

38 哺乳類脳の広域・局所神経回路構築ロジックの解明	田川 義晃
-----------------------------------	--------------

【目的】高次脳機能を生む哺乳類脳の神経回路は、複雑な神経ネットワークからなる。大脳をマクロな視点で見ると、様々な領域・領野からなり、その間には特異的なパターンでつながれている。一方、局所に目を向けると、同一の層に様々な投射先をもつ神経細胞が混在している。投射先が異なる神経細胞は、発生発達期にどのように配置され、どのようにして配線（それぞれの投射先へ正しく軸索を伸ばして回路を形成）するのであろうか？本研究では、大脳の代表的な長距離神経回路である脳梁投射をモデルとして用いて、その形成機構を明らかにする研究を行った。具体的には、

1. 活動依存的な脳梁軸索投射に重要な自発神経活動パターンを明らかにすること、2. 脳梁軸索発達過程のダイナミックな形態変化とその制御機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】目的1に対しては、時期特異的な神経活動操作技術を用いた。神経活動を抑制する分子ツール Kir2.1、子宮内電気穿孔法、Tet-off 遺伝子発現システムを組み合わせ、脳梁投射形成過程の目的の時期に神経活動を操作する実験を行った。目的2に対しては、新生仔マウスの大脳において、蛍光標識した脳梁軸索を数日間 *in vivo* タイムラプスイメージングする実験を行った。

【結果】神経活動を抑制する分子ツール Kir2.1 イオンチャンネルを脳梁投射細胞に E15 から P15 まで発現させると、P15 において脳梁軸索投射が阻害される。Tet-off 遺伝子発現システムを組み合わせた実験系を用いて、P6 から Dox を投与することで Kir2.1 発現を P10 からオフにすると、P15 において脳梁投射の回復が見られた。Kir2.1 発現オフによって回復した神経活動パターンを解析したところ、活動記録した領域の大多数 (>60%) の細胞が参加する同期活動 (H event とよばれる) ではなく、参加細胞の割合がより少ない同期活動 (L event : 参加細胞の割合は 20~60%) が回復していた。この結果は、脳梁軸索投射の形成・回復には、L event とよばれる同期自発活動があれば十分であることを示唆する。さらに、大脳皮質スライス標本で脳梁投射細胞同士、または脳梁投射細胞とそれ以外の投射細胞の間でのシナプス形成の確率を比較する実験を行ったところ、脳梁投射細胞同士の方がより高い確率でシナプス形成しているという結果が得られた。これらの結果を合わせて考えると、脳梁投射細胞同士は回路形成期に機能的なサブネットワークを作っており、L event の一部はその脳梁投射細胞群の同期活動であり、この同期神経活動が投射先特異的な軸索投射パターン形成に重要な役割を担う可能性が示唆された。また、*in vivo* 脳における脳梁軸索のタイムラプスイメージング実験からは、軸索の伸長と縮退、分枝の形成と消失というダイナミックな形態変化を観察することができた。特に P11 から P13 の間で、1 日 100 μ m 以上の軸索分枝の伸長と縮退が観察された。どの軸索分枝が伸長して定着しやすくどの枝が縮退、消失しやすいのか、軸索発達ダイナミクスを制御するルールを明らかにする解析を現在進めている。

活動依存的な脳梁軸索投射のメカニズム (仮説)

