

徳島大学研究クラスター

重点クラスター (1702004)

選定 (脳科学) クラスター (1703006)

合同セミナー

平成 29 年 12 月 6 日

於 徳島大学 藤井節郎記念ホール

プログラム

17:00-17:05

開会挨拶

17:05-17:50

川上 良介 先生

愛媛大学・大学院医学系研究科・分子病態医学分野・准教授

神経科学に向けた *in vivo* 二光子顕微鏡法・共焦点顕微鏡法の改良と展開

17:50-18:35

北村 貴司 先生

テキサス大学・サウスウェスタン医学センター・精神神経部門・神経科学部門・

Assistant Professor

エピソード記憶を司る神経回路とその演算処理について

18:35-18:45

休憩

18:45-19:45

南部 篤 先生

自然科学研究機構・生理学研究所・生体システム研究部門・教授

大脳皮質-大脳基底核ループと運動異常症の病態生理

19:45-20:00

クラスター紹介・閉会挨拶

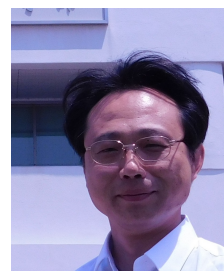
※ 本セミナーは、脳科学クラスターコアセミナーおよび大学院 医科学・栄養生命科学・口腔科学の各教育部特別講義を兼ねます。

講演要旨

「神経科学に向けた *in vivo* 二光子顕微鏡法・共焦点顕微鏡法の改良と展開」

川上 良介

愛媛大学 大学院医学系研究科 分子病態医学分野 准教授



生物試料中の微細構造を蛍光標識し、可視化する蛍光バイオイメージング法は、近年の生物学・神経科学研究において必要不可欠なツールとなっています。本法は、神経科学研究者の要求に応える形で多様な技術発展を遂げてきました。中でも、レーザー光を試料上で走査し、各点における蛍光信号強度を PC 上で再構築することで画像を取得するレーザー走査型蛍光顕微鏡は、1980 年代以降、飛躍的に普及しました。レーザー走査型蛍光顕微鏡の 1 つである共焦点顕微鏡は、光の波動性によって決定される回折限界に概ね相当した空間分解能を有することから、現在、様々な生命現象の詳細可視化に用いられています。近年の技術革新はさらに目覚ましく、様々な光学、物理学、化学の原理の応用により回折限界を打破した蛍光顕微鏡、いわゆる超解像顕微鏡が開発され実用化されてきています。超解像顕微鏡法の確立に貢献した 3 名の研究者に 2014 年のノーベル化学賞が受賞されたことは、生物学系の研究者から大きな期待を象徴していると言えます。

本講演では、我々が新規に技術開発を行っている二光子励起蛍光顕微鏡および共焦点顕微鏡法について紹介します。まず始めに、二光子励起蛍光顕微鏡は、超短パルスレーザーを励起光源とし、発色団の二光子励起蛍光取得を前提としたレーザー走査型顕微鏡です。本法は、励起の局所性、高い深部到達性、低い侵襲性という生物学的可視化分析手法として、好ましい特徴を有しています。生命現象を可視化する際に、空間分解能、時間分解能、侵襲性、深部到達性と視野の広さは同等に重要です。我々は二光子励起蛍光顕微鏡について、新規半導体レーザー光源の導入により深部到達性の向上を [1, 2] それぞれ達成しました。次に、共焦点顕微鏡による観察法に関して、近年透明化試薬を併用することで三次元的に広視野かつ高解像なイメージングが可能になってきています。我々は独自に透明化試薬に関する顕微鏡法の研究を行っており [3, 4]、透明化のメリットやデメリットについて超解像顕微鏡への応用を含めこれらの顕微鏡システムの詳細について、可視化した作例とともに紹介したいと考えています。

参考文献

- [1] R. Kawakami, *et al.*, " Visualizing hippocampal neurons with *in vivo* two-photon microscopy using a 1030 nm picosecond pulse laser," *Sci. Rep.*, vol. 3, 1014 (2013)
- [2] R. Kawakami, *et al.*, " *In vivo* two-photon imaging of mouse hippocampal neurons in dentate gyrus using a light source based on a high-peak power gain-switched laser diode," *Biomed. Opt. Express*, Vol. 6, Issue 3, pp. 891-901 (2015)
- [3] Y. Aoyagi, R. Kawakami, *et al.*, " A Rapid Optical Clearing Protocol Using 2,2'-Thiodiethanol for Microscopic Observation of Fixed Mouse Brain" *PLOS One*, 10(1), e0116280 (2015)
- [4] H. Zhang, A. Masuda, R. Kawakami, "Fluoropolymer nanosheet as a wrapping mount for high quality tissue imaging", *Advanced materials*, 29, 1703139 (1-6) (2017)

【プロフィール】

- 1998年 九州大学理学部生物学科 卒業
- 2003年 九州大学大学院医学系研究科 博士後期課程修了 博士（理学）
九州大学理学部 研究員
- 2005年 自然科学研究機構生理学研究所 日本学術振興会特別研究員（PD）
- 2008年 同 専門研究職員
- 2010年 北海道大学電子科学研究所 助教
- 2017年 愛媛大学大学院医学系研究科 准教授

「エピソード記憶を司る神経回路とその演算処理について」

北村 貴司

テキサス大学・サウスウェスタン医学センター
精神神経部門・神経科学部門・Assistant Professor



本セミナーでは、海馬と密接に神経連絡のある大脳嗅内皮質に注目し、エピソード記憶の重要な要素である、“場所” “時間”と“人物”の情報を符号化する神経回路の同定に関して講演する(文献1、2、3、5)。光遺伝学、ウイルス感染による遺伝子操作、細胞種特異的な分子マーカーの同定、パッチクランプなどを組み合わせた、分子回路遺伝学的手法を駆使し、2014年に私たちのグループは、大脳嗅内皮質—海馬間で全く新しい抑制性神経回路を発見した(文献5)。げっ歯類の大脳嗅内皮質II層で球状セルクラスターを形成している神経細胞群を発見し、これをアイランドセルと命名した。アイランドセルは、神経軸索を海馬CA1野に直接投射し、CA1野SL層に位置する抑制性神経細胞とシナプスを作り、大脳嗅内皮質—海馬の神経回路内でFeedforward inhibition回路として働く。光遺伝学を用いて学習中の動物のアイランドセルの活動を特異的に操作することによって、アイランドセルがタイミングを制御することを明らかにした。自由行動下のマウスの大脳嗅内皮質II層から、細胞種特異的にカルシウムイメージングを行い、特定の「場所」の情報をコードする神経細胞群、オーシャンセルを同定した(文献3)。一方で、同じII層に位置するアイランドセルは特定の場所に反応しせず、むしろ、タイミングを符号化することが示唆された(文献4)。また、「人物」の情報は、腹側の海馬にコードされていた(文献2)。エピソード記憶の構成に必要な「場所」「時間」「人物」の情報は、大脳嗅内皮質、海馬の異なる細胞種によって別々にコードされていることが明らかとなった。

参考文献

- 1) [Kitamura T](#), Ogawa SK, Roy DS, Okuyama T, Morrissey MD, Smith LM, Redondo RL, Tonegawa S. Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science*, 356, 6333, 73-78 (2017)
- 2) Okuyama T, [Kitamura T](#), Roy DS, Itohara S, Tonegawa S. Ventral CA1 neurons store social memory. *Science*, 353, 6307, 1536-1541 (2016)
- 3) [Kitamura T](#), Sun C, Martin J, Kitch LJ, Schnitzer MJ, Tonegawa S. Entorhinal cortical ocean cells encode specific contexts and drive context-specific fear memory. *Neuron*, 87, 6, 1317-31 (2015)
- 4) Sun C, [Kitamura T](#), Yamamoto J, Martin J, Pignatelli M, Kitch LJ, Schnitzer MJ, Tonegawa S. Distinct speed dependence of entorhinal island and ocean cells, including respective grid cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112, 30, 9466-71 (2015)
- 5) [Kitamura T](#), Pignatelli M, Suh J, Kohara K, Yoshiki A, Abe K, Tonegawa S. Island cells control temporal association memory. *Science*, 343, 6173, 896-901 (2014)

【プロフィール】

- 2002年 九州大学理学部生物学科 卒業
- 2007年 九州大学理学府生物科学 博士後期課程修了 博士（理学）
三菱化学生命科学研究所 日本学術振興会特別研究員（PD）
- 2009年 富山大学大学院医学薬学研究部 特命助教
- 2010年 同 助教
- 2011年 理化学研究所 脳科学総合研究センター 研究員
- 2015年 マサチューセッツ工科大学 理研 MIT 神経回路遺伝学研究センター 研究員
- 2016年 同 上級研究員
- 2017年 テキサス大学サウスウェスタン医学センター 精神神経部門・神経科学部門
Assistant Professor

「大脳皮質-大脳基底核ループと運動異常症の病態生理」

南部 篤

自然科学研究機構・生理学研究所

生体システム研究部門・教授



大脳基底核は視床を介して大脳皮質の神経活動を支配し、運動をコントロールしている。線条体と視床下核が大脳基底核の入力部であるのに対し、淡蒼球内節と黒質網様部が出力核である。大脳基底核に入力した神経情報は、以下の3経路で出力核へ至り、淡蒼球内節・黒質網様部の活動を制御している。1) 大脳皮質—視床下核—淡蒼球内節・黒質網様部路 (ハイパー直接路)、2) 大脳皮質—線条体—淡蒼球内節・黒質網様部路 (直接路)、3) 大脳皮質—線条体—淡蒼球外節—視床下核—淡蒼球内節・黒質網様部路 (間接路)。直接路を介する神経情報は、淡蒼球内節・黒質網様部の特定のニューロン抑制し、視床・大脳皮質を脱抑制することにより、必要な運動のみを必要とされるタイミングで引き起こしている。それに対し、ハイパー直接路、間接路を介する神経情報は、淡蒼球内節・黒質網様部の特定ニューロン周辺の広い領域を興奮させ、視床・大脳皮質を抑制し、それ以外の不必要な運動を抑制していると考えられる。

大脳基底核が機能不全に陥ると、随意運動の遂行に重大な障害を及ぼす。パーキンソン病の際には、ハイパー直接路と間接路を介する信号伝達が空間的にも時間的にも増強し、直接路を介する信号伝達が減弱している。その結果、視床・大脳皮質の脱抑制が不十分になり、意図した運動を発現することができず、無動に陥ると考えられる。一方、ジストニアの場合は、直接路を介する信号伝達が、時間的にも空間的にも増強される。その結果、わずかな信号でも視床・大脳皮質が脱抑制され、意図しない運動がランダムに発現することになり、不随意運動を呈すると考えられる。

大脳基底核に高頻度電気刺激を加える脳深部刺激療法 (DBS) や、その一部を小さく壊すなどの定位脳手術は、運動異常症の症状を緩和することができる。淡蒼球内節—DBS は、 γ アミノ酪酸 (GABA) の作用により、淡蒼球内節のニューロン活動を抑制するばかりでなく、大脳皮質由来の反応も抑制する。このことは、DBS が刺激部位を介する神経伝達をブロックする作用を持つことを示唆している。DBS と破壊術、何れも大脳基底核から視床を介して大脳皮質に到達する異常な神経情報をブロックすることにより、運動症状の発現を抑制していると考えられる。

【プロフィール】

- 1982年 京都大学医学部卒業 医師免許取得
- 1984年 京都大学大学院博士課程医学研究科生理学専攻中退
- 1985年 京都大学医学部助手
- 1989年 医学博士（京都大学）
ニューヨーク大学メディカルセンター ポストドクトラルフェロー
- 1991年 岡崎国立共同研究機構生理学研究所助教授
- 1995年 (財)東京都神経科学総合研究所副参事研究員
- 1999年 (財)東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所副参事研究員
- 2000年 同 部門長
- 2002年 岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授
- 2004年 自然科学研究機構生理学研究所教授

研究クラスター紹介

重点クラスター (1702004)

「パーキンソン病治療における脳内薬物インフュージョンシステムの開発」

<https://cluster.tokushima-u.ac.jp/cluster-list/cluster-list-all/99.html>

クラスター長：

後藤 恵 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・特任教授・難治性神経疾患病態研究分野)

所属研究者：

森垣 龍馬 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・助教・脳神経外科学分野)

牟礼 英夫 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・助教・脳神経外科学分野)

笠原 二郎 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・准教授・神経病態解析学)

梶 龍兒 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・臨床神経科学分野)

永廣 信治 (徳島大学病院・病院長)

Ann M Graybiel (Massachusetts Institute of Technology, Professor, Department of Brain and Cognitive Sciences, McGovern Institute for Brain Research)

研究概要：

パーキンソン病 (Parkinson Disease, PD) は日本では推計 10 万人以上の患者を有する難病指定疾患である。PD 治療の第一選択肢は薬物療法であり L-DOPA がその主役を担うが長期投与に伴い薬効減退や薬物誘発性ジスキネジア、精神症状などの副作用が高率に出現する。この治療上の問題の多くはドパミン受容体過剰刺激に伴う線条体機能異常に起因し、一方向性のドパミン補充療法ではこの治療矛盾ともいべき問題を解決できない。現行の薬物治療の補完療法として DBS などの外科治療もあるがその治療効率・永続性は限定的である。

私たちは PD モデルマウスを用いた研究で、GNAL 遺伝子がコードする olfactory type G-protein α subunit ($G\alpha_{olf}$) の線条体発現異常が L-DOPA 誘発性ジスキネジアを惹起することを見出した (*Front Cell Neurosci*, 2017;11:26)。L-DOPA 投与による線条体 $G\alpha_{olf}$ レベルの異常は利用率依存性 (usage-dependent) であり、これには NMDA 受容体機能亢進が関与している。

本研究では、任意の薬物を任意の脳内部位に持続投与ができる容量可変式ドラッグデリバリーシステム (Drug Delivery System) として脳内薬物インフュージョンシステム (Intra-Cerebral Drug Infusion System) を使い、線条体運動関連領域に選択的にドパミンまた NMDA 受容体拮抗薬を慢性持続投与する治療法を開発する。これは線条体のドパミン感受性賦活と同時にジスキネジア抑制をもたらす画期的な PD 治療法になり得る。また、脳内薬物インフュージョンシステムは PD のみならずジストニアなどの難治性大脳基底核疾患の新規治療法としても応用可能である。

研究期間：平成 29 年 4 月 1 日～平成 32 年 3 月 31 日

研究クラスター紹介

選定クラスター (1703006)

「難治性神経・精神疾患克服を目指す、脳科学研究クラスターの形成と共同研究ネットワークの構築」

<https://cluster.tokushima-u.ac.jp/cluster-list/cluster-list-all/190.html>

クラスター長：

福井 清 (徳島大学先端酵素学研究所・教授・病態システム酵素学分野)

所属研究者：

佐々木 卓也 (徳島大学・理事)

吉村 弘 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・口腔分子生理学分野)

鶴尾 吉宏 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・顕微解剖学分野)

坂下 直実 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・病態病理学分野)

西村 明儒 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・法医学分野)

笠原 二郎 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・准教授・神経病態解析学分野)

福井 裕行 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・特任教授・分子難病学分野)

梶 龍兒 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・臨床神経科学分野)

後藤 恵 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・特任教授・難治性神経疾患病態研究分野)

大森 哲郎 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・精神医学分野)

永廣 信治 (徳島大学病院・病院長)

武田 憲昭 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・耳鼻咽喉科学分野)

原田 雅史 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・放射線医学分野)

丸山 将浩 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・准教授・in vivo イメージング研究分野)

辻 大輔 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・助教・創薬生命工学分野)

宇都 義浩 (徳島大学大学院社会産業理工学研究部・教授・応用生物資源学分野)

白山 靖彦 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・地域医療福祉学分野)

松山 美和 (徳島大学大学院医歯薬学研究部・教授・口腔機能管理学分野)

研究概要：

本研究クラスターは、脳科学をキーワードとして掲げる生化学、酵素学、生理学、解剖学、病理学、薬理学の基礎医学領域から、臨床神経科学、精神医学、脳神経外科学、耳鼻咽喉科学、口腔保健学の臨床専門領域を広くカバーする研究者とともに放射線並びにイメージングによる診断画像技術の研究、医薬品の開発と生産を目指す創薬生命工学、応用生物資源学に亘る、学部・研究分野を越えた研究者を結集して、分野横断的・学際的融合研究を推進して、新学術パラダイムの創成と人類の健康を守る画期的な医療・福祉の実現に寄与する新たなイノベーションの創出を目指すものである。

これまで大学院教育クラスターとして運営してきた脳科学クラスターと、研究者を中心として実施してきた Neuroscience Seminar Tokushima の活動実績を踏まえ、徳島大学における脳科学研究の高度研究拠点の形成と共同研究のネットワークの構築を図る。

研究期間：平成 29 年 4 月 1 日～平成 32 年 3 月 31 日

