

令和 4 年 4 月 1 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06887

研究課題名(和文)細胞種特異的な神経回路形成への発達期gap junctionネットワークの役割

研究課題名(英文)Role of the gap junction network in the formation of cell type-specific neural circuits during developmental

研究代表者

玉川 直(中川直)(Tamagawa, 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：応募者らは近年、生後1週の発達期マウスにおいて、大脳皮質の興奮性細胞が同種の細胞と選択的にgap junctionで結合する精密なネットワークを持つこと(Science, 358, 610, 2017)、またgap junctionで結合する細胞同士の活動レベルは均一化されることを明らかにした(Neuroscience, 406, 554, 2019)。活動レベル制御の回路形成への寄与を知るべく、Cav1.2を第2/3層細胞に強制発現させて人為的に亢進したところ、細胞移動と脳梁軸索投射を傷害した。本研究結果は2021年末にFrontiers in Neuroscience誌に論文発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、神経回路の発達時期に細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルが適切に調節されている必要があることを明らかにした。gap junctionはCa<sup>2+</sup>を含むイオンと小分子を通す細胞間結合であることから、細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルを調節することで神経回路形成を制御していることが期待される。gap junctionを構成するコネキシン遺伝子は自閉症のde novo変異遺伝子の1つであり、またてんかんの関連もよく知られている。発達期のgap junctionネットワークの異常は大脳皮質の回路形成異常を介して疾患脳に至る可能性が示唆され、今後の研究により発症機序の解明や予防・治療法の開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Applicants have recently shown that in developing mice at one week of age, excitatory neurons in the neocortex have a precise network of gap junction in which neurons selectively connect with cells of the same type (Science, 358, 610, 2017), and that activity levels of neurons that are connected by gap junction are homogenized (Neuroscience, 406, 554, 2019). To understand the contribution of activity level regulation to circuit formation, we artificially enhanced activity level by forced expression of Cav1.2 in layer 2/3 cells, which affected neuronal migration and callosal axon projections. The results of this study were published recently (Frontiers in Neuroscience, 15(747951), 2021).

研究分野：神経科学

キーワード：gap junction 大脳皮質 同期活動 回路形成

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大脳皮質の興奮性細胞には多くの種類が存在し、それぞれ独自の回路を持つ。分布パターンや主要な投射先は、主に遺伝子プログラムによって、出生頃までにおおむね決定される。一方、その後の発達期の詳細な投射パターンや皮質内局所回路などの精密な回路の形成には、活動依存的なメカニズムが関わってくると考えられる(*Neural Plast*, 2012, 1, 2012)。イオンや小分子を通す細胞間結合である gap junction は、神経回路の活動を調節することで大脳皮質の回路発達を活動依存的に制御することが示唆されているが(*Cerebral Cortex*, 24, 3097, 2014)、大脳皮質の興奮性細胞間の gap junction による結合は、最近までその存在や細胞種との関連はよく分かっていなかった。応募者が最近発見した発達期の興奮性細胞が持つ gap junction ネットワークは、発達期の回路形成を精密に制御している可能性が期待される新規構造である(*Science*, 358, 610, 2017)。応募者は、gap junction で結合する細胞同士の活動レベルが均一化されることも明らかにしている(*Neuroscience*, 406, 554, 2019)。gap junction による活動レベル均一化の皮質回路形成への関与を調べることで、「細胞種特異的な神経回路はどのようにして形成されるか?」という問いに答え、大脳皮質の情報処理基盤が作られるメカニズムの一端を解き明かす。

### 2. 研究の目的

マウスにおいて gap junction ネットワークが見られた生後 1-2 週の発達期には、大脳皮質の回路形成が急速に進む。この時期に進む回路形成プロセスとして、神経前駆細胞から生まれた細胞が正しい位置に移動するプロセスと、異なる脳領域を正しく結ぶ長距離軸索投射プロセスがある。本研究では、第 2/3 層神経細胞をモデルに、これら 2 つの回路形成プロセスへの活動レベル均一化の寄与を検討した。

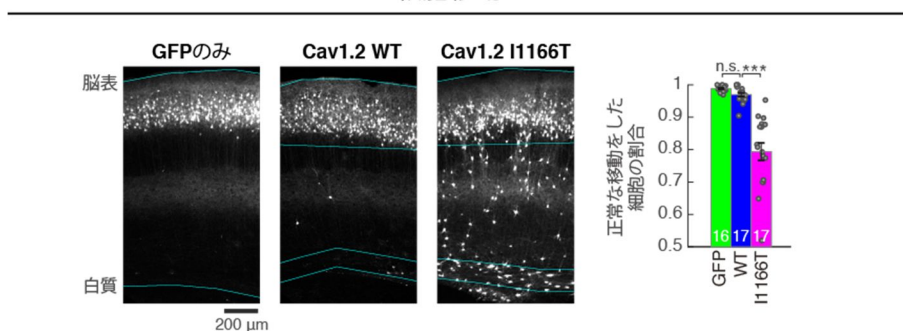
### 3. 研究の方法

Cav1.2 およびその gain-of-function 変異であり Timothy 症候群原因変異でもある I1166T 変異体を、GFP とともに子宮内エレクトロポレーション法で第 2/3 層細胞に強制発現させ、細胞移動および脳梁軸索投射パターンが完成する生後 2 週で脳を固定し形態学的に解析した。細胞移動は一次体性感覚野で解析し、脳梁軸索投射は一次体性感覚野と二次体性感覚野の境界で解析した。

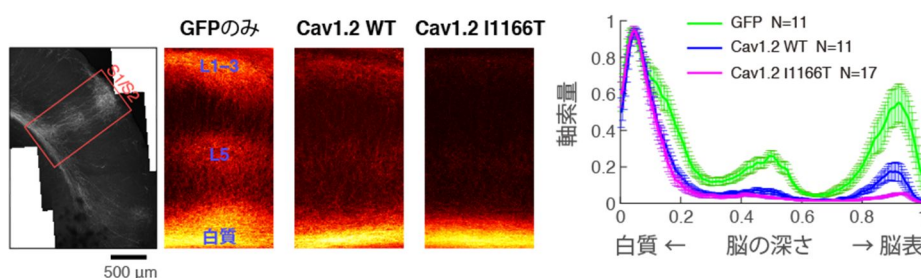
### 4. 研究成果

Cav1.2<sup>I1166T</sup> の強制発現は細胞移動を顕著に障害した(下図 A)。また野生型 Cav1.2 強制発現は脳梁軸索投射を減少させ、Cav1.2<sup>I1166T</sup> 強制発現は脳梁軸索投射を完全に消失させた(下図 B)。一方、脳梁における軸索伸長には影響を及ぼさなかった。同じ変異を持つ Timothy 症候群患者でもこうした回路異常が起きている可能性を示唆する。この研究結果は 2021 年末に論文発表し(*Frontiers in Neuroscience*, 15(747951), 2021)、国内の研究会と国際学会で発表した。

#### A. 細胞移動



#### B. 脳梁投射軸索



A. GFP のみ、または野生型 Cav1.2 を遺伝子導入した細胞は、ほぼすべてが正常に脳表近くの第 2/3 層まで移動した。一方、Cav1.2<sup>I1166T</sup> を導入した場合には全体の約 20% の細胞で移動に障害が見られた。B. GFP のみを導入した個体では、一次体性感覚野と二次体性感覚野の境界 (S1/S2) に脳梁投射軸索が集中し、第 5 層および第 1-3 層に密な分枝が見られる。こうした投射は野生型 Cav1.2 強制発現では部分的に減少し、Cav1.2<sup>I1166T</sup> 強制発現では完全に消失した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakagawa-Tamagawa Nao, Kirino Emi, Sugao Kohtaroh, Nagata Hidetaka, Tagawa Yoshiaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Involvement of Calcium-Dependent Pathway and Subunit-Interaction in Neuronal Migration and Callosal Projection Deficits Caused by the Cav1.2 I1166T Mutation in Developing Mouse Neocortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2021.747951	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 玉川(中川) 直, 菅生 厚太郎, 永田 英孝, 田川 義晃
2. 発表標題 ティモシー症候群関連Cav1.2変異とDEE11関連Nav1.2変異はマウス大脳皮質において異なる様式で回路形成を障害する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 玉川(中川) 直, 桐野 恵美, 菅生 厚太郎, 永田 英孝, 田川 義晃
2. 発表標題 ティモシー症候群に関連するCav1.2のI1166T変異は発達期のマウス大脳皮質において神経細胞の移動と脳梁投射を障害する
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 玉川(中川) 直, 桐野 恵美, 菅生 厚太郎, 永田 英孝, 田川 義晃
2. 発表標題 ティモシー症候群に関連するCav1.2のI1166T変異は発達期のマウス大脳皮質において神経細胞の移動と脳梁投射を障害する
3. 学会等名 第72回西日本生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川 直, 水野 秀信, 田川 義晃
2. 発表標題 脳梁投射軸索の発達ダイナミクスのタイムラプス・イメージング
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川 直, 水野 秀信, 田川 義晃
2. 発表標題 Time-lapse imaging of callosal axon projection dynamics in vivo
3. 学会等名 西日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川 直, 田川 義晃, 細谷 俊彦
2. 発表標題 大脳皮質第5層におけるシナプス特異性形成の時系列解析
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 直, 細谷 俊彦
2. 発表標題 Cell type-specific gap junction network of excitatory neurons in the developing neocortex
3. 学会等名 IBRO 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	水野 秀信  (Mizuno Hidenobu)  (00567159)	熊本大学・国際先端医学研究機構・特任准教授   (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------