

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07085

研究課題名(和文)細胞系譜特異的な神経回路形成に生後の経験が与える影響

研究課題名(英文)Influence of postnatal experience on the formation of the cell-lineage dependent neural connections

研究代表者

足澤 悦子(Tarusawa, Etsuko)

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：00446262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：私はこれまでの研究により、大脳皮質バレル野4層における興奮性細胞間に形成される双方向性のシナプス結合は神経細胞の細胞系譜に依存して形成されることを明らかにした。本研究課題では、細胞系譜に依存して形成されるシナプス形成が生後の感覚入力の影響を受けるかどうかを検証した。発達期のマウスのヒゲを数日間切ることでヒゲからの感覚遮断を施したところ、ヒゲを切ったマウスでは、細胞系譜依存的な双方向性結合の形成が阻害されることを見出した。さらに、系譜が異なる細胞間の双方向性結合には影響しなかった。以上の結果より、大脳皮質における系譜依存的なシナプス形成は、生後の経験に影響を受けることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちの脳は、神経細胞間シナプス結合によって形成される複雑な神経回路からなる。しかし、神経回路の形成基盤が不明のため、脳における情報処理がどのように行われているかを理解できない。私は、複雑な神経回路形成にどのような分子的ルールが存在するかを検証してきた。これまでに大脳皮質の神経回路は、生前の神経細胞の系譜に依存して作られることを示した。さらに本研究において、系譜に依存した神経回路形成は生後の経験の影響を受けることを明らかにした。今回の研究成果により、脳の複雑神経回路は、生前の系譜により決定されているだけでなく、生後の感覚入力を伴うことで完成することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：I have revealed that the excitatory neurons in the barrel cortex layer 4 region formed reciprocal connections cell-lineage dependently. Here, I examined the influence of postnatal sensory experience on the formation of the cell-lineage dependent reciprocal connections by trimming of whiskers of mice. As a results, I found that the whisker trimming prevented the formation of the cell-lineage dependent reciprocal connections. It indicates that the cell-lineage dependent synaptic connections in the cortex could be modified by the postnatal experiences.

研究分野：神経科学

キーワード：神経回路形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質にはシナプス結合によって形成される複雑ニューラルネットワークが構築されている。神経回路形成メカニズムの解明は、脳における情報処理メカニズムの理解につながるものである。しかし、その全貌は明らかになっていない。

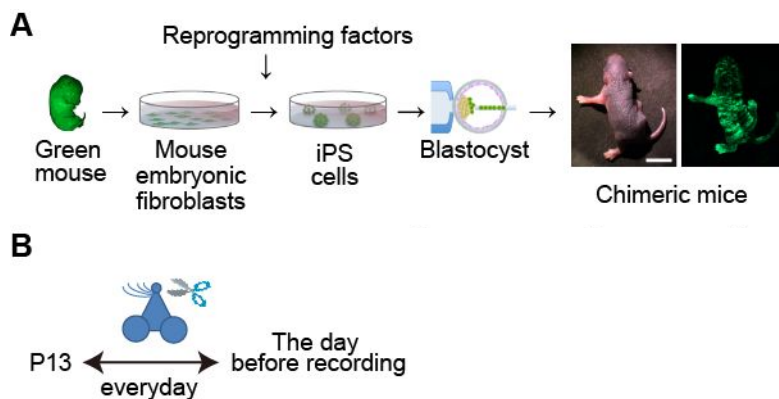
私は大脳皮質に形成される双方向性結合と細胞系譜との関わりを検証した。大脳皮質の形成は胎生期に始まり、1つの幹細胞から約600個の神経細胞 (clonal 細胞) が分化し、2層から6層へカラム状に分布する (図1, Tan et al., 1998)。私は、緑色蛍光タンパク (GFP) を発現するマウス由来 iPS 細胞をマウスの胚盤胞へ移植することにより、大脳皮質神経細胞の細胞系譜を GFP 発現によって可視化したキメラマウスを作製し、大脳皮質パレル野4層の興奮性細胞からダブルホールセル記録を行った。キメラマウスでは、これまでの細胞系譜の可視化法よりもさらに細胞系譜を遡って可視化できる。その結果、細胞系譜が異なる non-clonal 細胞結合様式に比べて、clonal 細胞間結合の約8割は双方向性シナプス結合であることを見出した (Tarusawa et al., BMC biology 2016)。この発見は、胎生期大脳皮質形成初期にすでに双方向性シナプス結合関係になる神経細胞が決定していたことを意味する。一方で、大脳皮質における神経結合は生後の感覚入力に依存して変化する報告が多数存在する。しかし、細胞系譜により規定される回路が生後の経験により変化するかどうかは不明である。

2. 研究の目的

本研究課題では、細胞系譜依存的な双方向性結合が生後の経験からどのような影響を受けるのかを検証し、神経回路形成における発生プログラミングと生後の経験の役割を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

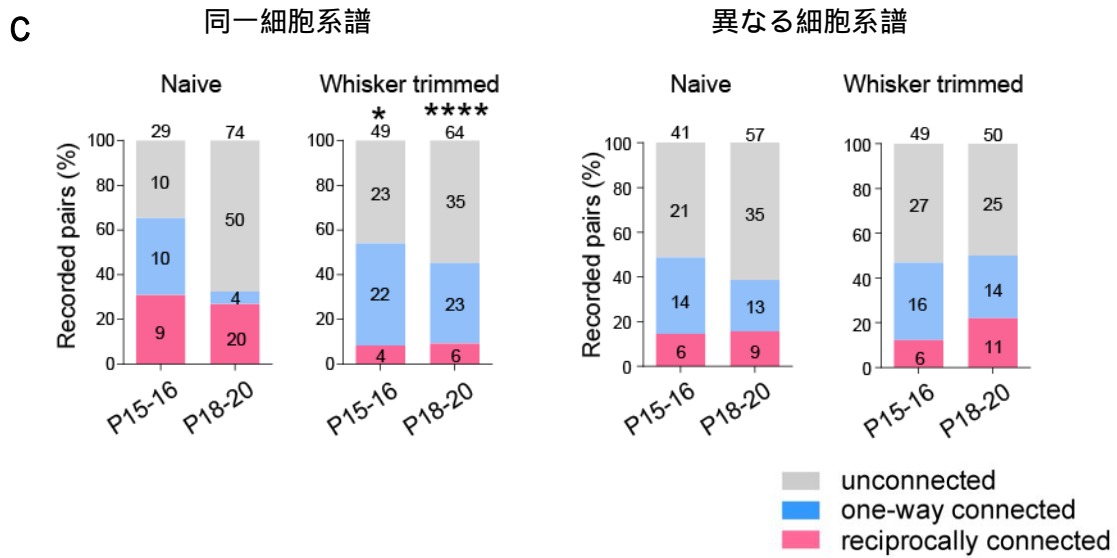
大脳皮質神経細胞の細胞系譜を可視化するためにGFPを発現するマウス由来iPS細胞をマウスの胚盤胞へ移植することにより、キメラマウスを作製する(図A)。大脳皮質パレル野4層のGFP陽性およびGFP陰性の興奮性細胞からトリプルホールセル記録を行う。ヒゲのトリミングによる感覚遮断によって、clonal神経細胞間に観察された発達過程が、どのような影響を受けるのかを解析する(図B)。また、感覚遮断の影響がclonal細胞間およびnon-clonal細胞間シナプス結合で異なるかを検証する。



4. 研究成果

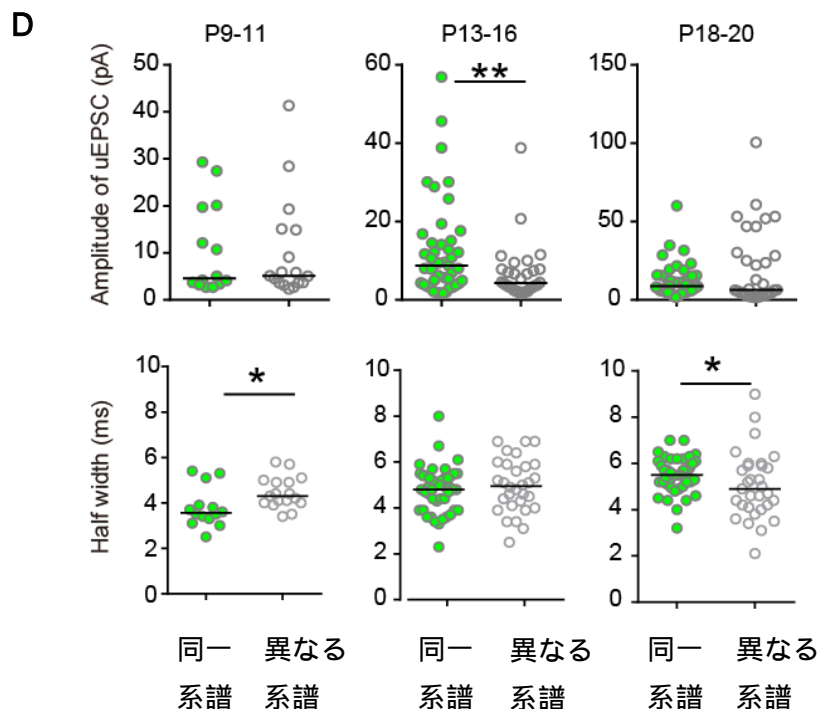
生後13日目から数日間(2日から7日)マウスのヒゲをはさみで切ることでヒゲからの感覚遮断を施した。生後15日目から20日目の期間でパレル野4層の興奮性神経細胞にダブルホー

ルセル記録を行い、結合関係を検証した。その結果、ヒゲがあるマウスでは、細胞系譜依存的な双方向性結合が観察された一方で、ヒゲを切ったマウスでは双方向性結合の割合が大幅に減少していた。またそれは、生後15日目から20日目まで減少したままであった(図C)。



感覚遮断の影響は同一細胞系譜にのみ生じたため、同一細胞系譜と異なる細胞系譜の細胞間に形成されるシナプス結合に違いがないか調べた結果、図Dのように発達期生後13日から16日目のシナプス強度が同一細胞系譜と異なる細胞系譜で有意に異なっていることが明らかになった。さらに、シナプス応答の形を比較したところ、同一細胞系譜のシナプス応答は、生後発達に伴い形が変化していくことが明らかとなった。

以上の結果より、バレル皮質4層の興奮性細胞間に細胞系譜依存的に形成される双方向性シナプスは、ヒゲからの感覚入力遮断により減少すること、さらに、同一細胞系譜と異なる細胞系譜間に形成される興奮性シナプスは、発達様式が異なることが明らかとなった。この研究成果は、私たちの脳における情報処理機構を理解するうえで必須な、神経回路形成メカニズム解明に迫る重要な発見となった。今後、系譜依存的なシナプス形成における分子メカニズムを解明することで、脳神経回路形成基盤の全貌解明に迫る研究が期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Etsuko Tarusawa
2. 発表標題 Establishment of clustered protocadherin-regulated high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons requires sensory experience in mouse barrel cortex
3. 学会等名 Neuroscience2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----