

令和元年6月4日現在

機関番号：17701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14565

研究課題名(和文) 大脳新皮質第5層のgap junctionネットワークによる皮質内基本構造形成

研究課題名(英文) The formation of fundamental neocortical circuits by the gap junctional network in layer 5

研究代表者

中川 直 (Nakagawa, Nao)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：20611065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：発達期の大脳皮質第5層gap junction (GJ)ネットワークの詳細な解析結果より、大脳皮質の機能単位だと考えられるマイクロカラム構造の有力な形成メカニズムであることがわかった。この結果は、他の実験結果とともに、サイエンス誌に出版された。また、GJネットワークがもたらす電気的結合と同期発火は、これまでに報告されているものよりも顕著に遅いことを明らかにし、Neuroscience誌に出版された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳皮質第5層のGJネットワークは、シナプス形成が始まる生後1-2週に消失することから、初期のシナプス回路の形成に重要な働きを持つ可能性がある。今後、GJ機能に異常を持つ変異マウスや、GJネットワークを人為的に操作したマウスにおいて、シナプス回路を解析する必要がある。また、GJとてんかんの関連はよく知られていることから、同マウスで脳活動や行動を調べることで、幼若期のてんかん発症への関係も調べられると期待される。これらの実験によって、正常な神経回路形成と脳の疾患へのGJネットワークの関与を、早急に調べる必要がある。

研究成果の概要(英文)：From the detailed analysis of the GJ network of developing neocortex layer 5, we found that the network is a plausible mechanism of constructing microcolumn that is considered to be a functional unit of the neocortex. The findings, together with other experimental results, were published in Science. Also, we found that the electrical transmission and synchronous firing provided by the GJ network were significantly slower than those previously reported. The results were published in Neuroscience.

研究分野：神経生理学

キーワード：gap junctionネットワーク gap junction 大脳皮質 発達期 神経回路形成

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マウス大脳新皮質の興奮性細胞において gap junction (GJ) は、細胞移動の制御を介した細胞分布パターン形成と、姉妹細胞間のシナプス形成とに関与することが報告されていた (Elias et al., Nature 2007, Yu et al., Nature 2012)。しかし GJ の機能は、胎生期から生後数日までの限られた期間、かつ限られた細胞でしか知られていない。申請者らは最近、生後 1 週の発達期のマウスにおいて、大脳新皮質第 5 層の興奮性細胞が密で正確な GJ ネットワークを持つことを発見した。5 層の興奮性細胞は、脳幹や脊髄など皮質下領域に投射する subcerebral projection neuron (SCPN) と、反対側の大脳皮質に投射する callosal projection neuron (CPN) の 2 種類に分類されるが、これらの細胞はそれぞれ①同じ種類の細胞と選択的に結合する、②近傍に位置するおよそ半数もの同種の細胞と結合する、③脳表に対し垂直に位置する細胞と結合しやすい、という GJ 結合性を持っていた。この結合は生後 2 週の間には消失したことから、5 層の回路形成に特別な役割を持つ可能性がある。

2. 研究の目的

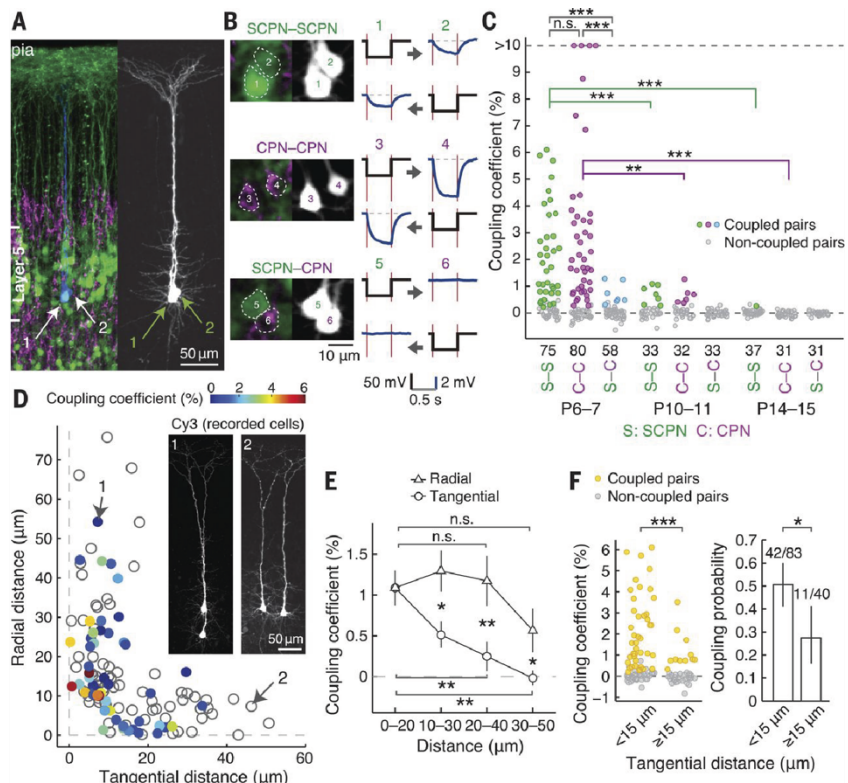
発達期マウスにおける大脳新皮質第 5 層の GJ ネットワークネットワークは、細胞分布パターン形成およびシナプス形成という、主要な回路形成プロセスの両方を大規模に制御している可能性がある。細胞の種類や位置に特異的な 5 層内神経回路の形成における、GJ ネットワークの機能を多角的に解析することで、皮質内基本構造の形成メカニズムの一端を解き明かす。

3. 研究の方法

第 5 層 GJ ネットワークの詳細な解析を行う。その後、GJ ネットワークの人為的操作法を確立し、当操作が及ぼす影響を多角的に解析する。細胞分布パターンとしては、マイクロカラム構造への影響、SCPN と CPN の分布特異性への影響を解析する。シナプス形成としては、SCPN と CPN が形成する細胞タイプ特異的なシナプス回路への影響を解析する。以上の実験で、5 層 GJ ネットワークの機能的意義を明らかにする。

4. 研究成果

第 5 層の GJ ネットワークの詳細な解析結果より (下図)、大脳皮質の機能単位だと考えられるマイクロカラム構造の有力な形成メカニズムであることがわかった。この発見を、他の実験結果とともにまとめてサイエンス誌に論文投稿し、2017 年 11 月に受理された。また本成果については、多くの国内および国際学会で研究発表を行った。



大脳新皮質第 5 層の GJ ネットワーク. (A, B) GJ 結合を持つ細胞ペアでの解析例。同種の細胞ペアにおいてのみ、片方の細胞の膜電位を低下させたときに他方の細胞の膜電位の低下が見られた。(C) 近傍の細胞ペア (細胞間距離 < 25 μm) における GJ 結合確率と生後日数。生後 1 週で密に見られた GJ 結合は、生後 2 週に急速に消失した。S, SCPN; C, CPN (D-F) SCPN ペアにおける 2 つの細胞間の相対位置と GJ 結合の関係。GJ 結合は tangential distance < 15 μm 以内のペアで高確率にかつ強く観察された。マイクロカラムでは、同種の細胞が半径の約 10 μm の円柱状に並ぶことから、単一のマイクロカラム内の細胞群は密に GJ で結合することが示唆される。Science, 2017 より。

その後、GJ の人為的操作法を確立し、GJ ネットワークの機能的意義の探索を本格的に開始した。GJ を構成するタンパク質であるコネキシンのドミナント・ネガティブ変異体を、子宮内エレクトロポレーション法で遺伝子導入することで、第5層のGJによる電気的結合を顕著に阻害することに成功した。この操作を行ったマウスにおいて、細胞分布パターンを解析したところ、顕著な変化は見られなかった。この結果は、用いた変異体コネキシンが、電気的結合を阻害するものの接着因子としての機能は維持されるものであったため、細胞分布パターンには影響が見られなかった可能性が考えられる。今後、接着因子としての機能を阻害する方法を用いて、細胞分布パターンへの影響を調べる必要がある。一方、上記の変異体コネキシンは、電気的結合阻害によって同期活動を抑制するため、活動依存的な発達とシナプス形成への影響は十分に考えられ、今後の詳細な解析が必要である。

その他の成果として、発達期のGJネットワークがもたらす電気的結合と同期発火が、これまでに報告されているものよりも顕著に遅いことを明らかにし、Neuroscience 誌に論文投稿し、2019年5月に受理された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計2件)

- (1). 著者名: Nakagawa N, Hosoya T
論文標題: Slow Dynamics in Microcolumnar Gap Junction Network of Developing Neocortical Pyramidal Neurons.
雑誌名: Neuroscience
査読: あり
巻: 406 (2019)
発行年: 2019
DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.02.013
- (2). 著者名: Maruoka H*, Nakagawa N*, Tsuruno S*, Sakai S*, Yoneda T*, Hosoya T
*Equal contribution
論文標題: Lattice system of functionally distinct cell types in the neocortex.
雑誌名: Science
査読: あり
巻: 358 (6363)
発行年: 2017
DOI: 10.1126/science.aam6125

〔学会発表〕 (計5件)

- (1). 発表者: 中川直 (代表)、細谷 俊彦
発表標題: Gap junction network of excitatory neurons in the developing neocortex
学会等名: The 49th NIPS International Symposium "Ion channels: looking back, seeing ahead"
発表年: 2018
- (2). 発表者: 中川直 (代表)、丸岡 久人、酒井 誠一郎、米田 泰輔、鶴野 瞬、細谷 俊彦
発表標題: Lattice System of Distinct Cell Types in Neocortex
学会等名: Cortical Development Conference
発表年: 2017
- (3). 発表者: 中川直 (代表)、米田 泰輔、細谷 俊彦
発表標題: 大脳新皮質第6層のギャップ結合ネットワークとマイクロカラム構造
学会等名: 第40回日本神経科学大会
発表年: 2017
- (4). 発表者: 中川直 (代表)、米田 泰輔、丸岡 久人、酒井 誠一郎、細谷 俊彦
発表標題: Involvement of gap junctions in the function of microcolumns in neocortex
学会等名: 北米神経科学学会
発表年: 2017
- (5). 発表者: 細谷 俊彦 (代表)、丸岡 久人、中川直、鶴野 瞬、酒井 誠一郎、米田 泰輔
発表標題: 大脳皮質マイクロカラム格子配列の構造と機能
学会等名: 第39回日本神経科学大会
発表年: 2016

〔図書〕 (計1件)

著者名: 細谷俊彦、中川直、米田泰輔、丸岡久人 (担当: 共著)
出版社名: 医学書院 「BRAIN and NERVE」
書名: 大脳皮質の単位回路
発行年 (西暦) 及び総ページ数: 2018年 p.1381-1388

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

<研究会、シンポジウムでの発表>

- (1). 発表者：中川直（代表）、細谷 俊彦
発表標題：Gap junction network of excitatory neurons in the developing neocortex
学会等名：遺伝研研究会「哺乳類脳の機能的神経回路の構築メカニズム」
発表年：2018
- (2). 発表者：中川直（代表）
発表標題：Lattice System of Distinct Cell Types in Neocortex
学会等名：遺伝研研究会（招待講演）
発表年：2017
- (3). 発表者：中川直（代表）、丸岡 久人、酒井 誠一郎、米田泰輔、細谷 俊彦
発表標題：Involvement of gap junctions in the function of microcolumns in neocortex
学会等名：次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム2017
発表年：2017
- (4). 発表者：Nao Nakagawa（代表）、Hisato Maruoka、Shun Tsuruno、Seiichiro Sakai、Taisuke Yoneda、Toshihiko Hosoya
発表標題：Involvement of gap junctions in the organization and function of microcolumn in neocortex
学会等名：Symposium “Circuit Construction in the Mammalian Brain” (Osaka)
発表年：2016

<アウトリーチ活動情報>

『脳の基本単位回路を発見 -単純な回路が繰り返した格子構造が存在-』

http://www.riken.jp/pr/press/2017/20171103_1/

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：米田 泰輔
ローマ字氏名：Yoneda Taisuke
所属研究機関名：自然科学研究機構 生理学研究所
部局名：基盤神経科学研究領域 視覚情報処理研究部門
職名：特任助教
研究者番号（8桁）：40709218

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大嶋 恵理子
ローマ字氏名：Ooshima Eriko

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実

施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。