

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03346

研究課題名(和文) 新生仔マウス体性感覚野で発見された新規タイプ自発活動の発生機序

研究課題名(英文) Investigation of mechanisms generating spontaneous activity in the neonatal mouse barrel cortex

研究代表者

岩里 琢治 (Iwasato, Takuji)

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・教授

研究者番号：00311332

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)：高等動物の神経回路は神経活動の影響を強く受けながら機能成熟する。生後発達初期の脳には外界からの刺激に依存しない「自発的な神経活動」が存在し、それが神経回路精緻化に重要な役割を担うことが知られている。研究代表者らは以前の研究で、「パッチワーク型」のユニークな時空間パターンを示す自発神経活動が新生仔マウス体性感覚野に存在することを報告した。本研究は、この新規タイプの自発活動の発生機序を理解することを目的として行われた。自発活動が発生すると想定される幼若マウスの三叉神経節をex vivoを中心とする手法により解析し、自発活動の存在、および、その性質の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生後発達初期の脳には外界からの刺激に依存しない「自発的な神経活動」が存在し、神経回路精緻化に重要な役割を担う。近年、発達期特異的な自発活動は広範な脳領域に存在することが明らかになりつつあり、その性質に注目が集まっている。研究代表者らは、新生仔マウス大脳皮質体性感覚野に新規の時空間パターンをもつ自発活動が検出されることを見出していた。本研究は、この自発活動の発生機序を理解することを目的とした。マウス体性感覚野は回路精緻化機構の卓越したモデルであり、本研究の成果は、他のモダリティでの研究との統合によって、発達期の神経回路精緻化機構の全体像の理解につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Spontaneous activity during the early postnatal period is thought to be crucial for the establishment of mature neural circuits. We previously found “patchwork”-type spontaneous activity in the neonatal barrel cortex. In this study, by establishing an ex vivo calcium imaging system, we found that neurons in the whisker-innervating region of the trigeminal ganglion of neonatal mice generate spontaneous activity. A small percentage of neurons showed some obvious correlated activity, and these neurons were mostly located close to one another. Trigeminal ganglion spontaneous activity was majorly exhibited by large diameter neurons, a characteristic of mechanosensory neurons, and was blocked by chelation of extracellular calcium. Moreover, this activity was diminished by the adult stage. Spontaneous activity in the trigeminal ganglion during the first postnatal week could be a source of spontaneous activity observed in the neonatal mouse barrel cortex.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 神経回路 生後発達 自発活動 体性感覚系 マウス

1. 研究開始当初の背景

高等動物の神経回路は神経活動の影響を強く受けながら機能成熟する。生後発達初期の哺乳類の脳には特徴的な時空間パターンをもつ自発神経活動が存在し、それが神経回路精緻化に重要な役割を担うことが、主に視覚系の研究において示されてきた。近年、こうした発達期特異的な自発活動が、視覚系に限定されない広範な脳領域に存在することが明らかになりつつあり、その性質や役割に注目が集まっている。研究代表者らは、独自に開発したマウス遺伝学的手法と二光子顕微鏡観察技術を駆使することによって、新生仔期のマウス大脳皮質一次体性感覚野（バレル野）では、ヒゲからの入力のない状態で、同じバレルに属する神経細胞が同期発火し、異なるバレルに属する神経細胞は別の同期発火をする、「パッチワーク型」の自発活動が観察されることを発見した（Mizuno et al., Cell Reports 2018）。新生仔期の視覚系では、自発活動は網膜で発生し網膜上を波状に伝播する。そして、それが上丘、及び、（視床を経由して）大脳皮質へと伝達される。聴覚系では、自発活動は内耳で発生し下丘、及び、（視床を経由して）大脳皮質聴覚野へと伝達される。一方、体性感覚野でみられる自発神経活動もまた視床皮質軸索を介して大脳皮質に伝達されるが、それが体性感覚系回路のどこでどのように発生するかは未解明である。

2. 研究の目的

研究代表者らは新生仔期のマウスバレル野に「パッチワーク型」という興味深い空間パターンを示す自発活動が観察されることを発見した。この新規タイプの自発活動の発生機序を明らかにすることが本研究課題の目的である。生まれて間もない哺乳類では手足などが不随意にびくびく動く現象が知られており、その動きに対する感覚が体性感覚野でのパッチワーク型活動として現れる可能性が考えられた。しかしながら、大脳皮質でのバレル毎の自発活動の大部分は対応するひげの動きと無関係であり、また、ヒゲの動きの大部分は対応するバレルでの発火を引き起こさなかった。さらに、三叉神経節細胞の末梢側神経突起である眼窩下神経を切断しても大脳皮質での自発活動は消えなかった。一方、ヒゲに局所麻酔を注射すると大脳皮質での活動は消失した。これらの証拠から、自発活動が、眼窩下神経よりも下流の末梢で発生し、視床皮質軸索を経由して大脳皮質に伝達されることを示しており、三叉神経節で発生する可能性が高いと考えられた。この仮説に基づき、本研究では生後発達期の三叉神経節での自発活動の有無の検証、及び、その性質の解析を行った。

3. 研究の方法

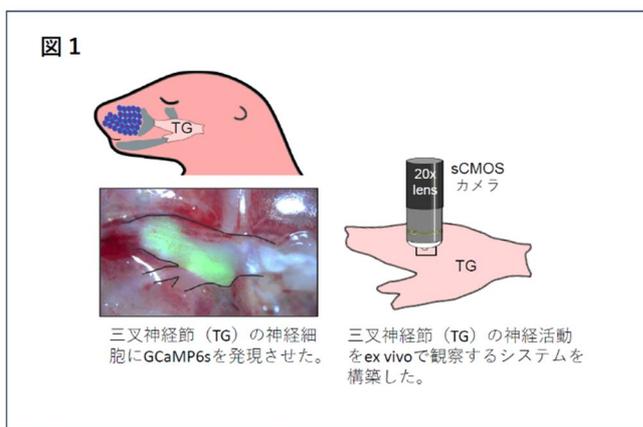
感覚器の発達の遅い視覚系や聴覚系とは異なり、体性感覚系では出生直後の段階ですでに感覚器（ヒゲなど）からの入力が存在する。三叉神経節で発生する自発活動を検出、解析する上で、感覚入力の影響を排除することが重要である。そのために、本研究課題では、三叉神経節の *ex vivo* カルシウムイメージングシステムを新規に構築した。そして、それといくつかの遺伝子改変マウスと組み合わせることにより、新生仔マウスの三叉神経節における自発活動の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 新生仔期の体性感覚野で見られる新規の自発神経活動の発生機序を明らかにするために、マウス体性感覚系末梢の三叉神経節の *ex vivo* イメージングシステムを立ち上げた（図1）。

三叉神経節や後根神経節の神経細胞で特異的に働く Advillin (Avil) プロモータの制御下に核移行型 (nls) 赤色蛍光タンパク質 (RFP) を発現する Avil-nlsRFP トランスジェニックマウスを作製した。そのマウスの三叉神経節を観察することにより、三叉神経節の中の神経細胞の局在を明らかにした。また、三叉神経節及び後根神経節特異的に Cre 組換え酵素を発現する Avil-Cre マウスと Rosa26-loxP-STOP-loxP (LSL)-nlsLacZ レポータマウスを

交配することにより、Avil-Cre:Rosa26-LSL-nlsLacZ マウスを作製し、その三叉神経節の LacZ 染色を行うことによって、上記の結果を確認した。また、A 列のヒゲ、E 列のヒゲ、下顎にそれぞれ Dil トレイサを導入し、三叉神経節の中のヒゲ投射領域を明らかにした。



Avil-Cre マウスと Rosa26-CAG-LSL-GCaMP6s レポーターマウスを交配し、三叉神経節神経細胞でカルシウムインディケータ GCaMP6s が発現する Avil-Cre:Rosa26-CAG-LSL-GCaMP6s マウスを作製した。幼若期のこのマウスから三叉神経節を摘出し、*ex vivo* でカルシウムイメージングを行ったところ、神経活動が活発に発火していることが観察された。

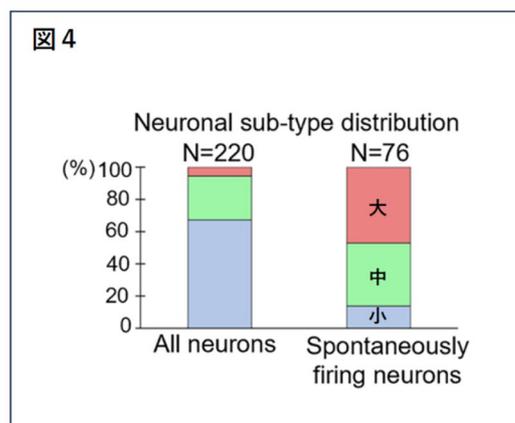
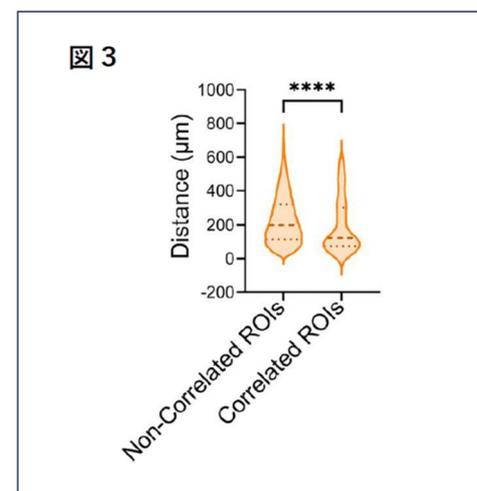
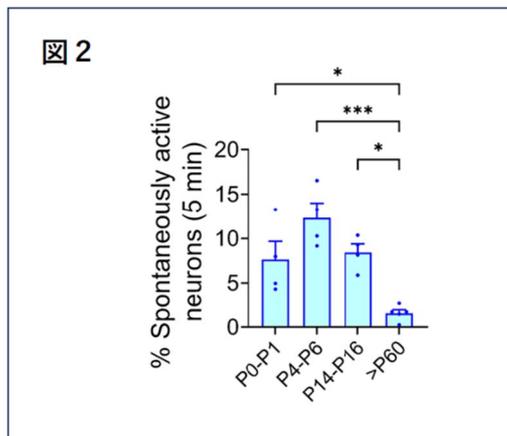
(2) 様々な発達期の Avil-Cre:Rosa26-CAG-LSL-GCaMP6s マウスを用いて同様の解析をした結果、生後発達期のマウスから摘出した三叉神経節は活発に活動するのに対し、成体から摘出したものでは発火頻度が大きく減少していることが明らかとなった(図2)。

(3) 新生仔マウスの三叉神経節の発火パターンを解析したところ、大規模な同期発火は見られなかったが、高い同期をする細胞同士は互いに近傍に位置することが明らかとなった(図3)。同じヒゲに投射する神経細胞は三叉神経節内でクラスターは作らないが、互いに近傍に位置することが知られており、そうした細胞同志がより同期して発火する可能性が示唆された。この仮説はさらなる検証が必要である。

(4) 成体では三叉神経節の神経細胞の大部分は痛み感覚をつかさどる小さな細胞であり、触覚を担う大きな細胞は少数派である。新生仔期の三叉神経節について解析することにより、大きな細胞、小さな細胞の大きさや分布は成体と同様であることを確認した(図4)。一方、*ex vivo* で自発的に発火する神経細胞の大きさを計測したところ、大多数が大きな細胞であることが明らかとなった(図4)。この結果は、三叉神経節の自発活動が触覚を担う神経細胞によって主に引き起こされていることを示唆するものである。

(5) 三叉神経節での自発活動が発生するメカニズムを明らかにする目的で、各種の神経伝達物質の阻害剤を投与したが、自発活動が消えることはなかった。一方、カルシウム阻害剤である EGTA を投与することにより自発活動は検出されなくなった。このことから、三叉神経節での自発活動の発生に細胞外カルシウムが重要な役割を担うことが示された。

本研究課題での一連の解析により、幼若期特異的に、マウスの三叉神経節の細胞が活発に自発発火していることを見出した。さらに、その詳細な解析により、幼若期マウス三叉神経節での自発発火の性質の一端が明らかとなった。今後は、*ex vivo* で見つかった三叉神経節細胞の自発発火の *in vivo* での検証、及び、大脳皮質でみられるパッチワーク型の時空間パターンが生み出されるメカニズムの解明が必要である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Hagihara, H. Iwasato, T. (22nd of 131 in total) Miyakawa, T. et al	4. 巻 12
2. 論文標題 Large-scale animal model study uncovers altered brain pH and lactate levels as a transdiagnostic endophenotype of neuropsychiatric disorders involving cognitive impairment	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 eLife	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) 10.7554/eLife.89376.3	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, L., Nakazawa, S., Luo, W, Sato, T., Mizuno, H., Iwasato, T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Short-Term Dendritic Dynamics of Neonatal Cortical Neurons Revealed by In Vivo Imaging with Improved Spatiotemporal Resolution	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0142 ~ 23. 2023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0142-23.2023	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 Nakagawa, N., and Iwasato, T.	4. 巻 42
2. 論文標題 Golgi polarity shift instructs dendritic refinement in the neonatal cortex by mediating NMDA receptor signaling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 112843 ~ 112843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112843	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 Banerjee, P., Kubo, F., Nakaoka, H., Ajima, R., Sato, T., Hirata, T., Iwasato, T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Spontaneous activity in whisker-innervating region of neonatal mouse trigeminal ganglion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 16311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-20068-z	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 Rao, M. S., Mizuno, H., Iwasato, T., Mizuno, H.	4. 巻 16
2. 論文標題 Ras GTPase-activating proteins control neuronal circuit development in barrel cortex layer 4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Neurosci.	6. 最初と最後の頁 901774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2022.901774	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, H., Hatakeyama, J., Iwasato, T., Araki, K., Yamamoto, N., Shimamura, K	4. 巻 11
2. 論文標題 Thalamocortical axons control the cytoarchitecture of neocortical layers by area-specific supply of VGF	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e67549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.67549	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 Yoshihi, K., Kato, K., Iida, H., Teramoto, M., Kawamura, A., Watanabe, Y., Nunome, M., Nakano, M., Matsuda, Y., Sato, Y., Mizuno, H., Iwasato, T., Ishii, Y., Kondoh, H.	4. 巻 149
2. 論文標題 Live imaging of avian epiblast and anterior mesendoderm grafting reveals the complexity of cell dynamics during early brain development.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev199999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199999	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 Pal, S., Dwivedi, D., Pramanik, T., Godbole, G., Iwasato, T., Jabaudon, D., Bhalla, U. S., Tole, S.	4. 巻 41
2. 論文標題 An early cortical progenitor-specific mechanism regulates thalamocortical innervation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Neurosci.	6. 最初と最後の頁 6822-6835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0226-21.2021	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 Nakazawa, S., Iwasato, T.	4. 巻 63
2. 論文標題 Spatial organization and transitions of spontaneous neuronal activities in the developing sensory cortex.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dev. Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 323-339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12739	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 Haruka, Hatakeyama Jun, Iwasato Takuji, Araki Kimi, Yamamoto Nobuhiko, Shimamura Kenji	4. 巻 11
2. 論文標題 Thalamocortical axons control the cytoarchitecture of neocortical layers by area-specific supply of VGF	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e67549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.67549	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 Yoshihi Koya, Kato Kagayaki, Iida Hideaki, Teramoto Machiko, Kawamura Akihito, Watanabe Yusaku, Nunome Mitsuo, Nakano Mikiharu, Matsuda Yoichi, Sato Yuki, Mizuno Hidenobu, Iwasato Takuji, Ishii Yasuo, Kondoh Hisato	4. 巻 149
2. 論文標題 Live imaging of avian epiblast and anterior mesendoderm grafting reveals the complexity of cell dynamics during early brain development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev199999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199999	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 Pal Suranjana, Dwivedi Deepanjali, Pramanik Tuli, Godbole Geeta, Iwasato Takuji, Jabaudon Denis, Bhalla Upinder S., Tole Shubha	4. 巻 41
2. 論文標題 An Early Cortical Progenitor-Specific Mechanism Regulates Thalamocortical Innervation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6822 ~ 6835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0226-21.2021	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 Nakazawa Shingo, Iwasato Takuji	4. 巻 63
2. 論文標題 Spatial organization and transitions of spontaneous neuronal activities in the developing sensory cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 323 ~ 339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12739	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 Mizuno Hidenobu, Rao Madhura S., Mizuno Hiromi, Sato Takuya, Nakazawa Shingo, Iwasato Takuji	4. 巻 41
2. 論文標題 NMDA Receptor Enhances Correlation of Spontaneous Activity in Neonatal Barrel Cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1207 ~ 1217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0527-20.2020	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 Iwasato Takuji	4. 巻 62
2. 論文標題 In vivo imaging of neural circuit formation in the neonatal mouse barrel cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 476 ~ 486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12693	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 Nakazawa Shingo, Yoshimura Yumiko, Takagi Masahiro, Mizuno Hidenobu, Iwasato Takuji	4. 巻 40
2. 論文標題 Developmental Phase Transitions in Spatial Organization of Spontaneous Activity in Postnatal Barrel Cortex Layer 4	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 7637 ~ 7650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1116-20.2020	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 水野秀信、岩里琢治	4. 巻 38
2. 論文標題 生後発達期の体性感覚野における神経回路の精緻化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CLINICAL NEUROSCIENCE	6. 最初と最後の頁 1539-42
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 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 中沢信吾、岩里琢治	4. 巻 92
2. 論文標題 生後発達期の脳皮質における樹状突起精緻化のイメージング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 189-199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920189	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5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Takuji Iwasato
2. 発表標題 Studies of Dendritic Refinement using Mouse Barrel Cortex Layer 4 Neurons as a Model
3. 学会等名 日本分子生物学会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩里琢治
2. 発表標題 新生仔マウスの体性感覚野における神経回路精緻化と自発神経活動
3. 学会等名 日本発達神経科学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩里琢治
2. 発表標題 Neuronal circuit refinement during postnatal development : Studies using the mouse barrel cortex
3. 学会等名 第22回「認識と形成」研究会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takuji Iwasato
2. 発表標題 Activity-dependent circuit maturation in the neonatal brain: Studies using the mouse barrel cortex
3. 学会等名 Tutored Seminar at Aix-Marseille University (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takuji Iwasato
2. 発表標題 Dendritic refinement of layer 4 neurons in the neonatal barrel cortex.
3. 学会等名 NEURO2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------