

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15207

研究課題名（和文）線条体の神経活動を制御する入力的时间枠と空間枠

研究課題名（英文）Spatial and temporal window of inputs controlling striatal activity

研究代表者

横山 達士（Yokoyama, Tatsushi）

京都大学・生命科学研究科・研究員

研究者番号：30892260

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：随意運動の実行には、線条体の神経活動が必要である。本研究では、高感度の赤色カルシウムセンサー「RCaMP3」と緑色cAMPセンサー「cAMPinG1」を開発し、運動中のマウスの線条体におけるカルシウムとcAMPのダイナミクスをin vivoで可視化した。この研究結果は、線条体の細胞内シグナル制御を解明するための技術に貢献すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、線条体におけるカルシウムとcAMPのダイナミクスを可視化することができた。この研究成果により、線条体への入力と線条体の神経活動や細胞内シグナル伝達との関係を解明するための、蛍光イメージング技術基盤の開発に成功したと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Voluntary movement needs neural activities in the striatum. Here I developed a sensitive red calcium indicator RCaMP3 and green cAMP indicator cAMPinG1 and visualized calcium and cAMP dynamics in the striatum of running mice in vivo.

研究分野：神経科学

キーワード：線条体 カルシウム cAMP

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

動物が行動する際、脳は必要な運動計画のみを無意識に選択する。この神経基盤として、線条体のドパミン D1 受容体陽性有棘投射神経細胞 (spiny projection neuron, SPN) とドパミン D2 受容体陽性 SPN (D2R-SPN) が相互抑制的に協調して活動することで、運動が選択されると考えられている。この異常はパーキンソン病やチック障害などの運動症状の原因として考えられており、ドパミンを標的とした薬物治療の根拠となっている。よって、線条体 SPN の活動がどのように制御されるかを解明することは、学術的にも臨床的にも重要である。

線条体の神経活動は、他の脳領域からの入力により、即時的・協調的に制御されると考えられている。しかし、この入力のダイナミクスや、入力と線条体神経活動との関係は、詳細にはわかっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、線条体への入力と線条体の神経活動や細胞内シグナル伝達との関係を解明するための、蛍光イメージング技術基盤の開発を行う。

3. 研究の方法

本研究では、遺伝子にコードされた高感度の赤色 Ca^{2+} センサー「RCaMP3」と緑色 cAMP センサー「cAMPinG1」を開発した[Fig.1]。RCaMP3 は Ca^{2+} と結合するとその赤色蛍光が明るくなる。cAMPinG1 は cAMP と結合するとその緑色蛍光が明るくなる。これらのセンサーを細胞に発現させ、蛍光顕微鏡で観察することで、生きた細胞内の分子動態を観察することができる。また、RCaMP3 は赤色、cAMPinG1-NE は緑色であるため、光学的にこれら 2 つの蛍光シグナルを分離することができる。

アデノ随伴ウイルス (AAV) を用いてマウスの背側線条体の SPN に RCaMP3 と cAMPinG1-NE を発現させた。cAMPinG1-NE は cAMPinG1 の C 末端に核外搬出シグナルを融合したセンサーであり、細胞質に局在する。頭部固定下でファイバーフォトメトリー法により背側線条体の Ca^{2+} と cAMP に対する 2 色同時イメージングを行いながら、マウスを強制走行させることで、運動中のマウス SPN における細胞内シグナル変化を *in vivo* で可視化した。



4. 研究成果

RCaMP3 と cAMPinG1-NE に対する同時ファイバーフォトメトリー法により、強制走行中の線条体における Ca^{2+} と cAMP の動態が明らかとなった。マウスを強制走行させると、まず線条体の神経細胞の Ca^{2+} が上昇し、数秒遅れて cAMP が上昇していた。10 秒間の強制走行後、 Ca^{2+} は 10 秒以内に元の濃度まで戻った。一方で、cAMP については強制走行直後から濃度が減少し、その後数十秒かけて走行前の濃度よりも更に減少し、1 分程度かけて元の濃度に戻った。

以上の cAMP 動態は、点変異の導入により cAMP が結合することができないネガティブコントロールである cAMPinG1mut-NE では観察されなかった。よって、cAMPinG1-NE の蛍光変化は、cAMP の結合に依存することがわかった。更に、先行研究にて報告されていた cAMP センサーである G-Flamp1 よりも cAMPinG1-NE の方が、より頑強に蛍光シグナル変化を検出でき、cAMPinG1-NE の優位性を示すことができた。

本研究により、cAMPinG1-NE が既存の cAMP センサーに比べて高感度であることを示すことが出来た。更に、緑色と赤色の 2 色イメージングにより、線条体における Ca^{2+} と cAMP 動態を同時に可視化することができた。これらの研究成果により、線条体への入力と線条体の神経活動や細胞内シグナル伝達との関係を解明するための、蛍光イメージング技術基盤の開発に成功したと考えられる。

本研究成果は、2024 年 3 月、科学雑誌「Nature Methods」に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yokoyama Tatsushi, Manita Satoshi, Uwamori Hiroyuki, Tajiri Mio, Imayoshi Itaru, Yagishita Sho, Murayama Masanori, Kitamura Kazuo, Sakamoto Masayuki	4. 巻 -
2. 論文標題 A multicolor suite for deciphering population coding in calcium and cAMP in vivo	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2023.01.06.522686	査読の有無 無
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 Zhang Xiao Min, Yokoyama Tatsushi, Sakamoto Masayuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Imaging Voltage with Microbial Rhodopsins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 738829
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmolb.2021.738829	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 Sakamoto Masayuki, Inoue Masatoshi, Takeuchi Atsuya, Kobari Shigetaka, Yokoyama Tatsushi, Horigane Shin-ichiro, Takemoto-Kimura Sayaka, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Kano Masanobu, Kitamura Kazuo, Fujii Hajime, Bito Haruhiko	4. 巻 2
2. 論文標題 A Flp-dependent G-CaMP9a transgenic mouse for neuronal imaging in vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100168 ~ 100168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.crmeth.2022.100168	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 Yokoyama Tatsushi, Manita Satoshi, Uwamori Hiroyuki, Tajiri Mio, Imayoshi Itaru, Yagishita Sho, Murayama Masanori, Kitamura Kazuo, Sakamoto Masayuki	4. 巻 21
2. 論文標題 A multicolor suite for deciphering population coding of calcium and cAMP in vivo	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 897 ~ 907
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41592-024-02222-9	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 横山 達士
2. 発表標題 高感度cAMPプローブの開発と応用
3. 学会等名 NEURO2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山 達士
2. 発表標題 カルシウムと cAMPによる集団符号化のin vivo可視化
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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