

【目的】 哺乳類大脳皮質の感覚野第4層 (Layer 4 : L4) では、視床を経由して伝達される末梢感覚器からの入力を受けて、機能的に独立したモジュール (単位回路) の並列構造が構築され、成体での高度な情報処理の回路基盤となる。例えば、マウス体性感覚野 (バレル皮質) においてヒゲ触覚情報処理を担うモジュールである「バレル」では、視床皮質軸索 (Thalamocortical axon : TCA) が大脳皮質 L4 神経細胞に入力し、各頬ヒゲからの個別の触覚情報を伝達する。L4 神経細胞は、生後一週間の間に、所属するバレルの TCA 終末に向けて選択的に樹状突起を伸長することで、単一ヒゲ触覚の特異的な受容を可能にする。したがって、バレル皮質 L4 神経細胞の樹状突起選択的伸長を制御する細胞内機構の解明は、大脳皮質モジュール構築機構の理解に繋がると考えられる。樹状突起の伸長には、細胞膜成分や接着分子、シナプス関連分子などの供給が必要であり、特定の樹状突起への選択的な物質輸送が樹状突起の選別に関与すると考えられることから、細胞内小胞輸送のハブであるゴルジ体に着目した。本研究では、バレル構築過程における L4 神経細胞内のゴルジ体局在動態を生体内で解明することを目的とした。

【方法】 ICR マウスを使用し、子宮内電気穿孔法を用いて、ゴルジ体移行性 GFP (Golgi-EGFP) と樹状突起観察用の RFP をバレル皮質 L4 神経細胞に発現させた。単一細胞形態解析を行うため、Supernova 法を用いて神経細胞をまばらに標識した。バレル構築開始前 (生後 1 日齢 : P1)、バレル構築期 (P3、5、7)、およびバレル構築完了後 (P11、15) の各時点で大脳皮質組織切片を作製し、vesicular glutamate transporter 2 (vGlut2) 抗体染色によって TCA 終末を可視化した後、単一神経細胞レベルでゴルジ体局在と樹状突起形態の同時解析を行った。

【結果】 上記の方法を用いて、発達段階での樹状突起形態の成熟に伴うバレル皮質 L4 神経細胞のゴルジ体局在変化を解析した。まず冠状断切片を用いて解析した。バレル皮質 L4 神経細胞のゴルジ体局在は、バレル構築開始前の P1 では、主に先端樹状突起 (apical dendrite : AD) 内部に局在していたが、P3 から P5 へと発達が進むにつれて細胞体へと局在が変化した。P5 では、一部の細胞において、細胞体に加えて基底樹状突起 (basal dendrite : BD) 内部にゴルジ体が陥入していた。接線方向の組織切片を用いて、L4 神経細胞のゴルジ体局在とバレルとの空間関係を詳細に解析したところ、P5 の L4 神経細胞では、細胞体のバレル内側領域にゴルジ体が偏って分布していた。さらに、バレル内側に向けて伸長した、長く複雑な BD の内部に特異的にゴルジ体が陥入していることが明らかとなった。このゴルジ体の極性化した分布 (細胞体でのバレル内側への偏りと、バレル内側に伸びた BD への陥入) は、P5、7 で顕著に見られた一方で、バレル構築完了後の P11 から P15 にかけて徐々に減弱した。したがって、L4 神経細胞のゴルジ体分布極性は、バレル構築期のみみられる一過性の現象であり、樹状突起の選択的伸長に寄与する可能性が示唆された。

バレル構築期 L4 神経細胞のゴルジ体局在動態

