

課題番号 1

ドーパミン神経細胞とその神経回路の加齢による変化を検証する

[1] 組織

代表者：藤山 文乃

(北海道大学大学院医学研究院)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

筒井 健一郎 (東北大学生命科学研究科)

苅部 冬紀 (北海道大学大学院医学研究院)

宮崎 憲一 (北海道大学大学院医学研究院)

李 文静 (北海道大学大学院医学研究院)

研究費：物件費 13 万円

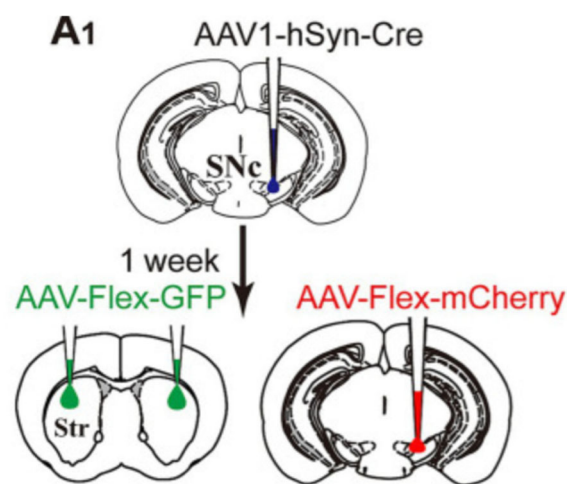
[2] 研究経過

パーキンソン病の原因は中脳黒質に存在するドーパミン神経細胞の進行性変性脱落に起因する線条体でのドーパミンの枯渇である。ドーパミンの線条体での放出はシナプスを介する場合と介さない場合があり、ドーパミン枯渇の与える影響はそれぞれ異なる可能性がある。しかしながら、黒質ドーパミン細胞の脱落に関する知見は多く積み重ねられているのに対し、そのシナプス標的である線条体におけるシナプス形成の法則は明らかになっていない。線条体には複数のタイプの神経細胞があり、ドーパミン神経細胞の軸索どの線条体神経細胞シナプス標的とするかを知る必要がある。

今年度私たちは順行性の経シナプス性ウイルスである AAV1-hSyn-Cre を用いることで、この問いに答えることができた (Karube et al., Front Neuroanat, 2024, 右上図)。この論文ではまず健常な若齢マウスを用いて所見を得たが、現在本共同研究により提供された加齢マウスを用いて研究を展開させているところである。つまり、ドーパミン神経細胞が変性し、そのドーパミンの減少による影響を補填するために、神経路が組み替えられている可能性を検証する段階に進むことができた。

加齢研の田中教授と研究協力者の筒井教授は、数年来の共同研究体制にあり、今年度もメールや電話で数回にわたり研究打ち合わせを行った。また、申請者と

研究協力者の筒井教授、苅部助教とは、中枢神経回路解析における共同研究の実績がある (Oyama et al., J Neurosci Methods, 2013)。北海道大学医学研究院における動物実験の承認番号は 20-0106、遺伝子組替え実験の承認番号は 2020-019 である。



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず順行性の経シナプス性ウイルスである AAV1-hSyn-Cre を用いることで、黒質緻密部のドーパミン神経が線条体のどの細胞に Cre を受け渡すのかを同定することに世界で初めて成功し、論文報告した。興味深いことに、複数ある線条体のインターニューロンの中で、アセチルコリンニューロンとパルブアルブミンニューロンに優位に多く Cre が発現したことから、ドーパミン神経軸索はこれらの細胞に高頻度でドーパミンシナプス伝達をおこなっていることが示唆された。

この論文は Frontiers in Neuroanatomy に報告した。

Fuyuki Karube, Yang Yang, Kenta Kobayashi, Fumino Fujiyama. Anterograde inter-neuronal labeling of striatal interneurons in relation to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. Frontiers in Neuroanatomy 18:1325368, 2024.

さらにこの論文の中で、上記の AAV1-hSyn-Cre を黒質緻密部に注入した 1 週間後に、線条体と黒質緻密部に AAV-flex-GFP と AAV-flex-mCherry を各々注入することで、ドーパミン神経投射軸索とその投射先の線条体ニューロンの両方を標識することに成功している（上図）。

（3－2）波及効果と発展性など

ドーパミン神経細胞の変性脱落が原因であるパーキンソン病は、その発症頻度が強く年齢に依存している。

（3－1）で述べた通り、今年度このドーパミン神経細胞の順行性経シナプス性標識に成功したことで、ドーパミン投射様式が加齢によりどのような影響を受けるのかを調べる足がかりを得た。この結果は国際会議である Gordon Conference (2024) においても発表した。また、この結果の一部はドーパミン投射解析における総説として報告した。

Nobuhiko Ohno, Fuyuki Karube, Fumino Fujiyama. Volume electron microscopy for genetically and molecularly defined neural circuits. Neurosci Res, 2024 (in press).

さらにこの順行性経シナプス性ウイルスベクタによる神経回路標識については、ドーパミン神経細胞のみならず、興奮性のグルタミン酸作動性神経伝達や抑制性の GABA 作動性神経伝達においても応用が可能であり、今後大脳皮質－大脳基底核－視床ループの複雑な神経回路を解明する第一歩となり得る。この結果の一部は学術変革領域「適応回路センサス」の国際会議においても報告した。

〔4〕 成果資料

Fuyuki Karube, Yang Yang, Kenta Kobayashi, Fumino Fujiyama. Anterograde inter-neuronal labeling of striatal interneurons in relation to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. Frontiers in Neuroanatomy 18:1325368, 2024

Nobuhiko Ohno, Fuyuki Karube, Fumino Fujiyama. Volume electron microscopy for genetically and molecularly defined neural circuits. Neurosci Res, 2024 (in press).