

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20509009

研究課題名(和文) 脳が左右非対称であることの生物学的基盤の確立

研究課題名(英文) Establishment of biological foundation on asymmetry of the brain

研究代表者

川上 良介 (KAWAKAMI RYOSUKE)

北海道大学・電子科学研究所・助教

研究者番号：40508818

研究成果の概要(和文)：

本研究では、マウス脳のシナプスにおける左右非対称性が、生物学的にどのような意義をもつかについて、内臓逆位マウス(ivマウス)の脳神経回路を詳細に解析することで明らかにすることを試みた。その結果、大脳皮質神経回路にも機能的非対称性が存在することが明らかになった。このことは、マウス脳の左右性研究はヒト脳機能の左右性研究へとつながる可能性を示唆していた。

研究成果の概要(英文)：

In the present study, we tried to clarify biological relevance for the asymmetry of mouse brain by analyzing internal organs inversion mouse's (iv mouse) cranial nerve circuit what meaning right and left asymmetry in the synapse. As a result, functional asymmetry existed also in the cerebral cortex nerve system. This suggested the possibility that a research for asymmetry on the mouse brain leads to a research for laterality on the higher order function of human brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	0	1,600,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	540,000	3,940,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経・筋肉生理学

キーワード：ニューロン、シナプス、神経回路

## 1. 研究開始当初の背景

脳機能の左右差の問題は、これまで概念的に議論されてきたが、本申請者等の報告してきた研究成果により、脳の左右差について、神経細胞シナプスの機能・構造の違いや分子レベルでの差異として検出することが可能となった。マウス海馬神経回路について、海馬交連切断手術を行うことで、左右独立した

海馬内シナプスで機能している NMDA 受容体の特性を電気生理学的・分子生物学的手法により解析した結果、シナプス可塑性の発現に重要である NMDA 受容体 2B (NR2B) サブユニットの量が左右で非対称に分布していることを明らかにした (Science, 2003) (図-1)。次に、この NR2B サブユニットの違いを指標として脳の左右差形成について、内臓逆位を

示す iv マウスの海馬神経回路の特性を解析した結果、脳の左右差形成は内臓の形成メカニズムとは異なり、内臓の位置とは無関係に両側とも右の性質を示すことを明らかにした (PLoS One, 2008)。

さらに最近の申請者の所属する研究室による解析で、新たな非対称性が明らかになってきている。電子顕微鏡を用いた解析により、海馬シナプスは形態学的にも左右非対称な特徴を持っていることが見出されており、他の受容体分子 (GluR1 サブユニット) についてもやはり左右差が見出されている (未公表)。さらに、個体レベルでの海馬機能にも左右差があることが明らかになってきている。分離脳マウス+片目除去により片側海馬への入力を制限したマウスの学習行動をバーンズ迷路課題により解析した結果、右海馬への入力を制限した場合に限り学習能力の低下が観察された。このことは、空間学習に右海馬の機能がより重要であることを示唆している (未公表)。

現在、生物学的に脳の左右非対称にどのような意義があるのかについては明らかではない。しかしながら、本申請者等が発見した iv 変異を用いることによって、分子レベルから行動レベルまで様々な実験手法の適用可能なマウスにおいて、脳の左右非対称性の持つ生理的意義を検証できる体制が整った。

## 2. 研究の目的

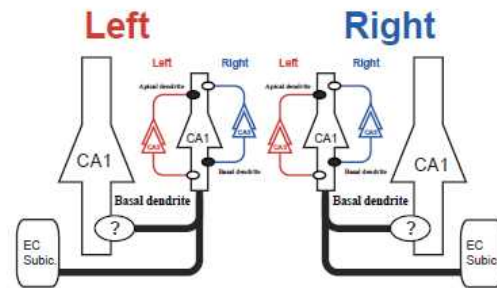
脳の左右差といえばヒトや霊長類での現象が主に議論されてきている。しかしながら、本申請者は実験動物として有用なマウスの海馬神経回路が機能・構造的に分子レベルで左右非対称であることを明らかにしてきた。そして、最近の研究においては、内臓逆位を示す iv マウスの海馬神経回路は左右の非対称性が失われており、両側海馬が右の特性を示すことを明らかにした。この、左の特性を失ったマウスを得たことにより、左右差を持つ意義を比較解析することが初めて可能になった。本申請において、電子顕微鏡による構造学的解析、行動学的解析、電気生理学的解析を行うことで iv マウスの脳を総合的に解析する。これらの多角的な解析により、左右対称な海馬神経回路がどのような生物学的影響を示すかについて、より質の高い結果が得られると期待される。

## 3. 研究の方法

本研究における計画は、脳の左右差の行動

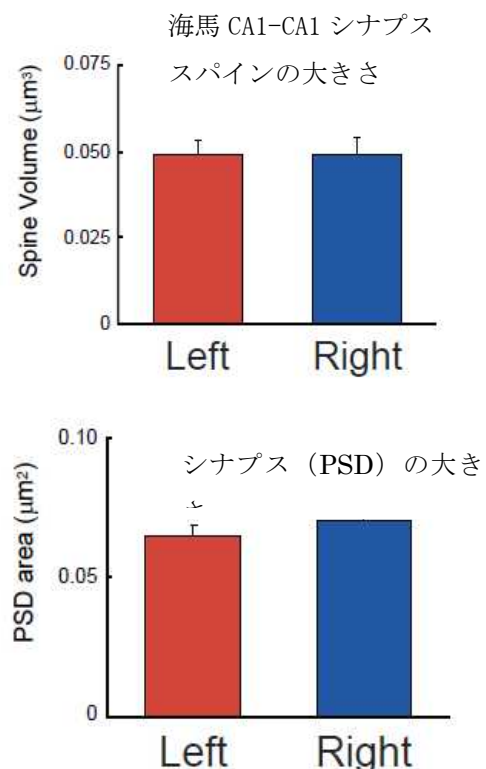
学的解析、電気生理学的解析、電子顕微鏡を用いた解剖学的解析を行う。行動学的解析にはバーンズ迷路による学習課題を行う。電気生理学的解析では海馬以外の脳部位における左右差の探索を行う。また、解剖学的解析では電子顕微鏡を用いて連続超薄切片を観察し、各個シナプスを立体的に再構築してその形態を観察する。また、シナプス膜上の受容体分布についても免疫電顕により解析を行う。

### 海馬 CA1 錐体細胞の出力模式図

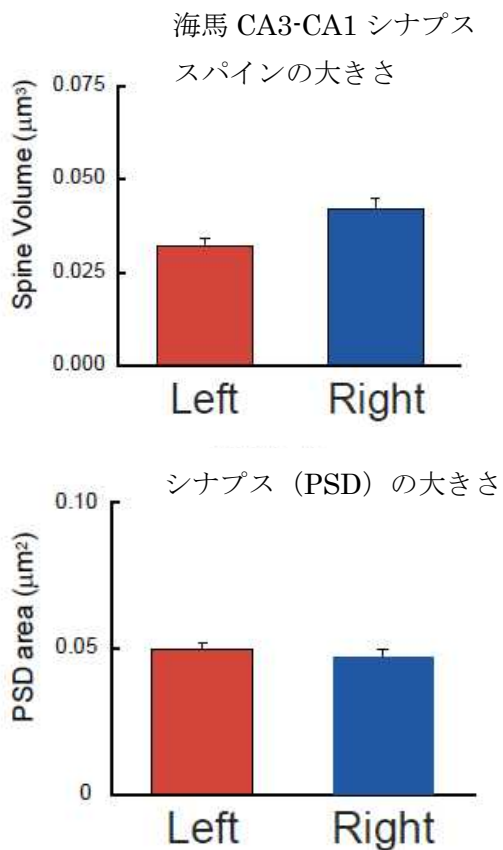


## 4. 研究成果

海馬基底樹状突起上にあるシナプスに関して免疫電顕による形態学的解析を行った。CA1-CA1シナプスの形態学的特徴である PSD サイズとスパイン形態を指標に左右で比較解析した結果、このシナプスにおいて左右性を見出すことが出来なかった。さらに、これまで電気生理学的解析により NR2B サブユニット分布の左右性が見出されている CA3-CA1 シナプスの形



態に左右性が見出されなかった。



次に、光刺激によるシナプス応答の解析を試みた。チャンネルロドプシン2をレンチウイルスを用いて海馬CA1錐体細胞のみに発現させることで、CA1-CA1シナプスの電気生理学的応答を計測したが、シナプス終末への光刺激によるシナプス応答は記録できなかった。これらの結果は、基底樹状突起のシナプスにおいては形態的左右性が見出されないことを示唆しており、これまでの様々な研究により示されているシナプスでの可塑性と形態変化の相関は頂上樹状突起特異的である可能性を示唆している。

次に、ivマウスの新規環境探索行動における左右性消失の検証を行った。始めに繁殖不良を起こしているivマウスをC57BL/6へ戻し交配を行ったが、顕著な繁殖状況に改善は見られなかった。また、人工授精を行い、胚移植による同日出産を試みたが、一度に生まれる産仔数が少なく、行動解析に用いるまでの数を揃えることが出来なかった。そこで、同日生まれが必要な行動解析ではなく、新規環境下での可塑性依存的遺伝子発現を指

標として大脳皮質の左右性をWTとivマウスとで比較検討した。分離脳手術および単眼遮蔽を施したマウスを新規環境下に置き、海馬歯状回顆粒細胞での新規遺伝子発現を指標として免疫組織学的解析を行った。その結果、WTマウスにおいては左右どちらの眼を遮蔽しても右海馬での遺伝子発現が上昇することが明らかになった。このことは、大脳皮質においては空間情報の処理において右優位であることを示唆しており、空間情報処理に対して何らかの右優位な神経回路が大脳皮質に存在している可能性を示唆している。またivマウスについては左右性の消失が見出されなかった。このことは、大脳皮質の左右性は海馬と異なることが考えられる。

本研究により、マウス大脳皮質において機能的な左右差が見出されたことで、ヒト高次脳機能の左右性研究に対し、マウス脳を対象とした研究がその生物学的基盤を与えることを示唆している。まだマウス大脳皮質の機能的左右性がどのような神経回路によりつくり出されているのかは明らかではないが、今後皮質の神経回路を対象に左右性を明らかにしていきたいと考えている。

#### 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 N. Sagata, A. Iwaki, T. Aramaki, N. Tsunekawa, K. Takao, S. Kura, T. Tsuzuki, R. Kawakami, I. Ito, T. Kitamura, H. Sugiyama, T. Miyakawa, Y. Fukumaki

「Comprehensive behavioural study of GluR4 knockout mice: implication in cognitive function.」

**Genes, Brain and Behavior** (9) 899-909, 2010 査読 有

② R. Kawakami, Dobi A, Shigemoto R, Ito I

「Right isomerism of the brain in inversus viscerum mutant mice.」

**PLoS ONE**. 3, e1945, 2008. 査読 有

〔学会発表〕（計3件）

①川上 良介、重本 隆一：「Morphological characterization of left and right hippocampal pyramidal cell synapses」  
第16回 Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience 東京、2010年12月1日

②川上 良介、重本 隆一：「マウス海馬 CA1-CA1 錐体細胞シナプスにおける左右半球間の形態学的特徴」  
第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月17日

③川上良介、重本隆一：「Morphological characterization of left and right hippocampal CA1 - CA1 pyramidal cell synapses」.  
第36回国際生理学会、京都、2009年7月28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：  
取得年月日：  
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 良介 (KAWAKAMI RYOSUKE)  
北海道大学・電子科学研究所・助教  
研究者番号：40508818

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし