

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23700399

研究課題名（和文） グリア細胞活動が大脳皮質可塑性に果たす役割を *in vivo* で解明する研究課題名（英文） Investigation of astrocytic involvement in the cortical plasticity *in vivo*

研究代表者

高田 則雄 (TAKATA NORIO)

慶應義塾大学・医学部・特任講師

研究者番号：50415212

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では、シナプス可塑性にグリア細胞が関与しているかどうかを、生きているマウスで検証することを目的とした。その結果以下を見つけた：大脳皮質にて可塑性誘導時にグリア細胞がカルシウム活動を示すこと；この活動に伴って細胞外 D-セリン濃度が上昇すること；このグリア活動を抑制すると可塑性が消失すること；この活動を抑制しても脳血流応答には影響が無いこと。以上の結果から、グリア細胞のカルシウム活動がシナプス可塑性に大切であると結論した。

研究成果の概要（英文）：

Glial involvement in synaptic plasticity *in vivo* was investigated. Major findings are followings: astrocytes showed calcium activity upon the induction of cortical plasticity; extracellular D-serine concentration increased accompanying the glial activities; the cortical plasticity could not be induced in a transgenic mouse whose astrocytes lack calcium activities; blood flow responses accompanying the astrocytic activities were similar between wild type and transgenic mouse. Based on these results, we concluded the importance of astrocytic calcium activities in the induction of the cortical plasticity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：グリア細胞、アストロサイト、*in vivo*、脳血流、大脳皮質、マウス、マイネルト基底核、ヒゲ

## 1. 研究開始当初の背景

グリア細胞は神経細胞と相互作用して脳神経系の情報処理に関与する可能性が提唱されている[1]。実際、2010年のNature誌において、シナプス長期増強(LTP)を引き起こすには、グリア細胞の活動(細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇)が必要不可欠だと報告された[2]。ただし、二ヶ月後のScience誌において、グリア細胞活動はLTPに全く関係ないという、正反対の結果が報告された[3]。これらの研究

は*in vitro*系(海馬スライス)を用いていたため、上述の知見が*in vivo*系(生きたままの動物)でも当てはまるか不明である。なぜならば、*in vitro*では神経繊維の多数が切断されていて神経回路活動が消失しているだけでなく、脳スライス作成時の損傷によってグリア細胞が炎症反応を起こしているために、*in vivo*とは異なる活動をグリア細胞が示す可能性があるからである。当時、グリア細胞とLTPとの関係を*in vivo*において検証した報告は皆無であった。また、LTPは神経細

胞だけが担っていると一般的に考えられていた[4]。そのため、グリア細胞が LTP に関与しているかどうかを *in vivo* で検証することは、脳の動作原理についての考え方に一石を投じる重要な未解決問題であった。

#### 参考文献

- [1] Perea G et al. (2009) Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. **Trends Neurosci.** 32(8):421-431.
- [2] Henneberger C et al. (2010) Long-term potentiation depends on release of D-serine from astrocytes. **Nature.** 463(7278):232-236.
- [3] Agulhon C et al. (2010) Hippocampal short- and long-term plasticity are not modulated by astrocyte  $Ca^{2+}$  signaling. **Science.** 327(5970):1250-1254.
- [4] Kandel E et al. (2000) Principles of Neural Science 4th Ed. McGraw-Hill Medical.

## 2. 研究の目的

「記憶と学習におけるグリア細胞活動の役割を解明すること」を目指して研究に取り組んだ。本研究課題では、生きているマウスを用いて、大脳皮質シナプス可塑性を誘導した時にグリア細胞が活動しているのかどうかを検証し、活動している場合にはその活動がシナプス可塑性と関係しているのかどうか検証した。そのうえで、グリア細胞がシナプス可塑性に関与する分子機構の解明に取り組んだ。また、シナプス可塑性誘導に関連して、グリア細胞のカルシウム活動が欠落したマウスを用いて脳血流応答を野生型マウスと比較した。

## 3. 研究の方法

本研究では以下の計測を行って、グリア細胞活動と大脳皮質可塑性との関係を麻酔下マウスを用いて検証した。

- (1) 大脳皮質可塑性に伴うグリア細胞活動の2光子顕微鏡観察
- (2) 可塑性誘導時の大脳皮質細胞外における生体分子動態の検出を目的とした *in vivo* 微小透析法
- (3) グリア細胞活動と脳血流応答計測のためのレーザードップラー計測

## 4. 研究成果

- (1) マウスのヒゲとマイネルト基底核とを同時に繰り返し刺激することで、麻酔下マウスの大脳皮質においてシナプス可塑性を誘導する方法を確立した (図1)

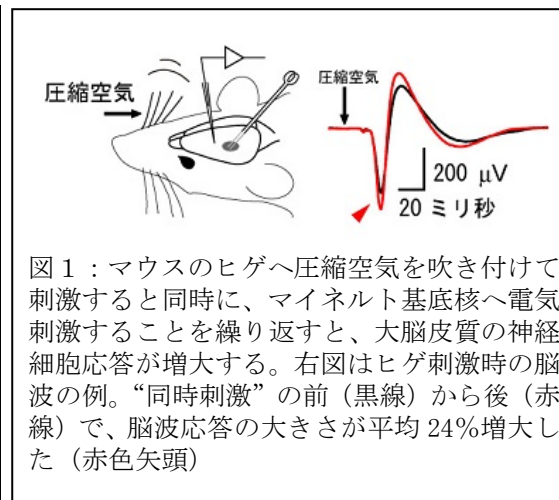


図1：マウスのヒゲへ圧縮空気を吹き付けて刺激すると同時に、マイネルト基底核へ電気刺激することを繰り返すと、大脳皮質の神経細胞応答が増大する。右図はヒゲ刺激時の脳波の例。“同時刺激”の前(黒線)から後(赤線)で、脳波応答の大きさが平均24%増大した(赤色矢頭)

- (2) シナプス可塑性誘導時にグリア細胞が顕著なカルシウム応答を示すことを見つけた (図2)

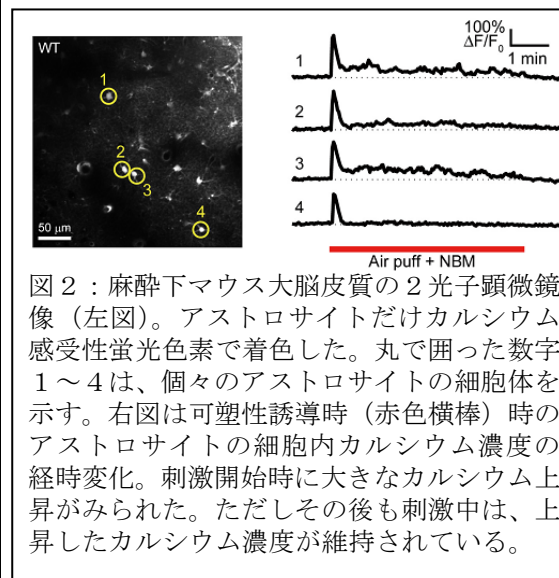


図2：麻酔下マウス大脳皮質の2光子顕微鏡像(左図)。アストロサイトだけカルシウム感受性蛍光色素で着色した。丸で囲った数字1~4は、個々のアストロサイトの細胞体を示す。右図は可塑性誘導時(赤色横棒)時のアストロサイトの細胞内カルシウム濃度の経時変化。刺激開始時に大きなカルシウム上昇がみられた。ただしその後も刺激中は、上昇したカルシウム濃度が維持されている。

- (3) カルシウム上昇に伴って、大脳皮質細胞外のD-セリン濃度が増加することを見つけた (図3)

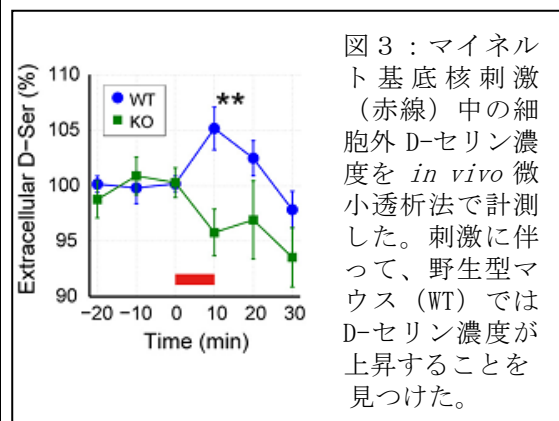
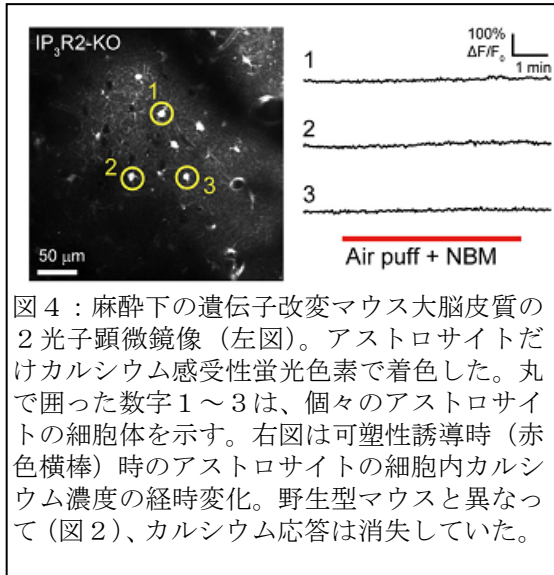
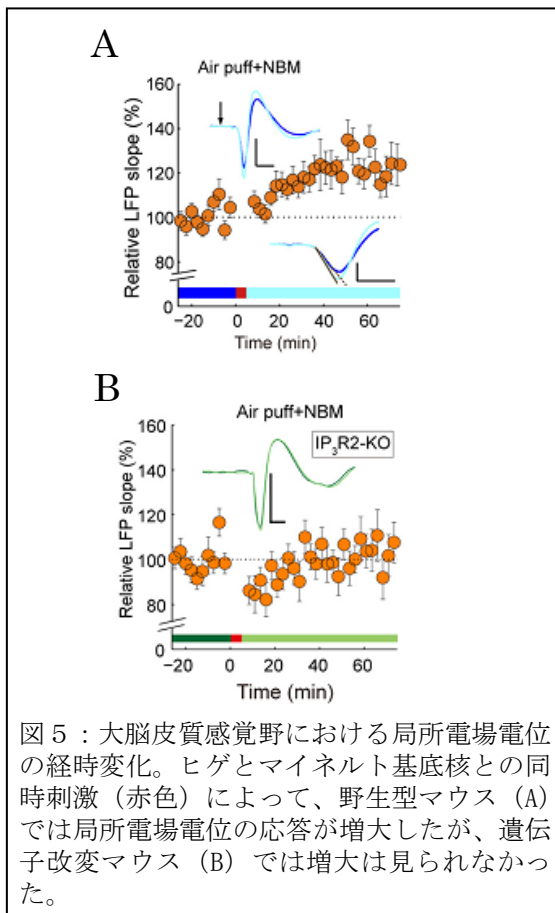


図3：マイネルト基底核刺激(赤線)中の細胞外D-セリン濃度を *in vivo* 微小透析法で計測した。刺激に伴って、野生型マウス(WT)ではD-セリン濃度が上昇することを見つけた。

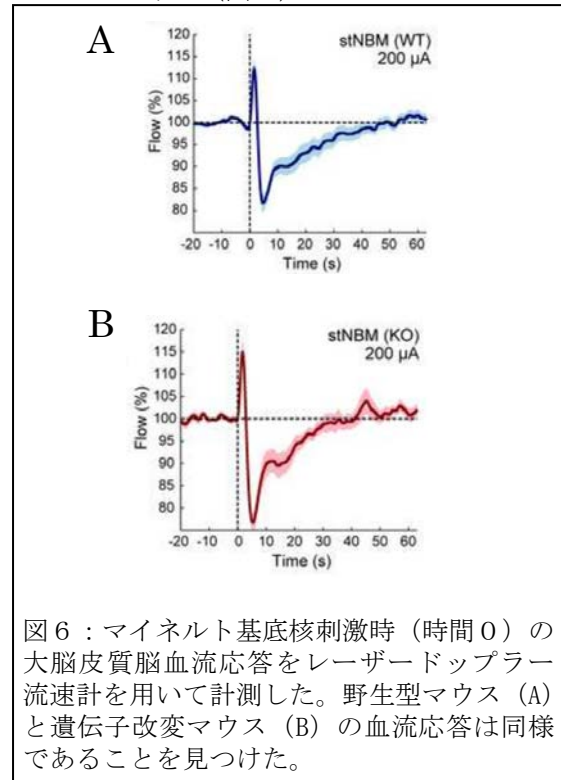
- (4) アストロサイト特異的に発言しているとされる IP<sub>3</sub>R2 受容体を欠損した遺伝子改変マウスでは、同時刺激時のアストロサイトのカルシウム上昇が無いことを確認した (図4)



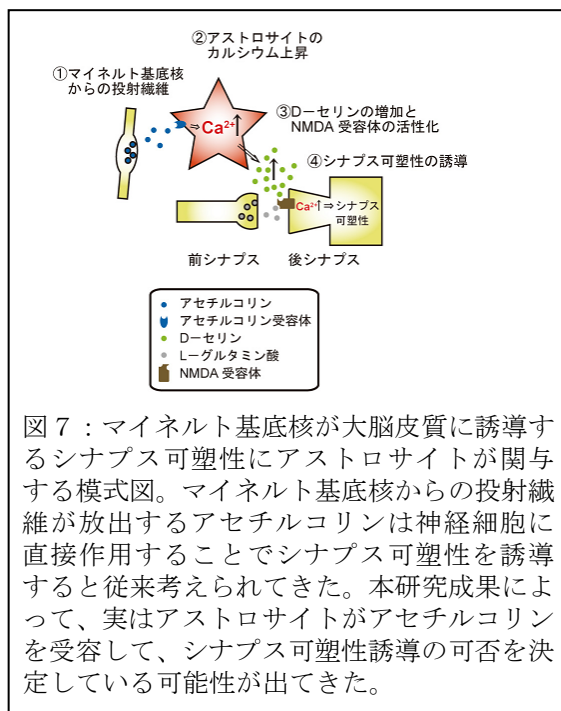
- (5) 遺伝子改変マウスではシナプス可塑性が生じないことを見つけた (図5)



- (6) マイネルト基底核刺激時の大脳皮質血流応答は、野生型マウスと遺伝子改変マウスとで同様であることを見つけた (図6)



以上の結果から、マイネルト基底核が大脳皮質に誘導するシナプス可塑性において、グリア細胞のカルシウム活動が重要であると結論した。この結論から、図7のモデルを提唱した。従来はグリア細胞の関与は想定されていなかった。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Takata N, Nagai T, Ozawa K, Oe Y, Mikoshiba K, Hirase H (2013) Cerebral blood flow modulation by basal forebrain or whisker stimulation can occur independent of large cytosolic Ca<sup>2+</sup> signaling in astrocytes. **PLoS ONE** (in press) 査読あり
- ② Takata N, Mishima T, Hisatsune C, Nagai T, Ebisui E, Mikoshiba K, Hirase H (2011) Astrocyte calcium signaling transforms cholinergic modulation to cortical plasticity *in vivo*. **J Neurosci** 31(49) 18155-18165. 査読あり

[学会発表] (計9件)

- ① 高田則雄、永井てるみ、小澤克也、御子柴克彦、平瀬肇 (2013) 前脳基底部刺激および感覚刺激はアストロサイトCa<sup>2+</sup>シグナルとは独立に脳血流変化を起こす. 第36回日本神経科学会(京都6月21日)
- ② 吉田慶多朗、徐明、田中謙二、三村將、高田則雄 (2013) 光遺伝学を用いたチャネルロドプシン発現アストロサイトの活性化は神経細胞を発火させる. 第90回日本生理学会(船橋3月29日)
- ③ 高田則雄 (2012) Astrocytes transform cholinergic modulation to cortical plasticity *in vivo*. 新学術領域・包括脳・第1回若手研究者による国際シンポジウム(京都11月17日)
- ④ 吉田慶多朗、高田則雄、松井広、山中章弘、田中謙二 (2012) KENGE-tetによる光操作可能なマウスレパートリー. 第4回光操作研究会(岡崎9月27日)
- ⑤ 高田則雄、小牧裕司、疋島啓吾、田中謙二(2012) 光遺伝学とマウスfMRIとを組み合わせた脳の広域的回路活動の解明. 第4回光操作研究会(岡崎9月27日)
- ⑥ 高田則雄(2012) Astrocyte Ca<sup>2+</sup> activity transforms cholinergic modulation to cortical plasticity *in vivo*. 第34回日本神経科学会(京都9月18日)
- ⑦ Takata N, Matsui K, Mimura M, Tanaka KF (2012) ChR2-induced astrocytic depolarization augments neuronal

activities *in vivo*. 4th APRU-BMAP (三田8月29日)

- ⑧ 高田則雄 (2012) アストロサイトのCa<sup>2+</sup>活動を介してマイネルト基底核は大脳皮質可塑性を誘導する. 第117回日本解剖学会(甲府3月27日)
- ⑨ 高田則雄、三嶋恒子、久恒智博、永井てるみ、戎井悦子、御子柴克彦、平瀬肇 (2011) アストロサイトのカルシウム活動を介してコリン性調節は大脳皮質可塑性を誘導する. 第33回日本神経科学会(横浜9月16日)

[その他]

ホームページ情報

プレスリリース

<http://www2.riken.jp/r-world/info/rel ease/press/2011/111207/index.html>

60秒でわかるプレスリリース

<http://www.riken.jp/pr/press/2011/20111207/digest/>

報道発表資料

<http://www.riken.jp/pr/press/2011/20111207/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 則雄 (TAKATA NORIO)  
慶應義塾大学・医学部・特任講師  
研究者番号: 50415212

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

平瀬 肇 (HIRASE HAJIME)  
独立行政法人理化学研究所・神経グリア回路研究チーム・チームリーダー  
研究者番号: 90392084

矢作和子 (YAHAGI KAZUKO)  
独立行政法人理化学研究所・神経グリア回路研究チーム・技術員  
研究者番号無し