

感覚系神経回路形成の時空間制御メカニズム

Spatio-temporal regulatory mechanisms of sensory system development

(日本神経科学学会推薦)

代表研究者 金沢大学

河崎 洋志

Kanazawa University

Hiroshi KAWASAKI

Although the mechanisms underlying the spatial pattern formation of sensory maps have been extensively investigated, those triggering sensory map formation during development are largely unknown. Here we found that the birth of pups instructively and selectively regulated the initiation of barrel formation in the somatosensory cortex. We found that preterm birth accelerated barrel formation, while it did not affect either barreloid formation in the thalamus or whisker-lesion induced barrel structural plasticity in the somatosensory cortex. In addition, preterm birth did not affect the body weight and the thickness of the cerebral cortex soon after birth. Our results shed light on hitherto unidentified roles of birth in sensory map formation.

研究目的

「出生」は哺乳類の生涯で最も劇的な環境の変化である。この劇的な環境の変化に対して新生児の脳神経系は対応に迫られることは想像に難くないが、出生が脳神経系の発生・発達過程に及ぼす影響は不明な点が多い。我々は出生が脳神経系の神経回路形成に重要な役割を担っているのではないかと考え、体性感覚神経回路を用いて研究を進めてきた。

マウスの体性感覚系は触覚を伝達する神経系であり、神経回路形成、可塑性や臨界期などの研究に幅広く用いられている代表的なモデル系である。特にマウスのヒゲからの触覚入力、三叉神経節、三叉神経核、視床 VB 核を介して、大脳皮質一次体性感覚野へと伝達される。この経路にはマウスのヒゲの配置と類似のパターンが存在しており、視床 VB 核ではバレロイド、一次体性感覚野ではバレルと呼ばれている。過去の研究によりバレル神経回路の形成を制御する分子メカニズムが明らかにされてきた。セロトニンに関する分子としてモノアミン酸化酵素 A (MAOA) やセロトニントランスポーター (5-HTT) のノックアウトマウスではバレル形成が阻害される。またグルタミン酸に関する分子として NMDA 受容体や mGluR5 がバレル形成に必須であることが知ら

れている。

このようにバレルの空間的パターン形成を制御する分子メカニズムはかなり明らかにされてきたが、バレル形成時期を制御する開始制御メカニズムは不明である。バレルのヒゲ関連パターンは出生後 1 週間以内に形成されるが、どのようなメカニズムにより生後 1 週間以内に形成されるように制御されているか分かっていなかった。そこで我々は一次体性感覚野のバレルが出生直後に形成されることから、出生がバレル形成開始のスイッチとして働いていると仮説を立て検証することとした。

研究経過

バレル形成開始が出生により制御されているか検討するために、妊娠マウスをプロゲステロン阻害剤で処理することにより早産を誘導した。この早産で生まれた新生仔の大脳皮質をチトクロームオキシダーゼ(CO)染色で解析した結果、早産によりバレル形成時期が早まることを見出した。この結果は、出生時期がバレル形成時期を規定していることを意味している。NeuN 染色を用いても同様な結果が得られた。さらに末梢側でのバレル関連パターンの解析を行った。視床皮質軸索を抗 VGLUT2 抗体で、視床

VB 核バレイロイドを CO 染色にて可視化したところ、視床皮質軸索レベルで出生がバレル関連パターン形成を制御していることが明らかとなった。

興味深いことに、出生直後に見られる体重増加や大脳皮質の肥厚は早産によって影響を受けなかった。また抗 Ctip2 抗体などで大脳皮質層構造を可視化した、早産の影響は見られなかった。さらに、マウスでは出生後 1 週間以内にヒゲ傷害バレル可塑性の臨界期が終了するが、この臨界期の終了時期も早産によって影響が見られなかった。これらの結果は、早産は全身的な発育を促進してその二次的結果としてバレル形成を制御しているのではなく、選択的にバレル形成を制御していることを示唆している。即ち、バレル形成とバレル臨界期終了とはいずれも出生後 1 週間以内という同時期に見られるが、その時期制御メカニズムは異なることを示唆している。

考察

本研究では、「出生」に着目した点が特徴的である。脳神経系の形成過程を制御する環境要因の解明は神経科学の重要課題である。出生は哺乳類の生涯でもっとも劇的な環境変化であり、出生に伴う環境の急激な変化に対して新生仔の脳神経系は適応を迫られることは想像に難くないが、出生が神経回路形成へと及ぼす影響は従来あまり注目されてこなかった。本研究では、出生を単なる母胎からの離脱と捉えるのではなく、環境変化への適応を促す積極的なトリガーであるという視点から解析を行っている。

また我々は出生が回路形成を制御できる期間は一定期間内に限られており、それを逸脱すると回路自体に障害が起きる可能性があるのではないかと考えている。即ち、出生が適切な範囲の期間内に生じることが正常な脳神経系の形成に重要である可能性がある。ヒトの場合でも、著しい早産では知的障害や自閉症などの発達異常が起きやすいが、その原因は不明である。本研究の成果がヒトでの早産による脳機能障害の理解および治療法開発へと繋がることを期待したい。

研究の発表

口頭発表

1. 戸田智久, 本間大悟, 徳岡宏文, 早川格, 一瀬宏, 河崎洋志 : Birth regulates the initiation of sensory

map formation through serotonin signaling、包括脳ネットワーク夏のワークショップ、2013

2. 河崎洋志 : 高等哺乳動物を用いた脳神経系の遺伝学的解析、第 36 回日本神経科学大会、2013
3. Ako R, Ebisu H, Wakimoto M, Tanno K, Hira R, Kasai H, Matsuzaki M, Kawasaki H: Simultaneous visualization of multiple neuronal properties with single-cell resolution in the living rodent brain, The 42nd Annual Meeting for Society for Neuroscience, 2012
4. 戸田智久、本間大悟、徳岡宏文、一瀬宏、河崎洋志 : 感覚系神経回路形成におけるセロトニンの生理的役割の解析、第 35 回日本神経科学大会、2012
5. Kawasaki H, Ako R, Ebisu H, Wakimoto M, Tanno K, Hira R, Kasai H, Matsuzaki M: Simultaneous visualization of multiple neuronal properties with single-cell resolution in the living rodent brain, The 8th FENS Forum of Neuroscience, 2012

誌上発表

1. Kawasaki H., Toda T. and Tanno K., *In vivo* genetic manipulation of cortical progenitors in gyrencephalic carnivores using *in utero* electroporation, *Biology Open*, **2**, 95-100, 2013
2. Iwai L., Ohashi Y., van der List D., Usrey W. M., Miyashita Y. and Kawasaki H., FoxP2 is a parvocellular-specific transcription factor in the visual thalamus of monkeys and ferrets, *Cerebral Cortex*, **23**,2204-2212, 2013
3. Sehara K., Wakimoto M., Ako R. and Kawasaki H., Distinct developmental principles underlie the formation of ipsilateral and contralateral whisker-related axonal patterns of layer 2/3 neurons in the barrel cortex, *Neuroscience*, **226**, 289-304, 2012
4. Yamamoto Y., Lee D., Kim Y., Lee B., Seo C., Kawasaki H., Kuroda S. and Tanaka-Yamamoto K., Raf-kinase inhibitory protein is required for cerebellar long-term synaptic depression by mediating PKC-dependent MAPK activation, *Journal of Neuroscience*, **32**, 14254-14264, 2012
5. Kawasaki H., Iwai L. and Tanno K., Rapid and efficient genetic manipulation of gyrencephalic

- carnivores using *in utero* electroporation, *Molecular Brain*, **5**, 24, 2012
6. Yamasaki T., Kawasaki H., Arakawa S., Shimizu K., Shimizu S., Reiner O., Okano H., Nishina S., Azuma N., Penninger J. M., Katada T. and Nishina H., Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex, *Journal of Neuroscience*, **31**, 16872-16883, 2011
 7. Ako R., Wakimoto M., Ebisu H., Tanno K., Hira R., Kasai H., Matsuzaki M. and Kawasaki H., Simultaneous visualization of multiple neuronal properties with single-cell resolution in the living rodent brain, *Molecular and Cellular Neuroscience*, **48**, 246-257, 2011
 8. Sehara K. and Kawasaki H., Neuronal circuits with whisker-related patterns, *Molecular Neurobiology*, **43**, 155-162, 2011