

令和 5 年 4 月 29 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06467

研究課題名（和文）オキシトシン受容体を発現する神経細胞の全容を可視化する新規ラベリング系の構築

研究課題名（英文）Fine visualization of oxytocin receptor expressing neurons via the novel labeling system

研究代表者

井上 由紀子（Inoue U., Yukiko）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第六部・リサーチフェロー

研究者番号：30611777

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：脳内の神経伝達物質として働くオキシトシンは、その受容体を発現する神経細胞の機能を修飾し、養育行動や家族の絆などの社会性行動を促進的に制御するため、広く関心を集めており、オキシトシン神経回路網の理解を深める研究が盛んである。しかし、既存の抗体やマウスモデルは、この受容体の発現を正確に可視化するには不十分であった。本研究では、マウス受精卵を用いたゲノム編集により複数のノックインマウスを新たに作出し、オキシトシン受容体の細胞内局在を今までにない精度で検出し、神経回路操作に必須の蛍光レポーターやCre組換え酵素を発現するマウスツールを国内外の研究者に提供することによりオキシトシン研究推進に貢献した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オキシトシン受容体は高脂溶性の膜タンパク質のため、これを認識する抗体を作製することは難しく、マウス脳組織上で研究に使用できる良好な抗体が存在しなかった。そこで、受容体タンパク質の末端にタグを付加したノックインマウスをゲノム編集により作出し、タグに対する抗体を用いて超解像度顕微鏡解析を行い、受容体の神経細胞内局在を初めて観察することができた。また、オキシトシン神経回路の操作による機能解析に必須の蛍光レポーターやCre組換え酵素発現マウスも作出し、国際的なバイオリソースに寄託することにより、国内外のオキシトシン研究者への提供を容易にし、社会性行動を制御する神経回路網の理解を深めることに貢献した。

研究成果の概要（英文）：Oxytocin, which acts as a neurotransmitter in the brain, has attracted widespread interest because it modulates the function of neurons that express its receptor to facilitatively regulate social behaviors such as nursing behavior and family bonding. Hence, research to better understand the oxytocin neural network is very active now. However, existing antibodies and mouse models are insufficient to accurately visualize the expression of this receptor. In this study, we newly generated multiple knock-in mouse lines by genome editing using fertilized eggs, to detect the sub-cellular localization of oxytocin receptors with unprecedented precision. In addition, we provided domestic and foreign researchers with mouse tools expressing fluorescent reporters and Cre recombinase, which are essential for manipulating oxytocin neural circuits in the brain. By developing these resources, we have contributed to the promotion of oxytocin research on a worldwide level.

研究分野：神経科学、ゲノム編集、遺伝子改変マウス

キーワード：オキシトシン受容体 ゲノム編集 ノックインマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳内の神経伝達物質として働くオキシトシン(Oxt)は、その受容体を発現する神経細胞の機能を修飾し、養育行動・夫婦や家族の絆・他者への信頼などの「社会性行動」を促進的に制御すると共に、抗不安・抗ストレス作用も有するため、研究者のみならず広く一般の関心を集めている。

Oxt を産生する神経細胞は視床下部に存在し、脳内の広い範囲に軸索を投射している。受け手となるオキシトシン受容体(Oxtr)を発現する神経細胞も脳内に広く分布し、Oxt は興奮性・抑制性両方のシグナル伝達に影響を与えうる。さらに介在性ニューロンやグリア細胞にも受容体が発現しており、神経回路をより複雑に修飾している。

脳内の Oxtr の局在を可視化するには、特異性の高い抗体があれば容易であるが、この受容体タンパク質は脂溶性が高くエピトープの露出も少ないため、抗体作製が困難であり、マウス脳組織で研究に使用できる良質な抗体が未だ得られていない。また、既存の Oxtr-Venus ノックインマウスの脳組織では、緑色蛍光タンパク質 Venus が神経細胞内に拡散するため、Oxtr が神経細胞の細胞体に在るのか、軸索や樹状突起に在るのかという細胞内局在を区別できず、複雑な Oxt 系神経回路網を解きほぐして個々の回路の機能を知るには不十分であった。

2. 研究の目的

マウス受精卵を用いた最先端のゲノム編集技術により、複数のノックインマウス系統を新たに樹立し、Oxtr の神経細胞内局在を今までにない精度で可視化するとともに、マウス脳において Oxt 系神経回路を操作して機能解析を行うために必要な、蛍光レポータータンパク質や Cre 組換え酵素を発現するマウスツールを確立する。これらのリソースを研究者コミュニティに提供することを通じて、社会性行動を制御する Oxt 系神経回路網の理解を深める研究に貢献する。

3. 研究の方法

研究代表者はマウス受精卵を用いた遺伝子操作に 17 年以上携わっており、自身の手により遺伝子改変マウスを自在に作出することができる。この技術を基盤として以下の研究を行なった。

(1)Oxtr タンパク質の C 末端にエピトープタグを付加したノックインマウスを CRISPR-Cas9 ゲノム編集技術により作製し、タグに対する特異的抗体を用いて、超解像度顕微鏡解析により Oxtr の神経細胞内局在を観察する。

(2)Oxtr を発現する細胞において、内在性発現を忠実に反映して赤色蛍光タンパク質 tdTomato を発現するレポーターマウスを受精卵ゲノム編集により作出し、Oxtr 発現細胞の可視化およびパッチクランプ法による電気生理学的解析に資するマウスツールとして確立する。

(3)Oxtr を発現する細胞において、内在性発現を忠実に反映して Cre 組換え酵素あるいは誘導型 Cre-ERT2 を発現するドライバーマウスを受精卵ゲノム編集により作出し、Cre 依存的ウイルスベクター投与、Cre レポーターマウスとの交配、およびタモキシフェン投与により実用性を確認する。

(4)既存の Cre レポーターマウス(Ai9)をゲノム編集によって改変することにより、Oxtr を発現する神経細胞の細胞体の位置と投射先をより明瞭に可視化できる新たなラベリング系を構築する。

(5)上述の新規ノックインマウス系統について論文発表を行うとともに、国際的なバイオリソースへ寄託し、国内外のオキシトシン研究者への提供を容易にする。

4. 研究成果

(1)エピトープタグノックインマウスによる Oxtr 細胞内局在の可視化

標的とするタンパク質に対する良質な抗体が入手できない場合、そのタンパク質にエピトープタグを付加して、タグに対する抗体を用いて検出する手法が従来より用いられている。本研究では、Oxtr タンパク質の C 末端にエピトープタグとして PA タグ 3 個または HA タグ 3 個を連続して付加したノックインマウスを作製し、2 週齢マウス脳組織切片において、タグに対する高親和性抗体を用いて Oxtr の局在を可視化した。その結果、Oxtr-3xPA ノックインマウス、Oxtr-3xHA ノックインマウスの両方で、独立して同様の染色像が得られ、この手法の妥当性が確認さ

れた。PA タグは日本国内で開発された人工タグで、その抗原抗体親和性は、以前から汎用されている HA タグや FLAG タグに比べて格段に高く、in vitro での有用性が多数報告されていたことから、in vivo ノックインマウスでも良好な結果が得られることを期待し採用した。しかし実際には、マウス脳組織では、抗 PA タグ抗体(ラットモノクローナル抗体、富士フィルム和光純薬)の非特異的結合によると思われるバックグラウンド染色が予想以上に高く、3 週齢以上のマウス脳では PA タグ特異的シグナルを得ることが難しかった。一方で、従来から汎用される HA タグは、抗 HA タグ抗体(ウサギモノクローナル抗体、Cell Signaling Technology)の特異性が高く、マウス脳組織でのバックグラウンドが低いいため、PA タグに比べてシグナル対ノイズ(S/N)比の良い染色像を得ることができた。

Oxtr-3xPA ノックインマウス、Oxtr-3xHA ノックインマウスの 2 週齢、脳組織切片を用いて、大脳皮質第 IV 層のソマトスタチン陽性抑制性ニューロンをスピニングディスク型超解像共焦点顕微鏡で観察したところ、PA タグまたは HA タグ(=Oxtr)は神経細胞の細胞体および神経突起に存在することを初めて可視化することができた。

一方で、Oxtr 発現レベルが低い脳部位(例えば小脳)や細胞種(例えばグリア細胞)ではこれらのエピトープタグを検出することが難しかった。このようなエピトープタグの限界を超えることを意図して近年開発された複数の新規タグを採用することにより、今後、より良い S/N 比で Oxtr を検出できるゲノム編集マウスの作出を計画しており、神経細胞間のシナプスレベルで Oxtr の局在を超解像度で観察できるツールを開発する予定である。

(2)赤色蛍光タンパク質 tdTomato ノックインマウスを用いた Oxtr 発現細胞の可視化およびパッチクランプ法による電気生理学的解析

Oxtr 遺伝子の終止コドンを T2A-tdTomato カセットで置き換えることにより、内在性の転写制御を完全に反映したレポーターマウスを作製した。T2A 配列はリボソームによる翻訳をスキップさせる機構により、1つの mRNA から 2 つのタンパク質を翻訳することを可能にするため、Oxtr 発現細胞において tdTomato を発現させることができる。EGFP と比べて 2.5 倍高い蛍光強度を持つ tdTomato は個体内イメージングに適しており、本レポーターマウスにおいても tdTomato に対する免疫染色を行うことなく蛍光を観察できるため、脳切片で tdTomato 陽性細胞(=Oxtr 発現細胞)に対してパッチクランプ法による電気生理学的解析を行うことができる。実際に 4 週齢マウス脳の急性スライス標本作製し、前頭前皮質においてパッチクランプ法により tdTomato 陽性細胞から電気応答を記録し、Oxtr アゴニスト TGOT への応答を調べたところ、電気応答に変化が生じることが確認できた。つまり、tdTomato 陽性細胞は Oxtr を発現する細胞を正確に蛍光ラベルしており、この新規系統が信頼性のあるレポーターマウスであることが示された。また、既存の Oxtr-Venus ノックインマウスではレポーターの蛍光が弱く、このような電気生理学的解析は行えなかったことから本系統の有用性が示された。

(3)Cre ドライバーマウス、誘導型 Cre-ERT2 ドライバーマウスの樹立と検証

既存の 2 種の Oxtr-Cre ドライバーマウスは、IRES(internal ribosomal entry site)システムを用いたものであり、Cre 組換え酵素の発現効率が低いことが難点であった。また、時空間特異的に Cre 活性を誘導できる Cre-ERT2 ドライバーマウスは作製されていなかった。

本研究では、Oxtr 遺伝子の終止コドンを T2A-iCre カセットあるいは T2A-iCre-ERT2 で置き換えることにより、iCre 発現マウスを新たに作製した。iCre (codon-improved Cre recombinase) は、P1 バクテリオファージ由来の Cre のコドンを哺乳類のコドンに最適化したものであり、マウス個体内でより安定的な Cre 発現が期待される。

Oxtr-T2A-iCre マウスの評価は、6 週齢マウスに Cre 依存的アデノ随伴ウイルス PHP.eB-DIO-EGFP を眼窩静脈叢経路で投与した後、11 週齢で脳組織を免疫組織化学的に解析し、EGFP 陽性細胞の分布を調べることによって行なった。その結果 EGFP 陽性細胞は、前述(1)のエピトープタグ発現、および前述(2)の tdTomato 発現と対応する脳部位に分布することが確認され、Oxtr 発現細胞において正確に Cre 組換え酵素を誘導できるツールであることが確認できた。

Oxtr-T2A-iCre-ERT2 マウスの評価は、まずこのマウスを、汎用される Cre レポーターマウスである Ai9(Cre 依存的に強い tdTomato 赤色蛍光タンパク質発現が誘導される)と交配して、得られたダブルヘテロマウスにタモキシフェンを経口投与することにより行なった。Cre に変異型エストロゲン受容体を結合させた Cre-ERT2 は、単独では細胞質に存在し DNA 組換えを誘導できないが、エストロゲン受容体の部分作動薬であるタモキシフェンと結合すると細胞核に移行して LoxP 配列の組換えを誘導する。それにより、Ai9 座位から tdTomato レポーターの発現が得られる。4 週齢で 5 日間のタモキシフェン経口投与を行い、5 週齢で脳切片を解析した結果、Oxtr 発現細胞の一部で Cre 活性を誘導できることが示され、初の誘導型 Cre ドライバーマウスとして樹立することができた。

(4)既存の Cre レポーターマウス(Ai9)をゲノム編集によって改変することにより、Oxtr を発現する神経細胞の細胞体の位置と投射先をより明瞭に可視化する試み

前述の Ai9 マウスは Rosa26 座位に強力な CAG プロモーター配列・LoxP に挟まれた STOP シグナル配列・tdTomato 配列がノックインされている。Cre 組換え酵素が働くと STOP が外れ、Rosa26 のセーフハーバー効果に加えて CAG プロモーターによる極めて強力な tdTomato 発現が得られるため、神経細胞の可視化ツールとして定評がある。しかしながら、tdTomato は神経細胞内へ拡散するため、近接する多数の神経細胞が目的遺伝子を発現している場合、細胞体・軸索・樹上突起が渾然一体となってしまう、個々の神経連絡を区別することができないことが難点であったため、Ai9 をゲノム編集により改良することを着想した。具体的には、tdTomato 配列に核移行シグナルを追加することにより、神経細胞全体に拡散してしまっていた tdTomato を核へ集約させ、Cre 発現細胞(=ここでは Oxtr 発現細胞)の細胞体の位置を特定し、さらに T2A 配列を利用した共発現系により、tau-Venus 融合体を発現させる改変を行なった。tau は神経細胞の軸索輸送により軸索先端まで運ばれるため、Cre を発現する神経細胞の投射先を Venus で明瞭に可視化することが期待される。ゲノム編集は成功し、改変型 Ai9 マウスを樹立出来たが、期待通りのレポーター機能を発揮するかどうかの評価を終えることができなかった。

具体的には、新たに樹立した改変型 Ai9 マウスを、前述(3)で作出した Oxtr-T2A-iCre マウスと交配した場合、予想通り Cre 発現細胞で tdTomato が核移行し、tau-Venus により神経突起をクリアに観察することができた。しかしながら、Oxtr-T2A-iCre-ERT2 マウスと交配し、タモキシフェンによる Cre 活性誘導を試みたが、予想通りの誘導が得られておらず、その原因を突き止めることができなかったため、研究期間内に論文発表に至らなかった。

(5)本研究により新たに樹立したノックインマウス系統の国際的バイオリソースへの寄託

前述(1)~(3)で新たに樹立した 4 系統のゲノム編集マウスについて、米国神経科学会公式ジャーナルに論文発表し、同学会年会でポスター発表を行なった。また、これらのマウス系統を理研バイオリソースセンターおよび米国ジャクソンラボラトリーに寄託し、国内外のオキシトシン研究者への提供が容易になるよう整備した。既に、多数の国内外の研究者へマウスを提供し、共同研究が始まっている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Inoue Yukiko U., Miwa Hideki, Hori Kei, Kaneko Ryosuke, Morimoto Yuki, Koike Eriko, Asami Junko, Kamijo Satoshi, Yamada Mitsuhiro, Hoshino Mikio, Inoue Takayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 0423 ~ 21.2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0423-21.2022	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 -
1. 著者名 Inoue Yukiko U., Morimoto Yuki, Yamada Mayumi, Kaneko Ryosuke, Shimaoka Kazumi, Oki Shinji, Hotta Mayuko, Asami Junko, Koike Eriko, Hori Kei, Hoshino Mikio, Imayoshi Itaru, Inoue Takayoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 An Optimized Preparation Method for Long ssDNA Donors to Facilitate Quick Knock-In Mouse Generation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1076 ~ 1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10051076	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 -
1. 著者名 井上(上野)由紀子, 早瀬ヨネ子, 星野幹雄, 佐藤大気, 河田雅圭, 佐久間哲史, 山本卓, 井上高良	4. 巻 57
2. 論文標題 ヒト化マウスを用いて脳神経系の多様性を読み解く	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 月刊細胞 2021年6月号 ゲノム編集による新しいモデル動物	6. 最初と最後の頁 52-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Ryuichi, Inoue Yukiko U., Kikkawa Takako, Tatehana Misako, Morimoto Yuki, Inada Hitoshi, Oki Shinya, Inoue Takayoshi, Osumi Noriko	4. 巻 251
2. 論文標題 Detection of REST expression in the testis using epitope tag knock in mice generated by genome editing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Dynamics	6. 最初と最後の頁 525 ~ 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dvdy.417	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazawa Toshiko, Kobayashi Takuya, Kurebayashi Nagomi, Konishi Masato, Noguchi Satoru, Inoue Takayoshi, Inoue Yukiko U., et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel RyR1-selective inhibitor prevents and rescues sudden death in mouse models of malignant hyperthermia and heat stroke	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4293 (2021)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24644-1	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 該当する

1. 著者名 Nitahara-Kasahara Yuko, Mizumoto Shuji, Inoue Yukiko U., et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 A new mouse model of Ehlers-Danlos syndrome generated using CRISPR/Cas9-mediated genomic editing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Disease Models and Mechanisms	6. 最初と最後の頁 dmm048963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dmm.048963	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 -

1. 著者名 Nitahara-Kasahara Yuko, Posadas-Herrera Guillermo, Mizumoto Shuji, Nakamura-Takahashi Aki, Inoue Yukiko U., Inoue Takayoshi, Nomura Yoshihiro, Takeda Shin'ichi, Yamada Shuhei, Kosho Tomoki, Okada Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Myopathy Associated With Dermatan Sulfate-Deficient Decorin and Myostatin in Musculocontractural Ehlers-Danlos Syndrome: A Mouse Model Investigation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 695021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.695021	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 -

1. 著者名 Hayase Yoneko, Amano Shigeru, Hashizume Koichi, Tominaga Takashi, Miyamoto Hiroyuki, Kanno Yukie, Ueno-Inoue Yukiko, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Down syndrome cell adhesion molecule like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-01082-6	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 -

1. 著者名 Matsuzaka Yasunari, Tanihata Jun, Ooshima Yoshiko, Yamada Daisuke, Sekiguchi Masayuki, Miyatake Shouta, Aoki Yoshitsugu, Terumitsu Mika, Yashiro Ryu, Komaki Hirofumi, Ishiyama Akihiko, Oya Yasushi, Inoue Yukiko U., Inoue Takayoshi, Takeda Shin'ichi, Hashido Kazuo	4. 巻 18
2. 論文標題 The nSMase2/Smpd3 gene modulates the severity of muscular dystrophy and the emotional stress response in mdx mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Medicine	6. 最初と最後の頁 343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12916-020-01805-5	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 -

1. 著者名 Hiraga Kou, Inoue Yukiko U., Asami Junko, Hotta Mayuko, Morimoto Yuki, Tatsumoto Shoji, Hoshino Mikio, Go Yasuhiro, Inoue Takayoshi	4. 巻 3
2. 論文標題 Redundant type II cadherins define neuroepithelial cell states for cytoarchitectonic robustness	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01297-2	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 -

1. 著者名 Arimura Nariko, Okada Mako, Taya Shinichiro, Dewa Ken-ichi, Tsuzuki Akiko, Uetake Hiroto, Miyashita Satoshi, Hashizume Koichi, Shimaoka Kazumi, Egusa Saki, Nishioka Tomoki, Yanagawa Yuchio, Yamakawa Kazuhiro, Inoue Yukiko U., Inoue Takayoshi, Kaibuchi Kozo, Hoshino Mikio	4. 巻 6
2. 論文標題 DSCAM regulates delamination of neurons in the developing midbrain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba1693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba1693	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara Yuko, Mizobe Yoshitaka, Inoue Yukiko U., Hashimoto Yasumasa, Motohashi Norio, Masaki Yoshiaki, Seio Kohji, Takeda Shin'ichi, Nagata Tetsuya, Wood Matthew J. A., Inoue Takayoshi, Aoki Yoshitsugu	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel EGFP reporter cell and mouse models for sensitive imaging and quantification of exon skipping	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-67077-4	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 -

1. 著者名 Sato Daiki X., Inoue Yukiko U., Kuga Nahoko, Hattori Satoko, Nomoto Kensaku, Morimoto Yuki, Sala Giovanni, Hagihara Hideo, Kikusui Takefumi, Sasaki Takuya, Ikegaya Yuji, Miyakawa Tsuyoshi, Inoue Takayoshi, Kawata Masakado	4. 巻 25
2. 論文標題 Humanized substitutions of Vmat1 in mice alter amygdala-dependent behaviors associated with the evolution of anxiety	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104800 ~ 104800
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104800	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 -

1. 著者名 Oyama Kotaro, Zeeb Vadim, Yamazawa Toshiko, Kurebayashi Nagomi, Kobirumaki-Shimozawa Fuyu, Murayama Takashi, Oyamada Hideto, Noguchi Satoru, Inoue Takayoshi, Inoue Yukiko U., Nishino Ichizo, Harada Yoshie, Fukuda Norio, Ishiwata Shin'ichi, Suzuki Madoka	4. 巻 119
2. 論文標題 Heat-hypersensitive mutants of ryanodine receptor type 1 revealed by microscopic heating	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2201286119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2201286119	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 -

1. 著者名 Tsuboi Yoshitaka, Oyama Kotaro, Kobirumaki-Shimozawa Fuyu, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Tachibana Toshiaki, Manome Yoshinobu, Kikuchi Emi, Noguchi Satoru, Inoue Takayoshi, Inoue Yukiko U., Nishino Ichizo, Mori Shuichi, Ishida Ryosuke, Kagechika Hiroyuki, Suzuki Madoka, Fukuda Norio, Yamazawa Toshiko	4. 巻 154
2. 論文標題 Mice with R2509C-RYR1 mutation exhibit dysfunctional Ca ²⁺ dynamics in primary skeletal myocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of General Physiology	6. 最初と最後の頁 e202213136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1085/jgp.202213136	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 -

1. 著者名 Inoue Michio, Noguchi Satoru, Inoue Yukiko U., Iida Aritoshi, Ogawa Megumu, Bengoechea Rocio, Pittman Sara K., Hayashi Shinichiro, Watanabe Kazuki, Hosoi Yasushi, Sano Terunori, Takao Masaki, Oya Yasushi, Takahashi Yuji, Miyajima Hiroaki, Wehl Conrad C., Inoue Takayoshi, Nishino Ichizo	4. 巻 145
2. 論文標題 Distinctive chaperonopathy in skeletal muscle associated with the dominant variant in DNAJB4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 235 ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-022-02530-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計39件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 井上（上野）由紀子
2. 発表標題 ゲノム編集によるオキシトシン受容体発現細胞の可視化・操作ツールの開発
3. 学会等名 東京慈恵会医科大学 医学研究の基礎を語り合う集い第468回 シリーズ・神経機能研究の最前線No.65（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takako Kikkawa, Yoshio Wakamatsu, Yukiko U. Inoue, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Transport mechanisms of Cyclin D2 mRNA and protein along the basal process of neural stem/progenitor cells of the developing brain
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryosuke Kaneko, Manabu Abe, Yusuke Takatsuru, Yukiko U. Inoue, Masahiko Watanabe, Kenji Sakimura, Yuchio Yanagawa, Takeshi Yagi
2. 発表標題 Visualization of Protocadherin neuronal self-recognition code
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川貴子、若松義雄、井上-上野由紀子、鈴木久仁博、井上高良、大隅典子
2. 発表標題 放射状グリア細胞における細胞周期因子Cyclin D2のmRNA輸送機構の解析：有胎盤類の脳皮質拡大に寄与する可能性
3. 学会等名 日本解剖学会 第67回東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 John Mains-Sheard1, Misako Tatehana, Hitoshi Inada, Takako Kikkawa, Ryuichi Kimura, Yukiko U. Inoue, Yuki Morimoto, Shinya Oki, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Expression Changes of REST/NRSF in Spermatogenesis from Neonatal to Adult Murine Testis
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中武 優子、古家 宏樹、井上-上野 由紀子、井上 高良、吉澤 一巳、 星野 幹雄、山田 光彦
2. 発表標題 社会的敗北ストレス場面の目撃を利用した心理社会的ストレスモデル
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会 シンポジウム「新規うつ病動物モデルの発展と今後の課題」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大野創平、堀江直人、横森将輝、井上-上野由紀子、井上高良、崎村建司、内野茂夫
2. 発表標題 自閉スペクトラム症関連分子SHANK3のアイソフォームの脳内発現解析
3. 学会等名 日本神経精神薬理学会 NPBPPP2020合同年会オンライン
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sharmin Naher, Takako Kikkawa, Yukiko U Inoue, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 The molecular mechanism of Cyclin D2 mRNA transport in the radial glial cells during cortical development
3. 学会等名 日本神経精神薬理学会 NPBPPP2020合同年会オンライン
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川貴子、Cristine Casingal、Sharmin Naher、井上-上野由紀子、井上高良、大隅典子
2. 発表標題 胎生期の神経前駆細胞内におけるmRNA調節メカニズム
3. 学会等名 日本神経精神薬理学会 NPBPPP2020合同年会オンライン
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大野創平、堀江直人、横森将輝、井上-上野由紀子、井上高良、崎村建司、内野茂夫
2. 発表標題 マウスの脳におけるSHANK3アイソフォームの発現解析
3. 学会等名 第63回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子涼輔、阿部学、高鶴裕介、井上(上野) 由紀子、渡辺雅彦、崎村建司、柳川右千夫、八木健
2. 発表標題 神経細胞識別コードの可視化：クラスター型プロトカドヘリンの発現解析
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sharmin Naher, Takako Kikkawa, Yukiko U Inoue, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Investigation of the molecular mechanism of Cyclin D2 mRNA transport in neural stem/progenitor cells and its impact on corticogenesis
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sharmin Naher, Takako Kikkawa, Yukiko U Inoue, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Identification of motor proteins mediating transport of Cyclin D2 mRNA in radial glial cells during corticogenesis
3. 学会等名 EMBO Virtual Symposium, The Complex Life of RNA (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takako Kikkawa, Yoshio Wakamatsu, Yukiko U Inoue, Kunihiro Suzuki, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Transport mechanisms of Cyclin D2 mRNA along the basal process of neural stem/progenitor cells of the developing brain
3. 学会等名 EMBO Virtual Symposium, The Complex Life of RNA (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤大気, 井上 - 上野由紀子, 森本由起, 井上高良, 服部聡子, Giovanni Sala, 宮川剛, 河田雅圭
2. 発表標題 Vmat 1 ヒト型改変マウスを用いた網羅的行動解析
3. 学会等名 日本進化学会第22回オンライン大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takako Kikkawa, Yoshio Wakamatsu, Yukiko U Inoue, Kunihiro Suzuki, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Analysis of mRNA transport mechanism of a cell cycle regulator Cyclin D2 in radial glial cells: a possible mechanism for enlargement of the cortex
3. 学会等名 第126回 日本解剖学会・第98回 日本生理学大会 合同大会 (オンライン開催)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takako Kikkawa, Yoshio Wakamatsu, Yukiko U. Inoue, Takayoshi Inoue, Noriko Osumi
2. 発表標題 Basal transport of Ccnd2 mRNA in radial glial cells is important for the production of basal progenitors in the developing mouse cortex.
3. 学会等名 24th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤大気、井上-上野由紀子、森本由起、井上高良、久我奈穂子、佐々木拓哉、服部聡子、Giovanni Sala、宮川剛、河田雅圭
2. 発表標題 精神疾患の進化的理解：VMAT1遺伝子進化の影響を検証する
3. 学会等名 第1回日本科学振興協会総会・キックオフミーティング
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上(上野) 由紀子、三輪 秀樹、堀 啓、金子 涼輔、森本 由起、小池 絵里子、浅見 淳子、上條 諭志、山田 光彦、星野 幹雄、井上 高良
2. 発表標題 オキシトシン受容体発現細胞を可視化・操作するための新たなゲノム編集マウス
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子 涼輔、阿部 学、井上 由紀子、高鶴 裕介、渡辺 雅彦、崎村 建司、柳川 右千夫、八木 健
2. 発表標題 神経細胞識別コードの可視化：クラスター型プロトカドヘリンの発現解析
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野 七海、京 卓志、足澤 悦子、金子 涼輔、井上(上野)由紀子、井上 高良、松田 知己、永井 健治、八木 健
2. 発表標題 FRETを利用したインジケーターを用いたクラスター型プロトカドヘリンホモフィリックtrans相互作用の神経細胞での検出
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中武 優子、古家 宏樹、井上-上野 由紀子、井上 高良、吉澤 一巳、山田 光彦
2. 発表標題 前部島皮質のオキシトシンシグナルは社会的ストレスの伝達を仲介する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川 貴子、若松 義雄、井上-上野 由紀子、鈴木 久仁博、井上 高良、大隅 典子
2. 発表標題 有胎盤類特有のzip code配列獲得による放射状グリア細胞内mRNA輸送機構の進化
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 嶋岡 可純、堀 啓、井上 由紀子、郷 康弘、阿部 学、崎村 建司、井上 高良、星野 幹雄
2. 発表標題 自閉症感受性遺伝子AUTS2はマウス大脳皮質において上層神経細胞の産生に関与する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 足立 透真、一條 研太郎、大輪 智雄、宮下 聡、井上 由紀子、井上 高良、中村 卓郎、星野 幹雄
2. 発表標題 小脳グリア細胞に発現するMEIS1タンパク質の小脳発生期における機能解明
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤原 悠紀、Viorica Raluca Contu、株田 千華、小川 恵、宮城 美月、酒井 了平、長谷 勝徳、鈴木 マリ、小山 郁子、井上 道雄、大矢 寧、井上 由紀子、川野 竜司、井上 高良、高橋 良輔、西野 一三、和田 圭司、野口 悟、株田 智弘
2. 発表標題 神経・筋恒常性に必須の新たな細胞内タンパク質分解経路の同定
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mio Kawai, Koji Takahashi, Mitsumasa Takenaga, Yukiko U. Inoue, Shota Nakade, Naoaki Sakamoto, Tetsushi Sakuma and Takashi Yamamoto
2. 発表標題 Development of concurrent MMEJ-assisted fusional knock-in technique to insert a long gene cassette in human cells and mouse embryos mediated by CRISPR-Cas9
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting - Genome Engineering: CRISPR Frontiers (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukiko U. Inoue, Hideki Miwa, Kei Hori, Ryosuke Kaneko, Yuki Morimoto, Eriko Koike, Junko Asami, Satoshi Kamijo, Mitsuhiko Yamada, Mikio Hoshino, Takayoshi Inoue
2. 発表標題 Targeting neurons with functional oxytocin receptors: A novel set of simple knock-in mouse lines for oxytocin receptor visualization and manipulation
3. 学会等名 Society for Neuroscience 51st Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上(上野) 由紀子、三輪 秀樹、堀 啓、金子 涼輔、森本 由起、小池 絵里子、浅見 淳子、上條 諭志、山田 光彦、星野 幹雄、井上 高良
2. 発表標題 オキシトシン受容体発現細胞を可視化・操作するための新たなゲノム編集マウス
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野七海、京卓志、足澤悦子、金子涼輔、井上(上野)由紀子、井上高良、松田知己、永井健治、八木健
2. 発表標題 FRETを用いたクラスター型プロトカドヘリンの神経細胞間ホモフィリック相互作用の可視化
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笠原(仁田原)優子、水本 秀二、井上(上野)由紀子、井上 高良、吉沢 隆浩、山田 修平、野村 義宏、武田 伸一、古庄 知己、岡田 尚巳
2. 発表標題 筋拘縮型エーラス・ダンロス症候群におけるデルマタン4-0-硫酸基転移酵素-1欠損に基づくデコリン機能不全とミオパチー病態
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 呉林 なごみ、児玉 昌美、村山 尚、杉原 匡美、石井 光一郎、岡部 雄太、村越 伸行、三浦 綾、西尾 元、井上-上野 由紀子、井上 高良、野口 悟、中村 衣里、金井 富士夫、多田 昇弘、櫻井 隆
2. 発表標題 複数のRyR2変異マウスモデル系統を用いたカテコラミン誘発性多型性心室頻拍(CPVT)に対する抗不整脈薬の評価
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daiki X. Sato, Yukiko U. Inoue, Nahoko Kuga, Satoko Hattori, Yuki Morimoto, Giovanni Sala, Takuya Sasaki, Tsuyoshi Miyakawa, Takayoshi Inoue, Masakado Kawata
2. 発表標題 Introduction of human-specific mutations into mouse Vmat1 reveals a functional mechanism behind evolution of anxiety.
3. 学会等名 第21回武田科学振興財団生命科学シンポジウム ヒト発生と進化の理解に向けて
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nagomi Kurebayashi, Masami Kodama, Takashi Murayama, Masami Sugihara, Masato Konishi, Aya Miura, Hajime Nishio, Yukiko U. Inoue, Takayoshi Inoue, Satoru Noguchi, Takashi Sakurai
2. 発表標題 ARRHYTHMIA SEVERITY IN MOUSE MODELS HARBORING RYR2 MUTATIONS WITH VARIED EXTENT OF CHANNEL ACTIVITY
3. 学会等名 67th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大隅典子、井上(上野)由紀子、館花美沙子、吉川貴子、稲田仁、井上高良
2. 発表標題 ゲノム編集を用いたPA標識マウスによるREST/NRSF局在動態の観察
3. 学会等名 第128回日本解剖学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川貴子、若松義雄、井上-上野由紀子、鈴木久仁博、井上高良、大隅典子
2. 発表標題 放射状グリア細胞内のmRNA-タンパク輸送ダイナミクスとその進化的意義
3. 学会等名 第128回日本解剖学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 呉林 なごみ, 児玉 昌美, 村山 尚, 杉原 匡美, 小西真人, 三浦 綾, 西尾 元, 井上-上野 由紀子, 井上 高良, 野口 悟, 櫻井 隆
2. 発表標題 抗不整脈薬の効果検証に向けた様々なRyR2変異マウスの活用
3. 学会等名 第32回日本循環薬理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 呉林 なごみ, 児玉 昌美, 村山 尚, 杉原 匡美, 小西 真人, 三浦 綾, 西尾 元, 井上 上野 由紀子, 井上 高良, 野口 悟, 櫻井 隆
2. 発表標題 CPVTマウスモデルの疾患表現型と変異RyR2チャネル活性の関係
3. 学会等名 第100回日本生理学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 児玉 昌美, 呉林 なごみ, 村山 尚, 杉原 匡美, 小西 真人, 三浦 綾, 西尾 元, 井上-上野 由紀子, 井上 高良, 野口 悟, 櫻井 隆
2. 発表標題 複数のRyR2変異マウス系統を用いた抗不整脈薬の検証
3. 学会等名 第100回日本生理学大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第6部 https://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r6/index-lab2/
--

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------