

シタキシン1Bの機能欠損によるてんかん発症メカニズムの解析

三嶋 竜 弥

杏林大学医学部細胞生理学教室

[背景]

熱性けいれんは2-4%の乳幼児に見られ、遺伝的要因が強い。近年、ヒトにおいてシタキシン1B (STX1B) 遺伝子の変異によるハプロ不全が熱性けいれん・てんかん症候群やミオクロニー失立てんかんの原因となることが報告された¹⁾。シタキシン1 (STX1) には1Aと1Bという2つのアイソフォームがあり、どちらもシナプス小胞や大型有芯小胞の開口放出に関する形質膜蛋白質である。またGABA・グリシン等の抑制性神経伝達物質の再取り込みを行うSLC6ファミリーに属する神経伝達物質トランスポーターに直接結合し、その機能を調節する。これまでの研究によりSTX1Aと1Bの基本的な生理機能は共通しているが、STX1Bはシナプス小胞の²⁾、STX1Aは大型有芯小胞の放出に関わる特異的な機能を持つことを発見した³⁾。特にSTX1Bの機能欠損はシナプス小胞のリサイクリングや自発性放出機構に影響を与え、シナプス伝達に異常を引き起こすことが解った。また、STX1Bをノックダウンしたゼブラフィッシュでは、温度上昇に対してけいれん様行動

やてんかん型放電を示すとの報告があり¹⁾、熱により神経機能の異常が顕著になっていると考えられる。STX1B 遺伝子の変異による種々のてんかん発症は、STX1Bに特異的な機能の障害によるシナプス伝達異常に起因すると想定されるが、その分子機序はまったくの不明である。

[目的]

本研究はSTX1Bの機能欠損によるシナプス伝達の異常と、てんかん発症との関係を解明することを目的とする。当研究室で作製したSTX1B遺伝子ヘテロ欠損 (STX1B^{+/-}) マウスを用いて、高体温により引き起こされるてんかんの表現型解析を行うと共に、海馬神経回路の神経活動が温度上昇によってどのような影響を受けるのかを解析した。

[結果と考察]

最初に生後10日から11日齢の幼若マウスの熱性けいれんの体温閾値および潜時を比較したところ、STX1B^{+/-}マウスにおいて熱性けいれん誘導までの潜時が有意に短縮し

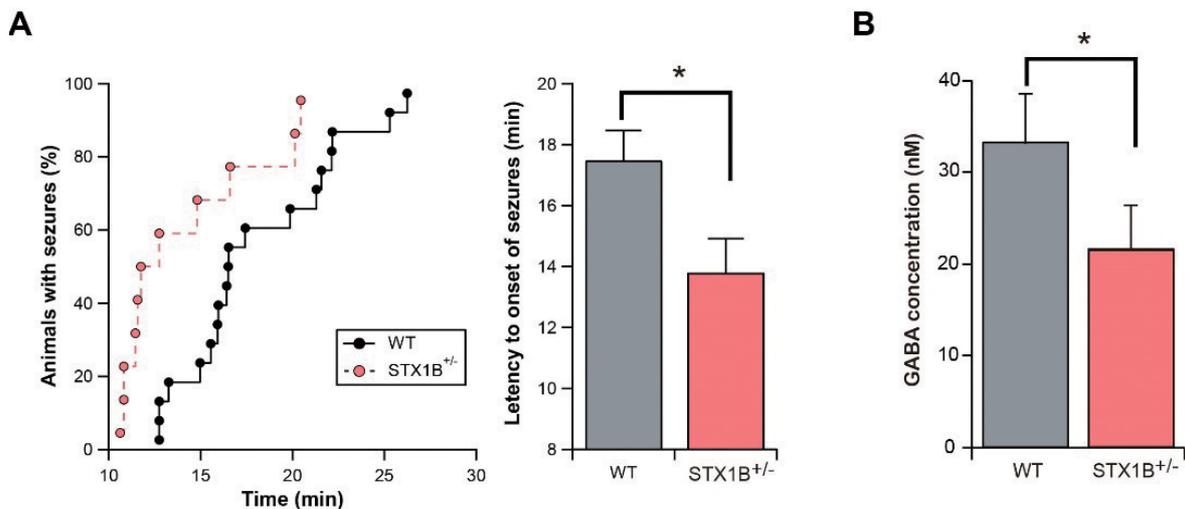


図1 A 熱性けいれんの誘導までの潜時。 B マイクロダイアリス法による海馬細胞外GABA濃度。

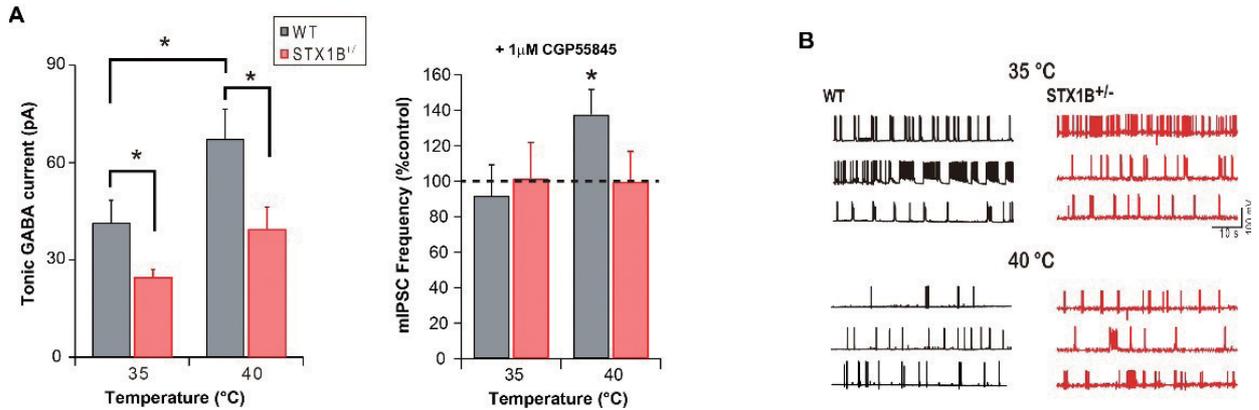


図2 A 自発性微小シナプス後電流頻度の温度依存性 (左)。持続性GABA電流振幅の温度依存性 (右)。
B 神経回路活動の温度依存性。

ており、けいれん感受性が上昇していた (図1A)。また成熟マウスを用いた薬物誘導性のけいれん感受性も上昇していた。次にマイクロダイアリシ法により海馬細胞外GABA濃度の計測を行ったところSTX1B^{+/-}マウスでは細胞外GABA濃度が低下しており (図1B)、高体温時の抑制性シナプス伝達機能の低下が熱性けいれんの発症に関与していることが示唆された。

次に、細胞外GABA濃度の変化に影響を受けると考えられる、シナプス外GABA_A受容体による持続性GABA電流やシナプス前終末GABA_B受容体を介した放出抑制機構を観察し、抑制性シナプス伝達機構の温度依存性の解析を行った。その結果、野生型マウスでは高体温時に持続性GABA電流が増加しGABAの放出が抑制されたことから、体温上昇に伴い細胞外GABA濃度が上昇していると考えられる。一方、STX1B^{+/-}マウスでは高体温時に持続性GABA電流の増加が見られずGABAの放出抑制も起こらなかった (図2A) ことから、体温上昇に伴うシナプス抑制機構に異常があると考えられる。そこで、この抑制性シナプス伝達機構の異常が神経回路の活動に及ぼす影響を解析した。局所神経回路で生じる自発性バースト放電の頻度を解析した結果、野生型マウスでは高体温時にバースト放電の頻度が大きく低下するのに対し、STX1B^{+/-}マウスでは高体温時のバースト放電の頻度が有意に高く、神経回路の活動性が高まっていた (図2B)。GABA_A受容体のアン

タゴニストを投与すると、この野生型マウスでのバースト放電の頻度低下が阻害された。このことから、高体温時には抑制性シナプス伝達が亢進する事により神経回路の活動を抑制しているが、STX1B^{+/-}マウスではこの抑制機構が低下しているのではないかと考えられる。そこで、GABAトランスポーターによる細胞外GABAの取り込み機能を阻害したところ、STX1B^{+/-}マウスでみられる高体温時のバースト放電の頻度が野生型のものと同程度に低下することが判った。

以上の結果から、STX1Bのハプロ不全によって高体温時のシナプス抑制機能が低下し、熱性けいれん発症につながるということが示唆された。

References

- 1) Schubert, J. *et al.* Mutations in STX1B, encoding a presynaptic protein, cause fever-associated epilepsy syndromes. *Nat. Genet.* 46, 1327–32 (2014).
- 2) Mishima, T. *et al.* Syntaxin 1B, but Not Syntaxin 1A, Is Necessary for the Regulation of Synaptic Vesicle Exocytosis and of the Readily Releasable Pool at Central Synapses. *PLoS One* 9, e90004 (2014).
- 3) Mishima, T., Fujiwara, T., Kofuji, T. & Akagawa, K. Impairment of catecholamine systems during induction of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapses in HPC-1/syntaxin 1A knock-out mice. *J. Neurosci.* 32, 381–9 (2012).