

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：63905

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650068

研究課題名（和文） 眼優位カラムの存在意義解明とその可塑性研究の発展を目指した  
マウスでの未知なる挑戦研究課題名（英文） Challenges to elucidate the role of ocular dominance columns for  
visual perception and to progress the study of OD plasticity in mouse

研究代表者

富田 江一 (TOMITA KOICHI)

生理学研究所・行動・代謝分子解析センター・特任助教

研究者番号：80314285

研究成果の概要（和文）：本研究では、応募者が独自に発見した“同側眼優位カラム特異的シャペロン”を、通常眼優位カラムを持たないマウス第一次視覚野に異所性発現させて同側・反対側眼優位カラムを誘導し、このマウスの遠近感の認知能力が向上したか検討を重ね、遠近感の認知プロセスにおける眼優位カラムの機能的役割を明確にしようと研究を推進した。

このシャペロンにはlong formとshort form 2種類存在するが、short formシャペロンが同側眼優位カラムにより特異的であることをまず確認した。続いて、第一次視覚野にのみshort formシャペロンを異所性発現するトランスジェニックマウスを作製した。現在、このマウスが実際に眼優位カラムを持つか、またこのマウスの遠近感の認知能力が向上したか検討中である。

研究成果の概要（英文）：The aim of this project is elucidating the role of ocular dominance (OD) columns during the depth perception. The mouse, devoid of OD columns, is normally weak in discriminating the visual distance. We originally found that a short form of molecular chaperone, which has a neurite-promoting activity, showed specific expression to the ipsilateral OD columns of the developing visual cortex in higher mammals. To directly test the role of OD columns in the depth perception, I am now investigating whether overexpression of ipsilateral OD column-specific chaperone can induce OD columns in mouse visual cortex and, moreover, whether this mouse can show increased ability to discriminate the visual distance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	360,000	3,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：分子・細胞神経科学、神経可塑性

## 1. 研究開始当初の背景

本研究では、遠近感の認知プロセスに重要とされている眼優位カラムに注目して研究

を進めた。

(1) 遠近感の認知に優れた哺乳類の第一次

視覚野上には、同側・反対側眼から別々に視覚入力を受ける機能ユニット；同側・反対側眼優位カラムが存在する。逆に遠近感の認知が得意でないマウス・ラット等の第一次視覚野は、主に反対側眼から視覚入力を受けるのみで、眼優位カラムを持たない。この傍証より、遠近感の認知プロセスにとって眼優位カラムは重要だと考えられてきたが、確固たる証拠はなかった。

(2) 発達期(臨界期)に、視覚能力の発達した哺乳類を片眼遮断すると、遮断側眼から視覚入力を受ける眼優位カラムは縮小し、逆に非遮断側眼から入力を受ける眼優位カラムは拡大する。この現象は神経可塑性研究にとって優れたモデル系とされており、片眼遮断時における動態は細胞レベルから組織レベルまで幅広く解析されてきた。しかし、発生工学的手法が進んでいないこれら哺乳類においては、観察対象物が遮断側・非遮断側眼優位カラムのどちらに属するのか確定は難しいため、すべての実験において各種イメージング法を用いて眼優位カラムを可視化しなければならなかった。

## 2. 研究の目的

(1) 遠近感の認知が得意でないマウスは、その第一次視覚野に、眼優位カラムを持っていない。本研究では、マウス第一次視覚野に同側・反対側眼両方から視覚入力を受けるよう眼優位カラムを誘導し、このマウスの遠近感の認知能力が向上したか検討を重ね、眼優位カラムの遠近感の認知プロセスにおける機能的役割を明確にしようと考えた。

(2) 発達期(臨界期)に片眼遮断実験を行う際、視覚能力の優れた哺乳類では発生工学的手法が進んでいないため、すべての実験において、各種イメージング法を用いて眼優位カラムを可視化し観察対象物が遮断側・非遮断側眼優位カラムのどちらに属するのか検討する必要がある。(1)で記述した眼優位カラムを持つマウスにおいて、一方の眼優位カラムを発生工学的手法により蛍光ラベルすれば、上記困難は解決できると同時に、今まで視覚能力の優れた哺乳類で行われてきた眼優位カラムに関する神経可塑性研究と同レベルないしそれ以上の解析が可能となる。本研究では、これを具現化しようとして研究を進めた。

## 3. 研究の方法

応募者は、独自に単離した視覚能力の優れ

た哺乳類の同側眼優位カラムに特異的に発現しており神経軸索延長を促すシャペロン(同側眼優位カラム特異的シャペロン)を用いて、研究の目的に記述した事項を具体化しようとして以下のように研究を進めた。

(1) 本研究を遂行する上で、眼優位カラムを可視化・同定することは必要不可欠である。現在まで、optical imaging法により眼優位カラムを可視化することで、同側・反対側眼優位カラムを同定してきたが、この方法は大掛かりなセットを必要とする。最近、分子生物学的手法により簡便に成体動物の眼優位カラムを可視化する手法が確立されたので、応募者もこの手法を取り入れ、幼弱動物の眼優位カラムの可視化にも利用できるか試した。

(2) 同側眼優位カラム特異的シャペロンはshort formとlong formの2種類のformを持つが、この2formのうちいずれがより同側眼優位カラムに特異的に発現しているか検討した。

(3) 眼優位カラムを持たないマウス第一次視覚野に、同側眼優位カラム特異的シャペロンを異所性発現させて、第一次視覚野内に同側・反対側眼それぞれから視覚入力を受ける領域；同側・反対側眼優位カラムを誘導する。続いて、眼優位カラムを持つマウスの遠近感認知能力に向上がみられたか行動学的・電気生理学的に検討して、眼優位カラムの機能的役割を明確にしようとした。

(4) 発生工学的手法を用いて、(3)で作製した眼優位カラムを持つマウスの一方の眼優位カラムを蛍光ラベルする。対象の眼優位カラムが確実に蛍光ラベルされたか確認すると同時に、片眼遮断時に蛍光ラベルされた眼優位カラムが予想に一致して拡大・縮小するか検討を試みる予定であった。

## 4. 研究成果

(1) 片眼をあらかじめ縫合した視覚能力の優れた哺乳類を一夜暗室にて飼育した後、翌朝に非縫合側の眼を光刺激すると、光刺激された眼から視覚入力を受ける眼優位カラムにのみArcやBDNFといった因子の発現が誘導されるため、分子生物学的手法を用いてArcやBDNFの発現を検出すれば、簡便に眼優位カラムが可視化できると最近報告された。ただし、これらは成体に限った知見であるので、応募者が対象とする発達期以前あるいは発達期の動物においても同様のことが可能か検討した。今回、図1のようにP18といっ

た幼弱な動物においても、この手法によって一方の眼優位カラムの可視化に成功した。

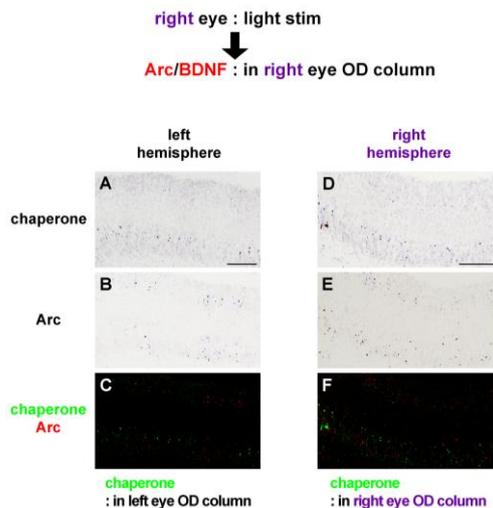


図 1. P18 歳の視覚能力の発達した哺乳類において、右眼を光刺激したところ、Arc の発現が右眼優位カラムに誘導された。加えて、short form シャペロンが同側眼優位カラムにより特異的に発現していることが分かった。(B, E) 右眼を光刺激した幼弱な動物の左・右大脳半球の第一次視覚野において、いずれの大脳半球においても右眼優位カラムに Arc の発現が認められた。(A-C) short form シャペロンは、左大脳半球においては Arc の発現していない左眼優位カラムに、(D-F) 右大脳半球においては Arc 発現領域と同じ右眼優位カラムに発現している。long form シャペロンの発現は、このような傾向をあまり示さない。つまり、short form シャペロンが同側眼優位カラムにより特異的に発現していることが分かった。

(2) 同側眼優位カラム特異的シャペロンには、short form と long form の 2 種類の form が存在するが、いずれの form が同側眼優位カラムにより特異的に発現しているか知る目的で以下のような実験を行った。右眼を光刺激した動物の第一次視覚野で、右眼優位カラムに発現誘導が認められる Arc と 2 種類の form のシャペロンの発現パターンを比較検討したところ、short form シャペロンが同側眼優位カラムにより特異的に発現していることが分かった(図 1)。

(3) 眼優位カラムを持たないマウス第一次視覚野に、同側・反対側眼両方から視覚入力を受けるよう眼優位カラムを誘導しようと、視覚能力の優れた哺乳類の同側眼優位カラムに特異的に発現しており神経軸索延長を促すシャペロン(同側眼優位カラム特異的シャペロン)を第一次視覚野にのみ発現するトランスジェニックマウスの作製を進めた。実

際には、図 2 に記載したようなトランスジェニックマウスの作製を行い、現在までに有望な候補マウスを得ている。今後はさらに解析を進め、これらトランスジェニックマウスにおいて、眼優位カラム形成あるいは同側眼優位領域の拡大等が見られるか検討する。

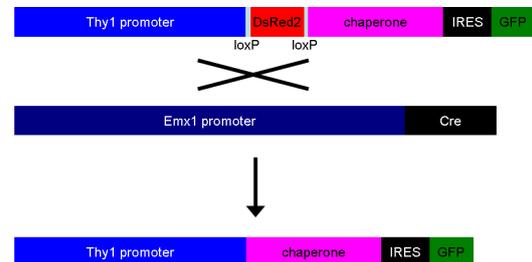


図 2. 第一次視覚野に同側眼優位カラム特異的シャペロンを発現するトランスジェニックマウス。

(4) (3)に記載したトランスジェニックマウスにおいて、一方の眼優位カラムを蛍光ラベルし、神経可塑性研究に利用できるか検討を行い、続けて視覚能力の優れた哺乳類では困難であった種々の可塑性に関する実験を進めたい。

## 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 5 件)

- ① Tomita K, Gotoh H, Tomita K, Yamauchi N, Sanbo M. Multiple patterns of spatiotemporal changes in layer-specific gene expression in the developing visual cortex of higher mammals. Neurosci. Res. in press, 査読有, 2012.
- ② Zhang GX, Obata K, Takeshita D, Mitsuyama S, Nakashima T, Kikuta A, Hirabayashi M, Tomita K, Vetter R, Dillmann WH, Takaki M. Evaluation of left ventricular mechanical work and energetics of normal hearts in SERCA2a transgenic rats. J Physiol Sci., 査読有, Vol.62, No.3, 2012, pp.221-231.
- ③ Tomikawa J, Uenoyama Y, Ozawa M, Fukanuma T, Takase K, Goto T, Abe H, Ieda N, Minabe S, Deura C, Inoue N, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Tanaka S, Imamura T, Okamura H, Maeda K, Tsukamura H. Epigenetic regulation of *Kiss1* gene expression mediating estrogen positive feedback action in the mouse brain. Proc. Natl. Acad. Sci., 査読有, Vol.109, No.20, 2012, pp.E1294-1301.
- ④ Usui N, Watanabe K, Ono K, Tomita K,

Tamamaki N, Ikenaka K, Takebayashi H. Role of motoneuron-derived neurotrophin 3 in survival and axonal projection of sensory neurons during neural circuit formation. *Development*, 査読有, Vol.139, No.6, 2012, pp.1125-1132.

- ⑤ Inamura N, Sugio S, Macklin WB, Tomita K, Tanaka KF, Ikenaka K. Gene induction in mature oligodendrocytes with a PLP-tTA mouse line. *Genesis*, 査読有, Vol.50, No.5, 2012, pp.424-428.

[学会発表] (計 16 件)

- ① Koichi Tomita, Max Sperling, Tobias Bonhoeffer, Mark Huebener. A Molecular Correlate Of Ocular Dominance Columns In The Developing Mammalian Visual Cortex. The 59<sup>th</sup> NIBB Conference -Neocortical Organization-, 2012年3月12日, Okazaki Conference center (Aichi).
- ② Koichi Tomita, Max Sperling, Tobias Bonhoeffer, Mark Huebener. A molecular correlate of ocular dominance (OD) columns in the developing mammalian visual cortex. 42nd NIPS International Symposium/NIPS and BRI Niigata University Joint Symposium, 2012年3月6日, Okazaki Yamate (Aichi).
- ③ Koichi Tomita, Max Sperling, Makoto Sanbo, Naoko Yamauchi, Tobias Bonhoeffer, Mark Huebener. A molecular correlate of ocular dominance (OD) columns in the developing mammalian visual cortex: a discovery of a molecule specific for ipsilateral OD columns. 第32回日本分子生物学会年会/BMB2010, 2010年12月8日, 神戸コンベンションセンター (兵庫県).
- ④ 富田 江一, Max Sperling, Tobias Bonhoeffer, Mark Huebener. 第一次視覚野発生初期における哺乳類同側・反対側眼優位カラムの分子的差異: 同側眼優位カラムに特異的な分子の発見. 第33回日本神経科学大会/Neuro2010, 2010年9月4日, 神戸コンベンションセンター (兵庫県).
- ⑤ 富田 江一, Max Sperling, Sidney B. Cambridge, Tobias Bonhoeffer, Mark Huebener. 発生期の同側眼優位カラムに特異的な因子の発見と今後の展望. 生理学研究所・名古屋大学医学部合同シンポジウム, 2010年8月21日, 岡崎コンファレンスセンター (愛知県).

[その他]

ホームページ等

<http://www.nips.ac.jp/mamtg/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

富田 江一 (TOMITA KOICHI)

生理学研究所・行動・代謝分子解析センター・特任助教

研究者番号: 80314285