

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03339

研究課題名(和文)カルシウム依存的神経回路形成の分子機構と脳機能制御

研究課題名(英文)Elucidation of molecular mechanisms underlying calcium-dependent neural circuit formation and its control of brain function

研究代表者

竹本 さやか(木村さやか)(Sayaka, Takemoto-Kimura)

名古屋大学・環境医学研究所・教授

研究者番号：70372365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：シナプス可塑性といった可塑的变化を制御する代表的経路であるカルシウム依存的経路が、幼弱神経細胞の神経回路形成においてどのような役割を果たすのが解明するため、独自に開発した遺伝子改変マウス、スライスイメージング法などを駆使し、多面的な研究を行った。特に、申請者がこれまでに研究を進めてきたカルシウム依存的リン酸化経路に着目し、カルシウム依存的リン酸化経路が神経突起伸展を制御する分子機構を明らかとした。また、神経回路形成に寄与するカルシウムチャンネルやその下流の分子についてヒトの精神疾患発症に関連する新たな変異を見出し意義付けを推進した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、カルシウム依存的シグナル伝達経路による神経回路形成制御機構とその異常のもたらす脳機能変化について研究を行った。本経路は、成熟した神経回路の可塑的变化において重要な役割を担うとされるが、神経回路形成の途上にある未成熟の神経細胞における役割は不明な点が多い。一方で、本経路の異常が精神疾患の素地になるともされるため、その解明は喫緊の課題である。本研究により、回路形成の分子メカニズムが進むとともに、精神疾患の発症においても本経路が重要な役割を担うことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the role of the calcium-dependent pathway in the formation of neural circuits in immature neurons, we conducted multifaceted research, including analyzing a genetically modified mouse and slice imaging. In particular, we focused on the calcium-dependent phosphorylation pathway and clarified the molecular mechanism by which the calcium-dependent phosphorylation pathway controls neurite outgrowth. We also discovered a new variant in calcium channels that also contributes to circuit formation that may contribute to the pathogenesis of mental disorders in humans.

研究分野：分子神経科学

キーワード：回路形成 カルシウム リン酸化酵素 神経細胞移動

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳が正しく機能するためには、緻密な神経回路形成が不可欠である。近年の研究により神経回路形成の異常が精神疾患の素地となることが判明し、その解明は医学的にも喫緊の課題である。研究代表者は、これまでに環境に応じた緻密な神経回路形成を支える細胞機構を探索し、幼弱神経細胞における自発的な神経 Ca^{2+} 活動と細胞形態形成の連関、すなわち、興奮形態形成連関の分子機構について研究を推進してきた。また、これまで不明であった本経路活性化を誘導する Ca^{2+} 流入源として、幼弱神経系における L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的再生的 Ca^{2+} 動員機構を見出した。この、幼弱神経系の興奮形態形成連関に寄与する Ca^{2+} 依存性のリン酸化経路 CaMKI と、その上流に位置する L 型 Ca^{2+} チャンネルは、これまでの研究では特に成熟した神経細胞の可塑的变化を制御する分子経路であることが知られており、幼弱神経細胞においてどのような役割を有しているのかについては不明な点が多い。そこで、本研究課題では、これまで明らかにしてきた、 Ca^{2+} 依存性の回路形成の分子機構と脳機能制御を *in vivo* において解明した。

2. 研究の目的

これまでの研究により、L 型 Ca^{2+} チャンネルの下流で興奮形態形成連関が制御され、その破綻が神経回路形成異常をもたらす、精神疾患の病態機序となりうることを示唆されている。本研究では、これまで研究代表者が、緻密な神経回路形成を支える細胞機構として明らかとしてきた、幼弱神経細胞における自発的な神経 Ca^{2+} 活動と細胞形態形成制御の連関、すなわち、興奮形態形成連関について研究を進める。特に、その分子実態として Ca^{2+} 依存性のリン酸化経路 CaMKK-CaMKI と、その上流に位置する L 型 Ca^{2+} チャンネル(Cav1.2)に着目し、興奮形態形成連関による回路形成制御の分子基盤とその破綻に伴う脳機能変化を、*in vivo* において解明することを目指し、多面的な検討を行った。

3. 研究の方法

前項の目的のため、以下の研究項目ごとに研究を推進した。

(1) 発生-発達期神経系における L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的 Ca^{2+} 動態の実証：

これまでに培養神経細胞で見出した L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的 Ca^{2+} 動態が、スライス培養下で放射状移動中の神経細胞においても観察されるか、 Ca^{2+} センサータンパク質 GCaMP を用いたスライス下 Ca^{2+} イメージングにより検討した。また、L 型 Ca^{2+} チャンネルが神経回路形成段階においていつから発現するのか明らかとするため、*in situ* hybridization 法による発現の検討を行った。

(2) 神経回路形成を担う Ca^{2+} 依存性の経路により制御される神経回路形成機構とその異常により生じる行動変化の解明：

L 型 Ca^{2+} チャンネルの点変異が自閉スペクトラム症を併発する Timothy 症候群の原因となることが分かっている。この点変異をノックインした遺伝子改変マウスを用いて、行動変化および組織学的異常を検討した。

4. 研究成果

それぞれの研究項目について、以下の点が明らかとなった。

(1) 発生-発達期神経系における L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的 Ca^{2+} 動態の実証：

L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的カルシウム変動が、マウス胎児脳スライスにおいて認められたため、本カルシウム変動が出現する部位やタイミングを、大脳新皮質錐体細胞となる移動中の幼弱神経細胞をモデル系として検証した。その結果、胎仔脳内において脳室帯から中間層を通過して皮質板へ移動中の幼弱神経細胞は、中間層の上部より L 型 Ca^{2+} チャンネル依存的な自発的カルシウム変動を示すことを明らかとした。また、本知見と合致して、中間層の上部を移動中の神経細胞が L 型 Ca^{2+} チャンネル mRNA を発現することを、*in situ* hybridization 法により示した。これにより、移動途上の神経細胞の示す自発的カルシウム変動の成熟過程の一端を解明し、論文にて報告した (Horigane et al. Neuroscience research, 2020)。更に、見出したカルシウム変動と神経細胞移動との関連について、多面的な検証を行った。

(2) 神経回路形成を担う Ca^{2+} 依存性の経路により制御される神経回路形成機構とその異常により生じる行動変化の解明：

神経発達障害の一因とされる神経回路形成の障害が、興奮形態形成連関を担う分子群によって生じることから、回路形成から成体期に至る病態機序を明らかとすることを目指した。L 型 Ca^{2+} チャンネルの構成的活性化変異ノックイン系統を用い、マウス行動解析を行ったところ、複数のマウス間で観察される社会的優位性に異常を示すことをインテリケージシステムを用いて明らかとした。更に、回路形成過程においては、抑制性神経細胞の移動が障害されていることを見出し、行動異常発生のメカニズムとして初期の回路形成が寄与する可能性を見出し、これらを論文にて報告した (Horigane et al. FEBS open bio, 2020)。また、本学精神科患者より同定された、L

型 Ca^{2+} チャネルの新規変異について、L型 Ca^{2+} チャネル機能への影響を検討し、チャネルを介した Ca^{2+} 流入が増加する可能性を見出し発表した (Wang et al. Translational Psychiatry, 2022)。更に、L型 Ca^{2+} チャネルや下流で活性化されるリン酸化酵素に注目し、神経発達症患者より見いだされた変異について機能的な意義付けを行い、新たな病態モデルマウスの開発に成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujii H, Kidokoro H, Kondo Y, Kawaguchi M, Horigane S, Natsume J, Takemoto-Kimura S, Bito H	4. 巻 15
2. 論文標題 Forster resonance energy transfer-based kinase mutation phenotyping reveals an aberrant facilitation of Ca ²⁺ /calmodulin-dependent CaMKII activity in de novo mutations related to intellectual disability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Mol. Neurosci.	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/fnmol.2022.970031	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 Wang C, Horigane SI, Wakamori M, Ueda S, Kawabata T, Fujii H, Kushima I, Kimura H, Ishizuka K, Nakamura Y, Iwayama Y, Ikeda M, Iwata N, Okada T, Aleksic B, Mori D, Yoshida T, Bito H, Yoshikawa T, Takemoto-Kimura S, Ozaki N	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of ultra-rare disruptive variants in voltage-gated calcium channel-encoding genes in Japanese samples of schizophrenia and autism spectrum disorder	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	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） 10.1038/s41398-022-01851-y	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 Ueda S, Hosokawa M, Arikawa K, Takahashi K, Fujiwara M, Kakita M, Fukada T, Koyama H, Horigane SI, Itoi K, Kakeyama M, Matsunaga H, Takeyama H, Bito H, Takemoto-Kimura S	4. 巻 14
2. 論文標題 Distinctive Regulation of Emotional Behaviors and Fear-Related Gene Expression Responses in Two Extended Amygdala Subnuclei With Similar Molecular Profiles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular 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/fnmol.2021.741895	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 Horigane Shin-ichiro, Hamada Shun, Kamijo Satoshi, Yamada Hirokazu, Yamasaki Miwako, Watanabe Masahiko, Bito Haruhiko, Ohtsuka Toshihisa, Takemoto-Kimura Sayaka	4. 巻 169
2. 論文標題 Development of an L-type Ca ²⁺ channel-dependent Ca ²⁺ transient during the radial migration of cortical excitatory neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 17~26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.06.003	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 Horigane Shin ichiro, Ozawa Yukihiro, Zhang Jun, Todoroki Hiroe, Miao Pan, Haijima Asahi, Yanagawa Yuchio, Ueda Shuhei, Nakamura Shigeo, Kakeyama Masaki, Takemoto Kimura Sayaka	4. 巻 10
2. 論文標題 A mouse model of Timothy syndrome exhibits altered social competitive dominance and inhibitory neuron development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 1436 ~ 1446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12924	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10件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 竹本 さやか
2. 発表標題 扁桃体微小神経核における情動制御分子基盤の探索
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takemoto-Kimura S, Ueda S
2. 発表標題 Exploring the molecular and neuronal bases involved in central amygdala-dependent control of emotional behaviors
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Pan M, Ozawa Y, Ueda S, Abe M, Sakimura K, Horigane S, Takemoto-Kimura S
2. 発表標題 Phenotypic characterization of a novel mouse model for Timothy syndrome by a behavioral assessment battery
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 Ozawa Y, Pan M, Abe M, Sakimura K, Horigane S, Takemoto-Kimura S
2. 発表標題 Development of a nervous system-specific conditional knock-in mouse strain of a gain-of-function mutation in L-type Ca ²⁺ channel associated with Timothy syndrome
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 Murata H, Ueda S, Minoura K, Horigane S, Takemoto-Kimura S. Investigation of fear conditioning-induced myelin plasticity in the amygdala
2. 発表標題 Investigation of fear conditioning-induced myelin plasticity in the amygdala
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 Horigane S, Takemoto-Kimura S, Kamijo S, Adachi-Morishima A, Fujii H, Bito H
2. 発表標題 Calcium transients control a morphogenetic cycle underlying neuronal migratory movement
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 Takemoto-Kimura S
2. 発表標題 Exploring molecular pathways involved in central amygdala-dependent control of emotional behaviors
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takemoto-Kimura S
2. 発表標題 Essential functions of calcium-dependent signaling in neuronal morphogenesis and neuropsychiatric disorders
3. 学会等名 Circuit Construction in the Mammalian Brain 2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Horigane S, Takemoto-Kimura S, Kamijo S, Adachi-Morishima A, Fujii H, Bito H
2. 発表標題 Calcium transient as an intracellular beacon that orchestrates stepwise nucleus deformation required for neuronal migration
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 Hyodo F, Ozawa Y, Pan M, Ueda S, Abe M, Sakimura K, Horigane S, Takemoto-Kimura S.
2. 発表標題 Development of a novel mouse model of Timothy syndrome associated with autism spectrum disorder
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 Timothy症候群のモデル動物	発明者 竹本さやか、堀金慎一郎、小澤享弘、阿部学	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-108698	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------