

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650223

研究課題名(和文) 光感受性蛋白質と内視鏡による脳深部機能マッピング

研究課題名(英文) Functional mapping of deep brain structures using microendoscope

研究代表者

林 勇一郎 (Hayashi, Yuichiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90378737

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳の外部からの観察では見ることができない深部の神経活動を検出するため、極細内視鏡を脳内に挿入して神経活動の画像化を行った。カルシウムセンサー蛋白質GCaMP7を神経細胞に発現させたマウスに対し、GRINレンズを用いた内視鏡を海馬歯状回に挿入して蛍光画像を撮影した。マウスの頭部を固定し、トレッドミルの上で行動中のマウス歯状回から神経活動由来と思われる蛍光強度の明瞭な変化が観察された。さらに、独立成分分析を用いて単一細胞由来の活動を抽出したところ、約40個ほどの活動が分離された。得られた神経活動波形は最大でベースライン変動の10倍程度の振幅があり、神経活動解析を行う上で十分なSN比と考えられた。

研究成果の概要(英文)：To visualize neural activity in deep brain structures, I developed an endoscope system for fluorescence imaging. Gradient index (GRIN) lens-based endoscope was implanted in a mouse expressing GCaMP7 calcium indicator. The mouse was head-restrained and placed on a spherical treadmill. Using the endoscope, calcium activity of dentate granule cells was visualized. Cellular signals in the fluorescent images were extracted using principal and independent component analysis. Approximately 40 signals were extracted from the images and their signal-to-noise ratio were 4-10.

研究分野：神経生理学

キーワード：カルシウムイメージング 内視鏡 歯状回

1. 研究開始当初の背景

微小電極による神経活動測定は、侵襲性が低く、時間分解能が高い(サブミリ秒オーダー)という特徴を持ち、古くから広範囲に用いられている。しかし、長期間同じ細胞の記録を続けることは困難である。一方、最近になってカルシウムイメージングなどの光学的神経活動測定法が発達してきた。光学的方法によると、多数のニューロンの活動を長期間(数週間 数か月) その位置関係も含めて記録することができる。そのため、学習や発達、加齢といった長期に及ぶ現象に伴う神経活動変化を追跡できる。ところが、脳の透明度は低いため、通常の方法では、脳表から数 $100\mu\text{m}$ 程度の範囲しかイメージングできない。そこで、それより深い脳深部においてもイメージングを可能とする技術が求められている。

2. 研究の目的

脳の外部からの顕微鏡観察では見ることができない脳深部の神経活動を検出するため、極細内視鏡を脳内に挿入して光学的に神経活動の画像化を行う。

3. 研究の方法

カルシウムセンサー蛋白質を神経細胞に発現させたマウスに対し、Gradient index (GRIN)レンズを用いた内視鏡を挿入し、落射蛍光顕微鏡を用いて蛍光画像を撮影した。マウスは頭部を固定し、トレッドミルの上に載せて自由行動させた(図1)。

4. 研究成果

カルシウムセンサー蛋白質 GCaMP7 (文献1) を発現するトランスジェニックマウスの海馬歯状回に内視鏡を挿入し、蛍光イメージングにより覚醒中の神経活動を測定した。その結果、神経活動由来と思われる蛍光強度の明

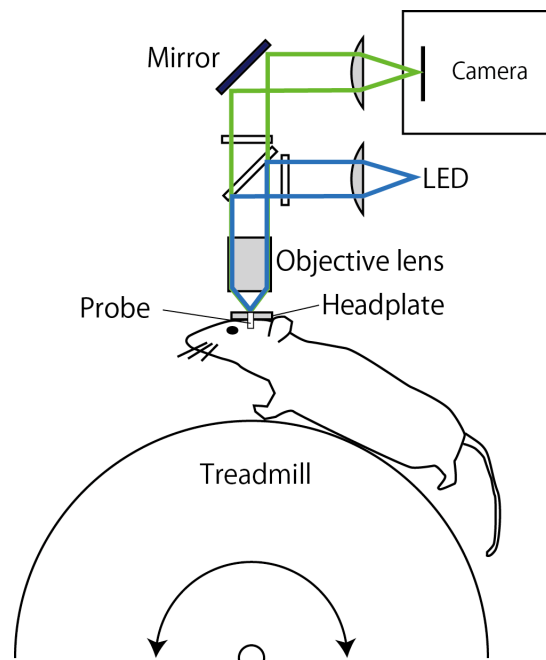


図1 内視鏡イメージング装置

瞭な変化が観察された。さらに、主成分分析と独立成分分析を用いた神経活動の抽出法(文献2)を用いて単一細胞由来の活動を抽出したところ、約40個ほどの活動が分離された(図2)。得られた神経活動波形は最大でベースライン変動の10倍程度の振幅があり、神経活動解析を行う上で十分なSN比であった(図3)。

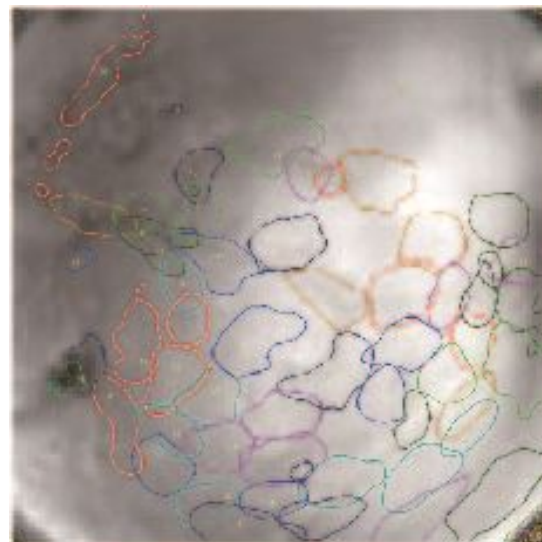


図2 独立成分分析により抽出した神経細胞(丸く囲まれた領域が個々の細胞を示す)

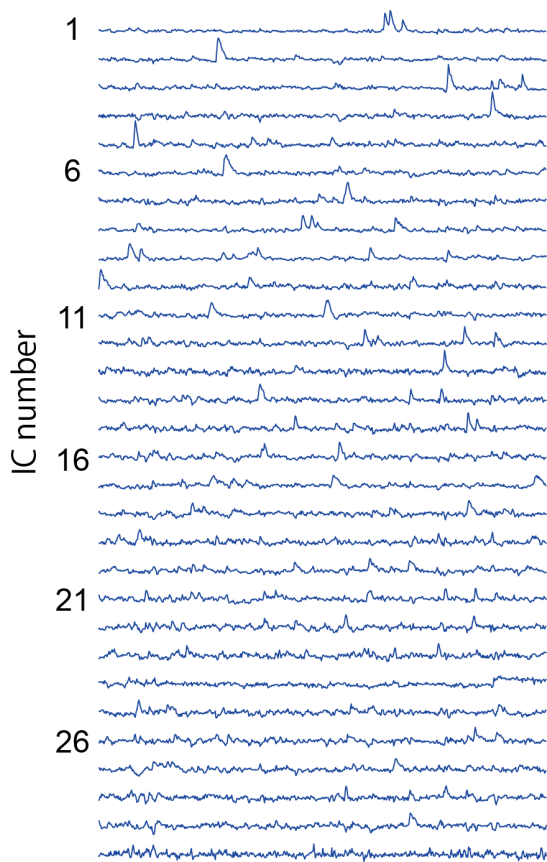


図3 独立成分分析により抽出した30個の細胞のカルシウム活動波形(スケールバーは10秒を示す)

文献1 Ohkura et al, 2012 PLOS One, 7 e51286

文献2 Mukamel et al, 2009 Neuron, 63 747

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Hayashi Y, Tagawa Y, Yawata S, Nakanishi S, Funabiki K, Spatio-temporal control of neural activity *in vivo* using fluorescence microendoscopy. *European J. Neurosci.* 36: 2722 (2012)

Hayashi Y, Nabeshima Y, Kobayashi K, Miyakawa T, Tanda K, Takao K, Suzuki H, Esumi E, Noguchi S, Matsuda Y, Sasaoka T, Noda T, Miyazaki JI, Mishina M, Funabiki K,

Nabeshima YI, Enhanced Stability of Hippocampal Place Representation Caused by Reduced Magnesium Block of NMDA Receptors in the Dentate Gyrus. *Molecular Brain* 7: 44 (2014)

[学会発表](計2件)

林勇一郎、鍋島曜子、鍋島陽一、船曳和雄、海馬歯状回特異的なNMDA受容体Mgブロックの解除によるパターン分離能の低下、第36回日本神経科学大会、2013年6月23日

Yuichiro Hayashi, Yoko Nabeshima, Yo-ichi Nabeshima and Kazuo Funabiki, Enhanced stability and impaired separation of hippocampal place representation caused by reduced Mg block of NMDAR in the dentate gyrus, *Neuroscience 2013, Society for Neuroscience Annual Meeting* 2013年11月8日

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

林 勇一郎 (HAYASHI Yuichiro)
京都大学・医学研究科・特定助教
研究者番号：90378737

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：