

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」

平成 16 年度採択研究代表者

ヘンシュ 貴雄

((独) 理化学研究所脳科学総合研究センター グループディレクター)

「臨界期機構の脳内イメージングによる解析と総合的解明」

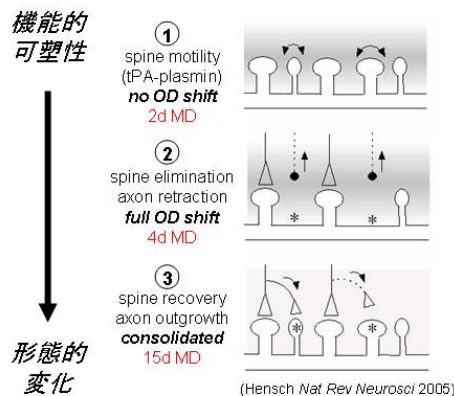
1. 研究実施の概要

ヒトをはじめとする哺乳類の中枢神経系は、出生時には形態的にも機能的にも未熟である。特に生後初期の大脳皮質では、自己の経験や環境に応じてシナプスがダイナミックに繋ぎかえられ、急速に成熟していくことが知られている。この様なシナプスの精緻化は、「臨界期」と呼ばれる生後のある限られた時期に盛んに認められ、この時期を過ぎると神経回路網の柔軟性は急速に衰えていく。本研究チームでは、この経験に依存したシナプス可塑性の代表的な例を生きた脳内で可視化することを試みる。近年、大脳皮質内の特有な抑制系を操作することにより、臨界期を本来より早めたり、可塑性の失われた動物に臨界期を誘導したりと、自由に操作できるようになった。従って、臨界期の脳内機構の理解が深まることにより、臨床や教育への応用と注意も期待される。

本研究の成果は、今後の臨界期のメカニズムひいては脳の構成原理の解明の研究に新たな知見を与えるとともに、脳の正常な発達手法や再生・移植した脳組織を正常に機能させる手法の確立に貢献することが期待される。重要な可塑性を生後間もない期間だけに限定しているメカニズムが明らかになれば、生涯全体にわたるリハビリテーション、損傷回復、学習の向上に役立つ新しいパラダイムや治療薬の導入を可能にするための道が切り開かれるのであろう。

2. 研究実施内容

本研究のねらいは、正常な脳を育むメカニズムを生きている脳内で可視化する新技術と概念を確立することである。具体的には、胎児へのアデノウイルス局所導入技術を開発し、臨界期メカニズムの基礎をなす発達脳における抑制性神経回路網を操作し、マウスやキンカチョウの神経可塑性を調べる。さらに蛍光蛋白質カエデの局所変色を利用して、各種感覚系における臨界期の終了過程に起こると考えられているシナプスの形態学的再編成を2光子レーザー顕微鏡で可視化し、確認する。これらの様々な手法と動物種に応用した多元的融合研究により、感覚・運動・認知・行動系を含めた学習に関与する脳機能のシステムの見地から、ヒトに適応可能で必須な知見を世界に先駆けて提供することを目指す。

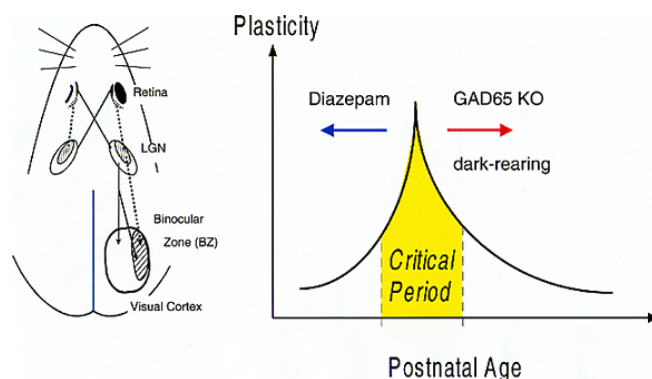


具体的には、臨界期にあらゆる脳機能の神経回路網が集中的に形成される仕組みとして、一時的に高まる機能的（functional）可塑性と形態的（structural）可塑性に大別される。機能的可塑性とは、すでにできている電気信号を伝える回路の結合を、電気活動によって強めたり弱めたりする変化である。それに対して、形態的可塑性とは、できている神経回

路網の配線を、極端にいうと変化させる。あったものが消え、新しい回路が形成される。大脳視覚野には神経活動に依存して眼優位性が形成される臨界期があり、この時期に片眼を塞ぎ入力を制限することで容易に神経回路網の機能と形態の可塑的な変化を誘導し得る。最近の解剖学的所見では、活発な樹状突起棘(spine)や軸索の再編成が発達に伴って低下することが報告されている。単眼遮断と共に、樹状突起棘に引き続き、第一次視覚野へ投射する「コラム」構造として観察される入力まで組み替えられることが確認できる。

本研究では、生きている脳内におけるダイナミックな形態的变化を継続的に観察する手段として、多光子顕微鏡の設置と立ち上げる。また、磁性微粒子を付加した新規アデノウイルスベクターを開発し、介在ニューロン、錐体ニューロンへ神経細胞の誕生日ならびに領域特異的に遺伝子を導入する技術や、UV光で局所変色できるkaede蛍光蛋白質を一部の細胞に発現するトランスジェニックマウスを確立する。これらを用いて、樹状突起spine形成過程および神経回路の繋ぎかえのダイナミクスを二光子レーザー顕微鏡を用いてin vivoで可視化し、特に終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンによる樹状突起フィロポディア形成の分子・細胞メカニズム、及び特有な抑制性細胞の役割を解析する。

我々はこれまでに、GABA合成酵素の一つであるGAD65の遺伝子欠損マウスでは活動依存的に眼優位性を変化させる臨界期が現れないが、GABA受容体の感受性を高める薬剤（ジアゼパム）を大脳皮質へ投与することにより出現することを明らかにしてきた。さらに、臨界期前の正常マウスにジアゼパムを投与すると臨界期が早期に誘導される。つまり眼優位性の可塑的变化を誘導するには、入力情報の優劣だけでなく皮質の抑制性介在ニューロンの発達が必要である



と考えられる。本研究チームでは、この原理の一般性をマウスの嗅覚系や鳥の囀り学習過程で調べる。キンカチョウの発声行動の臨界期前からジアゼパム投与をすることにより、可塑性が先駆けて開始され、成熟の歌の構成に異常を及ぼすことが期待される。ベンゾジアゼピン等によって神経回路の成熟を薬理的に加速することは、発達の正常な連続性を破壊して有害な副作用をもたらす可能性もある。

健康で活力にあふれた人間の生涯学習を促進するためには、このような発達脳における神経回路網可塑性に関する知識、臨界期（感受性期）の一般原理の解明、さらに遺伝因子と環境因子の相互作用の詳細な理解が必要である。

3. 研究実施体制

ヘンシュ研究グループ

①研究分担グループ長：ヘンシュ 貴雄（理化学研究所、チームリーダー）

②研究項目：大脳視覚皮質における臨界期可塑性の形態的イメージング

概要：アデノウイルス技術を用いた、抑制性細胞特異的の活動操作や破壊による臨界期可塑性に不可欠な局所神経回路解析。大脳視覚皮質でダイナミックに繋がえられる樹状突起棘や軸索の再編成を、蛍光蛋白を発現するマウスにて多光子顕微鏡で観察。

Hessler 研究グループ

①研究分担グループ長：Neal A. Hessler（理化学研究所、チームリーダー）

②研究項目：発声行動学習における GABA 細胞と形態的可塑性の役割

概要：臨界期前のキンカチョウへ脳内への一過的な抑制性伝達の促進が、発声行動の発達を阻害することが見られた。今後の実験としては、脳内の抑制性伝達の作用部位、その際の形態的变化を追うことを予定している。

橋本研究グループ

①研究分担グループ長：橋本 光広（理化学研究所、ユニットリーダー）

②研究項目：アデノウイルスベクターを用いた、マウス胎仔脳の局所的遺伝子導入技術の開発

概要：磁性微粒子を付加した新規アデノウイルスベクターの開発し、このベクターを用いて、介在ニューロン、錐体ニューロンへ神経細胞の誕生日ならびに領域特異的に遺伝子を導入する技術の確立。

吉原研究グループ

①研究分担グループ長：吉原 良浩（理化学研究所、チームリーダー）

②研究項目：樹状突起スパイン形成過程におけるテレンセファリンの役割

概要：蛍光蛋白質 GFP、Kaede、Dronpa、synaptopHluorin、G-CaMP2 などの特

定のタイプのニューロンで発現するトランスジェニックマウス、トランスジェニックゼブラフィッシュを作製し、神経回路の配線様式、可塑的变化ダイナミックスを二光子レーザー顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡により in vivo で可視化する。終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンによる樹状突起フィロポディア形成の分子・細胞メカニズムについて上記マウスを用いて解析する。

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

- T.K. Hensch
Critical period mechanisms in developing visual cortex
Curr. Topics Dev. Biol. 69: 215-237 (2005).
- T.K. Hensch
Recovery in the blink of an eye
Neuron 48: 166-168 (2005).
- T.K. Hensch
Critical period plasticity in local cortical circuits
Nat. Rev. Neurosci. 6: 1-12 (2005).
- M. Koshiba, I.A. George, E. Hara, N.A. Hessler
Social behavior modulates songbird interpeduncular nucleus function
NeuroReport 16: 445-449 (2005).
- S. Mitsui, M. Saito, K. Mori, Y. Yoshihara
A transcriptional enhancer that directs telencephalon-specific transgene expression in mouse brain.
Cerebral Cortex (in press)
- H. Matsuno, S. Okabe, M. Mishina, T. Yanagida, K. Mori, Y. Yoshihara
Telencephalin slows spine maturation.
Journal of Neuroscience 26: 1776-1786 (2006)
- T. Hirata, M. Nakazawa, S. Yoshihara, H. Miyachi, K. Kitamura, Y. Yoshihara, M. Hibi
Zinc-finger gene *Fez* in the olfactory sensory neurons regulates development of the olfactory bulb non-cell-autonomously.
Development 133: 1433-1443 (2006)
- Y. Sato, N. Miyasaka, Y. Yoshihara
Mutually exclusive glomerular innervation by two distinct types of olfactory sensory neurons revealed in transgenic zebrafish.
Journal of Neuroscience 25: 4889-4897 (2005)

(2) 特許出願

H17 年度出願件数：1 件（CREST 研究期間累積件数：1 件）