

礒村 宜和

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授／
玉川大学脳科学研究所 特別研究員

シナプス光遺伝学を用いた脳領域間シグナル伝播機構の解明

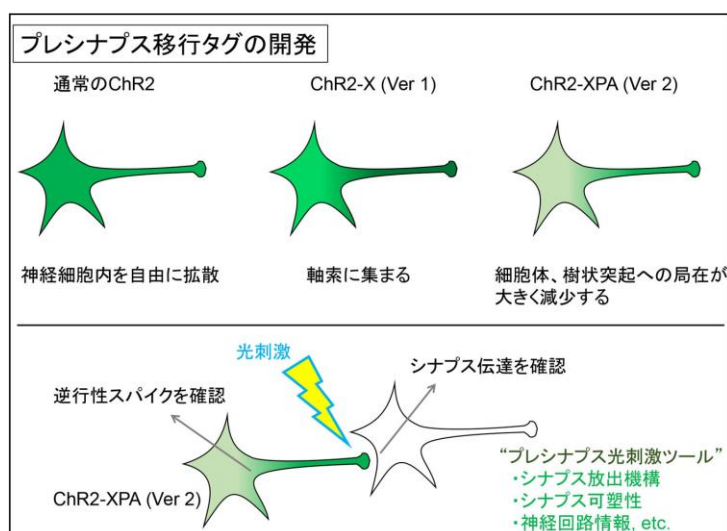
§ 1. 研究成果の概要

本研究課題では、研究代表者(礒村宜和)が考案した脳領域間のスパイク情報を細胞単位かつミリ秒単位で追跡できるマルチリンク(Multi-Link)法の次世代化のために、主たる共同研究者(大塚稔久・渡部文子)の専門技術を活かして、投射細胞の軸索終末(プレシナプス)に集積し、光応答性の高いプレシナプス光刺激ツールと、シナプスの開口放出を光抑制するプレシナプス光抑制ツールを開発する。これらのツールを脳の広範囲に発現させることにより、時間的にも空間的にも計測精度と低侵襲性を大幅に向上させた次世代マルチリンク法を確立することを主な目標とする。さらに、本研究で生み出されるプレシナプス光刺激/抑制ツールの有用性・汎用性を実証するため、未だ謎多いシナプス伝達・可塑性の機構と情動回路機構に狙いを定め、分子-シナプス-回路-行動レベルにわたる脳機能の仕組みの解明に応用することも目指す。

令和元(2019)年度は、これまでに大塚グループが開発した一連のプレシナプス光刺激ツールの候補群のうち、チャンネルロドプシン ChR2 にアクティブゾーン AZ 関連分子群との結合ドメインや転写翻訳制御配列を付した「ChR2-XPA」(仮称)の解析を進めた。大塚グループは、この ChR2-XPA が個体脳内や培養した海馬の神経細胞のプレシナプス部位に局在化することを形態学的に明らかにした。渡部グループは、扁桃体への長距離投射を持つ神経核に ChR2-XPA を発現させて扁桃体の急性脳切片を作成し、そのプレシナプス部位を光刺激して扁桃体細胞から興奮性シナプス後電流 EPSC をホールセル記録することにより、ChR2-XPA の光活性化機能を電気生理学的に定量評価した。ChR2-XPA は発現量が少ない傾向があるものの、機能的には従来型の ChR2 と遜色なく光誘発 EPSC を示すことを確認した。さらに ChR2-XPA は従来型と比較してより効率良くシナプス伝達を生じる一方で、細胞体の発火にはより強い刺激を要したことから、軸索終末への局在化が支持された。誘発された EPSC はナトリウムチャンネル依存的であり、軸索終末での活動電位の発生が示唆された。そこで礒村グループで ChR2-XPA をマルチリンク法のスパイク・コリジョン試験に適用したところ、ChR2-XPA で誘発された逆行性シナプスが先行する自発性スパイク

で期待通りに消失することを確認した。すなわち、プレシナプス光刺激ツールをマルチリンク法に適用するという本研究課題の目標の一つを達成しつつある。

その他にも大塚グループでは各種のプレシナプスタグを付加したプレシナプス光刺激／抑制ツールの開発を継続しており、渡部グループで機能面でのスクリーニングを推進している。また、シナプス放出機構の研究の一環として、AZ 分子である CAST のノックアウトマウスで雌の養育行動が損なわれること(Hagiwara et al. 2020)や CAST と ELKS は発生発達に重要な分子であること(Hagiwara et al. 2020)を論文報告した。従来型のマルチリンク法を使ってパーキンソン病ラットの大脳皮質の投射細胞の機能的活動の変化を解析した研究も発表した(Rios et al. 2019)。オプトバ



【代表的な原著論文】

1. Alain Rios, Shogo Soma, Junichi Yoshida, Satoshi Nonomura, Masanori Kawabata, Yutaka Sakai and Yoshikazu Isomura*, “Differential changes in the lateralized activity of identified projection neurons of motor cortex in hemiparkinsonian rats”, eNeuro vol. 6, No. 4, article ENEURO.0110-19, 2019
2. Akari Hagiwara, Naoko Sugiyama, Toshihisa Ohtsuka*, “Impaired experience-dependent maternal care in presynaptic active zone protein CAST-deficient dams”. Scientific Reports vol. 10, No. 1, article 5238, 2020
3. Akari Hagiwara, Shun Hamada, Yamato Hida, Toshihisa Ohtsuka*, “Double deletion of the active zone proteins CAST/ELKS in the mouse forebrain causes high mortality of newborn pups”, Molecular Brain vol. 13, No. 1, article 13, 2020

§ 2. 研究実施体制

(1)「礪村」グループ

- ① 研究代表者:礪村 宜和 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授/
玉川大学脳科学研究所 特別研究員)
- ② 研究項目
 - ・C1.高速2波長多点光照射装置の確立
 - ・C2.プレシナプス光刺激/抑制ツールのインビボ最適化

(2)「大塚」グループ

- ① 主たる共同研究者:大塚 稔久 (山梨大学大学院総合研究部 教授)
- ② 研究項目
 - ・A1.プレシナプス光刺激/抑制ツールの系統的開発
 - ・A2.プレシナプス光刺激/抑制ツールによるシナプス放出機構の解明
 - ・A3.遺伝子改変動物の作成・提供

(3)「渡部」グループ

- ① 主たる共同研究者:渡部 文子 (東京慈恵会医科大学医学部医学科 教授)
- ② 研究項目
 - ・B1.プレシナプス光刺激/抑制ツールのインビトロ評価
 - ・B2.プレシナプス光刺激/抑制ツールによる情動回路機構の解明