

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 大脳皮質視覚連合野の機能構築とその生後発達

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

藤田 一郎(大阪大学 大学院生命機能研究科認知脳科学研究室 教授)

主たる共同研究者

吉村 由美子(自然科学研究機構 生理学研究所 教授)

Guy N. Elston(Centre for Cognitive Neuroscience, Australia, Director)

3. 研究実施概要

心のできごとの多くは大脳皮質の正常な発達と働きに依存する。大脳皮質の神経回路やその発達に関する研究の多くはげっ歯類で行われ、非ヒト霊長類における知見は非常に乏しい。ヒト脳の発達とその異常の理解、ヒトの病態を真に反映した精神・神経疾患モデル動物の作成、創薬や iPS 細胞治療法開発における非ヒト霊長類の知見の意義を考えると、この大きな空白を埋めることは、心のできごとを支える脳のしくみを明らかにするという科学的課題としてのみでなく医学的応用にとっても重要である。本研究では、サルの大脳皮質視覚野とその関連領域に焦点をあて、神経細胞の生理学的性質(視覚反応性と細胞膜の電気生理学的性質)と形態、局所神経回路、機能構築、およびこれらの生後発達過程の解明を目指した。これまでに得られた主要な成果は以下のようにまとめられる。

1) 視覚反応性の生後発達

①ニホンザル視覚連合野(TE)の神経細胞の視覚反応性は生後の長期にわたって徐々に成熟し、7ヶ月齢でもまだ成体型の反応にはならない。一次視覚野(V1)の発達はそれに比べて早い。

2) 電気生理学的性質の領野間比較と生後発達

①成体の V1 細胞は TE 細胞に比べて以下の特徴を示した。膜時定数が短い、入力抵抗が高い、脱分極性サグ電位が大きい、活動電位幅が短い、活動電位閾値が低い、発火順応が強い、最大発火頻度が高い、注入電流への感受性が高い。すなわち、V1 は TE よりも、入力の時間変化に対して敏感にかつ広いダイナミックレンジで情報を伝えることのできる性質を有している。

②V1、TE とも出生直後は速い時間情報を伝えることができないが、1年以上かけて高い時間精度を持つように成熟する。膜時定数・脱分極性サグ電位・活動電位幅・発火順応・最大発火頻度・注入電流への感受性が生後変化を示し、この変化は V1 で先に起こる。

③この生後発達変化の結果、V1 細胞はバンドパス時間フィルター特性を持つようになり、一方、TE 細胞はローパス時間フィルター特性を示す。

3) 細胞形態の領野間比較と生後発達

①上記の機能発達と電気生理学的性質の発達は、樹状突起やスパインの形成と刈り込みを伴っている。スパイン密度と総数は V1、V2、V4、TEO、TE、前頭葉 12 野すべてで、生後3-4ヶ月の時に最大となり、その後、減少に向かう。スパインの形成と刈り込みの程度は領野により大きく異なり、V1、V2、V4 の細胞は誕生時、成体よりも多くのスパインを持ち、一方、TEO、TE、12 野では成体の細胞の方が多くのスパインを持つようになる。

②樹状突起の広がり、分枝は出生直後にすでに領野間差異を示す(高次領野ほど大きく、枝分かれが多い)が、その後、領野特異的な発達過程を経て成体型の特徴を獲得する。

③TE 細胞は V1 細胞に比べ、スパイン密度が高く、スパインの平均サイズとサイズのばらつきが大きい。この違いは両領野の神経回路の情報容量の違いとして反映されていると思われる。

4) 局所神経回路の領野間比較と生後発達

①3層錐体細胞に生じるシナプス電流の時間経過は V1 の方が TE に比べて速い。また、シナプス入力分布にも違いがある。シナプス電流の時間経過は顕著な生後変化を示さない。

5) 2光子イメージング法の霊長類大脳皮質への適用

①2光子イメージングを霊長類へ適用する技術開発を行い、V1とV4への適用に成功した。

②カルシウムシグナルに逆相関法を適用して、V1細胞の受容野構造を決定した。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

本研究は、サルの大脳皮質に存在する多くの視覚領野が、それぞれどのような構造的、機能的特徴を持つかを明らかにし、それらの特徴が発達する過程の解明を目指したものである。

本研究チームは藤田グループが、1)視覚連合野細胞の視覚反応性と生後発達の解明、及び2)2光子励起イメージング法のサル大脳皮質への適用技術の開発研究を分担するとともにチーム全体を統括した。吉村グループはサル大脳皮質スライス標本を用いたケージド化合物による局所刺激法の開発、それを用いて大脳皮質内局所回路の入出力関係の解明を、Elstonグループはホルマリン軟固定大脳皮質細胞への蛍光色素注入法を用いた樹状突起の可視化技術の開発、それを用いて樹状突起形態の生後発達の解明研究を分担した。

これまでに、当初の計画に沿ってサル大脳皮質へのインビボ2光子励起イメージング技術の確立、サル大脳皮質スライス標本作製による神経細胞膜の電気生理学実験手法、脳軟固定組織標本における細胞内染色技術、など高度な技術の開発を行い、十分な成果をあげたことは高く評価できる。

サルの大脳皮質の構造と個々のニューロンの持つ電気生理学的性質は、脳全体で様ではなく、領野によって著しく異なることを見出した。例えば、一次視覚野ニューロンは入力の時間的変化に追従できる高い時間精度を持つが、連合野ニューロンは入力の時積分を行うのに適した電気生理学的性質を持っている。また、この差異は出生直後にすでに存在するが、その後、一年以上の長期間にわたる発達過程を経て成体型へと成熟していくことを明らかにした。

また、サルの大脳皮質の神経回路の精密化の過程は、大脳皮質の中の領域によって異なることを明らかにした。具体的には高度な情報処理に関わる大脳皮質の部位ほど、生まれた時から多くのシナプスを持ち、生後に、より多くのシナプスを形成し、さらにその後、より多くのシナプスが刈り込まれることを突きとめた。

本研究チームは、それぞれ高い技術を持つ共同研究者が明確な役割分担のもとに編成されている。研究開始後は研究代表者のリーダーシップのもと各グループがそれぞれに質の高い成果をあげ、研究代表者の目標達成に大きく貢献したことは高く評価できる。特にElstonグループとの共同研究は極めて効果的であった。

これらの研究成果は、原著論文(国内0件、国際27件)、招待講演(国内23件、国際13件)、口頭発表(国内16件、国際3件)、ポスター発表(国内43件、国際44件)で公表された。論文発表は、定評のある学術雑誌に着実に発表しており高く評価できる。特許出願(国内1件、海外0件)。本研究成果はマスメディア(新聞・テレビ)で広く紹介された。(43件)

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

サル大脳皮質各領野における神経細胞の形態と機能の相違及びその生後発達の解析の重要性は以前より認識されてはいたが、技術的困難さのため十分な研究がなされていなかった。本研究では、極めて難度の高い実験手法の開発に取り組み、インビボ2光子励起イメージング法のサル大脳皮質への適用に成功したのをはじめ、複数の革新的な技術を開発したことは高く評価できる。

これらの高度な技術を駆使して、1)大脳皮質視覚経路を構成する様々な領野は、特有の視覚反応特性と入出力を持ち、これらの領野は細胞レベルさらには樹状突起スパインレベルにおいて特化していることを発見し、2)その違いは出生時にある程度存在するもののその後の領野特異的な発達過程を経て、領野特異性が強調された成体型形質を獲得することを明らかにした。

本研究の成果は、これまでよくわかっていなかったサル大脳皮質視覚野の機能構築とその発達メカニズムの解明の突破口となるもので、神経科学分野の進展に大きく貢献することが期待される。

4-3. 総合的評価

技術的に困難な課題に挑戦し、インビボ2光子励起イメージング技術を適用しサルの大脳皮質の活動の計測に成功したのをはじめ、複数の革新的技術を開発し、これまでよくわかっていなかったサル大脳皮質視覚野の機能構築とその発達メカニズムについて、新規性の高い知見を明らかにしたことは高く評価される。本研究でサルへの適用に成功したインビボ2光子励起イメージング技術は国際的にもほとんど類を見ず、最先端技術としてさらなる発展が期待される。

研究代表者は CREST 研究期間を通じて小中高生、一般市民、教職員などを対象に脳科学研究のアウトリーチ活動を積極的に行ったことは評価できる。

以上