C., Frotscher, M., Andersen, P., Hvalby, O., Sakmann, B., Seeburg, P.H., & Sprengel, R. (2003) *J. Physiol.*, **553**, 843–856.
- 41) Boehm, J., Kang, M.G., Johnson, R.C., Esteban, J., Huganir, R. L., & Malinow, R. (2006) *Neuron*, **51**, 213–225.
- 42) Lu, W. & Ziff, E.B. (2005) *Neuron*, **47**, 407–421.
- 43) Steinberg, J.P., Takamiya, K., Shen, Y., Xia, J., Rubio, M.E., Yu, S., Jin, W., Thomas, G.M., Linden, D.J., & Huganir, R.L. (2006) *Neuron*, **49**, 845–860.
- 44) Hanley, J.G. & Henley, J.M. (2005) *EMBO J.*, **24**, 3266–3278.
- 45) Gardner, S.M., Takamiya, K., Xia, J., Suh, J.G., Johnson, R., Yu, S., & Huganir, R.L. (2005) *Neuron*, **45**, 903–915.
- 46) Kakegawa, W. & Yuzaki, M. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 17846–17851.
- 47) Hoffman, D.A., Sprengel, R., & Sakmann, B. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 7740–7745.
- 48) Tomita, S., Adesnik, H., Sekiguchi, M., Zhang, W., Wada, K., Howe, J.R., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2005) *Nature*, **435**, 1052–1058.
- 49) Tomita, S., Stein, V., Stocker, T.J., Nicoll, R.A., & Brecht, D.S. (2005) *Neuron*, **45**, 269–277.
- 50) Tomita, S., Fukata, M., Nicoll, R.A., & Brecht, D. S. (2004) *Science*, **303**, 1508–1511.
- 51) Tardin, C., Cognet, L., Bats, C., Lounis, B., & Choquet, D. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4656–4665.
- 52) Ashby, M.C., Maier, S.R., Nishimune, A., & Henley, J.M. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 7046–7055.
- 53) Passafaro, M., Piech, V., & Sheng, M. (2001) *Nat. Neurosci.*, **4**, 917–926.
- 54) Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C., & Kasai, H. (2004) *Nature*, **429**, 761–766.
- 55) Blanpied, T.A., Scott, D.B., & Ehlers, M.D. (2002) *Neuron*, **36**, 435–449.
- 56) Sans, N., Prybylowski, K., Petralia, R.S., Chang, K., Wang, Y. X., Racca, C., Vicini, S., & Wenthold, R.J. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 520–530.
- 57) Gerges, N.Z., Backos, D.S., Rupasinghe, C.N., Spaller, M.R., & Esteban, J.A. (2006) *EMBO J.*, **25**, 1623–1634.
- 58) Adesnik, H., Nicoll, R.A., & England, P.M. (2005) *Neuron*, **48**, 977–985.
- 59) Ito-Ishida, A., Kakegawa, W., & Yuzaki, M. (2006) *Eur. J. Neurosci.*, **24**, 1617–1622.
- 60) Kakegawa, W., Tsuzuki, K., Yoshida, Y., Kameyama, K., & Ozawa, S. (2004) *Eur. J. Neurosci.*, **20**, 101–110.
- 61) Hirai, H., Launey, T., Mikawa, S., Torashima, T., Yanagihara, D., Kasaura, T., Miyamoto, A., & Yuzaki, M. (2003) *Nat. Neurosci.*, **6**, 869–876.
- 62) Hirai, H., Pang, Z., Bao, D., Miyazaki, T., Li, L., Miura, E., Parris, J., Rong, Y., Watanabe, M., Yuzaki, M., & Morgan, J.I. (2005) *Nat. Neurosci.*, **8**, 1534–1541.