

|                  |   |
|------------------|---|
| 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 | 2022  |
| Jtitle           | 福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2021. )  |
| JaLC DOI         |   |
| Abstract         | <p>小脳平行線維 ( PF ) –プルキンエ細胞 ( 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、①同シナプスの長期可塑性 ( LTD ) に必須であること、②特に幼若期において同シナプスの活動に応じてバークマングリアから放出されるDセリンがリガンドとして結合することでLTDを誘導すること、近年の構造解析から、③Dセリン結合部位付近にCa結合部位があり、Dセリンに対する親和性に影響すること、が知られている。すなわち、PF–PCシナプスの間隙の神経活動依存的なCa動態がDセリン依存性LTDの新規制御機構である可能性がある。本研究は、この可能性について検討を行った。</p> <p>PF–PCシナプスには、間隙のCa濃度に影響を及ぼす様々な分子が発現している。例えば、電位依存性Caチャネルは主にシナプス前終末 ( PF ) に発現し、活性化すると伝達物質放出をトリガーするが、その際シナプス間隙からCaを細胞内に流入させる。そこで本年度は、PF–PCシナプスにおけるLTDに対して電位依存性Caチャネルが果たす役割を検討した。</p> <p>N型Caチャネルを薬理的に阻害したところ、定常状態におけるシナプス伝達が有意に減少したが、LTDはコントロール条件と同程度に誘導することができた。</p> <p>次に、R型Caチャネルを薬理的に阻害したところ、定常状態におけるシナプス伝達は同様に減少したが、驚くべき事にLTDも有意に抑制された。つまり、R型Caチャネルは単に伝達物質放出に関わるだけでなく、LTD誘導にも重要な役割を担っていることが示唆された。更に、GluD2欠損マウスではR型Caチャネルの局在が変化していることも明らかになった。つまりシナプス間隙の、GluD2近傍のCa濃度を、R型Caチャネルが活動依存的に制御している可能性が考えられる。今後、R型CaチャネルがどのようにしてPF–PCシナプスのLTDを制御しているのか、さらなる研究が必要である。</p> <p>Delta type 2 glutamate receptor (GluD2), one of ionotropic glutamate receptor, is specifically localized to parallel fiber (PF) – Purkinje cell (PC) synapse in cerebellum. Accumulated evidence has shown that (1) GluD2 is essential for induction of long term depression (LTD) at this synapse, (2) its ligand is D-serine, which is released from Bergmann glia (BG) in activity dependent manner, and binding to the D-serine can induce LTD at this synapse especially when mice are juvenile, and that (3) GluD2 has Ca<sup>2+</sup> binding site near the D-serine binding site at its ligand binding domain, which can affect its affinity to D-serine. These findings suggest that the activity dependent Ca<sup>2+</sup> dynamics at the synaptic cleft of PF-PC synapse can be a novel regulation mechanism for LTD induction at this synapse through the Ca binding site of GluD2.</p> <p>At PF-PC synapse, many molecules are expressed to regulate Ca concentration at its cleft ([Ca]<sub>cleft</sub>). Among them, voltage gated Ca channels (VGCCs), which are mainly expressed at presynaptic (= PF) terminal, can potentially work as a "Ca sink" for [Ca]<sub>cleft</sub> when the PF-PC synapses are activated; when action potentials are generated, the VGCCs are activated and flow Ca<sup>2+</sup> into the PF terminal from the synaptic cleft, resulting in the reduction in [Ca]<sub>cleft</sub>. Therefore, there is a possibility that presynaptic VGCCs can affect the LTD induction at the PF-PC synapse via Ca binding site of GluD2. Thus, in this year, this possibility was tested by electrophysiological experiments.</p> <p>Acute cerebellar slice preparations were made from wild type mice and whole-cell clamp recordings were performed from PCs to get recordings of PF-PC synaptic transmission. First, the contribution of N type VGCC was tested. When N type VGCC was blocked pharmacologically, the PF-PC synaptic transmission was slightly but significantly reduced. On the other hand, LTD, which was induced by repetitive PF stimulation combined with post PC depolarization, was normal. Next, R type VGCC was pharmacologically blocked and this time again the synaptic transmission was reduced. However, when the LTD induction stimulus was applied, LTD was significantly inhibited. Moreover, when the same experiment was performed using GluD2 KO mice in stead of WT mice, R type VGCC contribution to the synaptic transmission was impaired. These results suggest that the localization of R type VGCC could be regulated by GluD2 and could play an important role for LTD induction at PF-PC synapse. One of possible mechanisms how R type VGCC regulates LTD induction is that R type VGCC is localized near GluD2 and work as a Ca sink to regulate D-serine dependent LTD. Further investigation is necessary to elucidate how R type</p> |

|       |   |
|-------|---|
|       | VGCC regulates the LTD induction at PF-PC synapse.  |
| 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=KO12003001-20210002-0055">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0055</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                                     |                          |            |     |          |
| 松田 恵子 (Keiko Matsuda)   |                   | 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(PF)―プルキンエ細胞(PC)シナプスに局在する <math>\delta 2</math> 型グルタミン酸受容体(GluD2)について、①同シナプスの長期可塑性(LTD)に必須であること、②特に幼若期において同シナプスの活動に応じてパーグマンガリアから放出される D セリンがリガンドとして結合することで LTD を誘導すること、近年の構造解析から、③D セリン結合部位付近に Ca 結合部位があり、D セリンに対する親和性に影響すること、が知られている。すなわち、PF―PC シナプスの間隙の神経活動依存的な Ca 動態が D セリン依存性 LTD の新規制御機構である可能性がある。本研究は、この可能性について検討を行った。</p> <p>PF―PC シナプスには、間隙の Ca 濃度に影響を及ぼす様々な分子が発現している。例えば、電位依存性 Ca チャンネルは主にシナプス前終末(PF)に発現し、活性化すると伝達物質放出をトリガーするが、その際シナプス間隙から Ca を細胞内に流入させる。そこで本年度は、PF―PC シナプスにおける LTD に対して電位依存性 Ca チャンネルが果たす役割を検討した。</p> <p>N 型 Ca チャンネルを薬理的に阻害したところ、定常状態におけるシナプス伝達が有意に減少したが、LTD はコントロール条件と同程度に誘導することができた。</p> <p>次に、R 型 Ca チャンネルを薬理的に阻害したところ、定常状態におけるシナプス伝達は同様に減少したが、驚くべき事に LTD も有意に抑制された。つまり、R 型 Ca チャンネルは単に伝達物質放出に関わるだけでなく、LTD 誘導にも重要な役割を担っていることが示唆された。更に、GluD2 欠損マウスでは R 型 Ca チャンネルの局在が変化していることも明らかになった。つまりシナプス間隙の、GluD2 近傍の Ca 濃度を、R 型 Ca チャンネルが活動依存的に制御している可能性が考えられる。今後、R 型 Ca チャンネルがどのようにして PF―PC シナプスの LTD を制御しているのか、さらなる研究が必要である。</p>  |                   |  |                          |            |     |          |
| 2. 研究成果実績の概要(英訳)  |                   |  |                          |            |     |          |
| <p>Delta type 2 glutamate receptor (GluD2), one of ionotropic glutamate receptor, is specifically localized to parallel fiber (PF) – Purkinje cell (PC) synapse in cerebellum. Accumulated evidence has shown that (1) GluD2 is essential for induction of long term depression (LTD) at this synapse, (2) its ligand is D-serine, which is released from Bergmann glia (BG) in activity dependent manner, and binding to the D-serine can induce LTD at this synapse especially when mice are juvenile, and that (3) GluD2 has Ca<sup>2+</sup> binding site near the D-serine binding site at its ligand binding domain, which can affect its affinity to D-serine. These findings suggest that the activity dependent Ca<sup>2+</sup> dynamics at the synaptic cleft of PF-PC synapse can be a novel regulation mechanism for LTD induction at this synapse through the Ca binding site of GluD2.</p> <p>At PF-PC synapse, many molecules are expressed to regulate Ca concentration at its cleft ([Ca]<sub>cleft</sub>). Among them, voltage gated Ca channels (VGCCs), which are mainly expressed at presynaptic (= PF) terminal, can potentially work as a “Ca sink” for [Ca]<sub>cleft</sub> when the PF-PC synapses are activated; when action potentials are generated, the VGCCs are activated and flow Ca<sup>2+</sup> into the PF terminal from the synaptic cleft, resulting in the reduction in [Ca]<sub>cleft</sub>. Therefore, there is a possibility that presynaptic VGCCs can affect the LTD induction at the PF-PC synapse via Ca binding site of GluD2. Thus, in this year, this possibility was tested by electrophysiological experiments.</p> <p>Acute cerebellar slice preparations were made from wild type mice and whole-cell clamp recordings were performed from PCs to get recordings of PF-PC synaptic transmission. First, the contribution of N type VGCC was tested. When N type VGCC was blocked pharmacologically, the PF-PC synaptic transmission was slightly but significantly reduced. On the other hand, LTD, which was induced by repetitive PF stimulation combined with post PC depolarization, was normal.</p> <p>Next, R type VGCC was pharmacologically blocked and this time again the synaptic transmission was reduced. However, when the LTD induction stimulus was applied, LTD was significantly inhibited. Moreover, when the same experiment was performed using GluD2 KO mice in stead of WT mice, R type VGCC contribution to the synaptic transmission was impaired. These results suggest that the localization of R type VGCC could be regulated by GluD2 and could play an important role for LTD induction at PF-PC synapse. One of possible mechanisms how R type VGCC regulates LTD induction is that R type VGCC is localized near GluD2 and work as a Ca sink to regulate D-serine dependent LTD. Further investigation is necessary to elucidate how R type VGCC regulates the LTD induction at PF-PC synapse.</p> |                   |  |                          |            |     |          |
| 3. 本研究課題に関する発表  |                   |  |                          |            |     |          |
| 発表者氏名<br>(著者・講演者)   | 発表課題名<br>(著書名・演題) | 発表学術誌名<br>(著書発行所・講演学会)                         | 学術誌発行年月<br>(著書発行年月・講演年月) |            |     |          |
|   |                   |  |                          |            |     |          |