

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2023

課題番号：17K17615

研究課題名（和文）細胞外イオン濃度変化を介したニューロン-グリア相互作用の解析

研究課題名（英文）Analysis of neuro-glial interactions via extracellular ion signals

研究代表者

後藤 純一（Goto, Jun-Ichi）

山形大学・医学部・助教

研究者番号：70435650

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：細胞外イオン濃度とシナプス可塑性の同時計測で予備的なデータを得たものの、高精度での記録が困難であった為、当初計画を一部変更し研究成果を論文発表した。

当該論文ではIP3受容体シグナルの下流に位置するIRBITのKOマウスを用いて海馬シナプスの脱増強現象・及びLTP抑制現象を調べた。IRBIT KOマウスでもIP3受容体KOマウスと同様に脱増強・及びLTP抑制の両方が阻害されることを明らかにした。一方でIP3受容体KOマウスでは亢進していたshort tetanus LTPに関してはIRBIT KOマウスでは変化が認められず、IP3受容体下流の別の経路が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は記憶・学習における神経系の基盤であるシナプス可塑性とカルシウムシグナル及びIP3シグナルがどのように関連するか的一端を明らかにしたものである。カルシウムシグナルが記憶・学習に果たす役割については広範で詳細な研究がなされているが、それに比べるとIP3シグナルの果たす役割についての理解は限定的である。本研究では特にIP3シグナルが従来型のカルシウムシグナルに非依存的にシナプス可塑性を制御していることを明らかにしており、記憶・学習の細胞基盤の多様性について新たな知見を提供するものである。

研究成果の概要（英文）：Although preliminary data were obtained from simultaneous measurements of extracellular ion concentrations and synaptic plasticity, it was difficult to record the data with high precision. Thus we changed the original plan and published the related research results.

We examined depotentiation and LTP inhibition of hippocampal synapses in IRBIT KO mice, which are downstream of IP3 receptor signaling, and found that both depotentiation and LTP inhibition were inhibited in IRBIT KO mice, that was the same as in IP3 receptor KO mice. On the other hand, short tetanus LTP, which was enhanced in IP3 receptor KO mice, was not changed in IRBIT KO mice, suggesting that another pathway downstream of the IP3 receptor is involved.

研究分野：神経生理学

キーワード：シナプス可塑性 イノシトール三リン酸 カルシウムシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

げっ歯類の海馬急性スライスを用いた研究から神経細胞の細胞膜の電氣的な興奮とそれによって引き起こされる細胞内カルシウム濃度上昇がシナプス可塑性の誘導に重要な役割を果たしていることは以前からよく知られていた。一方で細胞内外の各種のイオン濃度はそれ自体が細胞の膜電位を制御する因子ではあるが、蛍光指示薬や蛍光タンパク質を細胞内に導入する手法が比較的良好に用いられてきた細胞内イオン濃度計測と比べると、細胞外イオン濃度の計測は不明な部分が多かった。しかしながら神経細胞の電氣的活動と細胞外の各種イオン濃度は相互に影響しあう関係にあり、また神経細胞の活動自体が細胞外環境のイオン濃度を変化させる。アストロサイトは神経細胞が細胞外に排出したカリウムイオンを回収することで細胞外イオン環境の恒常性維持に寄与しているが、細胞外イオン濃度を積極的に変化させて神経細胞やグリア細胞の機能を制御している事例やその分子機構は殆ど明らかにされていなかった。

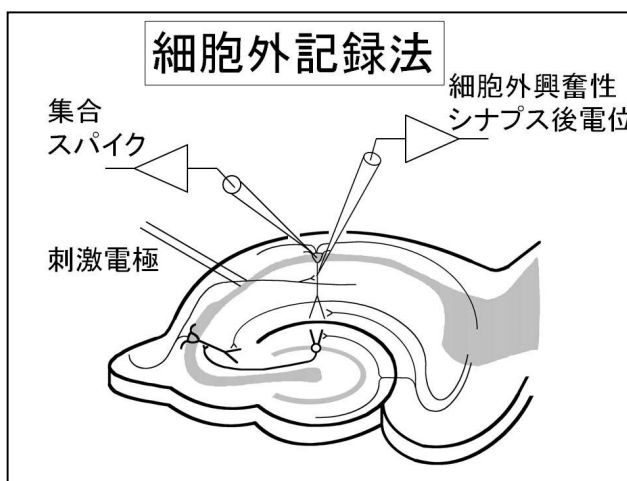
2. 研究の目的

本研究ではシナプス可塑性をはじめとするニューロン及びグリア細胞の様々な機能が細胞外液中のイオン濃度によってどのように影響を受けるかを解明することを目的とした。以前の研究ではアストロサイトに発現するカリウムチャンネル (Kir4.1) による細胞外K⁺濃度の恒常性維持機構のように病理・病態に関連するものがよく知られているが、それ以外にも積極的に細胞外イオン濃度を調節することで生理的機能が制御されるような事例の発見も目標とした。

3. 研究の方法

(1) ラット海馬急性スライス標本を材料とし、細胞外イオン濃度を計測する目的で二重ガラス電極による計測を行った。細胞外イオン濃度を計測する為にイオン選択電極を同心円状の二重ガラスで作製し、先端にイオン選択的イオノフォアを少量ロードして電位を測定する方法を用いた。

(2) 遺伝子改変マウスを用いた実験では IRBIT KO マウスから海馬急性スライスを作製し、電気生理学実験を行った。測定法は細胞外記録法を用いた。灌流液 (細胞外液) として人工脳脊髄液を用い、サブマージドチャンバーにて 30℃ に保温した。双極性の刺激電極で細胞外から電気刺激を行い、細胞外記録法では細胞外興奮性シナプス後電位 field EPSP と集合スパイク population spike を記録した。

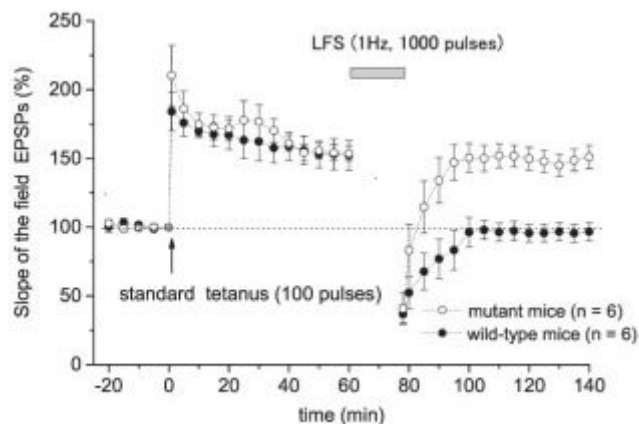


4. 研究成果

(1) 細胞外イオン濃度とシナプス可塑性の同時計測では細胞外液全体のカリウムイオン濃度を人為的に変化させて二重ガラス電極で電位を測定することでカリウムイオン濃度を計測できることを確認できた。計測装置を改良しながら条件を変えて計測を行ったが、細胞外イオン濃度計測

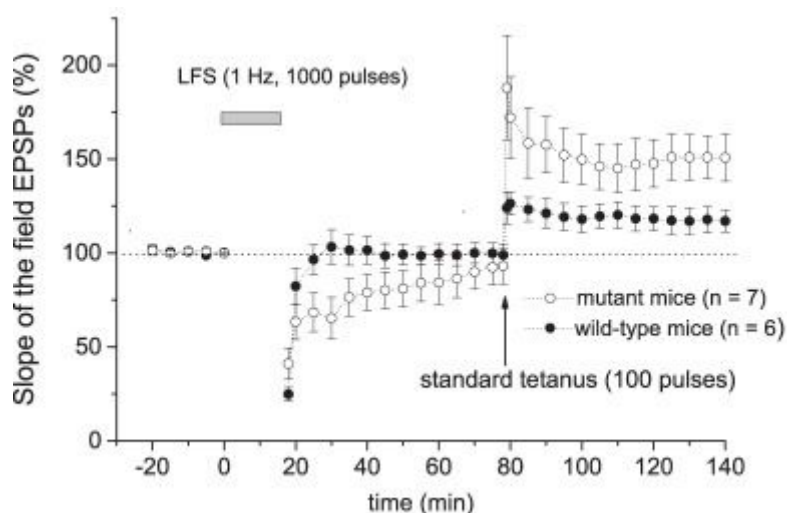
の精度と反応速度を同時に満たしながらシナプス可塑性の計測も行うことが困難であり、また計測装置の一部の機器の故障により高精度の計測が難しくなったことから当初計画を変更し、遺伝子改変マウスを用いた解析を行った。

(2) 遺伝子改変マウスを用いた解析には IP3 受容体の下流のシグナル分子で IP3 受容体結合タンパク質である IRBIT (inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) receptor (IP3R)-binding protein released with IP3) のノックアウトマウスを使用した。以前の研究から IP3 受容体 KO マウスでは海馬のシナプス可塑性のうち、脱増強 (depotential) と LTP 抑制現象が減弱し、short tetanus LTP (100Hz 15-20 発の刺激によって誘導される弱い LTP) が亢進していることが示されていた。IRBIT は IP3 受容体活性化によって作動するシグナル経路の下流にあるので同様にシナプス可塑性の誘導に関与している可能性がある。IRBIT KO マウスの海馬急性スライス標本を作製し、シナプス可塑性誘導を調べた所、脱増強と LTP 抑制現象は IP3 受容体 KO マウスと同様に減弱していた。一方で IP3 受容体 KO マウスで見られた short tetanus LTP の亢進は IRBIT KO マウスでは見られず、野生型マウスと同程度であった。



IRBIT KO マウスでは脱増強は減弱していた。

(Learn Mem. 2022 Apr; 29(4): 110-119. より引用)



IRBIT KO マウスでは LTP 抑制は減弱していた。

(Learn Mem. 2022 Apr; 29(4): 110-119. より引用)

(3) IP3 受容体シグナルは海馬 CA1 シナプスにおいて多様なシナプス可塑性を制御している。そのうち脱増強と LTP 抑制は IP3 受容体と IRBIT の両方が機能している必要があり、IRBIT が IP3 受容体の下流でこれらの可塑性誘導に関与していることが示唆された。一方で short tetanus LTP は IRBIT の欠失では影響を受けず、こちらは IP3 受容体シグナルの下流であるが IRBIT に依存しないシグナル経路がその誘導に関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Goto Jun-Ichi, Fujii Satoshi, Fujiwara Hiroki, Mikoshiba Katsuhiko, Yamazaki Yoshihiko	4. 巻 29
2. 論文標題 Synaptic plasticity in hippocampal CA1 neurons of mice lacking inositol-1,4,5-trisphosphate receptor-binding protein released with IP ₃ (IRBIT)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Learning & Memory	6. 最初と最後の頁 110 ~ 119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/lm.053542.121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Jun-Ichi Goto, Satoshi Fujii, Kenya Kaneko, Hiroki Fujiwara, Yoshihiko, Yamazaki, Katsuhiko Mikoshiba
2. 発表標題 Depotentiation at the hippocampal CA1 synapse depends on the basal synaptic transmission
3. 学会等名 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) CONGRESS (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
---------	---------