

【目的】 生後発達期において、大脳皮質感覚野第4層の神経回路は、感覚器からの入力によって成熟する。第4層神経回路の成熟は正確な感覚入力処理の基盤であるため、そのメカニズム解明は医学・生物学における最も重要な課題の1つである。これまでの研究で、私はマウス体性感覚野をモデルとして用い、生体新生仔における2光子顕微鏡観察法を開発することで、第4層回路成熟の分子メカニズムの一端を解明した。一連の研究により、第4層細胞樹状突起は正しい感覚入力を伝える軸索を探索していること、および神経回路形成・記憶等に関与するNMDA受容体が樹状突起ダイナミクスを制御することで樹状突起分枝パターンが形成されることが示された。

しかし、生体において樹状突起ダイナミクスを制御する細胞内分子シグナリングは、NMDA受容体の他に関わる分子が不明なため、明らかでなかった。これを解決するため、近年我々は生体の大脳皮質内で個々の細胞を標識し、同時に任意の遺伝子を抑制するシステムを開発した。本研究の目的は、本システムを用いたスクリーニングにより、樹状突起ダイナミクスに関わる未知の分子を同定する事であった。また同定される分子とNMDA受容体の関連を調べ、NMDA受容体がどのような分子シグナリングにより樹状突起ダイナミクスを制御するかを解明することであった。

【方法】 本研究は、生体遺伝子導入法（子宮内電気穿孔法）・組織学的手法・新生仔脳2光子顕微鏡イメージング法等を組み合わせを行った。

【結果】

1. 大脳皮質第4層神経回路形成に関わる分子のスクリーニング

NMDA受容体関連分子群を標的とした遺伝子抑制ベクターを作成し、固定組織切片において、遺伝子抑制による樹上突起形態変化の有無を確認した。ある分子を阻害した細胞において、樹状突起の枝分かれが変化することを見出した。

2. 第4層神経細胞の生体2光子イメージング

当初の研究計画では、同定された分子を阻害した第4層細胞を生体2光子イメージングし、樹状突起ダイナミクスの変化を調べる予定であった。しかし本研究期間に、熊本大学国際先端医学研究機構で研究室をスタートすることになった。移動に伴い、研究で使用する予定であった2光子顕微鏡と遺伝子組換え動物を移動する必要が生じた。そのため、研究期間内に同定された分子を阻害した細胞をイメージングすることはできなかった。

現在までに、顕微鏡と組換え動物の移動を終え、新しい環境での2光子イメージングの立ち上げに成功し、移動に伴う研究の遅れは最低限に抑えることができた。今後スクリーニングで同定された分子を阻害した細胞をイメージングする予定である。なお、移動の期間中にはイメージング法についてまとめた論文を発表した。

新生仔大脳皮質2光子イメージングによる樹状突起ダイナミクスに関わる分子のスクリーニング

