

平成 21 年 5 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18700317

研究課題名 (和文) Cross-modal 可塑性における代謝型グルタミン酸受容体の役割の解明

研究課題名 (英文) Roles of metabotropic glutamate receptors in cross-modal plasticity in the mammalian cerebral cortex

研究代表者

田川 義晃 (TAGAWA YOSHIAKI)

京都大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：50303813

研究成果の概要：

脳発達期の正確な神経回路網形成には、遺伝的プログラムと神経活動の両者の働きが必須である。本研究では、神経活動に依存した脳の回路発達・可塑性メカニズムの解明をめざした。実験動物 (マウス) の大脳皮質内神経回路の解剖学的・機能的なつながり (神経連絡パターン) とその発達過程を詳細に可視化する新たな実験系を確立した。さらに、その発達過程にシナプス前・後細胞の神経活動が重要な役割を担うことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,400,000	0	1,400,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	210,000	3,810,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：大脳皮質、グルタミン酸受容体、発達、可塑性、神経活動、神経ネットワーク

1. 研究開始当初の背景

脳発達期の正確な神経回路網形成には、遺伝的プログラムと神経活動の両者の働きが必須である。特に発達後期においては、発達中の神経回路で自発的に発生する自発的神経活動と環境からの神経入力によって回路が選択・強化・再編され、機能的な神経回路が形成される。本研究では、高次脳機能を支える大脳皮質の、正確かつ複雑な神経回路網の活動依存的形成メカニズムを明らかにすることをめざした。

2. 研究の目的

哺乳類大脳皮質のシナプス可塑性の代表的モデルである眼優位性可塑性は、片眼からの入力が発達期に遮断されることによって誘導される。一方、複数の感覚系にまたがる代償的可塑性として cross-modal 可塑性が知られる。Cross-modal 可塑性は、例えば発達期に両眼を失った場合、大脳皮質視覚野が代償的に聴覚や体性感覚の情報を処理するようになる可塑性である。眼優位性可塑性と cross-modal 可塑性は、我々の脳 (大脳皮質) が発達環境の変化に応じて回路構築を柔軟

に変化させうることを示しており、脳の可塑性メカニズムを知る上で重要なモデルとなってきた。しかし、ネットワーク、細胞、分子レベルの研究が進んでいる眼優位性可塑性に対して、cross-modal 可塑性の機序には不明な点が多い。本研究では、cross-modal 可塑性のネットワーク、細胞、分子レベルでの機序解明をめざした。さらに、発達期大脳皮質の神経活動に依存した回路構築メカニズムの解明をめざした。

3. 研究の方法

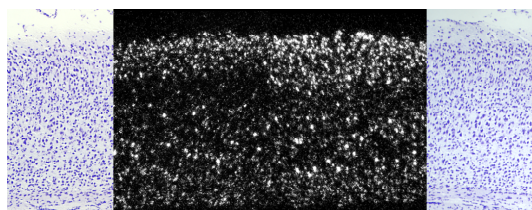
(1) cross-modal 可塑性に関与する可能性のある分子を同定する。

(2) cross-modal 可塑性に伴う大脳皮質神経回路の再編過程を可視化する手法を確立する。

(3) (1) で同定した分子の遺伝子欠損マウスを用いて、cross-modal 可塑性におけるその分子の機能を明らかにする。

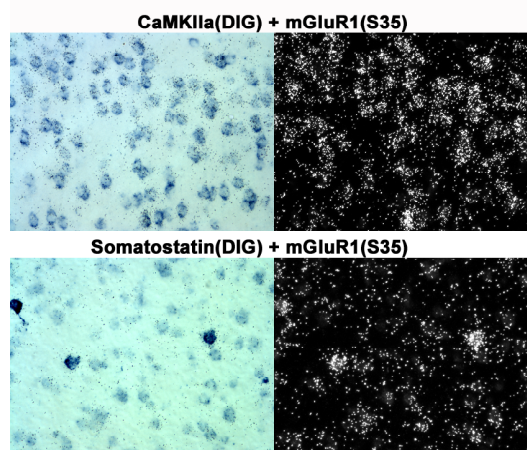
4. 研究成果

(1) 大脳皮質視覚野において、視覚入力遮断によって遺伝子発現レベルが変化する分子の1つである代謝型グルタミン酸受容体サブタイプ1 (mGluR1) に注目した。In situ hybridization の手法を用いることにより、生後20-35日マウスの片眼、両眼視覚入力遮断によって、大脳皮質2/3層においてmGluR1 mRNA の発現が増加することを確認した(図1)。



(図1) コントロール(左)と神経入力遮断(右)におけるmGluR1 mRNAの発現: 神経入力遮断に伴ってmGluR1の発現が増加する。左端と右端は、それぞれコントロール、神経入力遮断の大脳皮質切片のcresyl violet染色像。

mGluR1 mRNA の発現は、マウス大脳皮質視覚野において2/3層の多数の細胞と全層に散らばってぼつぼつと存在する細胞に認められ、double in situ hybridizationによって前者はCaMKII陽性の興奮性神経細胞、後者はsomatostatin陽性の抑制性神経細胞であることが確認された(図2)。mGluR1にはC末端領域が大きく異なるmGluR1aと1bという2つのsplice variantがある。両者を認識するmGluR1抗体は皮質2/3層興奮性細胞と

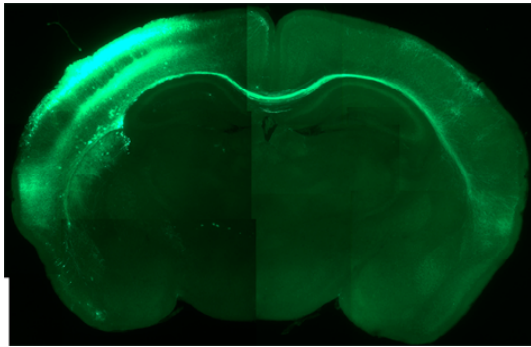


(図2) double in situ hybridization によるmGluR1発現細胞の同定。

全層に散らばる抑制性細胞両方を染めたが、mGluR1a特異的抗体は後者のみを染めたことから、皮質2/3層興奮性細胞において発現し、視覚入力遮断によって発現制御を受けるのはmGluR1bであることが示唆された。さらに、mGluR1が眼優位性可塑性、cross-modal可塑性において果たす役割を明らかにするため、mGluR1欠損マウスを入手した。神経活動依存的分子Arcのin situ hybridization及びreal time PCRの手法を用いて(Tagawa et al., Nature Neurosci., 2005)、野生型マウスとmGluR1欠損マウスの眼優位性可塑性、cross-modal可塑性を比較したが、大きな差は認められなかった。

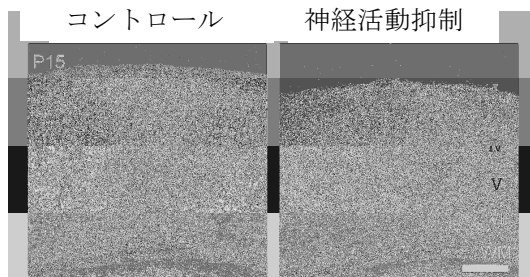
(2) 発達期の片眼・両眼視覚機能欠損に伴う大脳皮質内神経回路の再編を可視化するため、大脳皮質内の特定の神経回路を可視化する実験系を確立した。具体的には、子宮内電気穿孔法によって片側大脳皮質へGFPを遺伝子導入することにより、片側大脳皮質から反対側大脳皮質へ伸びる大脳皮質間軸索(脳梁軸索)の投射パターンとその発達過程を可視化した(図3)。GFPで可視化した脳梁軸索は、生後5日目までに反対側皮質の投射領域に到達し、生後7日目には目的層に到達し、生後7-15日に軸索終末分枝を形成した。その領域特異的、層特異的投射パターンは、生後からの片眼・両眼入力遮断によっても変化しなかったことから、目からの神経入力は脳梁軸索発達に大きな影響を及ぼさないと考えられた。

(3) 一方、神経細胞の発火を抑制する分子ツールであるKir2.1(内向き整流性K⁺チャネルの1つ)を脳梁投射細胞にGFPとともに発現させ、その神経活動を抑制すると、脳梁軸索発達が大きく阻害された。神経活動阻害は、反対側皮質への領域特異的な軸索投射に

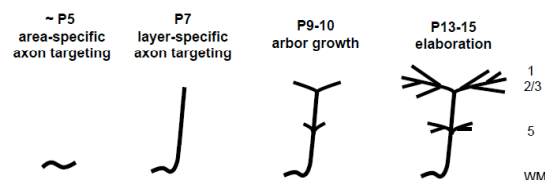


(図3) 片側大脳皮質への GFP 遺伝子導入による脳梁軸索投射の可視化: 左側大脳皮質に GFP を遺伝子導入。GFP で可視化された脳梁軸索が、反対側皮質へ伸びるのが観察できる。

はあまり影響を与えず、層特異的に軸索分枝が発達する生後 7-15 日目の発達過程が大きく障害されていた (図4)。以上の結果は、大脳皮質の代表的な長距離軸索投射である脳梁軸索投射形成において、発達過程の大脳皮質ネットワークの自発的な神経活動が重要な役割を果たすことを示唆するものである (図5)。



(図4) 脳梁投射細胞の神経活動抑制による軸索発達の障害: コントロールの脳梁軸索は、皮質 2/3 層と 5 層で終末分枝を形成する。神経活動を抑制されると、特に 2/3 層における終末分枝の発達が障害される。



(図5) 脳梁軸索投射の段階的な発達過程: 生後 7-15 日の軸索分枝発達に神経活動が必要である。

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)

(1) Tagawa Y., Mizuno H, Hirano T. Activity-dependent development of interhemispheric connections in the visual cortex. *Reviews in the Neurosciences*, 2008, 19, 19-28

(2) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Evidence for activity-dependent cortical wiring: Formation of interhemispheric connections in neonatal mouse visual cortex requires projection neuron activity. *The Journal of Neuroscience*, 2007, 27(25), 6760-6770

[学会発表] (計 7 件)

(1) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Differential effects of presynaptic and postsynaptic activity-blockade on interhemispheric connection development in mouse cerebral cortex. *38th Annual Meeting, Society for Neuroscience*, Washington D.C., November 16, 2008

(2) Tagawa Y., Mizuno H, Hirano T, Activity-dependent cortical wiring in vivo: Formation of interhemispheric connections requires presynaptic and postsynaptic neuron activity. 第 31 回日本神経科学大会ワークショップ、東京、2008 年 7 月 10 日

(3) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Activity-dependent development of interhemispheric connections in mouse visual cortex. 第 31 回日本神経科学大会、東京、2008 年 7 月 10 日

(4) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Formation of interhemispheric connections in neonatal mouse visual cortex requires projection neuron activity. *37th Annual Meeting, Society for Neuroscience*, San Diego, November 4, 2007

(5) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Roles of pre- and postsynaptic neuron activity in interhemispheric connection development in the mouse visual cortex. 第 30 回日本神経科学大会、横浜、2007 年 9 月 10 日

(6) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y.

Activity-dependent development of interhemispheric connections in mouse visual cortex. 第 29 回日本神経科学大会、京都、2006 年 7 月 20 日

(7) Mizuno H, Hirano T, & Tagawa Y. Activity-dependent development of interhemispheric connections in mouse visual cortex. 第 35 回生理研・統合脳国際シンポジウム、岡崎、2006 年 7 月 25 日

[その他]

ホームページ等

<http://www.biophys.kyoto-u.ac.jp/hirano.php>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田川 義晃 (TAGAWA YOSHIAKI)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：50303813

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし