

令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06514

研究課題名(和文) 軸索による高速ネットワーク律動の発振メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of high-frequency network oscillation by axon

研究代表者

神谷 温之 (Kamiya, Haruyuki)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：10194979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高速ネットワーク律動の発振の細胞メカニズムについて、とくに遠位軸索での異所性バースト発火の発振に關与する可能性について、申請者らが開発した軸索サブセルラー記録、ケージ解除による光操作や、数理モデルを用いたシミュレーションにより検討した。カリウムチャンネル阻害剤4-アミノピリジンによる海馬苔状線維軸索の発振が、生理的な活動電位発生部位である近位軸索ではなく、遠位軸索でのカリウムチャンネル阻害が異所性バーストを引き起こすと考えられた。この遠位軸索の限局的な興奮性上昇による発振には細胞体からの活動電位の伝播が必要であったが、メカニズムの詳細についてはさらなる検討が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な脳の生理機能や、てんかんなどの脳の病態に關与する周期的で同期的な神経活動である高速ネットワーク律動の発生機構のうち、バースト発火を駆動する発振のメカニズムに關しては不明な点が多い。本研究ではサブセルラーパッチクランプにより軸索活動を直接記録し、ケージ解除やシミュレーションを組み合わせることで、遠位軸索でのカリウムチャンネル阻害による異所性バースト発火の発振メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, cellular mechanisms underlying high-frequency network oscillation were examined using subcellular recordings from the axon terminal, uncaging of a photoreactive compound, and a numerical simulation approach. Application of 4-aminopyridine, a blocker of voltage-dependent potassium channels, elicited robust burst firings of hippocampal mossy fibers originated from the distal axon, not from the physiological spike initiation site of the proximal axon. The triggering of ectopic burst required propagating action potentials from the soma. The detailed mechanisms for the ectopic oscillation remained to be elucidated.

研究分野：神経生理学

キーワード：軸索 海馬 サブセルラー記録

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脳の神経回路では、単一の神経細胞の発火が神経情報を担うのではなく、細胞集団が様々な時間的・空間的なパターンで発火することで神経情報を符号化する。記憶、知覚、注意、運動などの様々な脳機能の発現には、周期的で同期的な神経活動であるネットワーク律動(オシレーション)が関与する。ネットワーク律動の発生機構について、(1)ネットワーク律動を駆動(トリガー)する発振、(2)律動波の周期を規定するリズム形成、(3)細胞集団の神経活動の同期化、のメカニズムを理解することが重要と考えられる。このうち、(2)のリズム形成には興奮性および抑制性ニューロンの反回性回路によるフィードバックループが関与し、律動波のリズム(周波数帯域)を規定している。また(3)の同期化には近隣の神経細胞同士をつなぐギャップ結合が関与する可能性が示されている。しかしながら、ネットワーク律動のトリガーとなる(1)発振のメカニズムについては、これまで不明な点が多かった。

### 2. 研究の目的

海馬で見られる高速ネットワーク律動は空間記憶の記録や想起に関与すると考えられている。本研究では、高速ネットワーク律動の発振のメカニズムとして、遠位軸索で異所性バースト発火が生じ軸索の発振を引き起こす可能性に焦点をあて、申請者が開発した軸索サブセルラー記録とシミュレーションにより直接的に検証することを目的とする。本研究の最大の特色は、脳内で最も詳細な形態学および電気生理学的な知見が集積する軸索の一つである海馬苔状線維をモデルとして、これまで困難であった中枢神経系の軸索終末から電気生理学的な記録を行い、未踏領域である中枢軸索の興奮性の制御様式を直接的に検討する点である。さらに数理モデルを用いたシミュレーションで異所性バースト発火の発振を再現する定量的なモデルを構築し、高速ネットワーク律動のメカニズムに関して、軸索の生理学的研究と神経回路レベルでの研究をつなぐ理解を得ることを目的とする。

### 3. 研究の方法

マウスの海馬スライス標本を用いて、例外的に大型の軸索終末を有する海馬苔状線維からサブセルラーパッチクランプ法により電気生理学的に直接記録を行う。軸索で異所性バースト発火が発生する可能性を検証するために、薬剤の局所灌流法、ケージ解除による光操作や、スライスの部分切断による細胞体と軸索の分離などの手法を組み合わせた多角的な電気生理学的解析を行う。さらに、軸索の数理モデルを用いたシミュレーションによる検討を行う。海馬苔状線維ではその形態的な特徴と、直接記録によるイオンチャンネル特性を加味した詳細な数理モデルが提唱されている。このリアルな苔状線維モデルにおいて、シミュレーションにより遠位軸索由来のバースト発振が生じる可能性について検証する。

### 4. 研究成果

#### (1) カリウムチャンネル阻害薬の局所投与による軸索のバースト発火

海馬スライスに電位依存性カリウムチャンネル阻害薬である4アミノピリジン(4-AP)を投与すると強固なバースト発火を生じることが知られている。苔状線維終末に発現する電位依存性カリウムチャンネルは4-APにより抑制され、軸索を伝播する活動電位の再分極相を遷延化することが報告されていることから、4-APによるバースト発火が軸索の電位依存性カリウムチャンネルの阻害により生じる可能性が想定される。この可能性を直接的に検討するために、局所灌流法により海馬苔状線維の軸索の走行するCA3野透明層に4-APを投与し、同じ部位から単一軸索終末サブセルラー記録により軸索スパイクを記録し、バースト発火が誘発されるかを検討した。活動電位の再分極相を遷延化する100  $\mu\text{M}$ の4-APを局所灌流により投与すると強固なバースト発火が生じた。苔状線維の遠位軸索からバースト発火の発振が生じる可能性が示唆された。

#### (2) ケージ解除を用いたカリウムチャンネル阻害による軸索のバースト発火

スライス標本に局所灌流を適用する方法は薬物の到達範囲を限定することが困難である。そこで、上記の4-APの効果の作用部位を特定する目的で、可視領域の青色光でケージ解除される4-APのケージド化合物であるRubi-4-APの局所灌流投与と青色光の局所照射による光分解により、海馬苔状線維軸索の走行するCA3野透明層に限局的に4-APを作用させると、同じ部位の苔状線維軸索終末からバースト発火が記録された。4-APの局所投与による上記の実験と同様に、苔状線維の遠位軸索からバースト発火が発振する可能性が指示された。

#### (3) 細胞体と軸索の切断によるバースト発火の消失

遠位軸索への4-APの局所投与およびケージド化合物Rubi-4-APの光分解による海馬苔状線維軸索の発振が、生理的な活動電位発生部位である近位軸索ではなく、遠位軸索で異所性バーストを引き起こす可能性を確認するために、細胞体の存在する歯状回と軸索の走行するCA3野を切

断して検討を進めた。歯状回を CA3 野から切断して分離した標本では CA3 野の遠位軸索部に 4AP を局所投与してもバースト発火は発生しなかった。このとき、軸索終末から記録される低頻度の自発発火はほぼ消失した。これらの結果から、4-AP の局所投与により生じるバースト発火は、CA3 野の遠位軸索から異所性に発振するが、この発振を引き起こすには歯状回からの順行性活動電位の伝播が必要と考えられた。

#### (4) 軸索のカリウムチャンネル阻害による異所性バースト発振のシミュレーション

海馬スライス標本での実験で得られた遠位軸索における局所的なカリウムチャンネル阻害が軸索由来の異所性バーストの発振を起こす可能性について、苔状線維の数理モデルを用いたシミュレーションによる検討をすすめた。苔状線維ではその形態的な特徴と、直接記録により得られたイオンチャンネル特性を加味した、詳細な軸索興奮性の数理モデルが提唱されている。このリアルな苔状線維モデルにおいて、シミュレーションにより遠位軸索由来のバースト発振の可能性を検証した。苔状線維モデルの遠位軸索からカリウムコンダクタンスを除去すると、細胞体から伝播する活動電位の再分極層の遷延化がおこり、これが引き金となって遠位軸索由来のバースト発火を生じることがシミュレーションにより再現された。これらの結果から、4AP の局所投与により生じるバースト発火は CA3 野の遠位軸索から異所性に発振するが、その発生には歯状回からの順行性活動電位の伝播が必要であると推定された。遠位軸索の限局的な興奮性上昇がネットワークレベルでの発振を生じるメカニズムについてはさらなる検討が必要と考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kamiya Haruyuki、Debanne Dominique	4. 巻 14
2. 論文標題 Editorial: Axon Neurobiology: Fine-Scale Dynamics of Microstructure and Function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 594361
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2020.594361	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kamiya Haruyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Modeling Analysis of Axonal After Potential at Hippocampal Mossy Fibers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2019.00210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kamiya Haruyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Excitability Tuning of Axons by Afterdepolarization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2019.00407	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohura Shunsuke、Kamiya Haruyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Short-Term Depression of Axonal Spikes at the Mouse Hippocampal Mossy Fibers and Sodium Channel-Dependent Modulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0415-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/ENEURO.0415-17.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohura Shunsuke, Kamiya Haruyuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Sodium Channel-Dependent and -Independent Mechanisms Underlying Axonal Afterdepolarization at Mouse Hippocampal Mossy Fibers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0254-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0254-18.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 HASEGAWA Kan, KAMIYA Haruyuki, MORIMOTO Yuji	4. 巻 39
2. 論文標題 Sevoflurane inhibits presynaptic calcium influx without affecting presynaptic action potentials in hippocampal CA1 region	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 223 ~ 230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.39.223	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 閾値下シナプス応答が海馬苔状線維終末へのカルシウム流入に与える影響に関するシミュレーション解析
3. 学会等名 日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruyuki Kamiya
2. 発表標題 Modeling of axonal afterdepolarization at hippocampal mossy fibers
3. 学会等名 Axons 2021: Structure and Function (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruyuki Kamiya
2. 発表標題 Simulation analysis of subthreshold voltage signaling along hippocampal mossy fibers
3. 学会等名 Neuroscience 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruyuki Kamiya
2. 発表標題 Modeling subthreshold voltage signaling along axon in the hippocampus
3. 学会等名 The 10th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 計算論的アプローチによる軸索の閾値下シグナルの解析
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 軸索のカリウムチャンネル阻害による海馬苔状線維のバースト発火
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 海馬苔状線維における軸索K+チャンネル阻害による異所性バーストのシミュレーション解析
3. 学会等名 日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruyuki Kamiya
2. 発表標題 Dynamic tuning of axonal excitability in the hippocampus
3. 学会等名 The 9th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Haruyuki Kamiya
2. 発表標題 An experimental test for the ectopic origin of the 4-AP-induced burst of hippocampal mossy fibers
3. 学会等名 Global Connectome (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 単一軸索における伝播と発振のサブセルラー解析
3. 学会等名 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回 日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Dynamic control of axon excitability in the hippocampus
3. 学会等名 IRFBMS 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 海馬苔状線維軸索における活動電位後脱分極のシミュレーション解析
3. 学会等名 日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Evaluating the contribution of passive propagation on axonal afterdepolarization using hippocampal mossy fiber model
3. 学会等名 Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Distal axon as a potential oscillator for network activities in the hippocampus
3. 学会等名 The 8th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 神谷温之
2. 発表標題 軸索スパイクの計算論的神経生物学
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会（紙上開催）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大浦峻介、神谷温之
2. 発表標題 海馬苔状線維におけるナトリウムチャンネル依存的な軸索スパイクの短期抑圧
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大浦峻介、神谷温之
2. 発表標題 海馬苔状線維における後脱分極の発生機構への電位依存性ナトリウムチャンネルの関与
3. 学会等名 第98回日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Burst firing of hippocampal mossy fibers by local blockade of axonal potassium channels
3. 学会等名 Neuroscience 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Temporal integration of axonal spike signaling in the hippocampus
3. 学会等名 The 7th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ohura S, Kamiya H
2. 発表標題 Sodium channel-independent components of axonal afterdepolarization in hippocampal mossy fibers
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamiya H
2. 発表標題 Dynamic control of spike signaling by axonal afterdepolarization
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kamiya Haruyuki、Debanne Dominique	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Frontiers Media SA	5. 総ページ数 270
3. 書名 Axon Neurobiology: Fine-Scale Dynamics of Microstructure and Function	

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道大学大学院医学研究院神経生物学教室ホームページ  
<https://sites.google.com/view/axon-neurobiology/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
フランス	INSERM		