

【目的】 大脳皮質の興奮性細胞には多くの種類が存在し、それぞれ独自の回路を持つ。新生児期の大脳皮質で見られる細胞集団の自発的な同期活動は、活動依存的なメカニズムにより投射パターンや皮質内局所回路などの精密な回路の形成に関わると考えられ、この機能の破綻は自閉症やてんかんなどの精神疾患につながる可能性がある。近年著者らは、マウス急性脳スライスを用いた実験で、発達期の興奮性細胞がギャップ結合による精密なネットワークを持ち、細胞間の活動レベルを調節することで発達期の神経回路形成を制御している可能性を明らかにした。そこで本研究では、第1に第5層神経細胞の集団同期活動の解析を試み、第2に神経活動レベルを人為的に操作した際の発達期大脳皮質の回路形成への影響を解析する。

【方法】 1. 発達期大脳皮質の集団同期活動の解析では、マウス胎児に子宮内電気穿孔法で、神経活動を光に変換する Ca^{2+} 指示緑色蛍光タンパク質 GCaMP の発現プラスミドを神経細胞に導入した。右脳一次体性感覚野バレル皮質（ヒゲの感覚を司る脳領域）上の頭蓋骨に穴を開け、直径 3 mm の円形のカバーガラスを載せイメージング窓を作製した。マウスを二光子顕微鏡下に置き単一細胞レベルの GCaMP イメージングを開始し、麻酔濃度を下げて観察される自発活動を解析した。2. 発達期大脳皮質の神経活動レベル操作による回路形成への影響の解析では、第2/3層神経細胞に子宮内電気穿孔法で、電位依存性ナトリウムチャンネル Nav1.2 の機能獲得型変異であり発達性およびてんかん性脳症 11 の原因変異でもある T773I 変異体を導入し、神経活動を亢進させた。神経前駆細胞から生まれた細胞が正しい位置に移動するプロセスと、異なる脳領域を正しく結ぶ長距離軸索投射プロセスを、形態学的に解析した。

【結果】 1. GCaMP を第4層細胞に導入した実験では、麻酔濃度の低下に従って、個々のバレルで散発的なパッチワーク状同期活動が観察された。一方、GCaMP を第5層細胞に導入した実験では、遺伝子導入された個体の選別や発現位置の特定ができなかったこと、細胞種の特定に用いる逆行性トレーサー投与が頭蓋骨の発達を阻害しイメージング窓作製時に問題が生じること、など方法論に難点があり目的の実験を成功させることができなかった。これらの問題点を、新生児マウスからの GCaMP 生体イメージングによる自発活動計測の方法をまとめた論文に盛り込み、学術雑誌に投稿する予定である。2. Nav1.2^{T773I} の強制発現は一部の細胞で細胞移動を障害した。一方、脳梁投射軸索の白質における伸長を顕著に減少させ、反対側皮質への軸索投射を完全に消失させた。これらの影響は、ナトリウムイオン流入亢進による神経活動亢進が遺伝子発現変化やその他の影響を引き起こした結果だと考えられる。生後の発達時期に神経活動は適切なレベルに調節される必要があることが示唆され、イオンや小分子を通す細胞間結合であるギャップ結合はこの調節に関与し回路調節を行っている可能性が示唆された。

新生児期の大脳皮質における集団同期活動の神経回路形成への寄与およびギャップ結合 (gap junction : GJ) の関与

