

Title	新規シナプス可塑性：神経活動亢進に伴う細胞外イオン濃度変化が受容体機能を制御する
Sub Title	Synaptic activity dependent extracellular Ca dynamics regulates synaptic plasticity
Author	荒井, 格(Arai, Itaru)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>小脳平行線維-プルキンエ細胞 ( PF-PC ) シナプスは、PFの活動亢進によって細胞外Ca濃度 ( [Ca]<sub>o</sub> ) が大きく減少することが知られている。PF-PCシナプスに局在するδ2型グルタミン酸受容体 ( GluD2 ) について近年、Dセリンと結合することで同シナプスに長期抑圧 ( Dセリン-LTD ) を引き起こすこと、また結晶構造解析からDセリン結合部位近傍にCa結合部位が存在することも明らかになった。更に、in vitroの実験から、GluD2のDセリンに対する親和性はこのCa結合部位を介して[Ca]<sub>o</sub>の影響を受けることが報告されている。本研究では、[Ca]<sub>o</sub>の活動依存的な変化が、PF-PCシナプスにおける情報伝達に及ぼす影響を神経回路レベル、個体行動レベルで解明することを目指す。2020年度は、電気生理学実験及び行動解析から以下に示す示唆的なデータを得ることができた。</p> <p>野生型マウスの小脳から急性スライス標本を作製し、電気生理学実験を行った。PC からホールセルクランプ法を適用してPF-PCシナプスを解析した結果、同シナプスで観察されるDセリン-LTDは[Ca]<sub>o</sub>依存性を示した。即ち、Dセリン-LTDは[Ca]<sub>o</sub>を低下させると増強し、上昇させると抑制される傾向を示した。</p> <p>また、Ca結合能を操作した変異型GluD2を発現するKIマウスを使って同様の電気生理学実験を行った。Ca常時結合を模倣した変異GluD2を発現するKIマウス ( ① ) では、野生型と比べてDセリン-LTDが抑制される傾向を示した。一方、Ca結合能が欠損した変異GluD2を発現するKIマウス ( ② ) では、Dセリン-LTDは亢進する傾向を示した。これらの結果は、小脳PF-PCシナプスにおけるDセリン-GluD2シグナリングが[Ca]<sub>o</sub>の影響を受けることを示している。更にKIマウスを使った行動解析も開始した。KIマウス①を用いてOKRを行ったところ、まだ予備実験の段階であるが、野生型に比べて学習が低下する可能性を示した。</p> <p>It has been well-known that extracellular Ca concentration ([Ca]<sub>o</sub>) at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell (PF-PC) synapse can dynamically change by its synaptic activity. Delta 2 glutamate receptor (GluD2) is known to be localized at PF-PC synapse. Our laboratory recently has reported that GluD2 triggers long term depression at this synapse by binding with D-serine as a ligand and that GluD2 has Ca binding sites near its ligand binding domain (LBD). In addition to these findings, it has been reported by in vitro experiments that the GluD2 affinity to D-serine may be regulated by [Ca]<sub>o</sub>. The goal of this study is (1) to investigate whether the activity dependent [Ca]<sub>o</sub> dynamics can regulate the GluD2-D-serine signaling at PF-PC synapse and (2) to elucidate the functional significance of this new synapse regulation mechanism at behavioral level as well as cerebellar local neuronal circuit level.</p> <p>In 2020, two kinds of experiments were performed: (A) electrophysiological experiment and (B) behavioral experiment. (A): cerebellar acute slice preparations were obtained from wild type mice and whole-cell clamp recordings were performed from PCs. When D-serine was applied in different [Ca]<sub>o</sub> condition, D-serine dependent LTD (D-LTD) showed [Ca]<sub>o</sub> dependence; higher [Ca]<sub>o</sub> generated more suppressed D-LTD.</p> <p>Similar experiments were performed using two kinds of KI mice; (i) expressing the mutant GluD2 whose structure mimics its Ca bound state so that the affinity to D-serine is lower than wild type GluD2, and (ii) expressing the mutant GluD2 which is disabled to bind to Ca so that the affinity to D-serine is higher. When electrophysiological experiments were performed using these two KI mice, KI mice (i) showed smaller D-LTD but KI mice (ii) showed larger D-LTD. These results indicate that D-LTD can be regulated by [Ca]<sub>o</sub> via the Ca binding site near the LBD of GluD2.</p> <p>(B): To get some insight about the functional significance of this new synapse regulation mechanism, OKR adaptation, well established cerebellar motor learning paradigm, were performed using these KI mice. Preliminary data showed the tendency that KI mice (i) showed more suppressed OKR adaptation and KI mice (ii) showed more enhanced adaptation compared to wild type mice.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	1,500 千円
	氏名	荒井 格	氏名(英語)	Itaru Arai		
研究課題(日本語)						
新規シナプス可塑性:神経活動亢進に伴う細胞外イオン濃度変化が受容体機能を制御する						
研究課題(英訳)						
Synaptic activity dependent extracellular Ca dynamics regulates synaptic plasticity						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
荒井格 (Itaru Arai)		医学部生理学教室 1				
掛川渉 (Wataru Kakegawa)		医学部生理学教室 1				
今井貴雄 (Takao Imai)		医学部生理学教室 1				
1. 研究成果実績の概要						
<p>小脳平行線維—プルキンエ細胞(PF-PC)シナプスは、PFの活動亢進によって細胞外Ca濃度([Ca]<sub>o</sub>)が大きく減少することが知られている。PF-PCシナプスに局在するδ2型グルタミン酸受容体(GluD2)について近年、Dセリンと結合することで同シナプスに長期抑圧(Dセリン-LTD)を引き起こすこと、また結晶構造解析からDセリン結合部位近傍にCa結合部位が存在することも明らかになった。更に、in vitroの実験から、GluD2のDセリンに対する親和性はこのCa結合部位を介して[Ca]<sub>o</sub>の影響を受けることが報告されている。本研究では、[Ca]<sub>o</sub>の活動依存的な変化が、PF-PCシナプスにおける情報伝達に及ぼす影響を神経回路レベル、個体行動レベルで解明することを目指す。2020年度は、電気生理学実験及び行動解析から以下に示す示唆的なデータを得ることができた。</p> <p>野生型マウスの小脳から急性スライス標本作製し、電気生理学実験を行った。PCからホールセルクランプ法を適用してPF-PCシナプスを解析した結果、同シナプスで観察されるDセリン-LTDは[Ca]<sub>o</sub>依存性を示した。即ち、Dセリン-LTDは[Ca]<sub>o</sub>を低下させると増強し、上昇させると抑制される傾向を示した。</p> <p>また、Ca結合能を操作した変異型GluD2を発現するKIマウスを使って同様の電気生理学実験を行った。Ca常時結合を模倣した変異GluD2を発現するKIマウス(①)では、野生型と比べてDセリン-LTDが抑制される傾向を示した。一方、Ca結合能が欠損した変異GluD2を発現するKIマウス(②)では、Dセリン-LTDは亢進する傾向を示した。これらの結果は、小脳PF-PCシナプスにおけるDセリン-GluD2シグナリングが[Ca]<sub>o</sub>の影響を受けることを示している。</p> <p>更にKIマウスを使った行動解析も開始した。KIマウス①を用いてOKRを行ったところ、まだ予備実験の段階であるが、野生型に比べて学習が低下する可能性を示した。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>It has been well-known that extracellular Ca concentration ([Ca]<sub>o</sub>) at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell (PF-PC) synapse can dynamically change by its synaptic activity. Delta 2 glutamate receptor (GluD2) is known to be localized at PF-PC synapse. Our laboratory recently has reported that GluD2 triggers long term depression at this synapse by binding with D-serine as a ligand and that GluD2 has Ca binding sites near its ligand binding domain (LBD). In addition to these findings, it has been reported by in vitro experiments that the GluD2 affinity to D-serine may be regulated by [Ca]<sub>o</sub>. The goal of this study is (1) to investigate whether the activity dependent [Ca]<sub>o</sub> dynamics can regulate the GluD2-D-serine signaling at PF-PC synapse and (2) to elucidate the functional significance of this new synapse regulation mechanism at behavioral level as well as cerebellar local neuronal circuit level.</p> <p>In 2020, two kinds of experiments were performed: (A) electrophysiological experiment and (B) behavioral experiment. (A): cerebellar acute slice preparations were obtained from wild type mice and whole-cell clamp recordings were performed from PCs. When D-serine was applied in different [Ca]<sub>o</sub> condition, D-serine dependent LTD (D-LTD) showed [Ca]<sub>o</sub> dependence; higher [Ca]<sub>o</sub> generated more suppressed D-LTD.</p> <p>Similar experiments were performed using two kinds of KI mice; (i) expressing the mutant GluD2 whose structure mimics its Ca bound state so that the affinity to D-serine is lower than wild type GluD2, and (ii) expressing the mutant GluD2 which is disabled to bind to Ca so that the affinity to D-serine is higher. When electrophysiological experiments were performed using these two KI mice, KI mice (i) showed smaller D-LTD but KI mice (ii) showed larger D-LTD. These results indicate that D-LTD can be regulated by [Ca]<sub>o</sub> via the Ca binding site near the LBD of GluD2.</p> <p>(B): To get some insight about the functional significance of this new synapse regulation mechanism, OKR adaptation, well established cerebellar motor learning paradigm, were performed using these KI mice. Preliminary data showed the tendency that KI mice (i) showed more suppressed OKR adaptation and KI mice (ii) showed more enhanced adaptation compared to wild type mice.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			